

Über den bakteriellen Abbau des Histidins.

Von

D. Ackermann.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Würzburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 27. März 1910.)

Während uns die Produkte, welche die Saprophyten aus dem Arginin und dem Lysin erzeugen, wenigstens teilweise bekannt sind, wissen wir über die Umwandlung der dritten Hexonbase, nämlich des Histidins, durch die Fäulnisbakterien noch nichts. Es lag daher der Gedanke nahe, auch dieses Eiweißspaltungsprodukt hinsichtlich seines bakteriellen Abbaues näher zu studieren.

Zu dem Zwecke habe ich 49 g Histidinchlorhydrat in 4 l Wasser mit 10 g Pepton Witte, 20 g Traubenzucker, einigen Tropfen Magnesiumsulfat und Natriumphosphat, sowie einem Überschuß von Calciumcarbonat, um dauernd alkalische Reaktion zu haben, 52 Tage bei 35° faulen lassen, und zwar in zwei verkorkten 2-Literflaschen. Als Impfmateriale diente eine Flocke eines frisch zerhackten Rinderpankreas, das 24 Stunden mit wenig stark verdünnter Sodalösung im Brutschrank gestanden hatte. — Durch die starke Gasentwicklung wurden die Stopfen anfangs oft herausgedrückt. Gegen Ende der Zeit machte der vorher intensive Fäulnisgestank einem eigenartigen süßlichen Geruch Platz.

Zur Untersuchung wurde zuerst vom überschüssigen Calciumcarbonat abfiltriert, das Filtrat dann bei schwach phosphorsaurer Reaktion auf ungefähr einen Liter eingeeengt und nun dem Verfahren von Kutscher unterzogen, genau, wie dies schon in meinen früheren Mitteilungen geschildert ist. Die Tanninfällung beseitigt dann Reste des Peptons, während die Phosphorwolframsäurefällung den Vorzug hat, daß sie die

basischen Körper vom Traubenzucker, soweit derselbe noch vorhanden ist, abtrennt. Nachdem die Phosphorwolframsäurefällung mit Baryt und Kohlensäure in bekannter Weise in eine Lösung der kohlensauren Basen verwandelt war, wurde mit Salpetersäure schwach angesäuert, eine zur völligen Ausfällung genügende Menge Silbernitratlösung hinzugegeben und nun vorsichtig so lange kaltes Barytwasser hinzugefügt, bis eine Probe der Flüssigkeit gegen ammoniakalische Silberlösung nur noch eine ganz leichte weiße Trübung zeigte. Dann saugte ich den beträchtlichen Niederschlag ab, wusch ihn vorsichtig mit etwas kaltem Wasser und zersetzte ihn durch Aufschwemmen in Salzsäure. Hierbei ging alles in Lösung und nur Chlorsilber blieb zurück, von dem abfiltriert wurde, um alsbald das Filtrat mit Phosphorwolframsäure zu fällen. Den voluminösen weißen Niederschlag wusch ich mit 5%iger Schwefelsäure völlig salpetersäurefrei und führte ihn dann durch Zersetzen mit Baryt usw. in eine Lösung von kohlensauren Basen über. Diese wurde zum dünnen Sirup eingeengt und nun mit alkoholischer Pikrinsäurelösung gefällt.

Die auf diese Weise entstandene Fällung wog nach scharfem Absaugen und Trocknen nicht weniger als 53,8 g und bestand aus β -Imidazolyläthylaminpikrat. Zur Identifizierung wandelte ich durch Behandeln mit Salzsäure und Äther den größten Teil des Pikrates in das Chlorid um, welches alsbald nach dem Einengen in schönen, leicht gelblich gefärbten, Krystallen herauskam, die in Wasser sehr leicht, in Alkohol schwer löslich, in Äther unlöslich waren, sich aber aus heißem Alkohol gut umkrystallisieren und rein gewinnen ließen. Alles dies trifft auch für das Chlorid des von Windaus und Vogt¹⁾ synthetisch dargestellten β -Imidazolyläthylamins zu. Diese Autoren fanden ferner, daß ihr Chlorid bei 240° unter Zersetzung schmolz; das meinige tat dies bei 239°.

Die Eigentümlichkeit des synthetischen Salzes, mit Zinkhydroxydammoniak keine, wohl aber mit Quecksilberchlorid und Kalilauge eine Fällung zu geben, fand ich auch bei meinem

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XL, S. 3691 (1907).

Präparat wieder. In einem weiteren Punkte aber konstatierte ich eine Abweichung. Windaus und Vogt geben nämlich an, daß das salzsaure β -Imidazolyläthylamin mit Silberoxydammoniak kein schwerlösliches Salz bilde, während ich mit diesem Fällungsmittel aus meinem Präparat ein solches darstellen konnte, was ja auch schon nach der Art, wie die Base isoliert wurde, sich von selbst verstand. Ich erkläre mir diese mangelnde Übereinstimmung aus der Annahme, daß Windaus und Vogt in ihrer Silberoxydammoniaklösung etwas zuviel überschüssiges Ammoniak hatten, denn dieses wirkt lösend auf den betreffenden Niederschlag, respektive verhindert sein Auftreten, wie ich beobachten konnte: das β -Imidazolyläthylamin verhält sich in dieser Beziehung also genau wie das Histidin.

Die von Pauly für das Histidin beschriebene schöne Rotfärbung mit Diazobenzolsulfosäure in sodaalkalischer Lösung gab, wie zu erwarten war, auch mein Präparat des β -Imidazolyläthylaminchlorids. Ferner konnte ich die Bromwasserreaktion von Knoop,¹⁾ die, wie dieser Autor angibt, von den dem Histidin nahestehenden Derivaten allein dem β -Imidazolyläthylamin zukommt, gleichfalls beobachten, jedoch nur, wenn die Lösung sodaalkalisch gemacht wurde.

Die Biuretreaktion fällt indessen negativ aus, was den Körper also vom Histidin unterscheidet. Bemerken möchte ich noch, daß das β -Imidazolyläthylaminchlorid in kaltem Methylalkohol leicht löslich ist, sodaß man es auf diese Weise von anorganischen Salzen wird trennen können.

Einen Teil des Salzes führte ich durch Zugabe von alkoholischer Platinchloridlösung in das Platinat über, welches ich absaugte, mit Alkohol einmal vom Überschuß des Fällungsmittels reinwusch und dann aus kochendem Wasser umkrystallisierte. Es wurden so schöne, ziemlich große, in Krusten aneinanderhaftende, dunkelrote Krystalle erhalten, die kein Krystallwasser enthielten und in kaltem Wasser sehr schwer löslich waren. Die Substanz war rein, denn ihr Platinwert änderte sich durch nochmaliges Umkrystallisieren nicht.

¹⁾ Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol., Bd. XI, S. 356 (1908).

0,1447 g Substanz gaben	0,0539 g Pt.
0,1133 » » »	0,0424 » »
0,1485 » » »	11,0 ccm N bei P. = 748 mm und T. = 15°
0,1211 » » »	0,0492 g CO ₂ und 0,0257 g H ₂ O.

Berechnet für C ₅ H ₉ N ₃ · H ₂ PtCl ₆ :	Gefunden:	
Pt = 37,4%	37,3%	37,4%
N = 8,1%	8,6%	
C = 11,5%	11,1%	
H = 2,1%	2,4%	

Der Körper ist, wie auch das Platinat der synthetisch gewonnenen Base, in Alkohol fast unlöslich, leicht löslich nur in heißem Wasser. Windaus und Vogt fanden, daß sich ihr Präparat beim Erhitzen im Schmelzpunktröhrchen über 200° allmählich grauschwarz färbte, ohne indessen zu schmelzen. Auch mein Präparat war nicht zum Schmelzen zu bringen; die Grauschwarzfärbung fing bei 240° an deutlich zu werden.

Aus einem anderen Teile des Chlorides stellte ich nun durch Fällung mit Goldchloridlösung das bisher noch nicht bekannte Chloraurat der Base dar, das in kaltem Wasser schwer, in kochendem leicht löslich ist.

0,1111 g Substanz gaben	0,0553 g Au.
0,1047 » » »	0,0520 » »
0,3482 » » »	0,0958 g CO ₂ und 0,0457 g H ₂ O.

Berechnet für C ₅ H ₉ N ₃ · 2(HAuCl ₄):	Gefunden:	
Au = 49,9%	49,8%	49,7%
C = 7,6%	7,5%	
H = 1,4%	1,5%	

Das Salz bildet im Schmelzröhrchen zwischen 200° und 210° eine schwarze, unter Blasenbildung hochsteigende Schmelze.

Auch das schwerlösliche Pikrolonat der Base habe ich dargestellt; es zeigte nach dem Umkrystallisieren aus Wasser büschelförmig angeordnete Krystallnadeln, wie sie Windaus und Vogt bei ihrem synthetischen Präparat sahen.

Das Filtrat der Silberfällung wurde nun mit Barytwasser vollständig ausgefällt und dieser Niederschlag, genau wie der vorige, in eine Lösung der Kohlensäuren Basen verwandelt; durch Fällung mit alkoholischer Pikrinsäure konnte ich auch hier wieder einen Niederschlag von β-Imidazolyläthylaminpikrat

erhalten: er wog nach dem Trocknen 7,8 g und wurde aus Wasser, in dem das Salz sehr schwer löslich ist, umkrystallisiert.

Im Schmelzpunktröhrchen erhitzt, bildet das Salz zwischen 220° und 230° eine schwarze, hochsteigende Schmelze: Windaus und Vogt fanden bei raschem Erhitzen ihres gleichfalls sehr schwer löslichen Pikrates einen Zersetzungspunkt von 239°. Auch mein Präparat stellte tiefgelbe rhombische Tafeln dar.

0,1460 g Substanz gaben 0,1912 g CO₂ und 0,0354 g H₂O.

0,1197 „ „ „ 23,0 ccm N bei P. = 748 mm und T. = 13°.

Berechnet für C ₅ H ₉ N ₃ (C ₆ H ₃ O ₇ N ₃) ₂ :	Gefunden:
C = 35,8%	35,7%
H = 2,7%	2,7%
N = 22,2%	22,6%

Ich habe nun auch versucht, das β-Imidazolyläthylamin aus dem Histidin durch Erhitzen mit Calciumoxyd zu gewinnen, und zu dem Zwecke 5 g trocknes Histidin mit 100 g Calciumoxyd innig zu einem feinen Pulver verrieben, welches ich in einer Retorte auf dem Drahtnetz erwärmte. Das ölige, stark basische Destillat wurde am absteigenden Kühler in Salzsäure aufgefangen. Als der Prozeß beendet schien, spülte ich nach Sprengung des Retortenhalses das in diesem und dem Kühler noch befindliche Öl gleichfalls in die Vorlage und ätherte nun den Inhalt der letzteren zwecks Reinigung einmal aus. Dann beseitigte ich die Reste des Äthers, sowie die überschüssige Salzsäure durch Einengen auf dem Wasserbade und gab, als die Flüssigkeitsmenge nur noch gering war, absoluten Alkohol hinzu. Von dem sich abscheidenden Ammoniumchlorid wurde abfiltriert und nun die nochmals eingeengte und vom Alkohol befreite Flüssigkeit mit Goldchlorid gefällt. Da der auf diese Weise entstandene schwer lösliche Niederschlag noch etwas dunkelbraun aussah, filtrierte ich ihn ab und zersetzte ihn in heißem Wasser mit Schwefelwasserstoff; das Filtrat von so gebildetem Schwefelgold engte ich wieder ein und fällte nochmals mit Goldchloridlösung. Jetzt erhielt ich ein schönes gelbes, in kaltem Wasser schwer, in heißem leicht lösliches reines Goldsalz, das sich aber als das Chloraurat des Imidazols herausstellte.

0,1006 g Substanz gaben 0,0489 g Au.

Berechnet für C ₃ H ₄ N ₂ · HAuCl ₄ :	Gefunden:
Au = 48,3%	48,6%

Es war also durch das Erhitzen des Histidins mit Calciumoxyd gleich die ganze Seitenkette abgesprengt worden.

Außer dem β -Imidazolyläthylamin habe ich nun noch ein anderes Abbauprodukt des Histidins bei dessen Fäulnis gewinnen können. Das Filtrat der 53,8 g Imidazolyläthylaminpikrat, welche sich aus der ersten Silberfällung hatten erhalten lassen, wurde durch Abdampfen vom Alkohol befreit, mit Wasser aufgenommen und durch Salzsäure und Äther in das Chlorid übergeführt. Die Lösung desselben dampfte ich zur Trockne ein und nahm sie dann mit Alkohol auf, wobei sich einige Krystalle abschieden, die ich unberücksichtigt ließ. Die alkoholische Lösung wurde jetzt mit alkoholischer Platinchloridlösung gefällt, und nun die ziemlich spärliche Fällung verworfen, das Filtrat, das ich nach Absaugen derselben erhielt, wurde vom Alkohol durch Abdampfen befreit; den jetzt verbleibenden Rückstand löste ich in möglichst wenig kochendem Wasser, aus dem sich beim Abkühlen ein schönes gelbrotes Salz abschied, das bei der Analyse sofort alle für das Platinat der Imidazolylpropionsäure stimmende Werte gab. Knoop und Windaus¹⁾ geben für dieses Salz an, daß es bei 209° unter Zersetzung schmilzt; mein Präparat lieferte zwischen 180° und 185° eine rötliche Schmelze, die bei 195° anfang hoch zu steigen und sich dabei zu schwärzen. Diese Differenz kann aber nicht ins Gewicht fallen, da erfahrungsgemäß die Edelmetallsalze ein und desselben Körpers verschiedener Herkunft aus unbekanntem Gründen oft verschiedene Schmelzpunkte zeigen.

0,1036 g Substanz gaben 0,0289 g Pt.

0,1787 „ „ „ 0,1368 „ CO₂ und 0,0422 g H₂O.

0,1269 „ „ „ 8,3 ccm N bei P. = 755 mm und T. = 12°.

Berechnet für (C₆H₈N₂O₂)₂ · H₂PlCl₆: Gefunden:

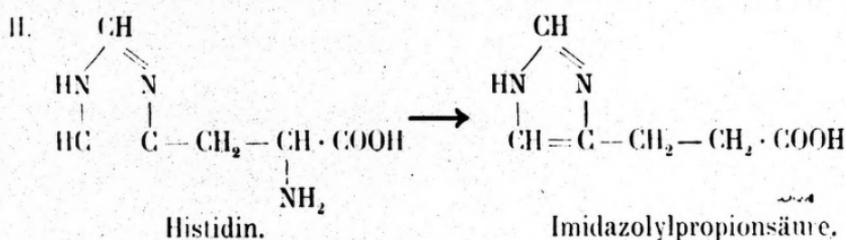
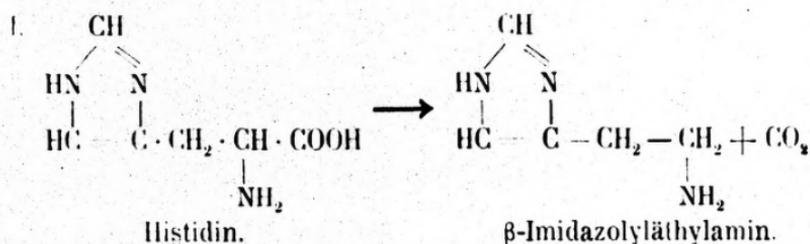
Pt = 28,2%	27,9%
C = 20,9%	20,9%
H = 2,6%	2,6%
N = 8,2%	7,8%

Die Menge des von mir erhaltenen Platinates, der Imidazolylpropionsäure betrug 0,57 g, sodaß ich also diese Sub-

¹⁾ Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol., Bd. VII. S. 147 (1906).

stanz in ungleich geringerer Ausbeute gewann, als das β -Imidazolyläthylamin.

Der Prozeß der Fäulnis des Histidins war in meinem Versuch im wesentlichen ein anaerober, denn die Flaschen waren nicht geschüttelt worden und außerdem war Traubenzucker zugegen, der erfahrungsgemäß die Anaerobiose unterstützt. Der Abbau durch die Bakterien hatte nun auch bei dieser Aminosäure zwei verschiedene Richtungen genommen. Er bestand in der Abspaltung von CO_2 einerseits, in einer Beseitigung der α -ständigen Aminogruppe andererseits.



Durch die Gewinnung des β -Imidazolyläthylamins aus dem Histidin ist gleichzeitig erwiesen, daß die Aminogruppe des Histidins sich in α -Stellung zur Carboxylgruppe befindet, und dadurch ist die Konstitution dieser Hexonbase, die in diesem Punkte noch unsicher war, nun vollständig aufgeklärt.