

Über l-Oxyphenylmilchsäure und ihr Vorkommen im Harn bei Phosphorvergiftung.

Von

Yashiro Kotake (Osaka, Japan).

(Aus dem Universitäts-Laboratorium für medizinische Chemie und experimentelle Pharmakologie zu Königsberg i. Pr.)

(Der Redaktion zugegangen am 15. März 1910.)

Neubauer¹⁾ hat aus seinen interessanten Beobachtungen über den Abbau von Aminosäuren im gesunden und kranken Organismus den Schluß gezogen, daß die Aminosäuren durch oxydative Desamidierung in die entsprechenden Ketonsäuren übergehen, und er hat bei der Aufstellung dieser These auch die vorliegenden Beobachtungen einer kritischen Besprechung unterzogen, die für den Abbau der Aminosäuren über die Alkoholsäuren sprechen. Dabei weist Neubauer darauf hin, daß die Säure, welche Blendermann²⁾ nach sehr reichlicher Tyrosinfütterung im Kaninchenharn gefunden und als Oxyphenylmilchsäure auf Grund der Analysenzahlen bezeichnet hat, noch der Identifikation bedürfe. Denn die bisher allein dargestellte racemische p-Oxyphenylmilchsäure von Erlenmeyer und Lipp³⁾ schmilzt im wasserhaltigen Zustand bei 115—122°, wasserfrei bei 144°, Blendermanns Säure dagegen bei 162—164°.

Annähernd den gleichen Schmelzpunkt hat die von Schulzen und Riess⁴⁾ bei akuter gelber Leberatrophie gefundene Säure, deren Verschiedenheit von der p-Oxymandelsäure in der nachfolgenden Abhandlung nachgewiesen wurde, und eine Säure, die Baumann⁵⁾ im menschlichen Harn nach Phosphorvergiftung fand und für wahrscheinlich mit der Substanz von Schulzen und Riess identisch erklärte.

Um in diese Verhältnisse Klarheit zu bringen, habe ich

¹⁾ Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. XCV, S. 211 (1908).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. VI, S. 234 (1882).

³⁾ Liebigs Annalen, Bd. CCXX, S. 226 (1883).

⁴⁾ Ann. d. Charité-Krankenhauses, Bd. XV, S. 1 (1869), s. S. 74.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. VI, S. 192 (1882).

auf Veranlassung von Prof. Ellinger die optisch-aktive p-Oxyphenylmilchsäure aus l-Tyrosin dargestellt und im Harn von Hunden, die mit Phosphor vergiftet waren, nach der gleichen Säure gesucht. Wie aus dem folgenden zu ersehen ist, stimmt die l-Oxyphenylmilchsäure mit der Beschreibung von Blendermann gut überein und im Harn nach Phosphorvergiftung war in beiden untersuchten Fällen die gleiche Säure nachweisbar.

Darstellung der l-Oxyphenylmilchsäure aus l-Tyrosin.

5 g l-Tyrosin aus Casein wurden in 1 l Wasser, dem 30 ccm Normalschwefelsäure zugefügt waren, durch Erwärmen gelöst und bei 60—70° mit 3,157 g Baryumnitrit in wässriger Lösung versetzt. Die Flüssigkeit wurde über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen, wobei sie sich dunkler färbte. Die vom schwefelsauren Baryum abfiltrierte Lösung, die auf Kongopapier nicht reagierte, wurde im Apparate von Kutscher und Steudel 3mal 24 Stunden mit Äther extrahiert. Der dunkel gefärbte Ätherrückstand wurde nach 1tägigem Stehen krystallinisch. Die Ausbeute betrug 2—2,3 g. Da aber das Rohprodukt anscheinend noch recht unrein war, so mußte es durch Entfärben mit Tierkohle und wiederholte Umkrystallisation aus Wasser gereinigt werden, wobei nur 0,4—0,45 g fast reine Säure gewonnen wurden. Die Substanz krystallisierte nach zweimal wiederholtem Umkrystallisieren in langen Nadeln vom Schmelzpunkt 162—164° und ist selbst in kaltem Wasser ziemlich leicht löslich; sie dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links.

0,1120 g Substanz (bei 105° getrocknet) gaben 0,2340 g CO₂ und 0,0556 g H₂O.

Berechnet für C₉H₁₀O₄:

C = 59,34%

H = 5,49%.

Gefunden:

C = 59,17%

H = 5,49%.

Einfacher gestaltet sich die Isolierung der Oxyphenylmilchsäure auf folgendem Wege: Die vom Baryumsulfat abfiltrierte Flüssigkeit wird mit Bleizuckerlösung ausgefällt, wobei ein geringer dunkler Niederschlag sich absetzt. Nach dem Abfiltrieren wird mit Bleiessig die Oxyphenylmilchsäure fast quantitativ gefällt. Aus dem mit H₂S zersetzten Bleiniederschlag

krystallisiert die Säure ziemlich rein aus. Durch Kochen mit wenig Tierkohle wird die Lösung entfärbt und beim Einengen auf dem Wasserbad scheidet sich die reine Säure in ebenso geringer Ausbeute wie nach dem obigen Verfahren ab. Aus dem Filtrat vom Bleiessigniederschlag wurden 45% des angewandten Tyrosins zurückgewonnen.

Sowohl die freie Säure wie ihr durch Kochen mit frisch gefälltem CaCO_3 erhaltenes Calciumsalz enthalten Krystallwasser, das sie bei $105\text{--}110^\circ$ verlieren.

0,1575 g freie Säure verloren 0,0075 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_4 + \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$: Gefunden:

$\text{H}_2\text{O} = 4,71\%$. $4,76\%$.

1. 0,1502 g Calciumsalz verloren 0,0253 g H_2O .

2. 0,1432 „ „ „ 0,0232 „ „

Berechnet für $(\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_4)_2\text{Ca} + 4\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$: Gefunden:

$\text{H}_2\text{O} = 16,63\%$. 1. $16,84\%$; 2. $16,62\%$.

Die Bestimmung der spezifischen Drehung der in Wasser gelösten Säure gab folgende Werte:

1. 0,2857 g Substanz, Gesamtgewicht der Lösung: 18,1965 g, Prozentgehalt: 1,57%. Drehung im 2 dm-Rohr bei Natriumlicht — $34'$. Mithin $[\alpha]_D = -18,05^\circ$.

2. 0,3236 g Substanz, Gesamtgewicht der Lösung: 9,3893 g, Prozentgehalt: 3,45%. Drehung im 2 dm-Rohr — $1^\circ 14'$ bei Natriumlicht. Mithin $[\alpha]_D = -17,92^\circ$.

d-l-Oxyphenylmilchsäure.

Um mich von der Richtigkeit der Angaben von Erlenmeyer und Lipp zu überzeugen, stellte ich auch racemische Oxyphenylmilchsäure her und zwar durch Reduktion von Oxyphenylbrenztraubensäure, die ich wie Neubauer nach der Vorschrift von Plöchl¹⁾ durch Kondensation von p-Oxybenzaldehyd mit Hippursäure bei Gegenwart von Essigsäureanhydrid und Natriumacetat und Spaltung des gebildeten Lactimids (Azlactons) mit starker Natronlauge erhielt. Neubauer erwähnt bereits, daß Reduktion mit der berechneten Menge Natriumamalgam zur p-Oxyphenylmilchsäure führt.

0,1100 g Substanz (bei 105° getrocknet) gaben 0,2385 g CO_2 und 0,0525 g H_2O .

¹⁾ Ber. d. chem. Ges., Bd. XVI, S. 2817 (1883).

Berechnet für $C_9H_{10}O_4$:

C = 59,34 %

H = 5,49 %

Gefunden:

59,13 %

5,31 %

Die Säure enthält $\frac{1}{2}$ Molekül Krystallwasser.0,204 g lufttrockene Substanz verloren bei 105—110° 0,0105 g H_2O .Berechnet für $C_9H_{10}O_4 + \frac{1}{2} H_2O$:

Gefunden:

 $H_2O = 4,71$ %

5,15 %

Der Schmelzpunkt der wasserhaltigen Säure lag bei 118 bis 119°, die wasserfreie Substanz schmolz bei 144—145°.

Die Daten stimmen also sämtlich mit denjenigen von Erlenmeyer und Lipp überein.

Versuche an Hunden mit Phosphorvergiftung.

Zwei kleine Hunde von etwa 7—8 kg Gewicht erhielten nachmittags 4 Uhr je 0,01 g Phosphor in Pillenform, am nächsten Vormittag 9 Uhr 30 Min. je 0,02 g; beide starben an dem der zweiten Verabreichung folgenden Tage, der eine um 11 Uhr 30 Min vormittags, der andere um 3 Uhr nachmittags. Die Sektion ergab bei beiden ausgedehnte Magen- und Darmblutungen, sowie fettige Degeneration der Leber und der Niere.

Der erste Hund entleerte 83 ccm Harn am zweiten Tage und hatte 90 ccm bei der Sektion in der Blase, der zweite entleerte 92 ccm und in der Blase fanden sich 34 ccm. Die Harne reagierten deutlich oder stark sauer, waren eiweißfrei und gaben mehr oder minder starke Millonsche Reaktion.

Die einzelnen Portionen wurden gesondert auf dem Wasserbade eingedampft. Der Rückstand, der deutlich nach Fleischextrakt roch, wurde mit heißem Alkohol extrahiert. Nach Verjagen des Alkohols wurde der Alkoholextrakt mit Wasser aufgenommen, mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Äther erschöpfend ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Äthers blieben Krystalle zurück; die vereinigten krystallinischen Rückstände wurden zweimal aus Wasser umkrystallisiert. So wurden lange farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 162—164° erhalten. Die Lösung der Krystalle drehte links und war genau so stark wie l-Oxyphenylmilchsäure der gleichen Konzentration.

Die Ausbeuten an Ätherrückstand beim ersten Hund betrugen in der ersten Portion 0,05 g, im Blasenharn 0,138 g, beim zweiten Hund einige Milligramme und 0,062 g.

Die umkrystallisierte Säure wurde zunächst in das Calciumsalz übergeführt und in diesem das Krystallwasser bestimmt.

0,1450 g Calciumsalz verloren bei 105—110° getrocknet 0,024 g H₂O.

Berechnet für (C₉H₇O₄)₂Ca + 4½ H₂O: Gefunden:

H₂O = 16,63% 16,55%.

Aus dem Calciumsalz wurde die freie Säure zurückgewonnen und analysiert.

0,1638 g Substanz verloren bei 105—110° getrocknet 0,008 g H₂O.

Berechnet für C₉H₁₀O₄ + ½ H₂O: Gefunden:

H₂O = 4,8% 4,7%.

0,1075 g (bei 105° getrocknet) gaben 0,2345 g CO₂ und 0,0575 g H₂O.

Berechnet für C₉H₁₀O₄: Gefunden:

C = 59,34% 59,49%

H = 5,49% 5,94%.

Durch diese Befunde im Harn von Hunden nach Phosphorvergiftung ist das Vorkommen von l-Oxyphenylmilchsäure sichergestellt. Es kann danach auch keinem Zweifel unterliegen, daß die von Baumann aus Menschenharn nach Phosphorvergiftung gewonnene Säure, die wegen Mangels an Material nicht analysiert wurde, die gleiche Substanz war, und es ist sehr wahrscheinlich, daß auch Blendermanns Säure mit ihr identisch ist.

Einen Schluß aus dem Vorkommen von Oxyphenylmilchsäure unter den genannten Bedingungen auf den normalen Abbau des Tyrosins zu ziehen, halte ich immerhin für gewagt. Selbst dem Befund von Blendermann möchte ich für diese Frage kein zu großes Gewicht beilegen. Denn die Auffindung der Oxyphenylmilchsäure scheint nur bei einer sehr starken Überschwemmung des Körpers mit Tyrosin erreichbar zu sein. Sie gelang Blendermann nur einmal bei einem Kaninchen, das Tagesdosen von 3 bzw. 6 g erhalten hatte. Ich habe bei längerer Verabreichung von täglich je 2 g Tyrosin an 2 Kaninchen — im ganzen wurden 40 g verfüttert — keine Spur Oxyphenylmilchsäure, vielmehr nur Oxyphenylelessigsäure und Oxyphenylpropionsäure in etwas vermehrter Menge isolieren können. Verschiedene Versuche der gleichen Art, die ich früher in Osaka angestellt hatte, waren ebenso negativ verlaufen.