

# Über die Konstitution des Histidins.

## I. Mitteilung.

Von

Herm. Pauly.

(Aus dem physiologischen Institut zu Heidelberg.)

Der Redaktion zugegangen am 3. August 1904.)

Über das zuerst von A. Kossel im Sturin und bald darauf von S. G. Hedin auch unter den Spaltkörpern komplizierterer Eiweißsubstanzen aufgefundene Histidin liegen bis jetzt nur wenige Angaben vor, die einen Schluß auf seine Konstitution zuliefern.

Wir wissen,<sup>1)</sup> daß von den drei Stickstoffatomen, die die Formel  $C_6H_9N_3O_2$  aufweist, zwei zur Salzbildung befähigt sind, ferner daß das Histidin optisch aktiv und in Gegenwart von Ammoniak imstande ist, ein Salz mit zwei Atomen Silber zu bilden: es besitzt also zwei durch Metall ersetzbare Wasserstoffe. Im übrigen enthält es weder Methoxyl noch Methyl am Stickstoff, gibt bei der Oxydation mit alkalischem Permanganat Blausäure, Kohlensäure und Ammoniak, spaltet beim Kochen mit Barytlösung kein Ammoniak ab und gibt die Biuretreaktion.

Diese Befunde sind durch Fränkel<sup>2)</sup> um folgende vermehrt worden:

1. Histidin treibt sowohl aus Silber- wie aus Kupferkarbonat Kohlensäure aus unter Bildung leichtlöslicher Salze; erhitzt man es über den Schmelzpunkt, so entweicht Kohlen-

<sup>1)</sup> A. Kossel, Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 182; Bd. XXV, S. 192; Bd. XXVIII, S. 383; Hedin, ebenda, Bd. XXII, S. 191; Kutscher, ebenda, Bd. XXVIII, S. 383; Bauer, ebenda, Bd. XXII, S. 285; Herzog, ebenda, Bd. XXXVIII, S. 248.

<sup>2)</sup> Fränkel, Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. Wien, Bd. CXII, II, 6. März 1903.

säure. Fränkel zieht daraus den Schluß, daß Histidin eine Karboxylgruppe enthalte.

2. Bei der Einwirkung von Natriumhypobromit oder -nitrit wird ein Stickstoffatom aus dem Molekül als elementarer Stickstoff entfernt, und im letzteren Falle durch Sauerstoff ersetzt. Damit ist der Beweis erbracht, daß Histidin eine primäre Aminogruppe enthält.

3. Beim trocknen Erhitzen mit Kalk entwickelt Histidin neben Ammoniak Dämpfe, die die Pyrrolreaktion geben; außerdem zeigt es die Weidelsehe Pyrimidinreaktion mit Chlorwasser und Ammoniak.

Endlich fand er, daß Histidin beständig gegen verdünnte Salpetersäure ist, ein Ergebnis, welches der Beobachtung von Herzog, daß Histidin durch schwefelsaure Permanganatlösung (Baeyer-Willstätter) nicht angegriffen wird, entspricht.

Mit gütiger Erlaubnis von Herrn Prof. Kossel habe ich die Untersuchung des Histidins von neuem aufgenommen. Zunächst war der Beweis zu erbringen für das Vorhandensein der von Fränkel auf Grund der Kohlensäureabspaltung angenommenen Karboxylgruppe, da die Spaltung nur dann hätte beweisend sein können, wenn es ihm gleichzeitig gelungen wäre, den hierbei aus dem Histidin hervorgehenden, um  $\text{CO}_2$  ärmeren Rest zu isolieren.

Den Beweis habe ich geführt durch die Veresterung des Histidins mit Hilfe von Salzsäure und Alkohol: und zwar wurde der Methyl ester dargestellt, der sich in Gestalt seines schön kristallisierenden Dichlorhydrates gewinnen ließ.<sup>1)</sup>

Weiterhin interessierte mich, nachdem Fränkel im Histidin die Existenz einer und nur einer primären Aminogruppe nachgewiesen hatte, die Natur der beiden anderen Stickstoffatome.

Ich ließ zu diesem Zwecke auf Histidin Naphtalin- $\beta$ -sulfochlorid in Anwesenheit von überschüssiger Natronlauge einwirken, nachdem Benzoylchlorid zu keinem gut definierbaren Körper geführt hatte.

<sup>1)</sup> Auch das von Fränkel beschriebene Oxydesaminohistidin, welches trotz der Behauptung seines Entdeckers, daß es eine starke Säure sei, befähigt ist, in konzentrierter Salzsäure mit Platinchlorid ein Doppelsalz zu bilden, läßt sich mit Alkohol und Salzsäure esterifizieren.

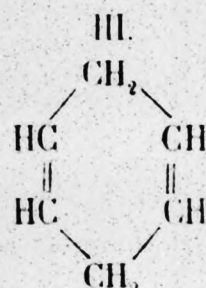
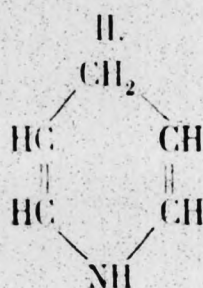
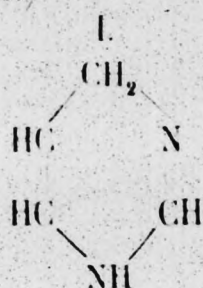


Man erhält hierbei eine sehr schwer lösliche Verbindung, aus deren Eigenschaften und Analyse hervorgeht, daß an beide im Histidin enthaltene basische Stickstoffgruppen je ein Naphtalinsulforest herangeraten ist. Daraus folgt, daß neben der primären eine sekundäre Amingruppe vorhanden ist. Das dritte Stickstoffatom dürfte aber wohl tertiär sein, da ein Eintritt eines weiteren Säurerestes auch bei Anwendung überschüssigen Sulfochlorids nicht erfolgte.

Das Verhältnis von Wasserstoff zu Kohlenstoff und Stickstoff in dem nach Abzug von  $\text{CO}_2$  verbleibenden sauerstofffreien Reste  $(\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_2)\text{NH}_2$  des Histidins führt zu der Annahme von zwei doppelten oder — was im vorliegenden Falle ausgeschlossen ist — einer dreifachen Bindung. Von diesen kann sich nur eine zwischen Kohlenstoff und Stickstoff befinden, denn das andre Stickstoffatom trägt noch Wasserstoff, und eine Atomgruppierung  $\text{>C=NH}$  ist wegen der Beständigkeit des Histidins gegen kochende Säuren und Barytlösung ausgeschlossen. Die andere Doppelbindung liegt also zwischen zwei Kohlenstoffen. Die Beständigkeit des Histidins gegenüber saurer Permanganatlösung schließt nun aus, daß die beiden Doppelbindungen anders als in einem Ringsysteme angeordnet sind, eine Ansicht, die auch in den von Fränkel aufgestellten, mutmaßlichen Formeln ihren Ausdruck findet.

Genannter hält auf Grund der Weidelschen Reaktion den Beweis für erbracht, daß dem Histidin der Dihydropyrimidinring (siehe unten Formel I) zugrunde liege.

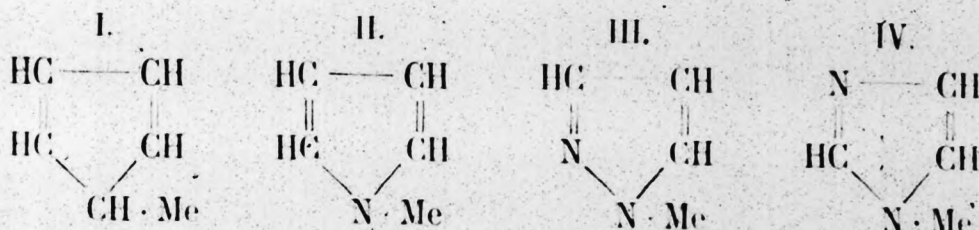
Die Eigenschaften eines solchen sauerstofffreien Systems sind uns nun freilich noch unbekannt, dennoch glaube ich, daß man von demselben schon jetzt soviel voraussagen darf, daß es ein Bestreben zeigen wird, bereits unter dem Einflusse gelinder Oxydationsmittel in das wasserstoffärmere Pyrimidin überzugehen, ebenso wie Dihydropyridine (II.) und Dihydrobenzole (III.)



leicht zu Pyridinen bezw. Benzolen dehydriert werden können; und ferner, daß es nicht beständig gegen saure Permanganatlösung sein wird. Beides trifft jedoch beim Histidin nicht zu.

Aber noch eine andere Eigenschaft des Histidins steht im Widerspruche zu der Auffassung Fränkels, nämlich die Fähigkeit desselben, außer dem an der Karboxylgruppe haftenden Silberatom noch ein zweites, zweifellos den Wasserstoff der Imidgruppe substituierendes Silberatom aufzunehmen. Hierzu sollte der oben erwähnte Dihydropyridinring (II.), da sein Imid das des noch unbekanntes Dihydropyrimidins an Azidität übertreffen müßte (Pyrrol ist weniger basisch, als Imidazol), in erhöhtem Grade befähigt sein. Das ist aber nicht der Fall.<sup>1)</sup> Zwei durch eine  $\text{CH}_2$ -Gruppe voneinander getrennte Doppelbindungen sind eben nicht imstande, den Wasserstoff der von ihnen eingefassten  $\text{NH}$ - oder  $\text{CH}_2$ -Gruppen genügend beweglich zu machen, sodaß Ersatz desselben durch Metall stattfinden kann;<sup>2)</sup> das sind sie vielmehr nur dann, wenn sie „konjugiert“,<sup>3)</sup> d. h. direkt untereinander verbunden sind, wie z. B. in dem System  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$ .

So kann im Cyclopentadien (I.),<sup>4)</sup> im Pyrrol (II.), im Pyrazol (III.) und im Imidazol (IV.) Wasserstoff einer  $\text{CH}_2$ - bzw.  $\text{NH}$ -Gruppe durch Metall (Me) ersetzt werden:



Somit dürfte für das Histidin, da von den beiden zwei Stickstoffe in ringförmiger Bindung (die Imidgruppe muß sich nach dem Dargelegten ebenfalls im Ringe befinden, wenn ihr H durch Ag ersetzbar sein soll) enthaltenden Systemen (III.

<sup>1)</sup> Vgl. Hantzsch, Ann. d. Chemie, Bd. 215, S. 46; siehe auch Anm. 2).

<sup>2)</sup> Vgl. Duden und Freytag, Ber. d. chem. Ges., Bd. 36, S. 946 1903.

<sup>3)</sup> Thiele, Ann. d. Chemie, Bd. 306, S. 90; vgl. Ber. der chem. Ges., Bd. 33, S. 666 (1900).

<sup>4)</sup> Thiele, Ber. d. chem. Ges., Bd. 34, S. 68 (1902).



und IV.) der Pyrazolring bei einer im Tierkörper aufgefundenen Substanz wohl außer Diskussion steht, nur der Imidazol- oder Glyoxalinring in Frage kommen.

In der Tat erweist sich das Histidin auch in seinem übrigen Verhalten als ein Imidazolderivat. Hierzu gehört in erster Linie seine Beständigkeit gegen saure, seine Empfindlichkeit gegen alkalische Oxydationsmittel, eine Erscheinung, die von Pinner und Schwarz<sup>1)</sup> bei der Erörterung der Konstitution des Pilocarpins als charakteristisch für das Imidazol hingestellt wird. Ebenso typisch scheint mir zu sein, daß seine Imidgruppe neben der schwach sauren zugleich schwach basische Funktion zeigt. Dies folgt daraus, daß deren Wasserstoffatom mittels Halogenalkylen oder Chloressigester direkt, also ohne vorher durch Metall substituiert zu sein, durch Alkyl oder den Rest  $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}$  ersetzbar ist. Somit steht die von mir gemachte Beobachtung, daß bei der Behandlung des Histidins mit Naphthalin- $\beta$ -sulfochlorid und Natroudlauge ein zweiter Acidylrest an die sonst durch Silber ersetzbare Imidgruppe tritt, in vollkommener Übereinstimmung mit dem soeben dargelegten Verhalten des Imidazols als Base.

Dieser Eigentümlichkeit seiner Imidgruppe verdankt das Histidin wohl auch seine Fähigkeit, sich ebenso, wie das Imidazol,<sup>2)</sup> das Pyrrol<sup>3)</sup> und das Cyclopentadien,<sup>4)</sup> mit Diazoniumsalzen zu Farbkörpern zu verkuppeln.<sup>5)</sup> Versetzt man eine

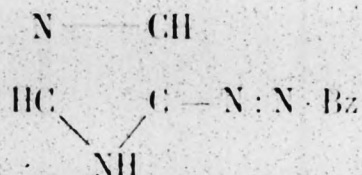
<sup>1)</sup> Ber. d. chem. Ges., Bd. 35, S. 2448 (1902).

<sup>2)</sup> Rung u. Behrend, Ann. d. Chemie, Bd. 271, S. 28. Vgl. Burian, Ber. d. chem. Ges., Bd. 37, S. 696 (1903).

<sup>3)</sup> O. Fischer u. Hepp, Ber. d. chem. Ges., Bd. 19, S. 2251 (1886).

<sup>4)</sup> Eibner, Ber. d. chem. Ges., Bd. 36, S. 2692 (1902).

<sup>5)</sup> Die Verbindungen aus Imidazolen mit Diazoniumsalzen wurden bisher immer als Diazoamidoverbindungen angesprochen. Mir scheint in Ansehung ihrer Beständigkeit in saurer Lösung die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß in ihnen, ähnlich wie beim Pyrrol, echte Azokörper, etwa vom Typus

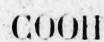
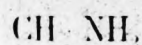
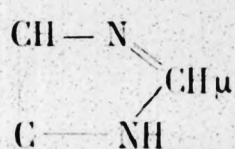


vorliegen.

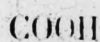
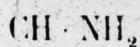
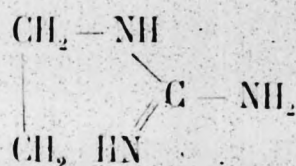
Bemerkt sei noch, daß man sich hüten muß, die Diazoreaktion

sodaalkalische Lösung von Histidin mit Diazobenzolsulfosäure, so erhält man einen Farbstoff, der in saurer Lösung rein orange, in alkalischer dunkelkirschrot gefärbt ist. Da keiner der übrigen untersuchten Eiweißspaltkörper, — mit Ausnahme des Tyrosins, eine solche Färbung gibt, so haben wir in dieser Reaktion ein empfindliches und wertvolles Mittel, um Histidin bei Abwesenheit von Tyrosin zu erkennen, und zwar nicht allein in Gemischen mit anderen Eiweißspaltkörpern, sondern auch in den ursprünglichen Eiweißkörpern, in denen es noch mit anderen Gruppen verkettet ist.

Für die Beurteilung der Art, wie der Imidazolring, die Amidogruppe, das Karboxyl und das fünfte und sechste Kohlenstoffatom im Histidin miteinander verknüpft sind, liegen außer der Tatsache, daß Histidin optisch aktiv ist und somit asymmetrischen Kohlenstoff enthält, noch keine Anhaltspunkte vor, wenn man nicht etwa die deutliche Bildung von Pyrrol beim trocknen Erhitzen von Histidin zugunsten der Atomreihe N · C · C · C · C · N deuten will. Läge hierzu eine Berechtigung vor, so könnte man daran denken, dem Histidin in Ansehung seiner nahen Verwandtschaft mit dem Arginin eine diesem analoge Atomverkettung zuzuschreiben, wie sich das z. B. in folgenden Formeln ausdrückt:



Histidin (?)



Arginin.

Eine solche Histidinformel hätte u. a. das für sich, daß

etwa allgemein zur Unterscheidung des Imidazolringes vom Pyrimidinring zu verwenden. Dazu ist sie wahrscheinlich nur bei sauerstofffreien Systemen geeignet, denn sauerstoffhaltige Pyrimidine, wie z. B. das 4-Methyluracil, treten mit Diazoniumsalzen mitunter auch zu Farbstoffen zusammen.



sie eine Erklärung für die von Fränkel beobachtete Weidelsche Reaktion — die nach meinen Beobachtungen trotz genauer Einhaltung der gegebenen Bedingungen nicht mit der Eindeutigkeit auftritt, wie F. angibt — bieten könnte. Man braucht nämlich nur anzunehmen, daß unter der energischen Wirkung des Chlors das  $\mu$ -Kohlenstoffatom von demjenigen N-Atom, mit dem es in der obigen Formel doppelgebunden geschrieben ist, sich löst und nunmehr mit der freien Amidogruppe sich verknüpft, so ist die Möglichkeit zur Entstehung eines Pyrimidinkerns und damit zur Weidelschen Reaktion, wenn man überhaupt derselben großen diagnostischen Wert beimessen will, gegeben.

#### Darstellung des Histidins.

Für die Gewinnung des wertvollen Ausgangsmateriales erwies sich das von A. Kossel angegebene Quecksilberchlorid-Verfahren in der von Fränkel benutzten Form als recht geeignet. Man braucht indessen, wie ich in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Weber fand, nicht von reinem Hämoglobin auszugehen, sondern kann ohne weiteres Rohblut verwenden, das man direkt mit gasförmiger Salzsäure sättigt und bis zur vollständigen Lösung im Ölbad kocht. Dann verdünnt man die Flüssigkeit mit etwa dem Fünffachen ihres Volumens Wasser, neutralisiert bis zur schwach sauren Reaktion mit Kristallsoda, filtriert von dem ausgefallenen Blutfarbstoff ab und fällt das Histidin aus der fast farblosen Lösung mit Sublimat. Zur Fällung genügt etwa  $\frac{1}{3}$  der von Fränkel angegebenen Menge. Es fallen stets kleine Mengen Tyrosin mit nieder. Die Ausbeute entspricht ungefähr der angegebenen.

#### Histidinmethylesterdichlorhydrat.

Je 2—3 g Histidinmonochlorhydrat wurden bei  $140^{\circ}$  von Kristallwasser befreit und mit 50 ccm Methylalkohol übergossen, der dann unter Einleiten trocknen Salzsäuregases auf dem Wasserbade am Rückflußkühler gekocht wurde. Das am Boden liegende Salz geht zunächst zum Teil rasch in Lösung, bald aber fällt ein schwerlösliches Salz statt dessen

aus. Darauf kocht man noch mehrere Stunden, eventuell unter Zusatz einer kleinen Menge Holzgeist, bis klare Lösung eingetreten ist, destilliert den Alkohol — zum Schluß im Vacuum — möglichst vollständig ab, löst den Rückstand in 20 cem Holzgeist, kocht auf und fällt aus der erkalteten Lösung das Dichlorid durch trocknen Aether. Es schlägt sich hierbei zunächst in Öltropfen nieder, wird aber bald kristallinisch. Aus Holzgeist kristallisiert das Salz in flachen Prismen, die spielend leicht löslich in Wasser sind und bei 196° (unkorr.) unter starkem Aufschäumen schmelzen. Bei 100° getrocknete Substanz gab folgende Zahlen bei der Analyse.

0.3353 g gaben 0.3944 g AgCl;  
 0.2289 „ „ 0.1090 „ H<sub>2</sub>O und 0.2908 g CO<sub>2</sub>.

Berechnet für C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>N<sub>3</sub> · CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 2 HCl:  
 C 34.71%      H 5.37%      Cl 29.34%  
 Gefunden:  
 C 34.64%      H 5.29%      Cl 29.10%

Über die kristallographischen Verhältnisse des Körpers macht Herr Privatdozent Dr. Schwantke in Marburg folgende Mitteilungen:

Kristallform rhombisch, tetraedrisch (sphenoidisch), hemiedrisch. Die Kristalle sind die Kombination eines rhombischen Prismas mit einem Tetraeder. Der Prismenwinkel beträgt etwa 85°, der Winkel des Tetraeders 111:111 etwa 72° (Normalenwinkel). Schnitte nach der Basis zeigen das Axenbild. Axenwinkel ziemlich groß. Doppelbrechung stark.»

Die freie Esterbase scheidet sich beim Versetzen konzentrierter wässriger Lösungen des Dichlorids mit festem Kaliumkarbonat als dickflüssiges Öl ab, das einen an Pyrrolidinkarbonsäureester und zugleich an Acetamid erinnernden Geruch besitzt.

#### Dinaphtalin-β-sulfo-histidin.

1 g Histidinchlorhydrat wurde in 10 cem Wasser gelöst und mit 5 cem einer 10%igen Natronlauge versetzt. Die so erhaltene Flüssigkeit wurde unter nachträglichem Zusatz von je dreimal 3 cem derselben Natronlauge mit einer Lösung von 3 g Naphtalin-β-sulfochlorid in 15 cem Äther 4 Stunden lang



auf der Maschine durchgeschüttelt.<sup>1)</sup> Nach dieser Zeit hatten sich reichliche Mengen weißer, klumpiger Massen abgeschieden. Darauf wurde die Flüssigkeit mit 20 ccm einer 10%igen Salzsäure angesäuert und mehrmals ausgeäthert. Der abgesaugte und getrocknete Niederschlag wog 2 g. Er wurde aus 60%igem Alkohol umkristallisiert, von dem 200 ccm in der Siedehitze ca. 1 g. in der Kälte ca. 0.25 g der Substanz lösen. Atlasglänzende, feine, verfilzte Nadelchen, leicht löslich in Eisessig, schwerer in Alkohol, fast unlöslich in Wasser. Der Analyse nach enthält die Verbindung zwei Naphtalinsulfureste, was sowohl ihre Schwerlöslichkeit in Alkohol, als auch ihr Unvermögen, sich in starker Salzsäure unter Salzbildung zu lösen, erklärt. Dagegen wird der Körper von Alkalien leicht aufgenommen. Er sintert bei 140° und schmilzt bei 149—150° (unkorr.) zu einer gelbbraunen, blasenwerfenden, zähen Masse zusammen.

0.2570 g Substanz gaben 0.0963 g H<sub>2</sub>O und 0.5471 g CO<sub>2</sub>

Berechnet für (C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>SO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>:

C 58.32%      H 3.92%

Gefunden:

C 58.06%      H 4.15%

Für Mononaphtalinsulfohistidin berechnet sich 55.65% C und 4.35% H.

### Die Diazoreaktion des Histidins.

Von den bekannten Diazoniumverbindungen eignet sich zur Kuppelung mit Histidin am besten die Diazobenzolsulfosäure, die auch von anderer Seite für derartige Farbreaktionen bereits empfohlen worden ist (Ehrlich, Burian). Es ist zweckmäßig, die Säure vor dem Gebrauch jedesmal frisch darzustellen, weil ältere Präparate oft an Wirksamkeit sehr einbüßen. Nach folgender Vorschrift erhält man sie im Reagenzrohre leicht und ohne Zeitverlust:

2 g feingepulverte Sulfanilsäure werden mit 3 ccm Wasser und 2 ccm konzentrierter Salzsäure zu einem Brei geschüttelt und in kleinen Portionen innerhalb einer Minute mit einer Lösung von 1 g frischem Kaliumnitrit in 1—2 ccm Wasser versetzt, wobei nach jedem Zusatz mit kaltem Wasser gekühlt

<sup>1)</sup> E. Fischer u. Bergell, Ber. d. chem. Ges., Bd. 35, S. 3779 (1902).

wird. Die Sulfanilsäure geht größtenteils rasch in Lösung und an ihre Stelle tritt alsbald ein dichter, weißer, kristallinischer Niederschlag von Diazobenzolsulfosäure, der nach einigen Minuten abgesaugt und mit wenig Wasser ausgewaschen wird. Unveränderte Sulfanilsäure beeinträchtigt die Reaktion nicht.

Die Prüfung auf Histidin geschieht nun in der Weise, daß man sich zunächst mit Hilfe des Millonschen Reagens von der Abwesenheit von Tyrosin überzeugt. Man versetzt dann die zu prüfende Lösung bis zum Überschuß mit Sodalösung — die sich wegen der leicht erfolgenden Umlagerung der Diazoniumsalze in Isodiazokörper mehr empfiehlt als Natronlauge — und fügt 3—5 ccm einer unmittelbar vorher bereiteten sodaalkalischen Lösung von einigen Zentigrammen Diazobenzosulfosäure hinzu. Nach Verlauf von längstens drei Minuten, gewöhnlich aber sofort, tritt eine dunkelkirschrote Färbung auf, die selbst beim Verdünnen mit der vielfachen Menge Wasser ihren roten Ton behält und nicht gelbstichig wird. Beim Ansäuern schlägt die Farbe in ein reines Orange um. (Im Gegensatz dazu ist die Diazofärbung des Tyrosins in Soda im Verhältnis weniger tiefrot, wird beim Verdünnen etwas gelbstichig und geht in unreines Gelbroth über, beim Ansäuern wird sie bronzegelb bis schmutzig goldgelb; doch kann man die Färbungen des Tyrosins von denen des Histidins nicht leicht sicher unterscheiden). Die Empfindlichkeitsgrenze für die sodaalkalische Histidinreaktion liegt unterhalb einer Verdünnung von 1 : 100000 (blasses Hellrot); bei 1 : 20000 ist die Färbung in dickeren Schichten noch als dunkelkirschrot zu bezeichnen. Die Farbstoffe aus Tyrosin und Histidin besitzen eine nur geringe Affinität zur Faser im sauren Bade.

Im Gegensatz zu Histidin und Tyrosin vermag kein anderer der von mir untersuchten Eiweißspaltkörper mit Diazobenzolsulfosäure echte Farbstoffbildung einzugehen. Es geben zwar fast alle in Sodalösung zitronengelbe bis sattgoldgelbe Färbungen, doch verschwinden dieselben beim Verdünnen und beim Ansäuern, während die Histidin- und Tyrosinfärbungen auch bei Wasserbadtemperatur säurebeständig sind. Derartige Färbungen gaben Glykokoll, Alanin, Leucin,  $\alpha$ -Amidovaleriansäure, Serin, Eysin, Ornithin, Arginin, Asparagin, Glutaminsäure, Cystin und Hippur-



säure, während bei Pyrrolidin- $\alpha$ -Karbonsäure und Tryptophan keine Reaktion erfolgte. (Glukosamin, Phenylalanin und Oxy-pyrrolidinkarbonsäure standen mir nicht zu Gebote, ebensowenig die neuen von Skraup [Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 37, S. 1596] aufgefundenen Spaltkörper, doch ist kaum anzunehmen, daß unter diesen eine Ausnahme vorkommt.)

In der Diazoreaktion haben wir ein scharfes Prüfungsmittel, ob Eiweißspaltkörper noch durch Spuren von Histidin oder Tyrosin verunreinigt sind oder nicht, da dieselbe speziell da noch deutliche Reaktion gibt, wo «Millon» fast versagt.

Ihre größte Bedeutung scheint aber darin zu liegen, daß sie auch Histidin und Tyrosin in eiweißartiger Bindung anzuzeigen vermag. So trat sie bei allen bisher geprüften Eiweißkörpern auf, aus denen Histidin bzw. Tyrosin isoliert worden sind, während sie bei andern, in denen diese Körper nicht aufgefunden werden konnten, versagte, wie folgende Tabelle zeigt:

Eiweißkörper	Histidin <sup>1)</sup> %	Tyrosin %	Millon	Diazoreaktion
Sturin . . . . .	12.9	0	—	+
Histon (Dorsch) . . . . .	?	?	—	+
Histon (Thymus vom Hammel)	1.21	6.31	+	+
Edestin . . . . .	2.19	2.13	+	+
Casein . . . . .	2.6	4.5	+	+
Salmin . . . . .	0	0	—	—
Seombrin . . . . .	0	0	—	—
Clupein . . . . .	0	0	—	—
Protamin- oder histonartiger Körper aus den Testikeln von Sphaerechinus spec.	?	?	kaum erkennbar	gelb mit rötlichem Stich
Cyclopterin (Seehase) . . . . .	0	8.3	deutliche Reaktion	rotorange

Es ist mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle Herrn Prof. Kössel für sein lebenswürdiges Entgegenkommen und das lebhafteste Interesse, das er an der Arbeit nahm, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

<sup>1)</sup> Nach Cohnheim, Chemie d. Eiweißkörper. Braunschweig 1904.