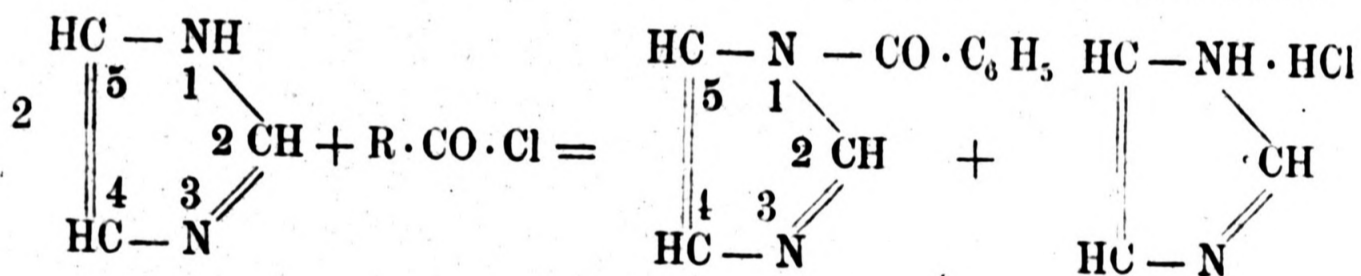


Über Benzoylderivate des Histidins und Histamins.

Von
Otto Gerngross.

(Aus dem technisch-chemischen Laboratorium der Technischen Hochschule, Berlin.)
 (Der Redaktion zugegangen am 5. August 1919.)

Vor einiger Zeit habe ich eine Methode für die Darstellung des bis dahin nicht bekannten in 1-Stellung acylierten Imidazols und seiner einfachen Homologen und Derivate angegeben¹⁾. Sie besteht darin, daß man das Imidazolderivat in Äther, Chloroform oder Benzolsuspension oder Lösung mit dem Acylchlorid im molekularen Verhältnis 2:1 schüttelt.



Ich habe nun diese Methode auch für die Darstellung der in 1-Stellung substituierten Benzoylderivate der physiologisch wichtigen Imidazolkörper, nämlich des Eiweißspaltungsproduktes Histidin und der von ihm sich herleitenden proteino-genen Base des β -Imidazolyläthylamins (Histamins) benutzt.

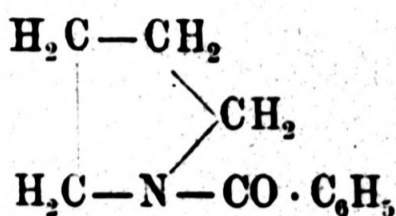
Das Studium der Eigenschaften, vor allem der Beständigkeit des im Imidazolringe acylierten Histidins bietet Interesse, da es sehr wahrscheinlich ist, daß die Peptidverkettung im Eiweiß nicht auf die Amidogruppen der Aminosäuren als Verknüpfungsstellen der Kettenglieder beschränkt ist. Für die Imidogruppe des Prolins wird die Teilnahme an der Peptidverkettung ganz allgemein angenommen und dürfte bei den Proteinen der Salmingruppe als bewiesen gelten²⁾.

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 46, S. 1908 (1913).

²⁾ A. Kossel, N. Gawrilow, Diese Zeitschr. Bd. 81, S. 276 (1912).

Falls dies auch für die Imidogruppe des Histidins zutreffen sollte, würde sich die ungeheure Zahl der Isomeren der Polypeptide, die E. Fischer¹⁾ errechnete, und welche eine Ursache der Mannigfaltigkeit der organisierten Natur ist, noch vermehren.

Während aber das N-Benzoyl-pyrrolidin²⁾



und die von E. Fischer³⁾ und seinen Schülern dargestellten entsprechenden N-Acylproline in alkalischer Lösung nach Schotten-Baumann darstellbare, recht stabile Körper sind, so daß die Möglichkeit ihrer natürlichen Existenz nicht bezweifelt werden kann, sind die bisher bekannt gewordenen l-Acyl-Imidazolderivate⁴⁾ empfindliche Substanzen, in denen der Acylrest sehr locker sitzt.

Dies trifft denn, wenn auch in geringerem Maße, für den *Eso*-, *Exo*-Di-Benzoyl-Histidinmethylester⁵⁾

¹⁾ E. Fischer, Diese Zeitschr. Bd. 99, S. 54 (1917).

²⁾ v. Braun, E. Beschke, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 39, S. 4122 (1906).

³⁾ E. Fischer, E. Abderhalden, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 37, S. 3071 (1904), E. Fischer, G. Reif, Annalen d. Ch. Bd. 363, S. 118 (1908).

⁴⁾ O. Gerngroß, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 46, S. 1908 (1913).

⁵⁾ Die Auffindung der in dieser Arbeit dargestellten Verbindungen nötigt uns zu einer Unterscheidung der in der Seitenkette und im Imidazolring substituierten Derivate des Histidins und Histamins, wenn wir nicht statt der kurzen und eingebürgerten Trivialnamen die etwas schwerfällige chemische Terminologie z. B. für den obengenannten Di-Benzoyl-histidinester: α -Benzoylamino- β -[1-Benzoyl-Imidazolyl-4(5)]-propionsäure-methylester anwenden wollen.

Wir bezeichnen daher die innerhalb des Imidazolringes acylierten Verbindungen mit einem dem Trivialnamen vorgesetzten *Eso*, die außerhalb des Ringes in der Seitenkette substituierten Derivate durch Voranstellung von *Exo*.

Aufspaltung des Imidazolringes durch Alkali und Benzoylchlorid schon im ersten Stadium des Reaktionsverlaufes einsetzt¹⁾).

Die Darstellung der *Eso*-Mono-Benzoylverbindung des Histamins versuchte ich mit der Absicht, den Einfluß dieser Substitution auf die physiologische Wirksamkeit der Base festzustellen. Es zeigte sich jedoch, daß beim Schütteln des in Chloroform suspendierten β -Imidazolyläthylamins mit Benzoylchlorid zunächst ein Benzoylrest in die Amidogruppe der Seitenkette eintritt und erst nach dessen Substitution in den Imidazolring. Wie nach den Erfahrungen M. Guggenheims²⁾ bei den Peptaminen zu erwarten, ist das so gewonnene *Eso-Exo*-Di-Benzoylhistamin von geringer physiologischer Wirkung. Die Benzoylierung des Imidazolringes im β -Imidazolyläthylamin unter Freihaltung der Amidogruppe der Seitenkette gelang nicht.

Das bisher unbekannte *Exo*-Benzoyl-Histamin $C_3H_4N_2 \cdot C_2H_4 \cdot NH \cdot CO \cdot C_6H_5$ ist ein durch seine Schwerlöslichkeit und Kristallisationsfähigkeit ausgezeichneter Körper, der sich bequem und in guter Ausbeute, ohne daß ein wesentlicher Verlust durch Aufspaltung des Imidazolringes stattfindet, bei Einhaltung der im experimentellen Teil angegebenen Bedingungen in wäßriger Lösung nach der Methode von Schotten-Baumann herstellen und zur Isolierung der zerfließlichen, in H_2O ungemein leicht löslichen Histaminbase verwenden läßt. So gelang es mir, direkt aus dem Fäulnisgemisch von Histidin über 60% *Exo*-Benzoyl-Histamin zu gewinnen.

Exo-Benzoyl-1-Histidin.

1- α -Benzoylamino, β -[Imidazolyl-4(5)-]propionsäure.

Diese Verbindung ist von S. Fränkel³⁾ und H. Pauly⁴⁾ durch Behandeln des Histidins mit einem großen Überschuß von Benzoylchlorid und Alkali nach Schotten-Baumann

¹⁾ O. Gerngross, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 46, S. 1913 (1913).

²⁾ Biochem. Zeitschr. Bd. 51, S. 369 (1913).

³⁾ Zeitschr. f. chem. Physiologie u. Pathologie Bd. 8, S. 156 (1906).

⁴⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 43, S. 2254 (1910).

dargestellt und im einen Falle über das Quecksilbersalz, im andern Falle nach dem Einengen der Lösung und Abscheidung von Benzoesäure durch stundenlanges Extrahieren im Soxleth mit Ligroin und mehrmaliges Umlösen von dem noch anhaftenden Ballast an Benzoesäure gereinigt worden. Bei Verwendung von etwa $1\frac{1}{3}$ Mol. Benzoylchlorid und einem Minimum an Lösungsmittel erhält man das *Exo*-Benzoyl-Histidin viel einfacher unmittelbar aus dem alkalischen Reaktionsgemisch durch Neutralisation mit Salzsäure und Essigsäure, und zwar 78% der theoretisch möglichen Ausbeute.

12,6 g Histidin-Monochlorhydrat (6 Zentimole) werden in 60 ccm 2 n-NaOH gelöst, zu der eisgekühlten Lösung unter lebhaftem Turbinieren 9,28 ccm Benzoylchlorid (8 Zentimole) und 130 ccm 2 n-NaOH (26 Zentimole) innerhalb von $1\frac{1}{2}$ Stunden zufließen gelassen. Dann wird unter Rühren und Eiskühlung mit 42 ccm 5 n-HCl und zuletzt mit 0,57 ccm 17,6 n-Essigsäure (22 Zentimole Säure) versetzt. Das *Exo*-Benzoyl-Histidin fällt sofort in Gestalt derber Stäbchen aus, die nach einigem Stehen im Eisschrank abgesaugt, mit Eiswasser und Äther gewaschen, bei 100° getrocknet den Schmelzpunkt 241° und das Gewicht 13 g zeigen. Durch einmaliges Umkristallisieren aus 500 ccm siedendem Wasser werden 11,5 g der reinen Substanz vom Schmelzpunkt 247° (249° corr.) erhalten. Die geringe, in der Mutterlauge mit Benzoesäure noch befindliche Menge wird verworfen.

Fränkel¹⁾ gibt den Schmelzpunkt des über das Quecksilbersalz gereinigten Benzoyl-Histidins mit 230° an, während Pauly²⁾, der ebenso wie Fränkel vom natürlichen l-Histidin ausging, den Schmelzpunkt 249° (corr.) fand³⁾. Nun wurde in neuerer Zeit von F. L. Pyman⁴⁾ auf synthetischem Wege das d, l-*Exo*-Benzoyl-Histidin dargestellt, das praktisch den gleichen Schmelzpunkt — 248° (corr.) — wie das von Pauly hergestellte Produkt aufwies. Es war nicht unmöglich, daß das Benzoyl-Histidin vom Schmelzpunkt 249°, das Pauly und ich in Händen hatten, wie das von Pyman dargestellte, die razemische Verbindung, das Fränkelsche hingegen, das ja

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c.

³⁾ In Abderhaldens Biochem. Handlexikon Bd. 4, S. 720 (1911) werden beide Schmelzpunkte nebeneinander angegeben.

⁴⁾ Journal of the Chemical Soc. London Bd. 109, S. 195 (1916).

auf erheblich andere Weise gewonnen war, das l-Benzoyl-Histidin, vorstellte. Dem ist aber nicht so, wie die optische Untersuchung ergab. Die Angabe des Schmelzpunktes von 230° ist somit eine irrtümliche.

Für die optische Bestimmung wurde das im Vakuum-Exsikkator über Schwefelsäure konstant getrocknete, 1 Mol. Wasser enthaltende Benzoyl-Histidin verwandt.

0,7774 g drehende Substanz gelöst in 12 ccm Wasser enthaltend 2 Mol. Salzsäure.

Gesamtgewicht der Lösung: 12,891 g, d. i. eine 6,03%ige Lösung
 $d_{20} = 1,0257$.

Drehung bei 20° und Na-Licht im 2 dm-Rohr: $5,76^{\circ} (\pm 0,02^{\circ})$ nach links.

Demnach:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -46,56 (\pm 0,16).$$

Für die Hydrolyse wurde die gegen Salzsäure sehr resistente Benzoylverbindung 24 Stunden mit der 15fachen Menge 20%iger Salzsäure unter Rückflußkühlung erhitzt, auf dem Wasserbade eingedampft und nach Entfernung der Benzoesäure aus 5 n-Salzsäure umkristallisiert.

0,6204 g drehende Substanz gelöst in 14 ccm Wasser enthaltend 3 Mol. Salzsäure.

Gesamtgewicht der Lösung: 15,0557 g, d. i. eine 4,12%ige Lösung
 $d_{20} = 1,0292$.

Drehung bei 20° und Na-Licht im 2 dm-Rohr: $0,72^{\circ} (\pm 0,02)$ nach rechts.

Demnach:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +8,49^{\circ} (\pm 0,23^{\circ}).$$

Beim Trocknen des 1 Mol. Kristallwasser enthaltenden *Exo*-Benzoyl-Histidins bei 100° entweicht nur ein geringer Teil des Kristallwassers, der beim Liegen an der Luft in kurzer Zeit wieder aufgenommen wird. Kocht man jedoch die fein gepulverte Verbindung mit der 40fachen Menge absoluten Alkohols auf, so scheidet sich nach vorübergehender teilweiser Lösung die wasserfreie Verbindung in Form einer voluminösen Masse verfilzter Nadeln ab. Sie ist nicht wesentlich hygroskopisch und hat den gleichen Schmelzpunkt wie das wasserhaltige Produkt.

0, 1878 g Substanz 25,1 ccm N; 14,0° C; 775 mm

$C_{13}H_{13}O_3N_3$ Ber.: 16,22% N

Gef.: 16,21% N

Trotz mannigfachster Abänderung der Versuchsbedingungen gelang es nicht, einen zweiten Benzoylrest in das *Exo*-Benzoyl-Histidin einzuführen. Die Reaktion geht jedoch nach Veresterung der Carboxylgruppe glatt vonstatten.

Exo-Benzoyl-1-Histidinmethylester.

1- α -Benzoylamino, β -[Imidazolyl-4(5)-]propionsäuremethylester.

In eine Suspension von 2,7 g wasserfreiem Benzoyl-Histidin in 27 ccm Methylalkohol wird bei gewöhnlicher Temperatur bis zur Sättigung trockenes Salzsäuregas eingeleitet, die Lösung 2 Minuten am Rückflußkühler gekocht und dann im Vakuum bei 25° eingedampft. Der kristallinische Rückstand wird zur möglichsten Entfernung der Salzsäure mehrmals im Vakuum mit Alkohol eingedampft, einige Zeit über Ätzkali im Vakuum-Exsikkator aufbewahrt, dann in 20 ccm Wasser gelöst und vorsichtig unter Kühlung mit Ammoniak bis zum eben dauernden Auftreten des Ammoniakgeruches versetzt. Es kristallisieren große, zu Drusen vereinte Prismen, die mit Wasser gewaschen, bei 100° getrocknet, 2,7 g wiegen und bei 159° (160° corr.) zu einer klaren Flüssigkeit schmelzen.

Für die Analyse wurde die Substanz aus der 5fachen Menge kochenden Wassers umkristallisiert, wobei sich der Schmelzpunkt von 159° nicht mehr änderte, und im Vakuum bei 100° getrocknet. Sie ist nicht hygroskopisch.

0,156 g Substanz, 0,3527 g CO_2 , 0,0785 g H_2O

0,1577 g Substanz, 20,2 ccm N, 12° C, 461 mm.

$C_{14}H_{15}O_3N_3$ Ber.: 61,48% C 5,53% H 15,43% N

Gef.: 61,47% C 5,61% H 15,38% N

Der Ester ist in kaltem Methylalkohol leicht löslich; in der 3fachen Menge siedenden Äthylalkohols löst er sich glatt und kristallisiert beim Abkühlen in Gestalt von Prismen aus. In heißem Aceton und Essigester ist er gut löslich, mäßig in Benzol und Chloroform, sehr schwer in kochendem Äther.

Er erteilt den Lösungsmitteln deutliche alkalische Reaktion gegen Lackmus. In starkem Ammoniak ist er nicht löslicher als in Wasser, in 2 n-NaOH jedoch auch in der Kälte löslich.

Man kann diese Verbindung auch durch Benzoylieren des salzsauren Histidinesters mit verdünnter Sodalösung und einem geringen Überschuß von Benzoylchlorid nach Schotten-Baumann darstellen. Diese Methode gibt jedoch schlechte Ausbeute und ist beträchtlich umständlicher als die eben geschilderte, so daß ich es unterlasse, sie durch ein Beispiel zu belegen.

Eso, Exo-Dibenzoyl-*l*-Histidinmethylester.

l- α -Benzoylamino- β -[*l*-Benzoyl-Imidazolyl-4 (5)]-propionsäuremethylester.

1,02 g fein gebeutelten *Exo*-Benzoyl-Histidinmethylesters werden in 30 ccm über Natrium getrocknetem Benzol suspendiert und mit 0,21 ccm Benzoylchlorid in 5 ccm trockenem Benzol 2 Tage lang auf der Maschine geschüttelt. Es bildet sich nach und nach eine gequollene amorphe Abscheidung von salzsaurem *Exo*-Benzoyl-Histidinester, die auf der Nutsche abgesaugt und mit 30 ccm Benzol ausgewaschen wird. Beim Verdampfen der Benzollauge im Vakuum bei 35° hinterbleibt ein Sirup, der sich beim Digerieren mit 10 ccm trockenem Äther bei 35° in ein dickes, weiches Kristallfließ verwandelt. Nach vorsichtigem Zusatz von ca. 10 ccm Petroläther läßt man unter Eiskühlung die Kristallisation vervollständigen, saugt ab und erhält nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure 0,6 g reiner Substanz vom Schmelzpunkt 108 bis 109° (corr.), d. i. 85% der nach der Theorie zu erwartenden Ausbeute.

Für die Analyse wurde die nicht weiter gereinigte Substanz bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuum zur Konstanz getrocknet.

0,1330 g	Substanz,	0,3245 g	CO ₂ ,	0,0605 g	H ₂ O
0,1499 g	„	14,0 ccm	N, 15° C.,	760 mm	
C ₂₁ H ₁₉ O ₁ N ₃	Ber.:	66,81%	C	5,07%	H
	Gef.:	66,54%	C	5,09%	H
				11,14%	N
				11,07%	N

Sie ist in kaltem Wasser zunächst unlöslich und gibt mit Diazobenzoësulfosäure in alkalischer Lösung keine Färbung,

ein Beweis, daß der zweite Benzoylrest in den Imidazolring eingetreten ist. Beim andauernden Kochen findet nach und nach Lösung der in heißem Wasser geschmolzenen Verbindung statt unter Bildung des in Wasser leicht löslichen benzoesauren Salzes von *Exo*-Benzoyl-Histidinester. Langsam erfolgt diese Umwandlung auch schon in der Kälte, was sich durch das Auftreten der Diazoreaktion leicht erkennen läßt. 0,1 g der Substanz, die 2 Monate bei Zimmertemperatur unter zeitweisem Umschütteln in 3 ccm Wasser aufbewahrt wurden, zeigten nach Ablauf dieser Zeit $\frac{1}{3}$ des ursprünglichen Gewichts. Gegen Alkalien, besonders aber gegen Säuren, ist die Verbindung recht empfindlich.

Ein Pröbchen, welches über Nacht in überschüssiger $\frac{1}{10}$ n-Sodalösung stand, war fast unverändert, ein anderes, das mit n-NaOH digeriert wurde, ging jedoch schon nach Verlauf von $\frac{1}{2}$ Stunde in Lösung. Durch $\frac{1}{5}$ n-Essigsäure wird die Substanz auch nach tagelanger Einwirkung nur wenig zersetzt, während $\frac{1}{10}$ n-Salzsäure rasch Benzoessäure abspaltet.

Die Verbindung läßt sich aus heißem, 25 % igem wäßrigem Alkohol umkristallisieren, besser aus 50 % igem, aus welchem sie in Gestalt atlasglänzender Platten vom Schmelzpunkt 108° sich abscheidet. Sie ist sehr leicht löslich in Aceton, Alkohol, Essigester, Chloroform und Benzol, etwas schwerer in Äther und in kochendem Ligroin vom spezifischen Gewicht 0,71—0,72. Durch sehr vorsichtigen Zusatz von Petroläther zur Chloroform- oder Benzollösung kristallisiert sie in Gestalt von seiden-glänzenden Lamellen und prismatischen Nadeln aus, ebenso durch Zusatz von Wasser zur alkoholischen Lösung.

Exo-Benzoyl-Histamin.

N- $\{\beta$ -[Imidazolyl-4(5)]äthyl}-benzamid.

0,8235 g Histaminbase¹⁾, die, aus dem Dichlorhydrat bereitet, den Schmelzpunkt 86° (corr.) beim Erhitzen im geschlossenen Schmelzpunktröhrchen zeigt, werden rasch gepulvert, in 15 ccm trockenem Chloroform suspendiert und mit

¹⁾ F. L. Pyman, Journ. of the Chemical Society London Bd. 101, S. 543 (1912).

0,4 ccm Benzoylchlorid in 12 ccm Chloroform 10 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Es bildet sich eine nach und nach festwerdende Kruste von Histamin-Monochlorhydrat¹⁾. Nach dem Filtrieren wird die Chloroformlösung im Vakuum eingedampft. Der zurückbleibende Sirup kristallisiert beim Digerieren mit etwa 6 ccm leicht erwärmtem Chloroform. Man vervollständigt die Kristallisation durch Zusatz von Petroläther und erhält so 0,7 g = 88% der theoretisch möglichen Ausbeute an Benzoylkörper vom Schmelzpunkt 146°. Die Substanz ist nach einmaligem Umkristallisieren aus wenig warmem Alkohol und nachträglichem Zusatz von Petroläther rein und schmilzt bei 147° (148° corr.) ohne Zersetzung. Sie wird für die Analyse bei 90° getrocknet und ist nicht hygroskopisch.

0,1542 g Substanz, 0,3790 g CO₂, 0,0845 g H₂O
 0,1384 g „ „ 22,8 ccm N, 17° C, 757 mm
 C₁₂H₁₁ON₃ Ber.: 19,54% N 66,93% C 6,09% H
 Gef.: 19,78% N 67,03% C 6,13% H

Sie ist in Methylalkohol sehr leicht, in Alkohol ziemlich leicht, in Chloroform mäßig, in Aceton und Benzol schwer, in Essigester auch in der Hitze sehr schwer löslich, in Äther und Petroläther fast unlöslich. Aus kochendem Wasser, von welchem sie etwa 20 Teile zur Lösung benötigt, kristallisiert sie beim Erkalten der Lösung in Form 6seitiger Prismen und Platten, die zu derben Kristalldrusen vereint sind, desgleichen aus heißem Alkohol. Sie ist in Salzsäure leicht löslich und aus dieser Lösung durch verdünntes, wäßriges Ammoniak unverändert fällbar.

Der Benzoylrest sitzt außerordentlich fest und wird erst nach mehrstündigem Kochen der Verbindung mit 20%iger Salzsäure vollkommen abgespalten. Diese Eigenschaft und die blutrote Färbung, welche die Substanz mit Diazobenzolsulfosäure in sodaalkalischer Lösung gibt, ist der sichere Beweis, daß der Benzoylrest nicht in den Imidazolring, sondern in die Amidogruppe eingetreten ist.

Das Monochlorhydrat, welches als Nebenprodukt bei der Darstellung des *Eso-Exo*-Dibenzoyl-Histamins entsteht²⁾,

¹⁾ Diese Arbeit S. 62.

²⁾ Diese Arbeit S. 61.

wird für die Analyse durch Lösen in heißem Alkohol und Fällen mit Äther gereinigt und bei 100° getrocknet.

0,1837 g Substanz, 0,1038 g AgCl
 auf: $C_{12}H_{14}ON_3 \cdot HCl$ Ber.: 14,09% Cl
 Gef.: 13,98% Cl.

Es ist in Wasser und in Methylalkohol spielend leicht löslich, leicht in Äthylalkohol, fast unlöslich in Essigester und Aceton.

Das Monobenzoat entsteht infolge Einwirkung der Atmosphäre aus der *Eso-Exo*-Dibenzoylverbindung durch Hydrolyse beim langen Liegen an der Luft¹⁾. Die so erhaltene, etwas harzige Kristallmasse wird durch Umkristallisieren aus wenig warmem Essigester gereinigt und im Vakuumexsikkator zur Konstanz getrocknet. Das Salz ist nicht hygroskopisch.

0,1620 g Substanz, 0,4008 g CO_2 , 0,0835 g H_2O .
 $C_{19}H_{19}N_3O_3$ Ber.: 67,62% C 5,68% H
 Gef.: 67,47% C 5,77% H

Es hat den Schmelzpunkt 105—106° (corr.) und kristallisiert in Gestalt 4- und 6seitiger lanzettenförmiger Nadeln. In Wasser und in Chloroform ist es spielend leicht löslich, etwas schwerer in Aceton und Essigester, unlöslich in Äther.

Man erhält die gleiche Verbindung durch Lösen molekularer Mengen von *Exo*-Benzoylhistamin und Benzoesäure in der 5fachen Menge heißen Essigesters, aus dem das Salz beim Impfen auskristallisiert.

Sehr viel einfacher und bequemer als nach der oben beschriebenen Methode erhält man das *Exo*-Benzoylhistamin durch vorsichtiges Benzoylieren nach Schotten-Baumann, wenn man durch Wahl der Versuchsbedingungen die Aufspaltung des Imidazolringes auf ein Minimum beschränkt.

2,9 g Imidazolyläthylamin-Monochlorhydrat werden in 10 ccm 2n-NaOH in ähnlicher Weise wie bei der Darstellung des *Exo*-Benzoylhistidins angegeben behandelt. Das Benzoylhistamin fällt als ein körniger Niederschlag aus. Die Ausbeute beträgt über 90% der theoretischen.

Eine Nutzanwendung dieses Verfahrens zeigt der folgende Versuch:

¹⁾ Diese Arbeit S. 62.

8 g Histidin-Monochlorhydrat werden in 640 ccm Wasser gelöst, mit 2 g Traubenzucker, 0,8 g Pepton-Witte, 4 g Calciumcarbonat, mit geringen Mengen Magnesiumsulfat und sek. Natriumphosphat und etwas Pankreasautolysat versetzt, 9 Tage lang im Brutraum belassen¹⁾. Die schwach-basische Lösung wird filtriert, mit 32 ccm HCl angesäuert, auf dem Wasserbade auf 100 ccm eingedampft, mit etwas Tierkohle entfärbt, filtriert, auf ca. 15 ccm eingedampft, abgekühlt und mit 2,4 ccm einer etwa 40%igen NaOH versetzt. Zu dieser Lösung läßt man unter Turbinieren und Eiskühlung in 2½ Stunden 5,4 ccm Benzoylchlorid in 40 ccm Äther und 74 ccm einer 16%igen NaOH zufließen und sorgt dabei, daß allenfalls verdunsteter Äther ersetzt wird. Die auskristallisierende Benzoylverbindung wird nach längerem Stehen im Eisschrank abgesaugt, mit Eiswasser gewaschen, auf Ton getrocknet, in kochendem Alkohol gelöst, filtriert, im Vakuum eingedampft. Der zurückbleibende Kristallkuchen besteht aus 4 g reiner Benzoylverbindung.

Aus der wäßrigen Mutterlauge kann nach dem Ansäuern mit verdünnter Salzsäure, Abscheidung der Benzoesäure, Eindampfen im Vakuum, Auslaugen des vorwiegend aus Kochsalz bestehenden Rückstandes mit Methylalkohol, abermaligem Eindampfen, Lösen in Wasser und Fällen mit Ammoniak noch 0,7 g der Substanz gewonnen werden, so daß die Ausbeute 60% der aus dem Histidin zu erwartenden Menge übersteigt.

Eso, Exo-Dibenzoyl-Histamin.

N- $\{\beta$ -[1-Benzoyl-Imidazolyl-4(5)-]äthyl}-benzamid.

1 g *Exo*-Benzoylhistamin wird fein gepulvert, bei 100° in einer Flasche getrocknet, in dieser in 20 ccm trocknes Benzol suspendiert und mit der auf ½ Mol. berechneten Menge Benzoylchlorid = 0,27 ccm über Nacht geschüttelt. Der nach dem Abfiltrieren von salzsaurem *Exo*-Benzoylhistamin²⁾ und Verdampfen der Benzollösung im Vakuum zurückbleibende Sirup erstarrt zu einem Kuchen atlasglänzender Kristalle. Sie werden mit 5 ccm Äther auf ein Filter gespült und nach dem Trocknen im Vakuum analysiert. Die Ausbeute beträgt 0,6 g.

0,1367 g Substanz, 0,3582 g CO₂, 0,0678 g H₂O

C₁₉H₁₇N₃O₂ Ber.: 71,44% C 5,37% H

Gef.: 71,46% C 5,56% H

Das *Eso-Exo*-Dibenzoyl-Imidazolyläthylamin ist in Wasser unlöslich und zeigt in reinem Zustand mit Diazobenzoesulfo-

¹⁾ D. Ackermann, Diese Zeitschr. Bd. 65, S. 504 (1910).

²⁾ Diese Arbeit S. 59.

säure in alkalischer Lösung keine Rotfärbung. Im Exsikkator kann das Präparat jahrelang ohne die geringste Zersetzung aufbewahrt werden, dahingegen war eine Probe, die 4 1/2 Jahre lang in einem Schälchen im Laboratorium offen gelegen hatte, in eine strahlige Kristallmasse verwandelt worden, die sich als das benzoesaure Salz des *Exo*-Benzoyl-Histamins¹⁾ erwies.

Durch Digerieren mit 1/10 n-HCl wird der *Eso*-Benzoylrest in kurzer Zeit abgelöst. Aus 50%igem Alkohol läßt sich die Verbindung unter teilweiser Zersetzung, die sich durch starkes Auftreten des Geruchs von Benzoessäureäthylester kundtut, umkristallisieren. Sie ist in Chloroform, Aceton und Benzol spielend leicht, in Alkohol sehr leicht, in Essigester leicht, in Äther schwerer löslich, in Petroläther fast, in heißem Ligroin vom Siedepunkt 90—120° ganz unlöslich. Mit Petroläther läßt sie sich aus der Essigester-, Chloroform- und Alkohollösung in Form schmaler, dünner, vierseitiger Platten ausfällen.

Am Ende gebe ich noch Eigenschaften und Analysen des Mono- und Dichlorhydrates und des schön kristallisierenden Dinitrates des β -Imidazolyläthylamins an.

Das Dichlorhydrat²⁾ wurde durch 10stündiges Kochen des durch Fäulnis aus Histidin dargestellten *Exo*-Benzoylhistamins mit der 15fachen Menge 20%iger HCl erhalten und durch Umkristallisieren aus Alkohol und Äther gereinigt. Es schmolz unter geringfügiger Bläschenbildung bei 242° (246° corr.) zu einer klaren Flüssigkeit, die beim Erkalten wieder kristallinisch erstarrt. Es ist nicht wesentlich hygroskopisch.

0,1801 g Substanz, 0,2812 g AgCl

$C_8H_9N_3 \cdot 2 HCl$ Ber.: 38,54% Cl

Gef.: 38,62% Cl

Das Monochlorhydrat wurde als Nebenprodukt bei der Benzoylierung des Histamins in Chloroform-Suspension er-

¹⁾ Diese Arbeit S. 60.

²⁾ Vgl. A. Windaus, W. Voigt, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 40, S. 3694 (1907); K. K. Koessler, M. Th. Hanke, Chem. Zentralbl. Bd. I, S. 648 (1919).

halten¹⁾. 1,4 g des Rohproduktes werden aus der 25 fachen, das ist der eben zur Lösung nötigen Menge absoluten Alkohols umkristallisiert, wobei 0,9 g des reinen Körpers auskristallisieren. Für die Analyse wird bei 100° getrocknet.

0,1314 g Substanz, 13,9 ccm N, 17° C, 759 mm

Ber.: $C_5H_9N_3 \cdot HCl$ 28,46% N

Gef.: 28,46% N

Das Monochlorhydrat schmilzt bei 193° (195° corr.) zu einer klaren Flüssigkeit, die beim Abkühlen sogleich kristallinisch erstarrt. Es ist in Wasser mit stark alkalischer Reaktion spielend leicht löslich, leicht löslich in Methylalkohol und daraus mit Äther in Gestalt feiner Nadelchen fällbar, in Isoamylalkohol ist es schwer, in Aceton fast, in Essigester ganz unlöslich.

Das Dinitrat wurde durch Umsetzen einer Lösung des Dichlorhydrates mit der berechneten Menge Silbernitratlösung und nach dem Abfiltrieren des Silberchlorides durch Eindampfen auf dem Wasserbade erhalten. Es ist durch besonders schönes Kristallisationsvermögen und durch Unlöslichkeit in Äthylalkohol ausgezeichnet.

Für die Analyse wurde durch Lösen in Wasser und Fällen mit Alkohol gereinigt, bei 100° getrocknet. Es ist nicht hygroskopisch.

0,0936 g Substanz, 23,4 ccm N, 13° C, 756 mm, 45% KOH

Ber.: $C_5H_9N_3 \cdot 2 HNO_3$ 29,54% N

Gef.: 29,68% N

Das Nitrat schmilzt bei 149°—150° (150°—151° corr.) zu einer mit kleinen Blasen erfüllten Flüssigkeit. Es ist in Wasser leicht löslich und wird daraus durch Alkohol in Gestalt derber sechsseitiger Platten gefällt. In Methylalkohol ist es leicht löslich und daraus durch Äther als mikrokristalline sechsseitige Plättchen fällbar, in Aceton, Essigester, Äther, Alkohol unlöslich.

¹⁾ Diese Arbeit S. 59.