

Darstellung und Konstitution des Histidins

von

Sigmund Fränkel (Wien).

Ausgeführt mit Unterstützung der kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien.

Aus dem physiologisch-chemischen Institute in Straßburg i. E.
(Prof. Hofmeister).

(Vorgelegt in der Sitzung am 19. März 1903.)

Histidin wurde ziemlich gleichzeitig von Kossel und Hedin entdeckt. Ersterer¹ fand es als Spaltungsprodukt des Sturins, Hedin² stellte es aus hydrolysiertem Eiweiß dar.

Über diese Base ist bis nun bekannt, daß sie ein Chlorhydrat gibt der Formel $C_6H_9N_3O_2 \cdot HCl + H_2O$, F. 251 bis 252° C.,³ und ein Dichlorid,⁴ ohne Krystallwasser krystallisierend, das bei 225° C. sintert und unter Salmiakentwicklung bei 231 bis 232° C. schmilzt. Die freie Base nimmt keine Kohlensäure auf, gibt mit Silberlösung und Ammoniak die Verbindung $C_6H_7N_3O_2 Ag_2$, welche sich im Überschusse von Ammoniak wieder löst. Histidin ist optisch aktiv, linksdrehend, die Salze rechtsdrehend. Es gibt Doppelsalze mit Platinchlorid und Silbernitrat.⁵ Das Monochlorhydrat krystallisiert in Rhomben.⁶ Über die Konstitution dieser Base lagen bis vor kurzem keinerlei Untersuchungen vor, was wohl der Schwierigkeit der Darstellung und den geringen Ausbeuten an dieser Substanz nach den bis nun benützten Verfahren zuzuschreiben ist.

¹ Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chemie, XXII, 182.

² Hedin, » » » » XXII, 191.

³ Kossel, » » » » XXV, 192.

⁴ Kutscher, » » » » XXVIII, 383.

⁵ Kossel, » » » » XXVIII, 383.

⁶ Bauer, » » » » XXII, 285.

Vor kurzem, während der Fertigstellung dieser Untersuchung, erweiterte R. O. Herzog¹ unsere spärlichen Kenntnisse über Histidin dahin, daß diese Verbindung beim Erwärmen Biuretreaktion gibt, weder Methoxyl noch Methyl am N enthält, bei der Oxydation mit Permanganat Blausäure, Kohlensäure und Ammoniak bildet, ferner ein Hydroxylaminderivat liefert und mit Dimethylmalonylguanid nicht identisch ist. So interessant diese Resultate auch an und für sich sein mögen, liefern sie bis nun doch keine experimentelle Grundlage zu einer Anschauung über den Aufbau dieser vom physiologischen Gesichtspunkte, wie wir sehen werden, äußerst interessanten Base.

Die bisher benützten Methoden der Histidindarstellung² müssen umso eher verlassen werden, als es bei ihrer Verwendung nur einem glücklichen Zufalle zu verdanken ist, wenn sie zum Ziele führen. Daraus ist vermutlich das Mißlingen der Darstellung von Histidin aus der sogenannten Histidinfraktion (nach Kossel-Kutscher) bei mehreren Untersuchern zu erklären. Histidin ist nämlich im Überschusse von Phosphorwolframsäure löslich (Beobachtung von Gumbel im hiesigen Laboratorium).

Darstellung des Histidinchlorhydrates.

Durch Lawrow's³ Untersuchungen wurde bekannt, daß das Hämoglobinmolekül sich durch einen großen Basenreichtum auszeichnet; etwa 20·3% des Globingewichtes betragen die Basen, die nach Hydrolyse des Moleküls durch Phosphorwolframsäure fällbar waren, und 12·4% des Basengemisches machte der Histidingehalt aus.

Es empfahl sich daher, für meine Darstellungen das leicht zugängliche Hämoglobin zu verwenden.

5 kg Hämoglobin wurden mit 15 l rauchender Chlorwasserstoffsäure 12 Stunden lang gekocht und hierauf leitete ich

¹ Herzog, Zeitschr. f. physiol. Chemie, XXXVII, 248.

² Siehe auch Kossel und Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Chemie, XXXI, 165.

³ Chemische und mediz. Unters. Festschrift f. M. Jaffé. Braunschweig, 1903, S. 445, und Ber. der deutsch. chem. Ges., 34, 101.

ebenso lange überhitzten Wasserdampf in die kochende Lösung ein, um die Salzsäure möglichst zu verjagen. Die resultierende Flüssigkeit wurde eingeengt, mit Natronlauge neutralisiert und mit Soda sehr schwach alkalisch gemacht. Nun wurde 1 kg Tierkohle zugesetzt und damit zwei Stunden lang gekocht und nach dem Erkalten filtriert und der Rückstand abgesaugt. Es resultierte eine klare, schwach gelb gefärbte Lösung. Diese wurde mit 6 kg Sublimat, in siedendem Alkohol gelöst, gefällt, wobei immer die Reaktion mit Soda stark alkalisch gehalten wurde. Nach dem Absitzen des Niederschlages wurde noch so viel Natriumcarbonatlösung zugesetzt, bis keine Fällung mehr zu erzielen war. Erst nach einem Tage wurde die über dem Niederschlage stehende Flüssigkeit abgehebert, da sich noch mehr von der Histidinecksilberverbindung aus der salzreichen Lösung abschied. Der Niederschlag, durch dreimaliges Dekantieren mit Wasser gewaschen, wurde hierauf filtriert und auf dem Saugfilter möglichst salzfrei gewaschen, in Wasser gut verteilt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das schwach gefärbte Filtrat vom Schwefelquecksilber wurde auf dem Wasserbade stark eingeengt bis zur beginnenden Ausscheidung von Kochsalz, welches in mäßigen Mengen noch vorhanden war. Der vom Chlornatrium abgesaugte Sirup wurde mit Äther tüchtig durchgeschüttelt, wobei schon im Scheidetrichter eine rapide Krystallisation des Histidinchlorhydrates erfolgte.

Die Ausbeute an rohem Histidinchlorhydrat betrug 180 g.

Die eigentümliche Erscheinung, daß der dargestellte Sirup nur eine äußerst geringe Neigung zur Krystallisation zeigt, obgleich Histidinchlorhydrat eine eminent krystallisationsfähige Substanz ist, beruht auf der Anwesenheit einer geringen Menge von α -Thiomilchsäure.

Ich erinnere daran, daß nach einer der eben beschriebenen Methode ganz analogen Ernst Friedmann¹ in Hofmeister's Laboratorium α -Thiomilchsäure aus Hornspänen gewonnen hat. Die α -Thiomilchsäure ließ sich auch im vorliegenden Falle als solche durch ihre charakteristischen Reaktionen erkennen.

¹ E. Friedmann, Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie III. Band, 4. bis 6. Heft, 1902.

Sie war ätherlöslich, gab mit Eisenchlorid eine vorübergehende intensiv blaue Färbung und mit verdünnter Kupfersulfatlösung eine blauviolette Reaktion. Alkalische Bleilösung schwärzte sie beim Kochen.

Es ist somit α -Thiomilchsäure als Spaltungsprodukt des Hämoglobins, respektive der Globinkomponente erkannt.

Das in angeführter Weise erhaltene rohe Histidinchlorhydrat wurde mehrmals aus siedendem Wasser umkrystallisiert und sowohl durch Elementaranalyse als auch Schmelzpunkt und die charakteristische Krystallform identifiziert.

(Aus den Mutterlaugen ließ sich durch Alkoholzusatz und Aufstreichen auf Platten noch Histidin gewinnen.)

Die Elementaranalyse des bei 80° getrockneten Präparates ergab:

0·1876 g gaben	0·2372 CO ₂ und 0·0959 H ₂ O,
entsprechend	0·0647 C und 0·01065 H
oder	34·48% C und 5·67% H.

Berechnet für

$C_6H_9N_3O_2 \cdot HCl + H_2O \dots 34\cdot36\%$ C und $5\cdot72\%$ H.

Die Angaben über das Verhalten des Krystallwassers im Histidinchlorhydrat differieren. Kossel behauptet, daß die Verbindung das Krystallwasser bei 110° abgibt, Hedin konnte an seinem Histidinchlorhydrat erst bei 140° C. eine Abspaltung beobachten.

Mein Präparat verlor, bei 110° getrocknet, kein Krystallwasser, gab es erst bei 140° C. ab, was mit Hedin's Angabe übereinstimmt.

Freie Histidinbase.

Diese wurde nicht nach Hedin's etwas umständlichem Verfahren gewonnen. Ihre Darstellung gelingt, da Histidin sich nicht mit Kohlensäure verbindet, leicht durch Schütteln einer wässerigen Lösung des Histidinchlorhydrates mit einem kleiner Überschusse von Silbercarbonat. Nach dem Abfiltrieren des Chlorsilbers und eventuellen Entfernen von gelöstem Silber mit Schwefelwasserstoff wird eingeengt, worauf ohneweiters die Histidinbase in großen, mehrere Millimeter langen Krystallen anschießt.

F. 253° C. unter starkem Aufschäumen.

Die Elementaranalyse ergab:

0·1817 g gaben, bei 110° getrocknet,
0·3066 g CO₂ und 0·0937 g H₂O,
entsprechend 0·0836 g C und 0·0104 g H
oder 46·01% C und 5·72% H.

0·1845 g gaben V. 43·2 cm³ N bei T. 18° und B. 754,
entsprechend 0·04949 g N oder 26·83% N.

Berechnet für C₆H₉N₃O₂ C 46·45% H 5·80% N 27·09%
Gefunden C 46·01% H 5·72% N 26·83%

Das Acetylderivat wurde durch Erhitzen von freiem Histidin mit der zehnfachen Menge Essigsäureanhydrid am Rückflußkühler dargestellt. Es resultierte ein Sirup, welcher nach mehrmaligem Abdampfen mit Alkohol frei von Essigsäureanhydrid erhalten werden konnte. Das Reaktionsprodukt löste sich in Wasser oder Alkohol leicht. Die Lösung in Chloroform mit Petroläther versetzt, schied das Acetylprodukt als Sirup ab. Die Acetylverbindung zu krystallisieren gelang ebensowenig wie die Benzoylverbindung, welche ebenfalls leicht wasserlöslich ist.

Nach der eben beschriebenen Methode ist nun das Histidin mit sehr guter Ausbeute so leicht aus Eiweiß analysenrein zu gewinnen, dass es nun wohl das am leichtesten im reinen Zustande darstellbare Produkt der Eiweißspaltung ist.

Konstitution des Histidins.

Allgemeines.

Vorerst wurde ermittelt, daß Histidin weder Methyl an O oder N gebunden enthält. Die Bestimmungen nach Zeisel und Herzig-Mayer fielen negativ aus.

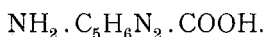
Histidin vermag sowohl aus Silbercarbonat als auch aus Kupfercarbonat Kohlensäure auszutreiben, die gebildeten Silber- und Kupfersalze sind leicht wasserlöslich, fallen amorph mit Alkohol, in dem sie schwer löslich sind, aus. Histidin hat also Säurecharakter. Beim Erhitzen des Monochlorhydrates über

den Schmelzpunkt wird reichlich Kohlensäure abgespalten. Es ist also Histidin als Carbonsäure aufzufassen, wodurch die Rolle der beiden Sauerstoffe erklärt erscheint. Die Formel ist nach dieser Richtung hin in $C_5H_8N_3 \cdot COOH$ aufzulösen.

Die Rolle der drei Stickstoffatome klärten folgende Versuche auf:

Bei Einwirkung von unterbromigsaurem Natron wird nur eines der drei Atome als elementarer Stickstoff abgespalten. Ebenso vermag salpetrige Säure nur ein N-Atom aus dem Histidin zu eliminieren. Dieses eine N-Atom ließ sich leicht durch Hydroxyl ersetzen, wobei das Histidin in Oxydesaminohistidin übergeht. Es ist also ein N in Form einer Aminogruppe im Histidin enthalten.

Die Formel läßt sich daher weiterhin auflösen in:



Das Histidin ist demnach eine Aminocarbonsäure eines Systems $C_5H_8N_2$, welches wir vorläufig Histin nennen wollen. Es wäre demnach Histidin die Aminohistincarbonsäure, das Oxydesaminohistidin die Oxyhistincarbonsäure.

Was ist nun das Histin? Die Anlagerung von Methyljodid an Histidin führte nicht zur Bildung einer Ammoniumbase.

Versuche, Histidin durch Kochen mit Barytwasser aufzuspalten, zeigten, daß hiebei weder Kohlensäure noch Ammoniak sich bildet, noch Harnstoff entsteht. Selbst beim Erhitzen von Histidin mit der achtfachen Menge Ätzbaryt und Wasser im Rohre bei 200° konnte nur ein Bruchteil des Histidins unter Abgabe von Kohlensäure und Bildung einer flüchtigen, stark alkalischen Base, die Platinchlorid stark reduziert, zerlegt werden. Ammoniak wurde nicht abgespalten. Es war daher jede Möglichkeit der Annahme eines Guanidinkomplexes ausgeschlossen.

Beim Erhitzen von trockenem Histidin mit Ätzkalk entwickelte sich reichlich Ammoniak, die Dämpfe gaben mit einem Fichtenspan und rauchender Salzsäure Pyrrolreaktion. Überdies entwickelte sich ein Geruch, identisch mit dem Geruche der flüchtigen, bei der Barytspaltung erhaltenen Base, der etwas an Pyrrolidin erinnert.

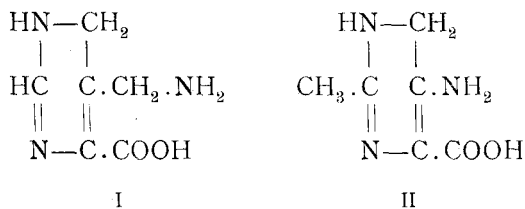
Doch ist im Histidin kein vorgebildeter Pyrrolkomplex enthalten, sondern Pyrrol bildet sich erst bei der trockenen Destillation, denn bei einem Versuche, den eventuell vorhandenen Pyrrolkern mittels Hydroxylamin nach Ciamician unter Aldoximbildung aufzuspalten, wurde das verwendete Histidin unverändert wiedergewonnen.

Nach den angeführten Versuchen war die Annahme berechtigt, da sich nur eines der drei N-Atome aus der Verbindung eliminieren läßt und wegen der großen Resistenz des rückbleibenden Komplexes allen spaltenden Eingriffen gegenüber, daß die beiden anderen N-Atome in einem Ringsysteme stehen und daß es sich also um einen Diazinring im Histin handelt und aus biologischen Gründen am wahrscheinlichsten, daß ein Pyrimidinring vorliegt.

Tatsächlich konnte auch der Beweis geliefert werden, daß das Histidin eine Aminocarbonsäure eines Pyrimidinderivates ist. Denn Histidin gibt unter bestimmten Bedingungen intensive Weidel'sche Reaktion in unzweifelhafter Weise, welche den Diazinring als Pyrimidinring charakterisiert.

Demnach ist das Histin am wahrscheinlichsten als Methyl-dihydropyrimidin aufzufassen, während Histidin als Amino-methyl-dihydropyrimidincarbonsäure sich charakterisieren läßt.

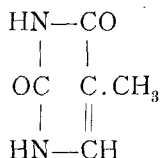
Es wären nun als naheliegend folgende Formelbilder in Betracht zu ziehen:



Für die Formel I spricht das sicherlich dem Histidin sehr nahestehende, von Kossel entdeckte Thymin, dessen Konstitutionserschließung wir Steudel¹ verdanken.

¹ Zeitschr. f. physiol. Chemie, XXX, 539, und XXXII, 241.

Thymin ist



Ferner spricht dafür die Pyrrolbildung beim Erhitzen mit Ätzkalk, welche durch Ringschluß zu erklären wäre.

Die Formel II hingegen ergibt glattere Beziehungen des Histidins zur Purinreihe und insbesondere zur Harnsäure.

Die Untersuchung des Histins und krystallisierter Oxydationsprodukte des Histidins, welche ich in der Hand habe, werden diese Stellungsermittlung ermöglichen, da in dem einen Falle eine zur Anhydridbildung neigende Dicarbonsäure zu erwarten ist, im anderen Falle, wenn man von der Oxyhistin-carbonsäure ausgeht, eine Oxydicarbonsäure entstehen sollte.

Von großem biologischen Interesse erscheint demnach die Ermittlung des Histidinaufbaues. Wir finden also im Eiweiß in Form von Histidin den Pyrimidin-komplex vorgebildet, welcher eine so wichtige Rolle im Molekül der Purinderivate und der Harnsäure selbst spielt. Es ergeben sich nun eine Reihe biologischer Gesichtspunkte und Fragen über die Entstehung und die Beziehungen zwischen Histidin und den Purinderivaten, welche an anderer Stelle abgehandelt werden sollen.

Das Histidin reiht sich demnach, wie die sonstigen bekannten Eiweißspaltungsprodukte, als α -Aminocarbonsäure ein. Nach der Aufklärung der Konstitution ist man aber nicht mehr berechtigt, es, wie bisher, als Diaminosäure anzuführen und mit Lysin und Arginin in eine Klasse einzureihen.

Experimenteller Teil.

Verhalten gegen unterbromigsaures Natron.

Das bei 100° C. getrocknete Histidinchlorhydrat wurde im Hüfner'schen Apparat mit unterbromigsaurem Natron behandelt.

Hiebei gaben:

0·2817 g V. 15·1 cm³ N bei 14° T. und 756 mm B.,
entsprechend 0·01767 g N oder 6·27% N.

Ein N erfordert $6 \cdot 68\%$ N.

Es war also von den drei N des Histidins nur ein N abgespalten.

Einwirkung von salpetrigsaurem Silber auf Histidinchlorhydrat.

Der Versuch mit unterbromigsaurem Natron wies darauf hin, nunmehr durch salpetrige Säure die anscheinend im Histidin vorhandene Aminogruppe hinauszuschaffen. Es wurden Versuche gemacht, in denen äquivalente Mengen von Histidinchlorhydrat mit salpetrigsaurem Silber umgesetzt wurden, weiterhin Versuche, in denen zum Histidinchlorhydrat so viel Salzsäure zutitriert wurde, daß eine Lösung des Histidindichlorids resultierte und nun auf je ein Molekül des Dichlorids zwei Moleküle salpetrigsaurer Silber zugesetzt wurden. Letztere Versuche lieferten der Hauptmenge nach das gleiche Produkt wie die erstgenannten, daneben aber noch eine sirupöse Säure in kleinen Mengen, welche zu fassen nicht gelang, die wohl als Oxydationsprodukt auftreten dürfte.

Oxyhistincarbonsäure-Oxydesaminohistidin.

5 g Histidinchlorhydrat wurden in 100 g Wasser gelöst und nun 3.75 g frisch gefälltes, vakuumtrockenes, salpetrigsaurer Silber zugefügt. Erst nach einiger Zeit beginnt beim Schütteln Stickstoffentwicklung, die etwa 12 Stunden andauert. Es wird vom Chlorsilber abfiltriert und etwaige Spuren von Cl oder Ag im Filtrate entfernt und nun bis zur beginnenden Krystallisation eingeengt und zur Mutterlauge der ersten Krystallisation wird Alkohol zugefügt. Die nun sehr reichlich sich ausscheidenden Krystalle werden abgesaugt und durch Einengen der Mutterlauge neben sehr kleinen Mengen gelb gefärbter Substanzen noch Krystalle erhalten. Die gewonnenen Krystalle werden am besten aus heißem Wasser oder verdünntem Alkohol, in welchem letzterem sie schwer löslich sind, mehrfach umkrystallisiert, bis der Schmelzpunkt konstant ist.

Dieses Oxydesaminohistidin krystallisiert beim Erkalten rasch in Rosetten von mehreren Millimetern Länge heraus, die

meist aus seidenglänzenden oder wasserhellen rhombischen Prismen bestehen. Die Substanz ist eine starke Säure.

F. 204° C. unter starkem Aufschäumen.

Die Elementaranalyse ergab:

0·1983 g gaben, bei 80° C. getrocknet,			
	0·3005 g CO ₂	und 0·1013 g H ₂ O,	
entsprechend	0·08195 g C	und 0·01125 g H,	
oder in Prozenten	41·34 C	und 5·67 H.	
0·1657 g gaben	0·2526 g CO ₂	und 0·0830 g H ₂ O,	
entsprechend	0·0689 g C	und 0·0922 g H	
oder in Prozenten	41·58 C	und 5·56 H.	
0·1773 g gaben	0·2682 g CO ₂	und 0·0905 g H ₂ O,	
entsprechend	0·0731 g C	und 0·01005 g H	
oder	41·28% C	und 5·67% H.	

Die N-Bestimmung nach Dumas ergab:

0·1671 g gaben V. 22·6 cm ³ N bei T. 18° und B. 773 mm	
entsprechend 0·02645 g N oder 15·83% N.	
0·1916 g gaben V. 26·4 cm ³ N bei T. 18° und B. 756·5 mm.	
entsprechend 0·0303299 g N oder 15·83% N.	

	C	H	N
Berechnet für			
C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₄ = C ₆ H ₈ N ₂ O ₃ + H ₂ O	41·37	5·74	16·09
Gefunden	41·34	5·67	15·83
	41·58	5·56	
	41·28	5·67	15·83

Diese Substanz gab, bei 110° getrocknet, ein Molekül Krystallwasser ab.

0·2076 g lufttrockene Substanz verloren bei zweistündigem Trocknen bei 110° 0·0221 g H₂O.

Berechnet für ein Molekül Krystallwasser 10·34%, gefunden 10·64%.

0·1858 g lufttrockene Substanz verloren bei vierstündigem Trocknen zur Konstanz bei 110° C. 0·0200 g H₂O. Gefunden 10·75%.

Da die Oxyhistincarbonsäure bei 204° unter CO_2 -Abgabe schmilzt, wurde der Versuch gemacht, auf diese Weise zum Oxyhistin zu gelangen.

Es wurden 2 g der Substanz, mit 5 g krystallisiertem Ätzbaryt innig vermengt, auf 205° im Kölbchen fünf Minuten lang erhitzt. Hierauf wurde die Schmelze mit Wasser versetzt und in der Wärme Kohlensäure eingeleitet und filtriert. Das Filtrat enthielt noch Barium, welches mit Schwefelsäure genau ausgefällt wurde. Die Lösung, mit Alkohol versetzt, schied vorerst unveränderte Oxyhistincarbonsäure ab, die durch den Schmelzpunkt und Elementaranalyse identifiziert wurde. Aus der weingeistigen Mutterlauge schied sich beim Einengen derselben eine nach dem Auskrystallisieren selbst in siedendem Wasser fast unlösliche Substanz aus, die bei 216° ohne Aufschäumen schmolz und anscheinend Oxyhistin ist. Die erhaltene Menge reichte zur Analyse nicht aus.

Versuch der Aufspaltung des Histidinchlorhydrates durch Erhitzen über den Schmelzpunkt.

Fein gepulvertes Histidinchlorhydrat wurde in einem Fraktionierkolben mit eingesetztem Thermometer im Schwefelsäurebade auf 255° erhitzt. Dem Kolben waren zwei Waschflaschen vorgelegt, von denen eine mit Barytwasser, die andere mit Palladiumchlorürlösung gefüllt war. Beim Erhitzen sublimierte reichlich Salmiak, welcher sich an den Kolbenwänden sowie im Ansatzrohre ausschied. Die Palladiumlösung zeigte keine Veränderung; aus dem Barytwasser, welches sich gleich zu Beginn der Reaktion trübte, schied sich im Verlaufe des Versuches reichlich Bariumcarbonat aus.

Der in eine Schaummasse umgewandelte Kolbeninhalt wurde in wenig Wasser gelöst, zur Trockene gebracht und nochmals erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Schmelze in wenig Wasser gelöst und die Lösung mit viel Alkohol versetzt; dabei schieden sich reichlich Krystalle ab, die sich als unverändertes Histidinchlorhydrat erwiesen. Die alkoholische Lösung gab beim Einengen nur noch eine geringe Ausscheidung der Ausgangssubstanz, der Rest war ein Sirup, der nun wieder in

Alkohol gelöst und mit alkoholischer Platinchloridlösung gefällt wurde.

Es fiel eine mikrokristallinische Substanz, welche inkonstante Zusammensetzung zeigte, sich nicht umkristallisieren ließ und selbst in siedendem Wasser sich nur zum kleinsten Teile löste. Das Platinat zeigte noch bei 260° kein Schmelzen, aber langsames Zersetzen.

Die Elementaranalyse ergab bei einem Präparate erster Darstellung:

0·3077 g gaben 0·2439 g CO_2 und 0·0704 g H_2O ,
entsprechend 0·0665 g C und 0·0078 g H
oder 21·61% C und 2·53% H.
0·3004 g gaben 31·99 cm^3 N bei $15\cdot7^\circ$ T. und B. 768 mm,
entsprechend 0·0377 g N oder 12·55% N.
0·0895 g gaben 0·0260 g Pt oder 29·05% Pt.

Bei einer zweiten Darstellung hingegen wurde gefunden (das Präparat war in salzsaurer Lösung mit PtCl_4 in Alkohol gefällt):

0·2042 g gaben, bei 110° getrocknet,
0·0928 g CO_2 und 0·0475 g H_2O ,
ferner 0·0742 g Pt,
entsprechend 0·0253 g C und 0·0053 g H
oder 12·39% C, 2·59% H, 36·33% Pt.
0·1912 g gaben V. 15·8 cm^3 N bei T. 20° und B. 749·5 mm,
entsprechend 0·01783 g N oder 9·27% N.

Nach diesen analytischen Resultaten dieser unlöslichen Platinsalze scheint es sich um das Platinat von Kondensationsprodukten des Histidins bei der pyrogenen Reaktion zu handeln.

Der Versuch wurde nun weiterhin folgendermaßen aufgearbeitet:

Die alkoholische Lösung wurde zur Trockene gebracht, mit Wasser aufgenommen und mit Schwefelwasserstoff von Platin befreit. Die platinfreie salzsaure Lösung wurde eingeeengt und dann wieder mit Alkohol aufgenommen. Mit Äther versetzt, schieden sich aus der alkoholischen Lösung nach sehr langem Stehen Krystalle ab. Aus der alkoholisch-ätherischen Lösung

krystallisierte eine zweite Substanz nach wochenlangem Stehen heraus, welche von der sirupösen Mutterlauge auf der Tonplatte befreit wurde.

Mit dem Studium dieser Produkte sowie mit der Darstellung im größeren Maßstabe bin ich eben beschäftigt, da man nach dem Gange der Reaktion (Abspaltung von Kohlensäure und Salmiak) in einer der beiden Substanzen wohl das Histin zu finden hoffen darf.

Versuch der Aufspaltung des Histidins mittels Hydroxylamin nach Ciamician.

2·64 g salzsaures Histidin, in 10 g 95prozentigem Alkohol suspendiert, werden mit 1·8 g Hydroxylaminchlorhydrat und 2·4 g wasserfreiem Natriumcarbonat unter Rückflußkühlung 12 Stunden lang gekocht. Durch fraktionierte Krystallisation wurde freies Histidin aus der Reaktionsmasse wiedergewonnen. Im Kühler war kein Sublimat von Ammoniumcarbonat zu bemerken, wie es sonst bei Aufspaltung von Pyrrolen nach Ciamician der Fall ist.

Versuche der Aufspaltung mittels Baryt.

5 g Histidinchlorhydrat wurden eine Stunde lang mit der fünffachen Menge mehrmals umkrystallisierten Barythydrats in wässriger Lösung erhitzt. Es erfolgte weder Trübung noch Verfärbung, weder Kohlensäure- noch Ammoniakabspaltung. Im Reaktionsprodukte konnte keine Spur Harnstoff nachgewiesen werden, da die alkoholisch-ätherische Lösung keinen Rückstand hinterließ. Es wurde nun versucht, bei 150° durch sechs Stunden im Pfungst'schen Autoklaven Histidin aufzuspalten.

5 g Histidinchlorhydrat, 40 g reinster Ätzbaryt und 70 g H₂O wurden in angeführter Weise in Reaktion gebracht. Nach dem Erkalten riecht die Flüssigkeit gar nicht nach Ammoniak, wohl aber schwach pyrrolidinartig und enthält wenig Bariumcarbonat. Die von Barium und Chlor befreite Flüssigkeit enthält nur Histidin neben minimalen Mengen einer sirupösen Base.

Da sich eine kleine Menge einer flüchtigen Substanz gebildet hatte, wurde nun 5 g Histidinchlorhydrat mit 40 g Ätzbaryt und 40 g Wasser im Rohre auf 195 bis 200° acht Stunden lang erhitzt, der Rohrinhalt verdünnt und abdestilliert. Es ging eine stark alkalisch reagierende Flüssigkeit über. Diese mit Salzsäure neutralisiert, gab mit keinem Alkaloidreagens Fällung oder auch nur Trübung.

Die salzsaure Lösung wurde mit Platinchlorid versetzt, das beim Einengen auf dem Wasserbade intensiv reduziert wurde. Nach dem Abfiltrieren von metallischem Platin und weiterem Einengen krystallisieren zweierlei Platinsalze. Das eine ist ein rubinrotes Salz, unlöslich in Alkohol, krystallisiert in abgestutzten Pyramiden; das zweite aus verdünntem heißen Alkohol in langen, glitzernden, rostfarbenen Nadeln.

Das erstgenannte Platinsalz ergab:

0·1966 g Substanz gaben V. $11\cdot0\text{ cm}^3$ N bei T. 22° und B. $755\cdot5\text{ mm}$,
entsprechend 0·012394 g oder in Prozenten N 6·30.

Ich bin mit der Untersuchung dieser Base, welche ich nun in reichlicherer Ausbeute bei Einhaltung höherer Temperaturen zu erhalten hoffe, beschäftigt.

Die zweite Substanz erwies sich als ein mit einer Spur C verunreinigter Platinsalmiak; da die ursprüngliche Lösung kein Ammoniak enthielt, war also die flüchtige Base unter Reduktion von Platin und Abspaltung von Ammoniak zersetzt worden.

Der Rückstand nach der Destillation und Entfernung von Barium und Chlor bestand der Hauptmenge nach aus Histidin und einer sehr kleinen Menge einer sirupösen Base, welche ein krystallisiertes Chlorhydrat lieferte, welches für Analysen nicht ausreichte.

Einwirkung von Salpetersäure auf Histidin.

Histidin wurde mit verdünnter Salpetersäure auf dem Wasserbade gekocht und dann stark eingengt. Die eingengte Flüssigkeit, mit Aceton versetzt, schied rasch große, mehrere Millimeter lange, drusenförmig angeordnete wasserhelle Prismen ab. Sie wurde aus heißem Wasser umkrystallisiert.

F. 149 bis 152°.

Bei 80° C. getrocknet,

gaben 0·1883 g 0·1773 g CO₂ und 0·0688 g H₂O,
entsprechend 0·04835 g C und 0·00764 g H
oder 25·677% C und 4·05% H.

0·1863 g gaben 38·6 cm³ N bei 20° C. und B. 769 mm,
entsprechend 0·04575 g N oder 24·56% N.

	C	H	N
Berechnet für Histidindinitrat			
C ₆ H ₉ N ₃ O ₂ ·2HNO ₃	25·62	3·91	24·91
Gefunden	25·677	4·05	24·56

Im Aceton fand sich eine minimale Menge einer krystallisierenden, wasserunlöslichen Substanz.

Es wurde nun bei der großen Resistenz des Histidins gegen Salpetersäure zur Oxydation rauchende Salpetersäure verwendet und Histidin mit der mehrfachen Menge dieses Reagens auf dem Wasserbade abgedampft. Der hinterbleibende gefärbte Sirup reagierte stark sauer und wurde, da er nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte, mit Bariumcarbonat gekocht, filtriert und eingeeengt. Es konnten auf diese Weise, in mäßiger Ausbeute, sehr schön krystallisierende Oxydationsprodukte erhalten werden, über welche des weiteren berichtet werden wird.

Nachweis des Pyrimidins.

Direkt mit Chlorwasser und Ammoniak behandelt, gibt Histidin die Weidel'sche Reaktion nur äußerst schwach. Meist versagt sie völlig, was auf die so schwierige Oxydation des Histidins zurückzuführen ist. Die Probe versagt aber nie, wenn man ähnlich wie E. Fischer beim Xanthin verfährt:

Histidinchlorhydrat wird in verdünnter Salzsäure gelöst und bei gelinder Erwärmung chlorsaures Kali in mäßiger Menge eingetragen. Hierauf wird fast zur Trockene verdampft, frisches Chlorwasser, dem man eine Spur Salpetersäure zusetzt, hinzugefügt, zur Trockene verdampft. Wird nun mit Ammoniakdampf behandelt, so tritt die lebhaft rote Weidel'sche Reaktion auf, die bei Zusatz von wenig Natronlauge in Rotviolett übergeht.