

sei darauf hingewiesen, daß H. Euler¹⁾ »schwerwiegende Bedenken« gegen dieselbe hegt, daß sie nach Wedekind²⁾ »unhaltbar« ist, und daß sie in Werners soeben erschienener zweiten Auflage seiner »neuen Anschauungen auf dem Gebiete der anorganischen Chemie« nicht einmaß erwähnt worden ist.

57. Otto Gerngross:
Versuche zu einer Synthese des Histidins.

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin.]

(Eingegangen am 12. Januar 1909.)

Das Histidin wurde im Jahre 1896 von Kossel³⁾ als Produkt der Hydrolyse des Protamins aus Störsperma entdeckt. Seither ist es in den verschiedensten Proteinen der Tier- und Pflanzenwelt gefunden worden. Aber erst im Jahre 1904 bahnte Pauly⁴⁾ die Aufklärung seiner Konstitution an, indem er darauf hinwies, daß es ein β -Imidazylalanin sein müsse, was von Windaus und von Knoop⁵⁾ bewiesen wurde.

Ich habe nun eine Synthese des Histidins versucht, wobei mich folgende Erwägungen leiteten.

Es ist bekannt, daß die α -Methylgruppe in Ringsystemen vom Typus des Pyridins sich durch Reaktionsfähigkeit auszeichnet; von Miller und Spady⁶⁾, sowie fast gleichzeitig A. Einhorn⁷⁾ haben auf Grund dieser Tatsache im Jahre 1885 eine Kondensation von Chinaldin und Chloral zum *Py*-1-Chinolyl- α -oxy-trichlorpropan durchgeführt. Einhorn⁷⁾ gelang es auch, diesen Körper zur Chinolylmilchsäure zu verseifen.

Nun hat schon Bamberger⁸⁾ auf die Ähnlichkeit des Imidazolringes und der oben genannten Ringsysteme aufmerksam gemacht; ja er hat sich sogar mit Hinweis auf die Arbeiten von Millers und Einhorns bemüht⁸⁾, eine Kondensation von Chloral mit α -*m*-Dimethyl-

¹⁾ Diese Berichte **41**, 3979 [1908].

²⁾ Chem.-Ztg. **1909**, Nr. 5, S. 41 u. Ztschr. f. Elektrochem. **15**, 52 [1909].

³⁾ Zeitschr. f. physiolog. Chem. **22**, 183.

⁴⁾ Hermann Pauly, ibid. **42**, 508.

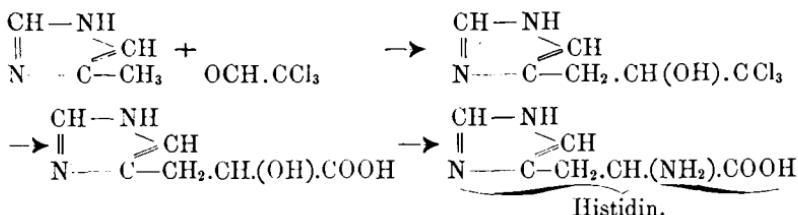
⁵⁾ Knoop und Windaus, Hofmeisters Beitr. **7**, 144; Windaus und Knoop, ibid. **8**, 406. Knoop, ibid. **10**, 111.

⁶⁾ v. Miller und Spady, diese Berichte **18**, 3402.

⁷⁾ Einhorn, diese Berichte **18**, 3465, **19**, 904.

⁸⁾ Bamberger (Stud. über Imidazole), Ann. d. Chem. **273**, 267; ibid. **273**, 371 [1893].

benzimidazol zu bewerkstelligen. Es war also nicht unwahrscheinlich, daß α -Methyl-imidazol¹⁾ ähnlich wie Chinaldin mit Chloral reagieren würde, und wie ersichtlich:

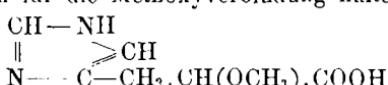


konnte sich auf diese Reaktion eine Synthese des Histidins gründen, wenn es gelang, die endständige Trichlorgruppe zu Carboxyl zu verseifen und Hydroxyl gegen den Aminorest anzutauschen.

Tatsächlich reagieren α -Methylimidazol und Chloral beim Vermischen so lebhaft miteinander, daß das Chloral zu sieden beginnt, und dabei entsteht ein gut krystallisierender Körper von der erwarteten Formel $\text{C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{OCl}_3$, der aber schon beim Verreiben mit Äther in seine Komponenten zerfällt und deshalb als ein lockeres Additionsprodukt anzusehen ist. Er ähnelt also der von Bamberger¹⁾ beschriebenen Verbindung von Chloral mit Chinolin. Ein in diese Klasse gehörender Körper entsteht übrigens auch, wie ich gefunden habe, zunächst beim Zusammenbringen von Chinaldin und Chloral, und er verwandelt sich dann bei mehrstündigem Erhitzen auf dem Wasserbade in das Chinolyl- α -oxytrichlorpropan.

Die analoge Kondensation gelingt auch beim α -Methyl-imidazol.

Größeren Schwierigkeiten bin ich bei der Verseifung des neuen Kondensationsproduktes begegnet. Erst bei Anwendung von kalter wäßrig-methylalkoholischer Natronlauge erhielt ich ein krystallinisches Produkt, das aber nicht die erwartete β -Imidazyl- α -oxypropionsäure ist, sondern die Zusammensetzung: $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$ hat, und das ich aus folgenden Gründen für die Methoxyverbindung halte:



¹⁾ Das Methylimidazol ist durch die Darstellung aus Traubenzucker und Zinkhydroxyd-Ammoniak nach Windaus und Knoop (diese Berichte 38, 1166 [1905]) zu einem leicht zugänglichen Ausgangsmaterial geworden. Es sei erwähnt, daß ich vor Beginn dieser Untersuchung Hrn. Prof. A. Windaus i. Freiburg i. Breisgau um die Erlaubnis gebeten habe, mit dem α -Methylimidazol Versuche zu einer Histidin-Synthese auszuführen. Hr. Prof. Windaus gewährte mir dies in freundlichster Weise, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen herzlichen Dank sage.

²⁾ loc. cit. S. 368.

Die Substanz bildet ein Monochlorhydrat und zeigt mit Diazo-benzolsulfosäure die für die Imidazole charakteristische Rotfärbung¹⁾. Sie gibt beim Erhitzen mit Jodwasserstoffsäure sogleich Jodmethyl, und endlich wurde das Vorhandensein einer Carboxylgruppe durch die Analyse des Methylester-chlorhydrates bewiesen. Mehrere Versuche, die β -Imidazyl- α -methoxy-propionsäure auch auf anderem Wege, nämlich durch Einwirkung von Natriummethylat auf die β -Imidazyl- α -chlorpropionsäure, zu gewinnen, mißlangen. Die Imidazylchlorpropionsäure stellte ich nach einem ähnlichen, jedoch abgekürzten Verfahren wie Windaus und Vogt²⁾ in 60% Ausbeute dar.

Ich hoffe, bald über die Verwandlung des Imidazyl-milchsäureäthers in das Imidazyl-alanin — d. i. das Histidin — berichten zu können. Später sollen auch analoge Versuche bei methylierten Indol- und Pyrimidinderivaten angestellt werden.

Additionsprodukt von Chinaldin und Chloral.

Beim Vermischen molekularer Mengen von Chinaldin und Chloral findet leichte Erwärmung und Ausscheidung einer weißen, weichen Masse statt. Das Reaktionsprodukt aus 1 g Chinaldin und 1 g Chloral wird mit ca. 150 ccm Petroläther gekocht, die Lösung in eine Schale gegossen und an der Luft langsam verdunstet. Dabei scheidet sich das Additionsprodukt in großen glänzenden Würfeln und Prismen aus. Aus der Mutterlauge können nach völligem Eindampfen und abormaliger Aufnahme des Sirups in Petroläther in der eben geschilderten Weise noch beträchtliche Mengen der Verbindung erhalten werden, so daß die Ausbeute 90% übersteigt.

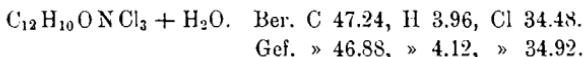
Ähnlich wie das von Bamberger³⁾ beschriebene Produkt zerfällt die nach Chinaldin riechende und stark und unangenehm schmeckende Verbindung schon beim Aufbewahren an der Luft in ihre Komponenten. In den meisten organischen Lösungsmitteln ist sie spielend leicht löslich. Aus der alkoholischen Lösung kann mit wäßriger Pikrinsäure Chinaldin-Pikrat vom Schmp. 191° gefüllt werden. Schon durch kaltes, viel rascher durch heißes Wasser findet Zersetzung in die Bestandteile statt. Sie sintert bei 56°⁴⁾ und ist bei 63° zu einer anfangs trüben, bald klar werdenden Flüssigkeit geschmolzen. Zur Analyse wurden die frisch bereiteten, mit Petroläther gewaschenen, zwischen Fließpapier getrockneten Krystalle verwendet.

0.1743 g Sbst.: 0.2996 g CO₂, 0.0642 g H₂O. — 0.3147 g Sbst.: 0.4445 g AgCl.

¹⁾ H. Pauly, Zeitsehr. f. physiol. Chem. **42**, 512.

²⁾ Hofmeisters Beitr. **9**, 406. ³⁾ loc. cit.

⁴⁾ Sämtliche hier angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert.



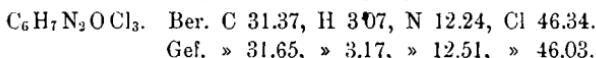
Beim Erhitzen auf 100° erstarrt die geschmolzene Substanz bald zu faserigen Krystallen, und nach 4 Stunden kann in 80% Ausbeute das Chinolyloxytrichlorpropan vom Schmp. 147° gewonnen werden.

Additionsprodukt von α -Methyl-imidazol und Chloral.

1 g gepulvertes α -Methylimidazol und 1.8 g (1 Mol.) frisch destilliertes Chloral werden miteinander gemischt, wobei starke Erhitzung stattfindet. Das erkaltete, glasige, schwach gelbliche, an der Luft klebrig werdende Reaktionsprodukt wird in 6 ccm heißen Aceton gelöst. Aus der Lösung scheidet sich langsam das α -Methylimidazol-chloral in großen rosettenförmig angeordneten 6-seitigen Platten ab. Man saugt es ab und wäscht es mit etwas kaltem Aceton. Da aus der Mutterlauge durch Verdampfen des Lösungsmittels noch 0.8 g der gleichen Krystalle erhalten werden können, beträgt die Ausbeute 78% der theoretisch möglichen Menge. Im Capillarrohr erhitzt, sintern sie bei 116° und schmelzen bei 123° unter starkem Schäumen.

Analysiert wurde die lufttrockne Substanz.

0.1813 g Sbst.: 0.2104 g CO₂, 0.0515 g H₂O. — 0.1453 g Sbst.: 16.5 ccm N (23°, 744 mm). — 0.1602 g Sbst.: 0.2982 g AgCl.



Im Gegensatz zu dem oben beschriebenen Chinaldinderivat enthält sie also kein Krystallwasser. Sie ist geschmack- und geruchlos. Beim Aufbewahren an der Luft macht sich langsame, im Vakuum über Schwefelsäure etwas raschere Gewichtsabnahme bemerkbar.

Sie lässt sich am besten aus Aceton, Toluol oder Xylol umkristallisieren, weniger gut aus Benzol. In Äthyl- und in Methylalkohol ist sie spielend leicht löslich, ebenso in ameisensaurem Methyl, in Chloroform und in Eisessig. In kaltem Wasser löst sie sich langsam unter Zersetzung, in heißen rasch. Petroläther und Äther lösen sie auch beim Erwärmen nur wenig. Der ätherische Extrakt gibt mit ätherischer Oxalsäure das Methylimidazol-Oxalat vom Schmp. 206°.

β -Imidazyl- α -oxy-trichlor-propan.

5 g α -Methylimidazol und 12 ccm Chloral (2 Mol.) werden 42 Stunden bei 78—80° im Ölbad erhitzt. Die braunrote, zähe Schmelze erstarrt in der Kälte. Das zerkleinerte, hygrokopische, an Kolophonium erinnernde Produkt wird nun mit etwa 1 ccm Wasser versetzt und so lange bei ca. 10 mm Druck bei 75° im Fraktionierkolben unter zeitweiser Zugabe von wenig Wasser erhitzt, als

noch Chloralhydrat übergeht. Der erkaltete Rückstand wird mit Aceton, dem man ein wenig Alkohol zufügt, ausgekocht. Dabei bleibt das Hydrochlorid des β -Imidazyl- α -oxy-trichlorpropans als feine, gelbe Krystallmasse zurück. Die Ausbeute beträgt im günstigsten Fall 3.1 g, d. i. etwas mehr als 19 % der Theorie.

Das Hydrochlorid wird zur Reinigung in Äthylalkohol gelöst und nach dem Entfärben mit Tierkohle durch Zusatz von Aceton gefällt. Man erhält es so in Gestalt derber, linsenförmiger, häufig morgensternartig vereinter Krystalle. Die lufttrockne Substanz verliert bei 90° nicht an Gewicht. Sie färbt sich, im Röhrchen erhitzt, langsam von 230° an dunkel und ist bei 260° völlig zersetzt.

0.1649 g Sbst.: 0.3569 g AgCl.

$C_6H_8ON_2Cl_4$. Ber. Cl 53.33. Gef. Cl 53.51.

In Wasser ist das Salz leicht löslich; beim Abkühlen einer konzentrierten, heißen Lösung scheidet es sich in Gestalt glänzender, großer Prismen mit abgeschrägten Ecken ab; auch in Äthyl- und in Methylalkohol löst es sich ziemlich leicht, sehr wenig in Aceton und fast gar nicht in Äther. Löst man es in der etwa 10-fachen Menge kalten Wassers, kühlt mit Eis und setzt vorsichtig Ammoniak zu, bis dessen Geruch nicht mehr beim Umrühren verschwindet, so fällt das β -Imidazyl- α -oxy-trichlorpropan als mikrokristallinische Masse aus.

Nach dem Waschen mit eiskaltem Wasser ist die Base rein. Für die Analyse wurde sie bei 100° getrocknet. Beim raschen Erhitzen schmilzt sie gegen 195° unter Zersetzung und Schwarzfärbung.

0.1121 g Sbst.: 0.1300 g CO_2 , 0.0336 g H_2O . — 0.1127 g Sbst.: 0.2122 g AgCl.

$C_6H_7ON_2Cl_3$. Ber. C 31.37, H 3.07, Cl 46.34.

Gef. » 31.63, » 3.35, » 46.55.

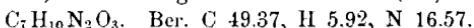
In kochendem Wasser ist sie etwas löslich und krystallisiert daraus beim Erkalten in drusenförmig vereinten Prismen. Das durch Vermischen der wäßrigen Lösung mit wäßriger Phosphorwolframsäure erhaltene Phosphorwolframat krystallisiert in langgestreckten, sechseitigen, dünnen Platten. Das Nittat, das durch Zusatz von Salpetersäure zu einer methylalkoholischen Lösung der Base und Verdunsten der Flüssigkeit in Gestalt großer, wasserheller, glänzender Prismen erhalten wurde, färbt sich bei 190° citronengelb und zersetzt sich langsam beim Erhitzen über 195°. In Äthyl- und besonders in Methylalkohol ist sie recht gut lösbar. Aus heißem Aceton kann sie in Gestalt schön ausgebildeter Oktaeder erhalten werden. Essigester, Chloroform, Benzol und Äther lösen sie sehr schwer, Petroläther gar nicht. Aus der ätherischen Lösung fällt ätherische Oxalsäure das Oxalat, das in rosettenförmig vereinten Prismen krystallisiert.

β -Imidazyl- α -methoxy-propionsäure.

3 g reines Imidazyl- α -oxytrichlorpropan werden in 50 ccm warmem Methylalkohol gelöst. In die mit Eis gekühlte Lösung werden dann 52.26 ccm Normalnatronlauge, d. i. 4 Mol., eingetropft. Dann lässt man 3 Tage im Eisschrank und 3 Tage im Thermostaten bei 25° stehen. Nun wird mit verdünnter Salzsäure stark angesäuert, die gelbe Lösung mit Tierkohle entfärbt, im Vakuum bis fast zur Trockne eingeengt und mit 96-proz. Äthylalkohol aufgenommen. Nach Entfernung des ungelöst bleibenden Kochsalzes wird die Lösung abermals unter stark vermindertem Druck eingedampft. Nach zweimaliger Wiederholung dieser auf die Abscheidung des Chlornatriums abzielenden Operationen hinterbleibt beim Verdampfen des Alkohols im Vakuum in Gestalt dicker Warzen das Chlorhydrat¹⁾ des neuen Körpers. Es wird durch Lösen in Wasser und abermaliges Verdampfen im Vakuum sorgfältig von überschüssiger Salzsäure befreit, dann in wenig 95-proz. Alkohol gelöst und vorsichtig mit äthylalkoholischem Ammoniak versetzt. Sofort krystallisiert die Säure in vierseitigen Platten und zusammen gewachsene Nadeln aus.

Die Ausbeute an halogen- und aschefreier Substanz beträgt 1.2 g oder ca. 55% der Theorie. Sie wird zur Reinigung für die Analyse in wenig heißem Wasser gelöst und durch Zusatz von absolutem Alkohol abgeschieden. Die hübschen vierseitigen Platten verlieren beim Erhitzen auf 110° nicht an Gewicht.

0.1116 g Sbst.: 0.1998 g CO₂, 0.0607 g H₂O. — 0.1005 g Sbst.: 15 ccm. N (24°, 761 mm). — 0.1230 g Sbst.: 17.7 ccm. N (21°, 757 mm).



Gef. » 49.27, » 6.08, » 16.88, 16.39.

Die Substanz färbt sich beim Erhitzen im Capillarröhrchen gegen 210° gelb und zersetzt sich gegen 221° unter Aufschäumen und Dunkelfärbung. Beim Verdunsten der wässrigen Lösung krystallisiert sie größtenteils in rechtwinkligen Platten, aber auch in rosettenförmig angeordneten flachen Nadeln, genau wie das von S. Fränkel²⁾ durch Einwirkung von salpetriger Säure auf das Histidin erhaltene Oxydes-amidohistidin.

In heißem, verdünntem Alkohol ist sie schwer, in absolutem Alkohol fast gar nicht löslich. Das salzsaure Salz wurde durch Ein-

¹⁾ Durch Veresterung dieses krystallinischen Rückstandes in der weiter unten geschilderten Weise gelingt es leicht, den salzsauren Methylester der Imidazylmethoxypropionsäure in 60% Ausbeute (berechnet auf Imidazylmethoxytrichlorpropan) zu gewinnen. Eine partielle Veresterung findet übrigens schon beim bloßen Lösen des Chlorhydrates der Säure in absolutem Alkohol und Verdampfen des Lösungsmittels statt.

²⁾ Monatsh. f. Chem. **24**, 238.

dampfen der Säure mit verdünnter Salzsäure im Vakuum, Aufnehmen des Rückstandes in Methylalkohol und Fällen mit Äther als schlecht ausgebildete Nadelchen erhalten, die meist kugelförmig verwachsen sind. Auch durch Fällen mit Aceton aus äthylalkoholischer Lösung kann man sie gewinnen. Sie sintern bei 170° und zersetzen sich gegen 172° zu einer blasigen, hellgelben Masse. Sie sind nicht hygrokopisch und können über Schwefelsäure im Vakuum oder bei 100° im Trockenschrank getrocknet werden.

0.1419 g Sbst.: 0.0963 g AgCl.

$C_7H_{11}O_3N_2Cl$. Ber. Cl 17.16. Gef. Cl 16.79.

Versetzt man die sodaalkalische Lösung der Säure mit *Diazo-benzolsulfosäure*¹⁾, so entsteht eine blutrote Färbung, ein Zeichen, daß die Imidazolgruppe intakt geblieben ist. Selbst beim 5-stündigen Erhitzen mit der 50-fachen Menge rauchender Salzsäure im Einschlußrohr auf 100° bleibt sie völlig unverändert. Kocht man sie jedoch mit Jodwasserstoffsäure vom spez. Gewicht 1.7, so spaltet sie sogleich Jodmethyl ab.

0.3676 g Sbst. (nach Zeisel): 0.3842 g AgJ.

$C_6H_7N_2O_2(OCH_3)$. Ber. (OCH₃) 18.22. Gef. (OCH₃) 13.80.

Salzsaurer β -Imidazyl- α -methoxypropionsäure-methylester.

Zur Veresterung suspendiert man die Säure in der 30-fachen Menge trocknem Methylalkohol und leitet trocknes Salzsäuregas unter Kühlung mit Wasser bis zur Sättigung ein, verdampft den Methylalkohol im Vakuum und wiederholt diese Operationen. Es hinterbleiben lange, seidenglänzende Nadeln, die in wenig Äthylalkohol gelöst und mit trocknem Äther gefällt werden. Die Ausbeute beträgt 80% der Theorie. Zur Analyse wurde das nicht hygrokopische Salz im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1182 g Sbst.: 0.1870 g CO₂, 0.0659 g H₂O. — 0.1036 g Sbst.: 0.0672 g AgCl.

$C_8H_{12}O_3N_2 \cdot HCl$. Ber. C 43.51, H 5.93, Cl 16.07.

Gef. » 43.15, » 6.23, » 16.04.

Es färbt sich, ohne zu sintern, gegen 173° orangegelb und schmilzt bei 185° unter starkem Aufschäumen. In Äthyl- und Methylalkohol und besonders in Wasser ist es sehr leicht löslich; sehr schwer in Aceton und in Essigester. Es besitzt einen ausgesprochen bitteren Geschmack.

Darstellung der β -Imidazyl- α -chlor-propionsäure.

5 g salzsaurer Histidin werden nach Windaus und Vogt²⁾ in rauchender Salzsäure suspendiert und eine konzentrierte Lösung von Natriumnitrit zugefügt. Nach der Entfernung des Kochsalzes wird im Vakuum

¹⁾ H. Pauly, Ztschr. f. physiol. Chem. **42**, 512

²⁾ Hofmeisters Beiträge **9**, 406.

eingedampft und der Sirup durch zweimaliges Abdampfen mit Wasser im Vakuum von Salzsäure befreit, in Wasser aufgenommen und unter Kühlung vorsichtig so lange mit verdünntem Ammoniak versetzt, bis dessen Geruch auch beim Umrühren nicht verschwindet.

Nach dem Verdampfen der Lösung im Vakuum hinterbleibt ein Krystallkuchen, der in 6 ccm Wasser und 13 ccm Äthylalkohol in der Wärme gelöst wird. Auf Zusatz von 150 ccm Aceton zu der erkalteten Lösung fällt als ölige, jedoch bald krystallinisch erstarrende Masse ein Gemisch der Säure mit Ammoniumchlorid aus, das man absaugt, in 8 ccm Wasser und 6 ccm Äthylalkohol löst und mit Tierkohle entfärbt. Diese Lösung versetzt man unter Eiskühlung nach und nach mit 25 ccm Aceton. Die Imidazylchlorpropionsäure krystallisiert nun in glänzenden, derben, häufig trapezförmigen Krystallen aus. Die Substanz ist analysenrein und schmilzt bei 188°.

0.1143 g Sbst.: 0.0926 g AgCl.

$C_7H_7N_2O_2Cl$. Ber. Cl 20.30. Gef. Cl 20.03.

Durch eumaliges Umkrystallisieren aus verdünntem Äthylalkohol erreicht sie den von Windaus und Vogt¹⁾ angegebenen Schmelzpunkt von 191°. Die Ausbeute beträgt 2.2 g, und da man durch Zusatz von Aceton zur Mutterlauge nochmals ein Gemisch von Ammoniumchlorid mit der Säure ausfällen und daraus noch 0.2 g reiner Substanz isolieren kann, so beträgt die Gesamtausbeute 60 % der Theorie, berechnet auf Histidin-dichlorhydrat.

Zur Veresterung suspendiert man die Säure in der 40-fachen Menge trocknen Methylalkohols und leitet unter Kühlung mit Wasser trocknes Salzsäuregas bis zur Sättigung ein, verdampft den Alkohol im Vakuum und wiederholt diese Operationen. Der krystallinische Rückstand wird in wenig warmem Äthylalkohol gelöst und mit trocknem Äther gefällt. Man erhält so das Hydrochlorid des Esters in großen, glänzenden, dünnen Platten vom Schmp. 140°. Die Ausbeute ist quantitativ.

Zur Analyse wurde das nicht hygroskopische Salz im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1602 g Sbst.: 0.2204 g CO_2 , 0.0672 g H_2O . — 0.1871 g Sbst.: 0.2375 g AgCl.

$C_7H_{10}N_2O_2Cl$. Ber. C 37.33, H 4.47, Cl 31.50.

Gef. » 37.52, » 4.69, » 31.39.

In Methylalkohol ist es spielend leicht, in Äthylalkohol etwas schwerer, in Chloroform sehr schwer löslich und in Äther unlöslich. Aus heißem Aceton krystallisiert es in fast quadratischen Platten.

Es besitzt einen salzig-bittern Geschmack.

¹⁾ l. c.