

# Ueber das Histidin.

Von

A. Kossel und Fr. Kutscher.

Mit zwei Abbildungen.

(Aus dem physiologischen Institut zu Marburg.)

## I. Ueber das optische Drehungsvermögen des Histidins.

Von A. Kossel.<sup>1)</sup>

Nach meinen früheren Untersuchungen ist es möglich, Arginin und Histidin zusammen in Form der Silberverbindungen aus einem Gemisch von Zersetzungsprodukten der Eiweisskörper quantitativ auszufällen, hingegen bietet die Trennung dieser beiden Hexonbasen von einander einige Schwierigkeiten. Würde das Histidin, wie Hedin angibt,<sup>2)</sup> optisch inactiv, so würde diese Trennung bei der quantitativen Bestimmung zu umgehen sein, indem sich dann das rechtsdrehende Arginin neben dem Histidin polarimetrisch bestimmen liesse. Ich habe daher die Angabe Hedin's einer Nachprüfung unterworfen. Meine Untersuchungen, die in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt sind, führen zu dem Resultat, dass das Histidin, ebenso wie die anderen Hexonbasen, in der wässrigen Lösung sowohl als Chlorid, wie als freie Base optisch activ ist.

Moleküle HCl auf 1 Molekül Histidin	l	c	$\alpha_D$	$[\alpha]_D$		
				für $C_6H_9N_3O_2$	für $C_6H_9N_3O_2 \cdot HCl$	für $C_6H_9N_3O_2 \cdot 2H_2O$
0	6	3.183	— 7.59	— 39.74	—	—
1	4	2.594	+ 0.18	+ 2.14	+ 1.74	—
2	6	4.828	+ 1.54	+ 7.82	—	+ 5.32
4	6	3.38	+ 1.31	+ 9.49	—	+ 6.66

Nach diesen Zahlen sind die optischen Verhältnisse des Histidins eigenartige. Das Histidin gehört zu jener nicht sehr zahlreichen Gruppe von Basen, die in freiem Zustande linksdrehend, als Salze rechtsdrehend sind. Es verhält sich in dieser Hinsicht wie das Nicotin. Ausserdem zeigt sich, dass

1) Vorläufig mitgetheilt in den Sitzungsberichten der Gesellschaft zur Förderung der gesammten Naturwissenschaften in Marburg, Juni 1899.

2) Diese Zeitschrift, Bd. 22, S. 193.

durch Zusatz von Salzsäure zur Lösung des Monochlorids und Dichlorids die Drehung erhöht wird. Dies ist höchstwahrscheinlich darauf zu beziehen, dass bei kleineren Säuremengen eine theilweise hydrolytische Dissociation vorhanden ist. Ob bei Gegenwart von 4 Molekülen Salzsäure schon das Maximum der Drehung erreicht ist, lässt sich nicht beurtheilen.

Die Dissociation ist beim Monochlorid so bedeutend, dass  $\alpha_D$  hier einen sehr niedrigen Werth hat. Hieraus ist auch wohl die Angabe Hedin's über die Inaktivität des Histidinchlorids zu erklären. Hedin beschreibt in seiner Abhandlung nur das Monochlorid und hat offenbar auch dieses Salz für die optische Untersuchung verwendet. Bei Benutzung weniger feiner Instrumente kann das Drehungsvermögen der Lösung dieses Salzes der Beobachtung entgehen, erreicht doch die Drehung einer Lösung von  $2.5^\circ$  des Monochlorids bei einer Rohrlänge von 20 cm. nicht  $0.1^\circ$ .

Dass ein Unterschied zwischen dem Histidin Hedin's und dem meinigen besteht, ist nach den Resultaten der Analysen und der krystallographischen Untersuchungen nicht anzunehmen. Ich will bemerken, dass ich auch bei der Untersuchung des Molekulargewichts durch die Feststellung der Siedepunktserhöhung in wässriger Lösung dieselben Zahlen fand, wie Hedin. Die Untersuchung meines Präparats führte zu den Zahlen 156,3 und 156,6, während Hedin 155,4 fand; berechnet ist: 155.

Fernerhin sei bemerkt, dass das Histidin mit Salpetersäure ein gut krystallisirendes Nitrat von der Formel  $C_6H_9N_3O_2 \cdot 2HNO_3$  und ebenso gut krystallisirende Doppelsalze mit Platinchlorid und Silbernitrat bildet. Die genauere Untersuchung dieser Salze ist noch nicht beendet, da die Beschaffung der genügenden Substanzmengen auf Schwierigkeiten stiess.

## II. Ueber Histidindichlorid.

Von Fr. Kutscher.

Im Laufe meiner ersten Untersuchung über das Antipepton<sup>1)</sup> isolirte ich aus der Histidinfraktion ein Salz, das

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 195.

sich, mit seinem Chlorgehalt einem Histidindichlorid der Formel  $C_6H_9N_3O_2 \cdot 2HCl$  näherte. Es gelang mir damals nicht, die verlangte Chlormenge in das Salz einzuführen, und ich musste es schliesslich, um es als eine salzsaure Histidinverbindung zu identificiren, in die von Hedin<sup>1)</sup> beschriebene Histidinsilberverbindung überführen. In der Folge vermochte ich jedoch eine Methode auszuarbeiten, welche mir Präparate mit dem verlangten Chlorwerth lieferte. Ich benutzte dabei salzsaure Histidinverbindungen, die ich aus den Spaltungsprodukten der Handelsgelatine<sup>2)</sup> gewonnen hatte und welche nur einen Chlorwerth von ca. 27<sup>o</sup> besaßen.

Dieselben wurden in heisser concentrirter Salzsäure von 1.19 spec. Gewicht gelöst, die Salzsäure im Exsiccator langsam verdunstet und die ausgeschiedenen Krystalle noch zwei- bis dreimal der gleichen Behandlung unterworfen. Schliesslich wurden sie mit verdünnter Salzsäure, in der sie weit löslicher wie in concentrirter sind, aufgenommen und im Exsiccator zur Krystallisation aufgestellt. Es schieden sich jetzt beim allmählichen Verdunsten der Salzsäure grosse glashelle Tafeln aus. Die so gewonnenen mit Alkoholäther gewaschenen Krystalle gaben über Schwefelsäure getrocknet nachstehende Analysenwerthe:

0.157 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0.1817 g Kohlensäure und 0.0726 g Wasser.

0.1528 g Substanz lieferten bei der volumetrischen Stickstoffbestimmung bei 17° C. und 748 mm. Barometerstand 24.6 cem. Stickstoff. Als Sperrflüssigkeit diente ca. 25<sup>o</sup> ige Kalilauge.

0.1864 g Substanz gaben 0.234 g AgCl.

Berechnet:	Für $C_6H_9N_3O_2 \cdot 2HCl$	Gefunden:
C = 31.58 <sup>o</sup> o		C = 31.57 <sup>o</sup> o
H = 4.82 <sup>o</sup> o		H = 5.17 <sup>o</sup> o
N = 18.42 <sup>o</sup> o		N = 18.49 <sup>o</sup> o
Cl = 31.14 <sup>o</sup> o		Cl = 31.04 <sup>o</sup> o

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 191.

2) Ob das aus der Gelatine gewonnene Histidin als Spaltungsprodukt der Gelatine aufzufassen ist, oder aus dem der Handelsgelatine beigemengten Eiweiss herrührt, will ich vor der Hand dahingestellt sein lassen. Die Ausbeute war jedenfalls eine sehr geringe; so vermochte ich z. B. aus 100 g reinster Handelsgelatine nur ca. 0.4 g Histidindichlorid

Das Histidindichlorid besitzt im Gegensatz zum Histidinmonochlorid kein Krystallwasser. Man kann daher seine über Schwefelsäure getrockneten Krystalle auf  $140^{\circ}$  C. erhitzen, ohne eine Gewichtsabnahme derselben zu bemerken.

Im Schmelzröhrchen sintert das Histidindichlorid bei ca.  $225^{\circ}$  C. und schmilzt unter Zersetzung (unter Abgabe von Ammoniumchlorid\*) bei  $231$ — $233^{\circ}$  C.

Später zog ich es vor, das Histidindichlorid derart darzustellen, dass ich es in wenig heisser Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,19 löste, es mit Alkoholäther fällte, die geschilderte Operation an den abgeschiedenen Krystallen mehrmals wiederholte, dieselben schliesslich mit verdünnter Salzsäure aufnahm und daraus langsam auskrystallisiren liess. Auf diese Weise wurde das Präparat gewonnen, an dem Herr Professor Kossel die oben angeführte Untersuchung über die specifische Drehung des Histidindichlorids gemacht hat. Das gleiche Präparat wurde von Herrn Dr. Schwantke zur Bestimmung der Krystallform des Histidindichlorids benutzt. Als Ausgangsmaterial zu seiner Gewinnung hatte das Antipepton Balke's<sup>1)</sup> und das «Drüsenpepton» Kühne's<sup>2)</sup> gedient.

---

zu isoliren. Siehe über den gleichen Punkt Kossel's Abhandlung «Les Protamines et les Corps Albuminoïdes» in der Revue générale des sciences. Jahrg. 1899, Nr. 10, S. 380.

\* In einem grösseren Versuch erhitze ich, um vom Histidindichlorid zum Histidinmonochlorid zu gelangen, 0,3874 g Histidindichlorid im Fractionirkölbchen längere Zeit im Schwefelsäurebad auf  $140^{\circ}$  C. Die abgespaltene Salzsäure trieb ich durch trockenen Wasserstoff in vorgelegte reine Natronlauge. Nach der Beendigung des Versuches fand sich jedoch im Halse des Fractionirkölbchens ein Sublimat, das mit Platinchlorid charakteristisches Ammoniumplatinchlorid lieferte. Der im Kölbchen verbliebene stark gefärbte Rückstand gab nach der Behandlung mit Thierkohle eine kleine Menge krystallisirender Substanz, die aber kein Histidinmonochlorid zu sein schien. Es hatte also schon bei  $140^{\circ}$  C. eine starke Zersetzung des Histidindichlorids stattgefunden, während der Schmelzpunkt des Histidinmonochlorids nach Kossel<sup>3)</sup> erst bei  $151$ — $152^{\circ}$  C. gelegen ist.

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 110.

2) Die Endprodukte der Trypsinverdauung, Habilitationsschrift.

3) Diese Zeitschr., Bd. XXV, S. 192.

Bei der Chlorbestimmung lieferten 0.1668 g des Präparates 0.2115 g AgCl.

Für  $C_6H_9N_3O_2 \cdot 2HCl$

Berechnet	Gefunden
Cl = 31.14%	Cl = 31.35%

Herr Dr. Schwantke, Assistent am mineralogischen Institut hier selbst, hatte die Güte, uns folgende Mittheilungen über die krystallographischen Verhältnisse des Histidindichlorids zukommen zu lassen, wofür wir ihm unsern besten Dank abstatfen.

Krystallsystem rhombisch-holoedrisch.

Beobachtete Formen:

- o = oP (001)
- l =  $\frac{1}{2}$ P $\bar{x}$  (102)
- n = P $\bar{y}$  (101)
- d =  $\frac{1}{2}$ P $\frac{z}{2}$  (012)
- s = xP (110)
- p = P (111)

Die Krystalle sind tafelig nach o.

Aus den Winkeln l:l und d:d ergab sich das Achsenverhältniss

	Histidin-Chlorhydrat
a 0.76537	0.76665
b 1	1
c 1.77516	1.71104

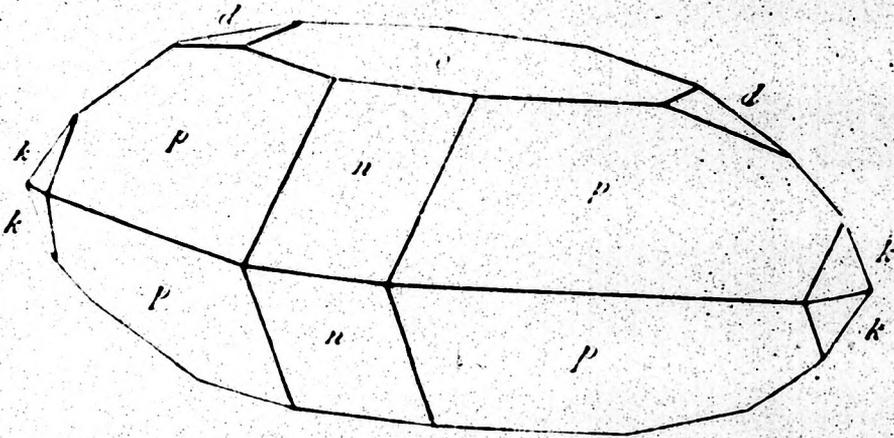
Winkeltabelle (Normalenwinkel):

Winkel	Gemessen	Berechnet	Histidin-Chlorhydrat ber. M. Bauer
d:d = 012:012	* 96° 49'	—	98° 54'
l:l = 102:102	* 81° 31'	—	—
n:n = 101:101	46° 52'	46° 38 $\frac{3}{4}$ '	48° 16'
p:o = 111:001	71° 07'	71° 06'	70° 25 $\frac{1}{2}$ '
p:p = 111:111	38° 05'	37° 48'	39° 09'
p:p = 111:111	—	70° 12'	69° 57'
p:p = 111:111	—	99° 24 $\frac{1}{3}$ '	96° 48'
p:d = 111:012	51° 10'	51° 23 $\frac{2}{3}$ '	—
p:n = 111:101	56° 11'	55° 49 $\frac{3}{4}$ '	—
p:n = 111:101	—	33° 06'	34° 58'
n:o = 101:001	—	66° 40 $\frac{1}{2}$ '	65° 52'
d:o = 012:001	41° 26'	41° 35 $\frac{1}{2}$ '	40° 33'
l:n = 102:101	17° 15'	17° 26'	—
l:o = 102:001	49° 34'	49° 18 $\frac{1}{2}$ '	—

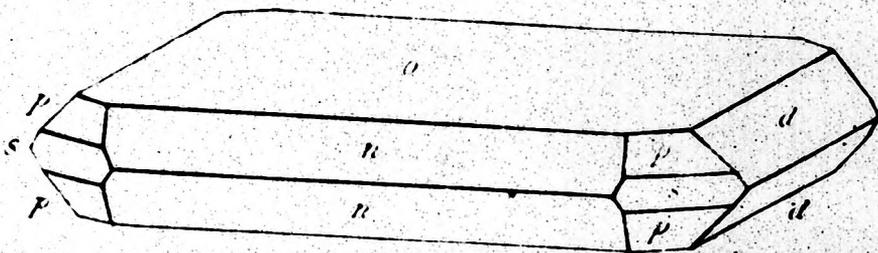
Ebene der optischen Axen 010, erste Mittellinie b, grosser Axenwinkel.

Wenn auch die Messungen an 6 gemessenen Krystallen in Folge der schlechten Signale nur eine mässige Genauigkeit besitzen, so waren doch die gemessenen Differenzen geringer als die Differenz mit den am Histidin-Chlorhydrat gemessenen Winkeln. Beide Substanzen stehen also im Verhältniss der Morphotropie (die sich wesentlich auf die c-Axe erstrecken dürfte), worauf auch die abweichende optische Beschaffenheit hinweist.

Figur 1.



Figur 2.



Erste Mittellinie beim Histidin-Chlorhydrat c, auch stärkere Doppelbrechung). Die Verschiedenheit des Habitus der Krystalle beider Substanzen ist aus der beistehenden Figur ersichtlich. Figur 1 stellt ein Krystall des Histidin-Chlorhydrats nach M. Bauer (Zeitschr. für physiolog. Chemie, Bd. XXII, S. 182) dar. In der Krystallform des Dichlorids, Figur 2, wurde der grösseren Deutlichkeit halber die schmale Fläche (142) fortgelassen.

Eine Hemiedrie der Formen wurde nicht beobachtet; die Aetzuren auf o sind viereckige symmetrische Grübchen mit den Kanten Ha und b.