

Über das Vorkommen von Histidinbetain im Steinpilz.

Von

E. Winterstein und C. Reuter.

(Aus dem Agrikultur- und Physiol.-chemischen Laboratorium der Eidgen. Technischen Hochschule in Zürich)

(Der Redaktion zugegangen am 14. Juni 1913.)

In einer Mitteilung über die stickstoffhaltigen Bestandteile der Pilze¹⁾ wurde eine Base beschrieben, welche bei der Analyse Werte lieferte, die auf die Formel $C_9H_{15}N_3O_2$ stimmen und deren Goldsalz einen ähnlichen Schmelzpunkt (184^0)²⁾ besitzt, wie die von Kutscher³⁾ in dem Champignonextrakt «Hercynia» aufgefundene Base derselben Formel, die von ihm als ein Trimethylhistidin angesprochen wurde. Es wurde hervorgehoben, daß die Base aus Steinpilz im Gegensatz zu den Angaben Kutschers durch Silbernitrat und Baryt größtenteils fällbar ist, daß sie also in die sogenannte «Argininfraktion» eingeht, und daß nur ein geringer Teil der Silberfällung entgeht. Die Frage, ob etwa diese Base identisch sei mit dem von Barger und Ewins⁴⁾ aus dem Ergothionin des Mutterkorns durch Entschwefelung dargestellten Histidinbetain, konnte nicht entschieden werden, da diese Autoren den Schmelzpunkt ihres Dipikrates in der erwähnten Mitteilung zu 123^0 angeben, während das Dipikrat der Steinpilzbase bei 205^0 schmolz.

In einer weiteren Mitteilung⁵⁾ beschrieben wir die Pikrate der Base näher und gaben auch an, daß das Dipikrat 2 Moleküle

¹⁾ C. Reuter, Diese Zeitschrift, Bd. 78, S. 201.

²⁾ Ibidem, Bd. 78, S. 205.

³⁾ Zentralbl. f. Physiol., Bd. 24, S. 775 (1910); Bd. 25, 1911, S. 497. — Z. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel, Bd. 21, S. 535 (1911).

⁴⁾ Chem. Soc. London (1911), Bd. 99, S. 2336.

⁵⁾ E. Winterstein und C. Reuter, Zentralbl. f. Bakteriologie. Bd. 34, S. 566 (1912).

Krystallwasser enthält. Neuerdings konnte durch öfteres Umkrystallisieren und Reinigen ein Präparat gewonnen werden, welches nach vorheriger Bräunung bei 212—213° schmilzt.

Herr Barger hatte nun die Freundlichkeit, unser Dipikrat direkt mit dem von ihm aus Ergothionin gewonnenen Präparat zu vergleichen und in einer kürzlich erschienenen Mitteilung¹⁾ berichtet er, daß völlige Übereinstimmung der Schmelzpunkte der Dipikrate besteht, auch in der Mischprobe. Der früher von den Herren Barger und Ewins angegebene tiefere Schmelzpunkt ist auf den Krystallwassergehalt zurückzuführen und das getrocknete Pikrat schmilzt erst viel höher bei 212—213°. Das Histidinbetain aus Ergothionin ist demnach mit der Base aus Steinpilz identisch. Andererseits wurde von Engeland und Kutscher²⁾ auf synthetischem Wege ein Histidinbetain erhalten, das mit dem «Hercynin», der Base aus Champignon, übereinstimmt. In der erwähnten Mitteilung gibt Barger an, daß das Dipikrat des synthetischen Histidinbetains, das er nach dem Verfahren von Engeland und Kutscher gewann, mit dem Dipikrat des Betains aus Ergothionin völlig übereinstimmt. Es kann mithin kein Zweifel mehr über die Konstitution der Steinpilzbase vorliegen und sie ist also den Pflanzenbetainen anzureihen, deren wir bereits eine ganze Reihe kennen und um deren Erforschung sich besonders E. Schulze und G. Trier verdient gemacht haben.

Im folgenden vervollständigen wir unsere Angaben über die Pikrate des Histidinbetains aus Steinpilz.

Das Monopikrat vom Fp. 201° wird in feinen, weichen Nadelchen erhalten, wenn man eine Lösung der Base mit Pikrinsäure neutralisiert, oder wenn man einer neutralen Lösung ihrer Salze Natriumpikrat zufügt. Aus dem Dipikrat kann es

¹⁾ G. Barger und A. J. Ewins, *Biochemical Journal*, Vol. 7, S. 204—206.

²⁾ *Zentralbl. f. Physiol.*, Bd. 26, S. 569. Versuche zur Synthese des Hercynins. Die Autoren erhielten die Base durch Behandeln von Histidin mit Silbernitrit und Erwärmen der dabei erhaltenen Lösung mit überschüssigem Trimethylamin. Das synthetische Aurat schmolz mit dem aus Champignonextrakt dargestellten, gleichzeitig an demselben Thermometer erhitzt, wie dieses unter starker Zersetzung bei 183°.

erhalten werden durch Zusatz der berechneten Menge Natronlauge.

Das Monopikrat enthält 1 Mol. Krystallwasser, das bei 105° entweicht.

0,6824 g Substanz verloren 0,0276 g H_2O = 4,04%.

0,2411 „ „ „ „ 0,0098 „ H_2O = 4,07%.

Berechnet für $C_{15}H_{18}N_6O_9 + H_2O$: 4,06% H_2O .

Das Dipikrat entsteht, wenn man eine Lösung des Chlorides durch Abdampfen von überschüssiger Salzsäure befreit und nach Wiederaufnehmen mit Wasser eine Lösung von Natriumpikrat hinzufügt. Es ist dabei offenbar durch die überschüssige Salzsäure das Dichlorid entstanden, das mit Natriumpikrat auch das Dipikrat liefert. Auch kann man das Monopikrat durch Zusatz einer gesättigten Pikrinsäurelösung leicht in das Dipikrat überführen; letzteres ist schwerer löslich als das Monopikrat und scheidet sich in flachen dünnen Prismen oder länglichen Platten aus, die bei $212-213^{\circ}$ nach vorhergehender Bräunung schmelzen. Beim Erhitzen auf 105° verliert das Dipikrat 2 Moleküle Krystallwasser und verwittert. Nach den Angaben von Barger schmilzt es in krystallwasserhaltigem Zustande bei 123° . Wir beobachteten unterhalb dieser Temperatur nur eine durch den Krystallwasserverlust bedingte Formänderung ohne eigentlichen Schmelzpunkt. Eingehende Analysendaten über das Monopikrat finden sich bereits in der erwähnten Mitteilung über die stickstoffhaltigen Bestandteile der Pilze.

Pikrinsäurebestimmung im Dipikrat.

0,3348 g bei 105° getrocknet lieferten beim Zersetzen mit Salzsäure und Ausäthern der Pikrinsäure 0,2346 g Pikrinsäure = 70,07%.

Berechnet für: $C_9H_{15}N_3O_2 \cdot 2 C_6H_3N_3O_7 = C_{21}H_{21}N_9O_{16}$:
Pikrinsäure 69,88%.

Krystallwassergehalt:

0,4325 g verloren beim Erhitzen auf 105° 0,0225 g = 5,20%

0,2247 „ „ „ „ „ „ 105° 0,0114 „ = 5,07%

0,3258 „ „ „ „ „ „ 105° 0,0163 „ = 5,00%

Berechnet für $C_{21}H_{21}N_9O_{16} + 2 H_2O$ 5,21%

Bestimmung der optischen Aktivität.

0,4769 Goldsalz $C_9H_{15}N_3O_2 \cdot 2 HAuCl_4$ wurden in Wasser suspendiert und mit Schwefelwasserstoff in der Wärme zersetzt. Das Filtrat wurde vorsichtig eingeeengt und die Flüssigkeit auf 10 ccm gebracht. Im Landoltschen Apparat wurde eine Drehung von $0,88^\circ$ nach rechts beobachtet (im 2 dm-Rohr).

Daraus berechnet sich die spezifische Drehung:

für das Dichlorid bei Gegenwart von 6 Mol. freier HCl:

$$[\alpha]_D = + 30,0^\circ,$$

für die freie Base bei Gegenwart von 8 Mol. freier HCl:

$$[\alpha]_D = + 41,1^\circ,$$

Barger und Ewins¹⁾ fanden für unsere Base aus Steinpilz:

$$[\alpha]_D = + 46,5^\circ.$$

Sie geben an, daß sie das Chlorhydrat in wässriger Lösung polarisierten.

¹⁾ l. c., S. 206.