

7. *β -Oxybuttersäure.* $C_4H_8O_3$ oder $CH_3-CH(OH)-CH_2-COOH$.

Diese Säure, ein Produkt von zerfallenen Eiweißstoffen des Organismus, findet sich besonders in schweren Fällen von Diabetes und hier in manchmal großer Menge; auch bei anderen Krankheiten, Scharlach, Masern, Diphtherie, bei Skorbut wurde sie vorgefunden.

Nach Magnus Levy bildet sich die β -Oxybuttersäure nicht aus Eiweiß, sondern aus Fett durch Abbau, und zwar in den Muskeln der Leber u. s. w. Mit der Oxybuttersäure treten größere Mengen von Ammoniak auf. Weiterhin hat die β -Oxybuttersäure auch noch deshalb Interesse, weil sie die Ebene des polarisierten Lichtes nach links dreht (spez. Drehung im Mittel $[\alpha]_D = -24,12^\circ$) und die quantitative Bestimmung des Harnzuckers durch Polarisation beeinträchtigen und unmöglich machen kann. In der 24stündigen Harnmenge von Diabetikern wurden von Külz 19–50 g, von Wolpe 15–16 g nachgewiesen.

Die Oxybuttersäure wird stets von Acetessigsäure begleitet.

Darstellung und Nachweis.

Man untersucht den Harn zunächst auf Acetessigsäure (mit Eisenchlorid); nur in solchen Harnen, die Acetessigsäure enthalten, kann man auf die Gegenwart von β -Oxybuttersäure rechnen.

1. Nach Stadelmann¹⁾ vergärt man diabetischen Harn, kocht zur Entfernung des Harnstoffes mit frisch gelöschtem Kalk, bis sich kein Ammoniak mehr entwickelt, dampft ein und zieht den Rückstand mit Alkohol aus. Aus dem Verdunstungsrückstande, den man mit Schwefelsäure ansäuert, wird die β -Oxybuttersäure mit Äther ausgeschüttelt, der Rückstand der verdampften ätherischen Lösung in Wasser gelöst und mit kohlensaurem Zink auf dem Wasserbade erwärmt. Man filtriert und konzentriert auf dem Wasserbade; das Zinksalz kristallisiert gut, ist in absolutem Alkohol schwer löslich und bildet Nadeln. Aus dem Zinksalz erhält man durch Zersetzen mit Schwefelwasserstoff die freie Säure, deren Lösung im Polarisationsapparate links dreht.

¹⁾ Zeitschr. Biolog. 23. 457.

Külz¹⁾ stellt aus dem Ätherrückstande das Bleisalz der Säure her (vorsichtiger Zusatz von basisch essigsaurem Blei), zersetzt dieses mit Schwefelwasserstoff und führt die im Verdampfungsrückstande vorhandene Säure in das Barytsalz und dann durch Silbersulfat in das Silbersalz über, das durch Umkristallisieren gereinigt und durch Schwefelwasserstoff zerlegt wird. Beim Abdampfen des Filtrates hinterbleibt die Säure als farbloser Sirup.

2. Ein weiterer Nachweis beruht auf der Bildung von α -Krotonsäure aus β -Oxybuttersäure. Man dampft nach Külz den Harn — nach dem Vergären des vorhandenen Zuckers — zum Sirup ein und destilliert den mit dem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure vermischten Rückstand; das Destillat fängt man ohne jede Kühlung in einem Reagensglase auf; durch starkes Abkühlen des Destillates kann die α -Krotonsäure kristallinisch erhalten werden. Man preßt die Säure ab und bestimmt den Schmelzpunkt ($70-72^\circ$), oder man schüttelt das Destillat mit Äther aus und läßt verdunsten.

Durch Auswaschen mit kaltem Wasser werden Beimengungen, wie Benzoesäure (aus der Spaltung der Hippursäure) und Phenole entfernt.

Quantitative Bestimmung.

1. Nach P. Bergell.²⁾

Ausführung.

100—300 ccm Harn werden, nachdem vorhandener Zucker durch Gärung entfernt ist, mit Soda schwach alkalisch gemacht, zum Sirup eingedampft und der Sirup nach dem Erkalten mit sirupöser Phosphorsäure, 20—30 g entwässertem Kupfersulfat und 20—25 g feinem Sand verrieben. Die so getrocknete Masse wird in einer Papierpatrone im Soxhletschen Extraktionsapparat eine Stunde lang mit durch geglühtes Kupfersulfat entwässertem Äther extrahiert, der Äther abdestilliert und der Rückstand mit 20 ccm Wasser aufgenommen. Die wässerige Lösung entfärbt man mit etwas Tierkohle und polarisiert die Lösung. Aus dem Werte der spezifischen Drehung läßt sich die vorhandene Menge der β -Oxybuttersäure bestimmen und berechnen. (Spezif. Drehung $[\alpha]_D = -24,12^\circ$.)

¹⁾ Zeitschr. Biolog. 23. 329.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1901. 33. 310.

2. Nach E. Darmstädter.¹⁾

Prinzip.

Beruhet auf der Zerlegung der β -Oxybuttersäure in Wasser und Krotonsäure durch konzentrierte Mineralsäuren.

Ausführung.

100 ccm Harn werden nach dem Alkalischemachen mit Soda bis fast zur Trockne eingedampft. Den Rückstand löst man in 150–200 ccm Schwefelsäure (50–55%) und destilliert innerhalb 2–2½ Stunden 300–350 ccm Flüssigkeit ab, indem man aus einem im Destillierkolben befindlichen Scheidetrichter Wasser entsprechend der abdestillierten Menge zufließen läßt. Das Destillat wird 2–3 mal mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung verdunstet und der Rückstand auf ca. 160° erhitzt, um allenfalls vorhandene Fettsäuren zu entfernen. Man löst dann in 50 ccm Wasser, filtriert und titriert mit $\frac{1}{10}$ Natronlauge.

1 ccm $\frac{1}{10}$ N. NaOH = 0,0086 g Krotonsäure. Oxybuttersäure = 1,21 Krotonsäure.

Beurteilung.

Die Resultate sollen sehr genau sein.

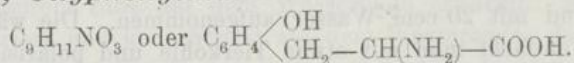
Eigenschaften.

Farb- und geruchloser Sirup, auch in glashellen plattenförmigen Kristallen kristallisierend, einbasische Säure, dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links; mit Schwefelsäure oder schon mit Wasser erhitzt, bildet sich α -Krotonsäure; durch Oxydation liefert die Oxybuttersäure Aceton. Die Salze sind leicht löslich in Wasser.

8. *Leucin, α -Amidocaprönsäure.* $C_6H_{13}NO_2$ oder

$$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$$

9. *Tyrosin, Para-Oxyphenyl- α -Amidopropionsäure, Oxyphenylalanin.*



Außer Cystin treten als weitere Amidosäuren im Harn zwei unmittelbare Spaltungsprodukte der Eiweißkörper auf, das Leucin und das Tyrosin.

Beide Stoffe pflegen gewöhnlich gemeinsam im patho-

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1902/03. 37. 355.