

Über einige Verbindungen des Histidins.

Von
Herm. Pauly.

(Der Redaktion zugegangen am 12. Dezember 1909.)

Bei der Leichtlöslichkeit des Histidins in Wasser kann es unter Umständen erwünscht sein, Derivate desselben zu haben, in denen Wasserstoff der Aminogruppe des Alaninrestes durch einen Schwerlöslichkeit der Verbindung bewirkenden Acylrest ersetzt ist, während der Imidazolkern frei bleibt, und die somit leicht zu isolieren sind. Diese Eigenschaft trifft von den wenigen bisher bekannten Acylhistidinen nicht zu auf das von E. Fischer und Cone¹⁾ beschriebene Formylhistidin und auch Fränkel²⁾ bedarf zur Isolierung des von ihm dargestellten, in Wasser angeblich unlöslichen Benzoylhistidins der Quecksilberfällung.

Leicht läßt sich dagegen das p-Nitrobenzoylhistidin aus nicht zu verdünnten Lösungen abscheiden, da es wenigstens in kaltem Wasser sich durch ziemlich große Schwerlöslichkeit auszeichnet.

Zu seiner Darstellung tropft man unter lebhaftem Umrühren mit einem Wittschen Rührer und gleichzeitiger Kühlung durch eine Kältemischung zu einer Lösung von 10 g Histidinmonohydrochlorid in 25 ccm Wasser im Verlaufe einer Stunde eine Lösung von 20 g p-Nitrobenzoylchlorid in 70 ccm Benzol und läßt gleichzeitig aus einem zweiten Tropftrichter in demselben Tempo eine Lösung von 12 g Ätznatron in 100 ccm Wasser hinzulaufen. Zum Schluß enthält die wässrige Schicht keine Ausscheidung und ist bordeauxrot gefärbt. Man befreit sie von der benzolischen Schicht und säuert sie mit etwas rauchender Salzsäure an zur Ausfällung der gelösten Nitro-

¹⁾ Ann. der Chemie, Bd. CCCLXIII, S. 116 (1908).

²⁾ Beitr. z. chem. Physiol. und Pathol., Bd. VIII, S. 156—62 (1908).

benzoesäure, von der abfiltriert wird. Dann neutralisiert man bis zur deutlich alkalischen Reaktion mit Ammoniak, dampft die Flüssigkeit auf dem Wasserbade auf gut die Hälfte ein und säuert vorsichtig mit verdünnter Essigsäure an. Nach 24 Stunden erhält man ein reichliche Krystallisation des Nitrobenzoylkörpers, die Mutterlauge läßt nach weiterem Stehen noch einen kleinen Rest desselben fallen. Das Produkt wird mehrfach aus Wasser krystallisiert, hält aber gerne kleine Mengen Nitrobenzoesäure fest, die teils durch Auskochen mit wenig absolutem Alkohol, teils durch Verwerfen der zuerst krystallisierenden Anteile entfernt werden. Zur Analyse wurde der Körper bei 105° getrocknet; er bildet feine Nadeln, die bei $251\text{--}252^{\circ}$ (unkorr.)¹⁾ schmelzen. Dieselben sind schwerlöslich in kaltem, leichtlöslich in heißem Wasser, spurenweise löslich in siedendem Alkohol. Die Verbindung gibt die Reaktion mit Diazobenzolsulfosäure, sodaß der Imidazolkern trotz des im Überschuß angewandten Acylierungsmittels unangegriffen geblieben ist, wie dies auch bei der Einwirkung von Benzoylchlorid von Fränkel beobachtet worden ist.

0,2643 g Substanz gaben 0,4962 g CO_2 und 0,0916 g H_2O .

0,1183 g Substanz gaben 18,5 ccm Stickstoff bei 17° und 755 mm Barometerstand.

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_2(\text{CO} \cdot \text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)$: C 51,32%, H 3,95%, N 18,42%.
Gefunden: > 51,20%, > 3,85%, > 18,29%.

Als amphotere Verbindung löst sich p-Nitrobenzoylhistidin sowohl in Mineralsäuren, als auch in Basen.

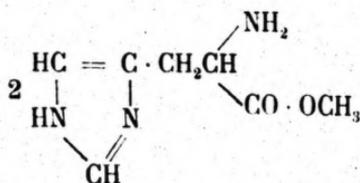
Weniger leicht zugänglich, wenn auch im übrigen durch Schwerlöslichkeit und gute Krystallisationsfähigkeit ausgestattet, ist das von E. Fischer und Suzuki²⁾ beschriebene Histidin-anhydrid, $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{N}_6$.

Da ich für anderweitige Versuche gewisse Quantitäten dieses Körpers benötigte, so hatte ich Gelegenheit, mich mit seiner Darstellungsweise und seinen Eigenschaften näher bekannt zu machen. Der Körper wird nach Angabe der genann-

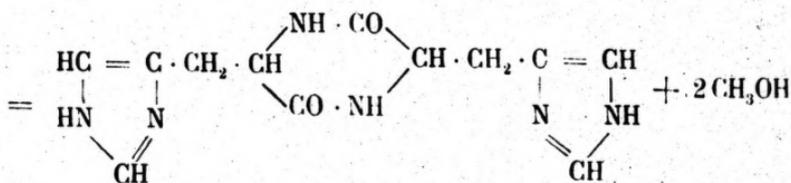
¹⁾ Die Bestimmung des Schmelzpunktes geschah im doppelten Schwefelsäurebade mittels des Normalthermometer-Teilsatzes von Anschütz.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXVIII, S. 4184 (1906).

ten Forscher erhalten durch Erhitzen von Histidinmethylesterbase im Einschlußrohr auf 100°. Man darf heute, nachdem jeder Zweifel über die Konstitution des Histidins behoben ist, der Bildung dieses Anhydrids wohl die folgende Formulierung zugrunde legen:



Histidinmethylesterbase.



Histidinanhydrid.

Mit dieser Formel stehen die weiter unten angeführte Molekulargewichtsbestimmung und die Bildung eines Disilbersalzes in Einklang. Wie zu erwarten war, erwies sich das Anhydrid als optisch aktiv und zwar als linksdrehend.

Es ist nun E. Fischer und Suzuki, wohl infolge der kleinen Quantitäten, mit denen sie gearbeitet haben, entgangen, daß neben der von ihnen beschriebenen, von mir als linksdrehend ermittelten Verbindung in kleiner Menge auch die durch geringere Löslichkeit in Wasser von dieser sich unterscheidende racemische Form des Histidinanhydrids auftritt.

Für die Bereitung des als Ausgangskörper zur Darstellung der Anhydride dienenden, von mir früher beschriebenen Histidinmethylester-dichlorhydrates machen E. Fischer und Cone¹⁾ ergänzende Angaben, die namentlich darin bestehen, daß man nach erfolgter Esterifizierung des Histidin-chlorhydrates durch Einleiten von Chlorwasserstoff in den das Estersalz in Lösung enthaltenden Methylalkohol die Lösung stark abkühlen soll, worauf das Esterchlorhydrat auskristallisiere, während ich früher dasselbe erst durch Zusatz von Äther aus der eingeeengten Lösung zur Abscheidung bringen

¹⁾ l. c.

konnte. Der Unterschied beruht nun darin, daß eine Abscheidung beim Abkühlen nur dann erfolgt, wenn der Methylalkohol ziemlich stark mit Salzsäuregas gesättigt ist, was zu einer vollständigen Veresterung nicht direkt erforderlich ist. Man kann aber somit auch die Abscheidung des Esterchlorhydrates zu einer noch vollständigeren machen, als Fischer und Cone angeben, wenn man den Methylalkohol in der Kälte mit Chlorwasserstoff noch besonders nachsättigt.¹⁾

Die Umwandlung des freien Histidinmethylesters in das Anhydrid habe ich nicht, wie E. Fischer und Suzuki verfahren, im Einschmelzrohr, sondern in einem weiten Glasrohre vorgenommen, das im Wasserbade erhitzt und gleichzeitig evakuiert wurde. Hierdurch erreicht man, daß infolge Entfernung des entstehenden Methylalkohols schon nach zweistündigem Erhitzen der Anhydrierungsprozeß, unter völliger Erstarrung der Masse, beendet ist. Die Ausbeute an umkrystallisiertem aktiven Anhydrid betrug etwa 60% der Theorie, während von dem nebenher gebildeten Racemkörper, der beim Lösen der Reaktionsmasse in heißem Wasser infolge seiner sehr geringen Löslichkeit zurückbleibt, nur etwa 5% erhalten werden. Letzterer wird am besten in der Weise gereinigt, daß man ihn in etwas sehr verdünnter Essigsäure löst, und die Lösung mit Ammoniak neutralisiert; er scheidet sich alsdann krystallinisch aus.

Eigenschaften der beiden Histidinanhydride.

A. Das 1-Anhydrid bildet, wie schon Fischer und Suzuki angegeben haben, feine prismatische Stäbchen, deren Schmelzpunkt am Teilsatzthermometer von Anschütz in einem

¹⁾ Die gleiche Methode läßt sich auch benützen, um in guter Ausbeute das noch unbekanntes Hydrochlorid des Alaninmethylesters in seidenglänzenden Nadeln abzuscheiden, das dann in trockenem Zustande ebenso bequem zu handhaben ist, wie z. B. dasjenige des Glycinsters. Man kann sich dieses Salzes mit Vorteil bedienen, um daraus durch Umsetzung mit Natriummethylat in wasserfreiem Methylalkohol den wegen seiner Flüchtigkeit mit Wasserdämpfen sonst nur in schlechter Ausbeute erhältlichen freien Ester zu gewinnen. (Letzterer gibt beim 3—4stündigen Erhitzen in einem offenen Fraktionskolben auf 120—130° zu ca. 95% Alaninanhydrid.)

Kalium-Natriumacetatbade¹⁾ zu 328° ermittelt wurde. Das Schmelzröhrchen war zur Vermeidung von Dunkelfärbung vorher evakuiert und zugeschmolzen worden.²⁾ Von Fischer und Suzuki, die den Schmelzpunkt nicht genau ermittelt haben, wird bemerkt, daß das Produkt gegen 340° schmelze. 1 g löst sich in ca. 11 ccm siedenden Wassers. Es krystallisiert aus Wasser mit 2¹/₂ Molekülen Krystallwasser, dessen letzte Reste erst bei 140° im Brombenzolbade (nach V. Meyer) entweichen. 0,4028 g verloren beim allmählichen Erhitzen auf 140° bis zur Gewichtskonstanz 0,0563 g Wasser.

Berechnet für $C_{12}H_{14}O_2N_6 + 2\frac{1}{2}H_2O$: H_2O 14,19%.

Gefunden: „ 13,98%.

Eine Bestimmung des Molekulargewichts ist von meinem früheren Privatassistenten, Herrn Dr. Neukam, ausgeführt worden, nach der kryoskopischen Methode in Eisessig. 0,2904 g Substanz erniedrigten den Schmelzpunkt von 16,06 g Eisessig um 0,29°.

Berechnet für $C_{12}H_{14}O_2N_6$: $M = 274$.

Gefunden: „ = 243.

Zur Bestimmung der optischen Aktivität wurde, um eine eventuelle Racemisation beim Entwässern zu vermeiden, krystallwasserhaltiges Histidinanhydrid verwandt und dasselbe in n-Salzsäure gelöst.

1,0221 g Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 7,07225 g. Prozentgehalt 14,45. Spezifisches Gewicht der Lösung $d_4^{20} = 1,0940$. Drehung bei 20° und Natriumlicht im 1 dm-Rohr 10,49° nach links.

Mithin $[\alpha]_D^{20} = -66,24^\circ (\pm 0,5)$.

Di-Silberverbindung des l-Histidinanhydrids.

0,27 g Anhydrid wurden in 50 ccm Wasser gelöst, und die Lösung zu einer Auflösung von 0,4 g (berechnet 0,334 g) Silbernitrat in 10 ccm Wasser gegeben, wobei sofort eine

¹⁾ Schmelze aus 3 Gewichtsteilen Kalium- und 2 Gewichtsteilen Natriumacetat, die sich bei ca. 220° verflüssigt und als geeignet erwiesen hat zur Bestimmung von Schmelztemperaturen zwischen 300 und 400°. Man schmilzt sie zweckmäßig in einem Aluminiumbecher vor und gießt sie dann in das Bestimmungsgefäß.

²⁾ Vgl. J. Tafel, Ann. d. Chemie, Bd. CCCI, S. 305 (1898), Anm.

die in reinstem Zustande gerne zu tannenbaumförmigen Gebilden zusammenwachsen.

Zur Analyse wurde der Körper bei 100° getrocknet.

0,1473 g Substanz gaben 0,2814 g CO₂ und 0,071 g Wasser.

0,1509 » » » 0,2894 » » » 0,0726 » »

0,1234 g Substanz gaben 31,9 ccm Stickstoff bei 19° und 759 mm Barometerstand.

Berechnet für C₁₂H₁₄O₂N₆: C 52,55%, H 5,11%, N 30,66%.

Gefunden: » 52,10%, 52,31%, » 5,36%, 5,34%, » 30,88%.

Für die optische Prüfung diente wie oben eine Lösung in n-Salzsäure.

0,2190 g Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 3,5764 g. Prozentgehalt 6,13.

Drehung bei 20° und Natriumlicht im 1 dm-Rohr 0,02° nach links.

Die Differenz gegen die Nullstellung geht also nicht über die Grenze der Ablesungsfehler hinaus, und ist die Substanz somit optisch inaktiv. Das rl-Anhydrid gibt gleich der aktiven Modifikation Silber- und Quecksilberfällungen und löst ebenfalls Kupferoxyd mit blauer Farbe. Es reagiert ebenso mit Diazobenzolsulfosäure.

In viel besserer Ausbeute entstand die inaktive Form, als eine Quantität rohen Histidinäthylesters, der auf die gleiche Weise dargestellt worden war, wie der Methylester, und gleich diesem ein dickflüssiges nichtdestillierbares Öl bildet, mehrere Stunden auf ca. 160° erhitzt wurde. —

Man darf meines Erachtens aus dem Umstande, daß bei höherer Temperatur im Vergleich zur Wasserbadtemperatur eine Racemisierung in offenkundiger Weise vonstatten geht, nicht den Rückschluß ziehen, daß das ursprünglich verwandte Histidinchlorhydrat ganz frei von racemischer Form gewesen sei, zumal unter den von mir beim Methylester eingehaltenen Bedingungen die Anhydridbildung relativ sehr leicht und rasch verläuft, sondern es erscheint der Verdacht nicht unbegründet, daß die optische Bestimmung von aus natürlichem Histidin dargestellten Derivaten wahrscheinlich immer etwas zu klein ausfällt, wenn es nicht gelingt, begleitende Spuren von racemischen Modifikationen zu entfernen.

Würzburg, Universitätslaboratorium.