Über die Ausscheidung der Oxyphenylmilchsäure bei Tyrosinfütterung an Kaninchen.

Von

Y. Kotake u. M. Okagawa.

(Aus dem mediz.-chem. Institute der Medizinischen Akademie zu Osaka.)

(Der Redaktion zugegangen am 24. Juli 1922.)

Wir haben in Gemeinschaft mit Matsuoka¹⁾ beobachtet, daß das Kaninchen bei reichlicher Tyrosinverabreichung im Harn Oxyphenylbrenztraubensäure und Oxyphenylmilchsäure ausscheidet. Nun haben wir es unternommen, die Mengenverhältnisse beider gebildeten Säuren möglichst genau zu bestimmen, um dadurch für die Frage, ob die Aminosäuren im tierischen Organismus hydrolytisch desaminiert werden können, eine Lösung zu erbringen.

Hier wurden stets je ein paar Versuche, einmal mit l-Tyrosin, einmal mit d,l-Tyrosin, an demselben Kaninchen unter gleichen Bedingungen ausgeführt, um beide Resultate miteinander vergleichen zu können.

Versuch 1.

In folgenden 2 Versuchen wurde ein 2550 g schweres Kaninchen benutzt:

Am 3. Sept. erhielt das Kaninchen dreimal je 2 g l-Tyrosin in je 3stündigem Intervall per os. Das Tier war ganz munter.

Der Harn wurde vom Beginn der Tyrosinverabreichung etwa alle 6 Stunden mittels Katheters entnommen. Jeder Harn wurde sofort mit Schwefelsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Der Harn wurde im ganzen während 28 Stunden gesammelt, bis der Ätherrückstand nicht mehr Millonsche Reaktion gab. Der darauffolgende Harn enthielt nur geringe Menge ätherlöslicher Substanz, die nur eine schwache Millonsche Reaktion gab, so daß sich gar kein Unterschied zeigte, im Vergleich zum normalen Harn.

Die von einzelnen Portionen des Harns, namentlich den

¹⁾ Siehe oben.

zuerst entleerten, gewonnenen Ätherrückstände enthielten eine relativ bedeutende Menge körniger Krystalle. Die Rückstände wurden vereinigt, über Schwefelsäure getrocknet und gewogen.

Sämtlicher Ätherrückstand wurde dann mit wenig Wasser versetzt, wobei die genannten Krystalle fast vollständig ungelöst zurückblieben. Sie wurden abfiltriert und bis zu konstantem Gewicht getrocknet. Sie wogen 0,3023 g, zeigten Eisenchloridreaktion und bildeten bei langsamer Auskrystallisation sechseckige Blättchen, die gegen 215° C. schmolzen. Sie waren also zweifelsohne Oxyphenylbrenztraubensäure.

Die Mutterlauge der Oxyphenylbrenztraubensäure wurde eingeengt und einen Tag in der Kälte stehen gelassen. Hierbei schied sich eine kleine Menge nadelförmiger Krystalle nebst einer Spur von körnigen Krystallen aus. Die ersteren wurden sorgfältig isoliert und gereinigt. Sie betrugen ca. 0,1 g, schmolzen bei 168° C., zeigten Millonsche Reaktion und drehten nach links. Sie waren also l-Oxyphenylmilchsäure.

Versuch 2.

Am 6. Sept. erhielt das Kaninchen dreimal je 2 g d,l-Tyrosin in je 3stündigem Intervall mit Schlundsonde.

Der Harn wurde in gleicher Weise, wie oben beschrieben, gesammelt und verarbeitet.

In diesem Versuche wurden 0,3291 g Oxyphenylbrenztraubensäure isoliert, ohne daß Oxyphenylmilchsäure gefunden wurde.

Der mit Äther erschöpfte Harn wurde mit Natriumbicarbonat neutralisiert, mit Bleiacetat und Bleiessig gefällt und das entbleite Filtrat in der Kälte stehengelassen. Hierbei schied sich eine kleine Menge Tyrosin aus.

Folgende Tabelle zeigt die Resultate, die sich aus den obigen 2 Versuchen ergaben:

Eingegebenes Tyrosin	Ätherlösliche Substanz	Oxyphenylbrenztraubensäure	Oxyphenylmilchsäure
g	g	g	g
l-Tyrosin 6	2,2826	0,3021	ca. 0,1
d,l-Tyrosin 6	2,0362	0,3291	0

Versuch 3.

In folgenden 2 Versuchen wurde ein 2750 g schweres Kaninchen benutzt:

Am 10. Sept. erhielt das Kaninchen dreimal je 2 g d,l-Tyrosin in je 3stündigem Intervall mit Schlundsonde.

Der Harn wurde während 34 Stunden nach der ersten Tyrosineinführung gesammelt. Er wurde mit Schwefelsäure angesäuert und wiederholt mit Äther ausgeschüttelt.

Aus dem Ätherrückstand konnten wir 0,3406 g Oxyphenylbrenztraubensäure nebst einer Spur von Oxyphenylmilchsäure(?) isolieren. Ferner enthielt der Harn eine kleine Menge Tyrosin.

Versuch 4.

Am 13. Sept. bekam das Tier dreimal je 2 g l-Tyrosin in je 3stündigem Intervall im Magen. mit Schlundsonde.

Der Harn wurde während 34 Stunden nach der ersten Tyrosineinführung gesammelt und verarbeitet wie beschrieben. Dadurch konnten wir 0,3808 g Oxyphenylbrenztraubensäure und ca. 0,1 g Oxyphenylmilchsäure isolieren, welche letztere durch die Bestimmung des Krystallwassers und der spezifischen Drehung als l-Oxyphenylmilchsäure identifiziert wurde.

0,0492 g an der Luft getrockneter Substanz verloren bei 105—110°C.
0,0024 g H₂O.

Gef.: Ber. f. C₉H₁₀O₄ + $\frac{1}{2}$ H₂O:

4,87% H₂O

4,71% H₂O

0,0464 g getrockneter Substanz drehen, in 10,23 g Wasser gelöst, in dm-Rohr 0,085° nach links.

$$[\alpha]_D = -18,72^\circ$$

Eingegebenes Tyrosin	Ätherlösliche Substanz	Oxyphenylbrenztraubensäure	Oxyphenylmilchsäure
g	g	g	g
d,l-Tyrosin 6	1,6043	0,3406	0
l-Tyrosin 6	1,8465	0,3808	ca. 0,1

Versuch 5.

In folgenden 2 Versuchen wurde ein 2750 g schweres Kaninchen benutzt:

Am 25. Sept. erhielt das Tier 4 g l-Tyrosin in 2 Portionen in 3stündigem Intervall.

Der Harn wurde 30 Stunden lang seit dem Beginn der Tyrosinfütterung gesammelt. Er lieferte 0,4016 g Oxyphenylbrenztraubensäure und 0,05 g Oxyphenylmilchsäure. Die letztere wurde mit der im 1. Versuch gewonnenen Oxyphenylmilchsäure vereinigt und die spezifische Drehung bestimmt. Sie zeigte dabei eine so starke Linksdrehung, daß sie gerade der spezifischen Drehung der reinen l-Oxyphenylmilchsäure entsprach.

Versuch 6.

Am 28. Sept. bekam das Tier 4 g d,l-Tyrosin in 2 Portionen in 3stündigem Intervall.

Der Harn, der 30 Stunden lang seit dem Beginn der Tyrosinfütterung gesammelt wurde, lieferte 0,3195 g Oxyphenylbrenztraubensäure, aber keine Oxyphenylmilchsäure.

Gegebenes Tyrosin g	Ätherlösliche Substanz g	Oxyphenylbrenztraubensäure g	Oxyphenylmilchsäure g
l-Tyrosin 4	1,2817	0,4016	0,05
d,l-Tyrosin 4	1,1847	0,3195	0

Aus den Versuchen geht hervor, daß das Kaninchen schon bei Einführung einer relativ kleinen Menge Tyrosin, unabhängig von seiner optischen Eigenschaft, imstande ist, im Harn Oxyphenylbrenztraubensäure auszuscheiden. Es ist besonders dabei beachtenswert, daß die Menge der ausgeschiedenen Oxyphenylbrenztraubensäure, die sich aus den Versuchen an ein und demselben Kaninchen ergab, durch die optische Eigenschaft des eingegebenen Tyrosins nicht auffallend beeinflußt wurde, während Oxyphenylmilchsäure nur bei Einführung des l-Tyrosins in nennenswerter Menge ausgeschieden wurde.

Gelegentlich haben wir versucht, ob der tierische Organismus Oxyphenylmilchsäure in Oxyphenylbrenztraubensäure überzuführen vermag.

Hierzu wurde ein Kaninchen vom Körpergewicht 3370 g benutzt, dem 5 Tage lang jeden Tag 3 g d,l-Oxyphenylmilchsäure als Natriumsalz auf einmal in den Magen eingeführt wurden.

Nach Einführung der Oxyphenylmilchsäure wurde je 24stündiger Harn unter Vermeidung der Fäulnis gesammelt. Jeder Harn wurde mit Schwefelsäure angesäuert und gründlich ausgeäthert und der Äther abdestilliert. Die Ätherrückstände wurden der Untersuchung unterzogen, und zwar einerseits durch die Reaktion (Eisenchloridreaktion), andererseits durch die Isolierung (am vereinigten Rückstand ausgeführt), auf Oxyphenylbrenztraubensäure geprüft mit negativen Resultaten.

Das spricht dafür, daß die Umwandlung der Oxyphenylmilchsäure in Oxyphenylbrenztraubensäure im tierischen Organismus wenigstens nicht leicht stattfinden kann.

Aber man kann nicht behaupten, daß diese Umwandlung im Organismus gar nicht vor sich geht, wenn man besonders das Resultat von Y. Kotake und Y. Mori¹⁾, das beweist, daß Phenylmilchsäure im tierischen Organismus in Phenylbrenztraubensäure übergeführt wird, in Betracht zieht.

Das Resultat findet sich in folgender Tabelle:

Verabreichte d,l-Oxyphenyl- milchsäure g	Harn		Ätherlösliche Substanz aus dem Harn		
	Menge ccm	Reakt.	Eisenchlorid- reaktion	Drehung	d,l-Oxyphenyl- milchsäure ²⁾ g
	180	alk.	—	0	0
3	210	„	—	+ 0,05°	1,6795
3	215	„	—	0	1,4826
3	220	„	—	0	1,1735
3	220	„	—	0	1,7235
3	250	„	—	0	0,8330
	240	„	—	0	0

¹⁾ Siehe oben.

²⁾ Die Säure wurde gereinigt und der Verlust an Substanz war dabei ziemlich groß.