

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.

Oxydo-reduktionskatalytische Entstehung von Histamin aus Histidin *

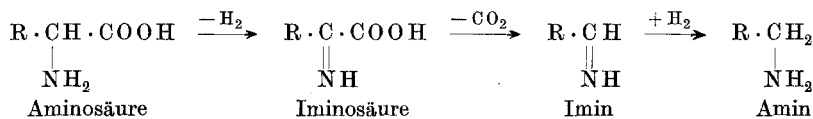
Von

Peter Holtz.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. September 1937.)

Für die unter der Einwirkung von Ascorbinsäure und Sulfhydrylkörpern stattfindende Histaminbildung aus Histidin¹ haben wir folgenden Reaktionsmechanismus als wahrscheinlich angenommen: Peroxydartige Zwischenprodukte, die bei der Autoxydation der Ascorbinsäure und der untersuchten SH-Verbindungen entstehen², dehydrieren die Aminosäure zur Iminosäure. Aus dieser spaltet sich spontan Kohlensäure ab. Das so entstandene Imin wird von den noch nicht oxydierten, in der Reduktionsform vorliegenden Anteilen der zugesetzten Redoxsubstanzen zum Amin hydriert.



In diesem zur Aminbildung führenden Reaktionsmechanismus werden von der Ascorbinsäure bzw. den SH-Körpern zwei wesentliche chemische Vorgänge veranlaßt: die Oxydation der Aminosäure und die Reduktion des Imins. Die Oxydation soll hierbei von dem aktiven Peroxyd-Sauerstoff ausgeübt werden, der bei der Oxydation der Redoxsubstanzen entsteht, die Reduktion von dem reaktionsfähigen Wasserstoff der noch in der reduzierten Form vorhandenen Ascorbinsäure und Thiokörper.

Wenn diese Annahme zutrifft, mußte sich auch mit künstlich aktiviertem Sauerstoff und Wasserstoff Histidin in Histamin überführen lassen. In der vorliegenden Arbeit durchströmen wir die Versuchslösungen mit Sauerstoff und Wasserstoff und bewirken die Aktivierung durch Zusatz von Palladium.

* Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Gesellschaft von Freunden und Förderern der Universität Greifswald.

¹ Holtz, P. u. R. Heise: Die Naturw. **1937**, S. 14; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 269 (1937). — ² Holtz, P. u. G. Triem: Z. f. physiol. Chem. **248**, 1 (1937).

Versuchsergebnisse.

Methodik. Verschieden konzentrierte Lösungen von l-Histidinmonochlorhydrat, die mit Natronlauge neutralisiert sind und auf 10 ccm je 0,5 ccm m/2 Natriumphosphat enthalten, werden in große Reagensgläser eingefüllt und nach Zusatz von Palladium (Mohr) abwechselnd mit Sauerstoff und Wasserstoff durchströmt. Zur Vermeidung von Knallgasexplosionen erfolgt die Durchströmung in offenen Gläsern. — Die Versuchslösungen werden im Blutdruckversuch an der Katze auf Histamin untersucht.

1. Histaminbildung aus Histidin durch aktiven Sauerstoff und Wasserstoff.

Durchströmt man eine Histidinlösung bei Gegenwart von Palladium mehrmals abwechselnd mit Sauerstoff und Wasserstoff, so entstehen

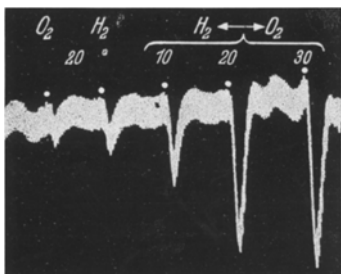


Abb. 1. Histaminbildung aus Histidin durch Einwirkung aktiven Sauerstoffs und Wasserstoffs. Einfluß der Katalysatormenge.

Katze. Pernotto-narkose. Blutdruck in der Art. femoral. In 10 ccm je 20 mg l-Histidinmonochlorhydrat (neutralisiert) und 10, 20 bzw. 30 mg Palladium; 2 ccm intravenös. $O_2 = \frac{1}{2}$ Stunde lang nur mit O_2 durchströmt; $H_2 = \frac{1}{2}$ Stunde lang nur mit H_2 durchströmt; $H_2 \leftrightarrow O_2 = \frac{1}{2}$ Stunde lang abwechselnd mit O_2 ($\frac{1}{2}$ Minute) und H_2 (2 Minuten) durchströmt.

schon in kurzer Zeit gut nachweisbare Mengen von Histamin. Im Blutdruckversuch verursacht die intravenöse Injektion von 1–2 ccm der behandelten Lösung eine deutliche Blutdrucksenkung. Das zeigt die Abb. 1, aus der ferner zu ersehen ist, daß die Ausbeute an Histamin von der Katalysatormenge abhängig ist. Unter den Bedingungen des dargestellten Versuchs ergibt sich, daß die in einer halben Stunde gebildete Histaminmenge bei Gegenwart von 30 mg Palladium wesentlich größer ist als bei Gegenwart von nur 10 mg Palladium.

Werden die Lösungen nur mit Sauerstoff oder nur mit Wasserstoff durchströmt, so bleiben sie im ersten Fall praktisch vollkommen blutdruckunwirksam, im letzteren Fall verursachen sie im allgemeinen eine nur geringfügige histaminähnliche Wirkung (Abb. 1). Hier hat anscheinend der Luftsauerstoff, der während der Herstellung der Versuchslösungen einwirken konnte, genügt, um eine kleine Menge Histidin im Sinne des in der Einleitung auseinandergesetzten Reaktionsmechanismus zur Iminosäure zu dehydrieren; das aus dieser entstehende Imin wird dann durch die anschließende Durchleitung von Wasserstoff zum Amin reduziert. Dadurch erklärt sich die Anwesenheit kleiner Histaminmengen auch in den nur mit Wasserstoff durchströmten Lösungen. Es ist selbstverständlich, daß durch mehrfach wiederholte, abwechselnde Einwirkung von Sauerstoff und

Wasserstoff die Umwandlungsquote erhöht werden kann. Diese ist deutlich davon abhängig, wie oft bei den Durchströmungen von Sauerstoff auf Wasserstoff umgeschaltet wird (Abb. 2). Bei den entstehenden Histaminmengen handelt es sich größenordnungsmäßig um γ -Mengen (Abb. 3). Die Abb. 4 zeigt die Abhängigkeit der Histaminbildung vom p_H der Lösungen. Leicht alkalische Reaktion ist günstiger als neutrale oder saure.

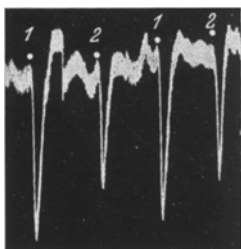


Abb. 2. Histaminbildung bei 5- und 10maliger Umschaltung von Sauerstoff auf Wasserstoff. In 10 ccm je 20 mg Histidin und 20 mg Palladium. Durchströmung mit O_2 ($\frac{1}{2}$ Minute) und H_2 (2 Minuten). 1 ccm intravenös. 1 = nach 10maliger Umschaltung von O_2 auf H_2 ; 2 = nach 5maliger Umschaltung von O_2 auf H_2 .

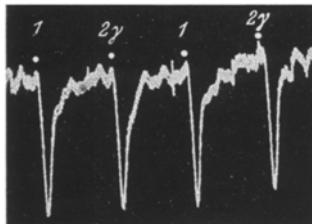


Abb. 3. Auswertung.
Versuchslösung: In 20 ccm je 20 mg Histidin und 20 mg Palladium. $\frac{1}{2}$ Stunde lang abwechselnd mit O_2 ($\frac{1}{2}$ Minute) und H_2 (2 Minuten) durchströmt. 1 = 1 ccm Versuchslösung; 2 γ = 2 γ Histamin.

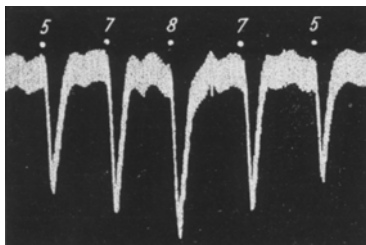


Abb. 4. Einfluß des p_H auf die Histaminbildung. 10 ccm Aqua dest. + 0,5 ccm m/2 Phosphatpuffer vom p_H 5,0, 7,4 und 8,0 mit 20 mg Histidin und 20 mg Palladium $\frac{1}{2}$ Stunde abwechselnd mit O_2 und H_2 durchströmt. Von jeder Lösung werden 2 ccm intravenös injiziert.

2. Histaminbildung und Histaminzerstörung.

In den bisher mitgeteilten Versuchen wurden die Versuchslösungen abwechselnd $\frac{1}{2}$ Minute lang mit Sauerstoff und 2 Minuten lang mit Wasserstoff durchströmt. Kehrt man die Durchströmungszeiten für die beiden Gase um, indem man jedesmal 2 Minuten lang Sauerstoff und nur $\frac{1}{2}$ Minute lang Wasserstoff durchleitet, so entsteht weniger oder überhaupt kein Histamin (Abb. 5). Das könnte darauf beruhen, daß das auch unter diesen Versuchsbedingungen in geringem Umfang zwar gebildete Histamin während der langdauernden Einwirkung des Sauerstoffs zerstört wird. Denn durch Behandlung mit Sauerstoff bei Palladiumgegenwart nimmt die

biologische Wirksamkeit wässriger Histaminlösungen ab. Wie aus dem Versuch der Abb. 6 hervorgeht, sind hierzu aber ziemlich lange Einwirkungszeiten erforderlich: Nach einstündiger Sauerstoffdurchleitung ist die oxydative Zerstörung des Histamins kaum feststellbar, sie wird erst nach mehrstündiger Einwirkung deutlich. Es ist daher wahrscheinlicher, daß es in den Histaminlösungen, die umgekehrt wie in den Versuchen des ersten Abschnitts länger mit Sauerstoff als mit Wasserstoff behandelt werden, erst gar nicht zur Entstehung von Histamin kommt. Die Ursache für die fehlende oder nur geringe biologische Wirksamkeit der Versuchslösungen liegt vielmehr vermutlich darin, daß die durch Dehydrierung aus Histidin entstandene Iminosäure bzw. das aus dieser sich bildende Imin unter dem

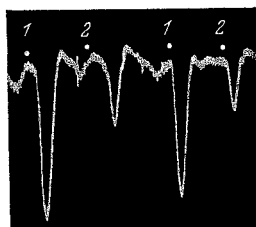
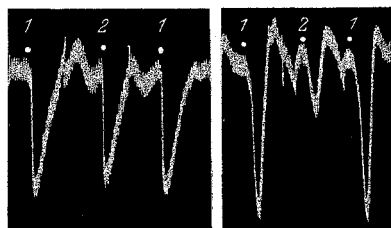


Abb. 5. Oxydo-reduktionskatalytische Entstehung von Histamin.

In 10 ccm Aqua dest. 20 mg Histidin und 20 mg Palladium. $\frac{1}{2}$ Stunde lang abwechselnd mit O_2 und H_2 durchströmt. Intravenöse Injektion von 1,5 ccm. 1 = $\frac{1}{2}$ Minute lang O_2 , 2 Minuten lang H_2 ; 2 = $\frac{1}{2}$ Minute lang H_2 , 2 Minuten lang O_2 .



A B

Abb. 6. Oxydative Histaminzerstörung.
In 10 ccm 40 γ Histamin und 20 mg Palladium.
A. 1 = 0,5 ccm nach 1stündiger O_2 -Durchströmung, ohne Pd; 2 = 0,5 ccm nach 1stündiger O_2 -Durchströmung, + Pd.
B. 1 = 1 ccm nach 5stündiger O_2 -Durchströmung, ohne Pd; 2 = 1 ccm nach 5stündiger O_2 -Durchströmung, + Pd.

Einfluß der intensiven Sauerstoffeinwirkung vollkommen oder doch zum größten Teil oxydativ weiter verändert und damit in Produkte übergeführt wird, die bei der anschließenden Behandlung mit Wasserstoff nicht mehr durch einfache Reduktion in das Amin umgewandelt werden können. Von den beiden für eine oxydo-reduktionskatalytische Umwandlung von Histidin in Histamin wesentlichen Reaktionsphasen, der Oxydation der Aminosäure zur Iminosäure und der Reduktion des Imins zum Amin, muß deshalb die erstere kürzer, die letztere länger gewählt werden.

Bemerkungen zu den Versuchsergebnissen.

Der Einblick in den Mechanismus der zur Umwandlung von Histidin in Histamin führenden Reaktion ermöglicht es, eine bisher nur unbefriedigend erklärbare Beobachtung zu verstehen, die schon in der ersten Arbeit über Histaminbildung durch Ascorbinsäure und SH-Körper¹ gemacht wurde und auf die wir auch in der vorhergehenden Arbeit³ hingewiesen haben, daß nämlich durch die schwefelhaltigen Redoxsubstanzen immer deutlich mehr

³ Holtz, P. u. R. Heise: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. **187**, 581 (1937).

Histamin gebildet wird als durch Ascorbinsäure. Die Ursache für dieses unterschiedliche Verhalten darf jetzt wohl darin gesehen werden, daß es bei der sehr schnell verlaufenden Autoxydation der Ascorbinsäure zu einer auf eine kurze Zeitspanne zusammengedängten Bildung großer Mengen aktiver Peroxyde kommt, die eine schnelle Dehydrierung der Aminosäure zur Iminosäure mit anschließender Iminbildung veranlassen, darüber hinaus aber eine weitere Oxydation der Iminosäure bzw. des Imins zu Produkten verursachen, die durch die Reduktionskraft der noch nicht oxydierten Ascorbinsäure nicht mehr zum Amin hydriert werden können. Die Reaktionsbedingungen sind denen vergleichbar, die wir in den Versuchen der vorliegenden Arbeit dadurch herbeiführten, daß wir Histidinlösungen 2 Minuten lang mit Sauerstoff und nur $\frac{1}{2}$ Minute mit Wasserstoff durchströmten. — Die Autoxydation der SH-Körper verläuft im Vergleich zu derjenigen der Ascorbinsäure weit langsamer. Während des größten Teiles der Versuchszeit werden hier die Reduktionsformen mengen- und wirkungsmäßig die Oberhand haben und es damit möglich machen, daß in Analogie zu unseren Durchströmungsversuchen bei Gegenwart von Palladium mit kurzdauernder Sauerstoff- und langdauernder Wasserstoffdurchleitung die oxydative Phase der Gesamtreaktion sich nicht zu stark ausprägt und die reduktive Phase, die eigentlich aminbildende, sich in größerem Umfang auswirken kann. Deshalb entsteht nach der Einwirkung von Glutathion, Cystein oder Thioglykolsäure auf Histidin immer mehr Histamin als nach der Einwirkung von Ascorbinsäure.

Zusammenfassung.

1. Leitet man durch eine wässrige Lösung von Histidin bei Gegenwart von Palladium abwechselnd Sauerstoff und Wasserstoff, so wird ein Teil des Histidins in Histamin umgewandelt.

2. Diese oxydo-reduktionskatalytische Umwandlung von Histidin in Histamin wird mit der unter der Einwirkung von Ascorbinsäure und Sulfhydrylkörpern stattfindenden Histaminbildung in Parallele gesetzt und ihr Reaktionsmechanismus dargelegt.
