

Zur Erkennung des Histidins durch Farbenreaktionen.

Von

Herm. Pauly.

(Der Redaktion zugegangen am 1. Juli 1915.)

Gelegentlich seines Befundes, daß das wirksame Prinzip des Hinterlappens der Hypophyse die Diazoreaktion gibt, hat T. B. Aldrich¹⁾ kürzlich die Diazoreaktion des Histidins zwar einer ausführlichen Würdigung, zugleich aber auch einer Kritik unterzogen, die als auf falschen Schlüssen und auf unzureichendem Urteil beruhend nicht ohne Widerspruch belassen werden kann. Er stellt den Satz auf, daß die von mir aufgefundene Reaktion keine spezifische Prüfung auf Histidin sei, außer wenn andere Verbindungen, wie Tyrosin, p-Oxyphenyläthylamin, β -Imidazolyläthylamin, Adrenalin, u. a. entfernt seien, sondern eine allgemeine Reaktion für eine noch zu bestimmende Klasse von Verbindungen.

Hiermit stellt er mittelbar einen Anspruch an die Diazoreaktion, den sie, wie jeder einigermaßen auf dem Gebiete der Chemie Bewanderte ohne weiteres beurteilen kann, niemals zu erfüllen imstande ist, und den ich selbstredend auch niemals für sie gestellt habe. Wenn festgelegt ist, daß Histidin die Diazoreaktion gibt, so darf man doch noch nicht umgekehrt sagen: das Eintreffen dieser Reaktion zeigt Histidin an. Es wäre das, in dieser Allgemeinheit ausgedrückt, der nämliche Fehlschluß, wie wenn es hieße, die Biuretreaktion zeigt Eiweiß an, oder die Millonsche, bezw. die Xanthoproteinreaktion beweist das Vorhandensein von Tyrosin, während jedermann weiß, daß neben dem Eiweiß noch manche andere Stoffe die Biuretfärbung geben, und daß die beiden letztgenannten Prüfungen vor allem auch die Gegenwart von Phenolen andeuten können. Alle diese Reagenzien haben als spezifische eben nur dann Sinn, wenn man sie auf ein bestimmtes Gebiet beschränkt, nämlich im vorliegenden Falle auf das des Eiweißes, und zwar des Eiweißes $\kappa\alpha\tau'$ $\acute{\epsilon}\xi\omicron\chi\eta\nu$, d. h. soweit es ausschließlich in die bekannten, im wesentlichen aus Aminosäuren bestehenden Bausteine bei der vollständigen Hydrolyse zerfällt. Das bedingt zugleich, daß man vor der Prüfung sich davon überzeugen muß,

¹⁾ Journ. An. Chem. Soc., Bd. 37, S. 203 (Jan. 1915). Infolge der Kriegswirren konnte ich erst kürzlich Einblick in die Originalpublikation erhalten, sodaß sich die Entgegnung verzögert hat.

ob fremde Stoffe, die die gleichen Reaktionen geben könnten, nicht vorhanden sind.¹⁾ (Dies gilt natürlich dann besonders, wenn die Möglichkeit vorliegt, daß einfachere Umwandlungsformen der Aminosäuren selbst, wie es das p-Oxyphenyläthylamin, das Imidazolyläthylamin, das Adrenalin u. a. wahrscheinlich sind, auftreten. Solche gehören solange nicht zu den Eiweißbausteinen, als ihre Beteiligung am Aufbau nicht erwiesen ist. Das trifft selbst auf die noch nicht lange entdeckte, ebenfalls die Diazo-reaktion gebende Aminosäure, das Dioxyphenylalanin, zu.)

Somit kann es nicht zweifelhaft sein, daß die Diazoreaktion, wie ich das noch kürzlich ausgeführt habe,²⁾ als eine Tyrosin und Histidin bisher allein unter den Aminosäuren anzeigende, den übrigen Eiweißreaktionen ebenbürtige an die Seite zu stellen ist, und daß ferner der von mir seinerzeit aufgestellte Satz, auch heute noch zu Recht besteht, daß in dieser Reaktion ein wertvolles Mittel gefunden sei, Histidin bei Abwesenheit von Tyrosin nicht allein in Gemischen mit anderen Eiweißspaltkörpern, sondern auch in den ursprünglichen Eiweißkörpern, in denen es noch mit anderen (eiweißartigen) Gruppen verbunden ist, zu erkennen.

Daß die Diazoreaktion aber eine allgemeine Reaktion für eine noch zu bestimmende Klasse von Verbindungen sei, wie T. B. Aldrich³⁾ meint, diese Ansicht kann ich nicht teilen. Ich denke, die Chemie hätte im Laufe der vergangenen fünf und fünfzig Jahren im wesentlichen festgestellt, wann eine chemische Verbindung zur Kupplung mit Diazoniumverbindungen befähigt ist, und wann nicht. Auf dieser Grundlage baut sich auch die Reaktionsfähigkeit der aus dem Tier- und Pflanzenkörper gewonnenen Stoffe mit Diazoniumlösungen auf. Deswegen kann man keine etwa die besonderen biologischen Verhältnisse berücksichtigende Spezialklasse von diazoreaktiongebenden Verbindungen aufstellen, die sich nicht den chemischen Prinzipien unterordnete, sondern höchstens nachweisen, daß in einem bestimmten biochemischen Gebiete, wie z. B. dem der Proteine, die und die Substanz die Reaktion gibt und die übrigen nicht. Handelt es sich dann nur um eine oder, wie hier, um zwei solcher Verbindungen, die man aber auf andere Weise voneinander unterscheiden kann, so kann gewiß kein Bedenken bestehen, das betreffende Reagens als Diagnostikum zu empfehlen, wie das für den Fall des bis dahin schwer nachweisbaren Histidins von mir geschehen ist.

Auf der andern Seite kann ich den Anlaß nicht vorübergehen lassen, ohne auf die Unsicherheit der Schlüsse, die Aldrich im übrigen aus seinen Beobachtungen zieht, hinzuweisen. So interessant gewiß die Feststellung ist, daß die wirksame Substanz der Hypophyse die Diazo-

¹⁾ z. B. auch durch Hydrolyse von Nucleinsäuren entstandene Purine usw.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 94, S. 284 (1915).

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 42, S. 513 (1904).

reaktion gibt, so ist doch der Schluß, daß es sich nicht um Histidin handle; weil die Reaktionen von Weidel und von Knoop ausgeblieben seien, für jeden Kenner der Farbenreaktionen des Histidins nicht bindend, wenngleich natürlich mit dieser Bemerkung das Gegenteil nicht behauptet werden soll. Denn die beiden letztgenannten kann man im Vergleich mit der Diazoreaktion kaum als eigentliche Farbenreaktionen bezeichnen, ja, die Weidelsche ist so ungemein schwach, daß sie selbst mit Histidin in reiner Substanz ausgeführt, noch sehr undeutlich ist, wie ich schon bei früherer Gelegenheit betont habe. Um wieviel weniger darf man sie also als Gegenbeweis gegenüber einer so überaus empfindlichen Reaktion, wie es die Diazoprüfung ist, verwenden! Auch die Knoopsche Färbung mit Brom¹⁾ hat bei einer 1:1000 überschreitenden Verdünnung nach eigener Angabe ihres Entdeckers ihre Grenze, während durch Diazoniumlösungen Histidin bei einer 20—50 mal größeren Verdünnung noch scharf sich zu erkennen gibt. Dazu ist der Farbenton der Reaktion von Knoop ein so unklarer und veränderlicher, daß ich mich nicht unterfangen möchte, auf Grund derselben allein die An- oder Abwesenheit von Histidin in Rohprodukten zu behaupten. Es scheint mir also auch der negative Schluß, den Aldrich aus seinen Prüfungen gezogen hat, daß Histidin die Farbenreaktion des Pituitins nicht verursache, ebenso unsicher wie der positive, daß es sich um eine histidin-ähnliche Substanz handle. Damit sind seine Schlußfolgerungen über den Wert oder Unwert der Diazoreaktion für den Nachweis des Histidins eo ipso hinfällig.

Eine Farbenreaktion kann eben nie über die Bedeutung eines Indiziums oder eines Hilfsmittels hinausgehen; zum sicheren Nachweis, ob eine Verbindung vorliege, bedarf es immer wieder der Isolierung. Erst dann kann man auch den Grund einer vorher beobachteten Reaktion richtig verstehen.

¹⁾ Die übrigens auch durch Jod in Gegenwart von Basen, wie verdünntem Ammoniak, Soda usw. auftritt.

Würzburg, im Juni 1915.