

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.

Über die Entstehung von Histamin aus Histidin durch Ascorbinsäure und Sulfhydrylkörper*.

Von

Peter Holtz unter Mitarbeit von Rudolf Heise.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Mai 1937.)

Das natürliche Vorkommen von Histamin im tierischen Gewebe ist durch die Ergebnisse einer größeren Anzahl von Arbeiten¹ gesichert, in denen es gelang, das Amin aus den verschiedensten Organen zu isolieren. Als eine der wichtigsten Untersuchungen sei die von Best, Dale, Dudley und Thorpe² genannt, in der unter anderem gefunden wurde, daß das Lungengewebe ganz besonders histaminreich ist. Die Muttersubstanz des Organhistamins ist vermutlich das Histidin.

Wir kennen bisher 2 Möglichkeiten einer Histaminentstehung aus Histidin durch Faktoren, die auch unter physiologischen Bedingungen von Bedeutung sein könnten: 1. die bakterielle Decarboxylierung der Aminosäure, die D. Ackermann³ entdeckte, und 2. die Umwandlung von Histidin in Histamin durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht, die von F. Ellinger⁴ sowie von P. Holtz⁵ untersucht wurde. Es ist jedoch unwahrscheinlich, daß das Gewebshistamin auf einem dieser beiden Wege entstanden ist. Zum mindesten scheint auch das Gewebe selbst zur Histaminbildung befähigt zu sein, wie z. B. aus einer kürzlich veröffentlichten Arbeit von Bloch und Pinösch⁶ hervorgeht, in der gezeigt wird, daß der Histamingehalt der Meerschweinchenlunge nach subcutaner Injektion von Histidin fast auf das Doppelte ansteigt. Die für eine Histaminbildung im Gewebe maßgeblichen Faktoren sind aber unbekannt. „Wir haben“, wie I. H. Gaddum⁷ in seiner Monographie über gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe sagt, „keinen direkten Beweis für irgendeinen Vorgang, durch welchen Histamin in den Geweben neu gebildet werden könnte.“

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

¹ Übersicht siehe bei Best, C. H. u. E. W. Mc Henry: „Histamin“, *Physiol. Rev.* **11**, 371 (1931). — ² Best, C. H., H. H. Dale, H. W. Dudley u. W. V. Thorpe: *J. of Physiol.* **62**, 397 (1927). — ³ Ackermann, D.: *Z. physiol. Chem.* **65**, 504 (1910). — ⁴ Ellinger, F.: *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* **136**, 129 (1928). — ⁵ Holtz, P.: *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **226**, 573 (1931); *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* **175**, 97 (1934). — ⁶ Bloch, W. u. H. Pinösch: *Z. physiol. Chem.* **239**, 236 (1936). — ⁷ Gaddum, I. H.: *Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe*. S. 46. Leipzig, G. Thieme, 1936.

Die vorliegende Arbeit weist einen solchen Vorgang auf, indem sie zeigt, daß das Vitamin C und eine Reihe von Sulfhydrylkörpern bei der Einwirkung auf Histidin einen Teil der Aminosäure in das Amin überführen.

Versuchsergebnisse.

Methodik.

Die Versuche wurden in großen Reagensgläsern angesetzt. In die Gläser wurden verschieden konzentrierte wässrige Lösungen von Histidinmonochlorhydrat (Hoffmann-La Roche, Th. Schuchardt, Fränkel & Landau) und Ascorbinsäure* bzw. Thioglykolsäure, Cystein, Glutathion eingefüllt. Das Gesamtlösungsvolumen betrug im allgemeinen 10 ccm. Die Histidinkonzentration war meistens 1—2 %ig, die Konzentration der Ascorbinsäure und SH-Verbindungen 0,25—0,5 %ig. Die Lösungen wurden mit n/1 NaOH neutralisiert und nach der Einfüllung in die Versuchsgläser einige Minuten lang mit Sauerstoff durchströmt. Die Versuchsgläser blieben dann 6—24 Stunden in einem Wasserbad von etwa 40°. In anderen Versuchen wurden die Lösungen während der Versuchszeit mit einem langsamen Sauerstoffstrom durchperlt. — Durch die Oxydation der Ascorbinsäure wird das p_H der Lösungen etwas nach der sauren Seite hin verschoben. Vor Anstellung der biologischen Versuche wurde deshalb wiederum mit NaOH lackmusneutral gemacht.

Der biologische Nachweis des Histamins erfolgte im Blutdruckversuch an der Katze in Urethan- oder Pernoctonarkose. Die Auswertung wurde gegen eine Lösung von Histamin-dichlorhydrat (Fränkel & Landau) vorgenommen.

I. Histaminbildung aus Histidin durch Ascorbinsäure und Thioglykolsäure, Cystein, SH-Glutathion.

Schon wenige Minuten nach der Durchströmung mit Sauerstoff tritt in den Lösungen, die Histidin und Ascorbinsäure enthalten, eine sichtbare Veränderung auf. Sie nehmen einen gelben Farbton an, der im Verlauf mehrerer Stunden in ein tiefes Braunschwarz übergeht. Die Ansätze mit SH-Verbindungen verfärben sich weit weniger stark als die ascorbinsäurehaltigen Proben; es werden jedoch auch hier, besonders bei Versuchen mit Thioglykolsäure, nach 12—24stündiger Sauerstoffdurchleitung die Lösungen deutlich braun. Kontrolllösungen die nur Histidin oder nur Ascorbinsäure bzw. Sulfhydrylkörper enthalten, bleiben farblos, ebenso solche Lösungen, die zwar Histidin und Ascorbinsäure oder SH-Substanzen enthalten, aber statt in Sauerstoff- in Stickstoffatmosphäre gehalten wurden.

Im Gegensatz zu den in Stickstoffatmosphäre gehaltenen Ansätzen sind die mit Sauerstoff durchströmten Lösungen pharmakologisch wirksam. Im Blutdruckversuch an der Katze wirken sie wie Histamin. Die intravenöse Injektion von 1—2 ccm ruft eine deutliche Blutdrucksenkung hervor. Es ist daher wahrscheinlich, daß bei Gegenwart von Sauerstoff ein Teil des Histidins unter dem Einfluß von Ascorbinsäure und Sulfhydrylkörpern in Histamin umgewandelt wird.

* Für die Überlassung größerer Mengen Ascorbinsäure sprechen wir der Firma E. Merck unseren besten Dank aus.

Die Abb. 1A zeigt das Ergebnis eines Versuchs mit Ascorbinsäure. In dem Versuch der Abb. 1B hatte unter sonst gleichen Versuchsbedingungen anstatt Ascorbinsäure Cystein auf Histidin eingewirkt.

Das von Hoffmann-La Roche hergestellte Histidinmonochlorhydrat enthält geringfügige Mengen Histamin, die sich jedoch insbesondere bei dem Nachweis der sehr kleinen Histaminmengen, die unter der Einwirkung von Ascorbinsäure bei Sauerstoffgegenwart neu entstehen, als störend erweisen, da auch die in Stickstoffatmosphäre gehaltenen Kontrollösungen dann eine Blutdrucksenkung veranlassen. Für die meisten Versuche wurde deshalb das von Th. Schuchardt gelieferte Histidin benutzt, das sich im Blutdruckversuch als praktisch histaminfrei erwies.

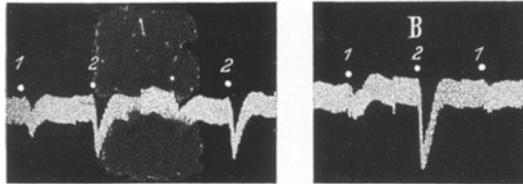


Abb. 1. Histaminbildung durch Ascorbinsäure und Cystein.

Katze, Pernoctonarkose. Blutdruck in der art. fem.

- A. Ascorbinsäure-1-Histidin. In 10 ccm aqua dest. 100 mg Histidinmonochlorhydrat (Th. Schuchardt) + 25 mg Ascorbinsäure. 12 Stunden O_2 -Durchströmung bzw. in N_2 -Atmosphäre gehalten. Temperatur 40° . 1 = 1 ccm der in N_2 gehaltenen Lösung, 2 = 1 ccm der mit O_2 durchströmten Lösung.
- B. Cystein-1-Histidin. In 10 ccm aqua dest. 100 mg Histidinmonochlorhydrat (Th. Schuchardt) + 25 mg Cysteinhydrochlorid. 12 Stunden O_2 -Durchströmung bzw. in N_2 -Atmosphäre gehalten. Temperatur 40° . 1 = 1 ccm der in N_2 gehaltenen Lösung, 2 = 1 ccm der mit O_2 durchströmten Lösung.

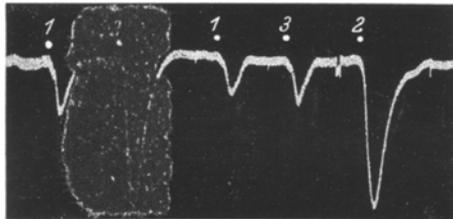


Abb. 2. Histaminbildung durch Thioglykolsäure.

Katze. Pernoctonarkose. Blutdruck in der art. fem. In 10 ccm aqua dest. 200 mg l-Histidinmonochlorhydrat. (Hoffmann-La Roche) + 25 mg Thioglykolsäure. 10 Stunden O_2 -Durchströmung bzw. in N_2 -Atmosphäre gehalten. Temperatur 40° . 1 = 2 ccm der in N_2 gehaltenen Lösung, 2 = 2 ccm der mit O_2 durchströmten Lösung, 3 = 2 ccm der in N_2 gehaltenen Lösung mit einem Zusatz von 20 mg Methylenblau.

Die Abb. 2 entspricht einem Versuch mit Thioglykolsäure und Histidin, das von Hoffmann-La Roche bezogen worden war. Man sieht, wie hier auch schon die Injektion der in Stickstoffatmosphäre gehaltenen Lösung blutdrucksenkend wirkt. Trotzdem kommt auch in diesem Versuch deutlich zum Ausdruck, daß in den oxydierten Lösungen blutdrucksenkende Substanz neu entstanden ist. — In einem Versuch mit SH-Glutathion wurde das gleiche Ergebnis erhalten wie in den Versuchen mit Cystein und Thioglykolsäure.

Bei der Einwirkung von SH-Körpern auf Histidin bildet sich mehr Histamin als bei der Einwirkung von Ascorbinsäure. Im Versuch der Abb. 3 wird die Wirkung der Ascorbinsäure mit derjenigen des Cysteins verglichen und die Wirkung des letzteren gegen Histamin ausgewertet. 2 ccm der Cystein-Histidinlösung entsprechen ungefähr 4γ Histamin, so daß in dem Gesamtansatz, der in 10 ccm aqua dest. 200 mg Histidin-

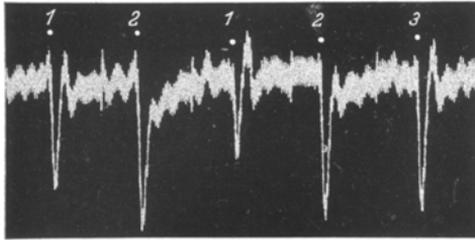


Abb. 3. Vergleich der Wirksamkeit von Ascorbinsäure und Cystein. Auswertung.

Katze. Pernoctonnarkose. Blutdruck in der art. fem. In 10 ccm aqua dest. 100 mg l-Histidinmonochlorhydrat (Th. Schuchardt) + 25 mg Ascorbinsäure bzw. Cysteinhydrochlorid. 8 Stunden O_2 -Durchströmung bei 40° . 1 = 2 ccm Ascorbinsäure-Histidin, 2 = 2 ccm Cystein-Histidin, 3 = 4γ Histamin (als freie Base aus Histamin-dichlorhydrat berechnet).

monochlorhydrat und 25 mg Cystein-chlorhydrat enthielt, 20γ Histamin entstanden sind.

II. Optische Spezifität.

Die bisherigen Versuche wurden mit l-Histidin ausgeführt. In der Abb. 4 ist ein Versuch dargestellt, der die Wirkung der Ascorbinsäure auf die racemische Form des Histidins erläutert. Die d-Form stand uns bisher nicht zur Verfügung. Aber auch so kommen die Unterschiede deutlich

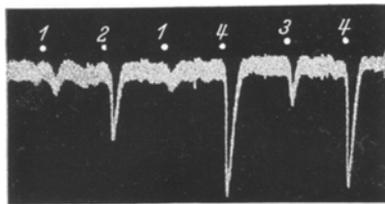
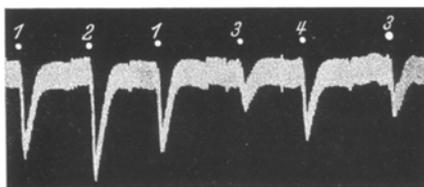


Abb. 4. Histaminbildung aus l- u. d-l-Histidin. Katze. Pernoctonnarkose. Blutdruck in der art. fem. In 10 ccm aqua dest. 100 mg l-Histidinmonochlorhydrat (Th. Schuchardt) bzw. d-l-Histidinmonochlorhydrat (Fränkel & Landau) + 25 mg Ascorbinsäure. 8 Stunden O_2 -Durchströmung bzw. in N_2 -Atmosphäre gehalten. Temperatur 40° . 1 = 1 ccm Ascorbinsäure-l-Histidin (in N_2), 2 = 1 ccm Ascorbinsäure-l-Histidin (in O_2), 3 = 1 ccm Ascorbinsäure-d-l-Histidin (in N_2), 4 = 1 ccm Ascorbinsäure-d-l-Histidin (in O_2).

zum Ausdruck. Die Ansätze mit der d-l-Form des Histidins sind viel wirksamer als die mit l-Histidin. Die Ascorbinsäure wandelt die d-Form leichter in Histamin um als die natürlich vorkommende l-Form. Die Einwirkung der Ascorbinsäure auf Histidin besitzt demnach eine gewisse optische Spezifität, was vielleicht in Anbetracht dessen, daß beide Reaktionsteilnehmer optisch aktive Substanzen sind, von vornherein zu erwarten war.

Dementsprechend wird diese optische Spezifität bei der Einwirkung der optisch inaktiven Thioglykolsäure auf Histidin nicht beobachtet. Das geht besonders deutlich aus einem Versuch hervor, der die Wirkung der Ascorbinsäure und Thioglykolsäure auf l- und d-l-Histidin nebeneinanderstellt (Abb. 5). Während die Thioglykolsäure ebenso wie die anderen SH-Körper aus l-Histidin mehr Histamin machen als die Ascorbinsäure,

Abb. 5. Wirkung von Ascorbinsäure und Thioglykolsäure auf l- und d-l-Histidin. Katze. Pernocionnarkose. Blutdruck in der art. fem. In 10 ccm aqua dest. 100 mg l- bzw. d-l-Histidin + 25 mg Ascorbinsäure bzw. Thioglykolsäure. 15 Stunden O_2 -Durchströmung bei 40° . 1 = 2 ccm Thioglykolsäure-d-l-Histidin, 2 = 2 ccm Ascorbinsäure-d-l-Histidin, 3 = 2 ccm Ascorbinsäure-l-Histidin, 4 = 2 ccm Thioglykolsäure-l-Histidin.



findet sich im Versuch mit d-l-Histidin das Umgekehrte; aus d-l-Histidin bildet die Ascorbinsäure mehr Histamin als die Thioglykolsäure.

III. Desaminierung von Histidin durch Ascorbinsäure.

Da die Histaminmengen, die bei der Einwirkung von Ascorbinsäure oder SH-Verbindungen auf Histidin entstehen, nur sehr klein sind und andererseits in den Lösungen besonders bei der Reaktion zwischen Ascorbinsäure und Histidin eine starke Verfärbung auftritt, ist es wahrscheinlich, daß die zur Entstehung von Histamin führende Decarboxylierung des Histidins nicht der einzige chemische Vorgang ist, der durch die Ascorbinsäure ausgelöst wird. Wir haben untersucht, ob neben der Decarboxylierung auch eine Desaminierung stattfindet.

Methodisches. Histidin-Ascorbinsäurelösungen wurden nach der Neutralisation mit NaOH einige Minuten mit Sauerstoff durchströmt und dann 24 Stunden im Wasserthermostaten bei 40° gehalten. Die Ammoniakbestimmung wurde in der Apparatur von Parnass und Wagner vorgenommen: Nach Hinzufügen einiger ccm 10%iger KOH wurden die Lösungen der Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat wurde in vorgelegter n/100 HCl aufgefangen, die nicht verbrauchte Säure mit n/100 NaOH zurücktitriert. Als Indikator benutzten wir eine 1%ige alkoholische Lösung von Neutralrot.

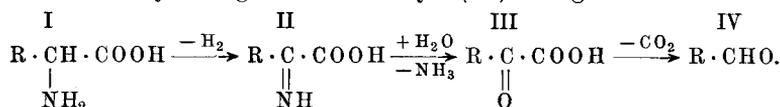
Nach 24stündiger Einwirkung von 50 mg Ascorbinsäure auf 200 mg Histidin-Monochlorhydrat werden durch das bei der Wasserdampfdestillation übergehende Ammoniak 8,7 ccm n/100 HCl verbraucht. Das entspricht einer Ammoniakmenge von 1,48 mg.

Die Verfärbung der Histidin-Ascorbinsäurelösungen macht es wahrscheinlich, daß die Wirkung der Ascorbinsäure sich nicht nur an der Seitenkette des Histidinmoleküls abspielt, sondern daß bei einem Teil der Histidinmoleküle auch der Imidazolring in die Reaktion mit hineingezogen wird. Bei einer quantitativen Desaminierung der Seitenkette würde ein Millimol Histidinmonochlorhydrat = 190 mg eine Ammoniakmenge von 17 mg liefern. Da in unseren Versuchen aus 200 mg Histidinmonochlorhydrat nur ungefähr $\frac{1}{10}$ dieser Ammoniakmenge entsteht, so ist es nicht möglich, aus den bisherigen Versuchsergebnissen eine Mitbeteiligung des Imidazolringes mit Sicherheit abzuleiten*.

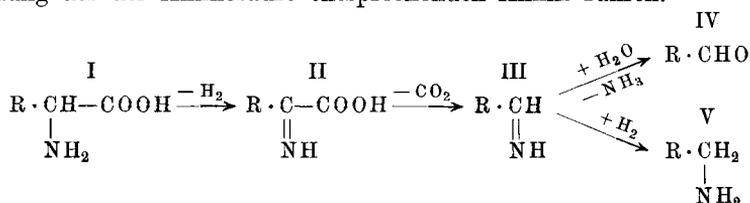
* Über den Mechanismus des Histidinabbaues durch Ascorbinsäure und Beziehungen zur Wirkung des von Edlbacher entdeckten Histidaseferments der Leber wird zusammen mit G. Triem in der Z. f. physiol. Chem. ausführlich berichtet werden.

IV. Reaktionsmechanismus.

Eine Erörterung des Reaktionsmechanismus, welcher der Einwirkung der Ascorbinsäure und der SH-Körper auf Histidin zugrunde liegt, geht zweckmäßig von den allgemeinen Vorstellungen über den Aminosäureabbau im Organismus aus. Als Hauptweg des Aminosäureabbaues wird insbesondere nach den Untersuchungen von O. Neubauer die oxydative Desaminierung angesehen. Der Primärvorgang bei dieser Reaktion besteht wahrscheinlich in einer Dehydrierung der Aminosäure (I), wodurch sich die entsprechende Iminosäure (II) bildet. Der weitere Abbauweg führt dann unter Hydrolyse und Desaminierung zur Ketonsäure (III), die schließlich durch Decarboxylierung in den Aldehyd (IV) übergeht.



H. Wieland und A. Bergel⁸ halten es jedoch auf Grund von Modellversuchen für möglich, daß die Stufenfolge, die dem oben beschriebenen Abbauweg zugrunde liegt, eine andere ist, daß insbesondere die Decarboxylierung nicht erst auf die hydrolytische Desaminierung folgt, sondern ihr vorausgeht. Sie stützen diese Auffassung unter anderem dadurch, daß sie auf die sehr leicht spontan erfolgende Abspaltung von Kohlensäure aus Iminocarbonsäuren hinweisen. Der erste Schritt auf dem Abbauweg der Aminosäuren (I) wäre damit die Dehydrierung zur Iminocarbonsäure (II), der zweite die Decarboxylierung der Iminocarbonsäure zum Imin (III). Im allgemeinen wird sich jetzt Hydrolyse und Desaminierung (IV) anschließen und zur Entstehung des Aldehyds führen. Würde aber nach Vollzug des zweiten Schrittes, d. h. nach stattgefundenener Decarboxylierung der Iminocarbonsäure, der erste Schritt, nämlich die Dehydrierung, wieder rückgängig gemacht, (V) so würde das zur Entstehung des der Aminosäure entsprechenden Amins führen.



So wie die Dehydrierung der Aminosäure bei Anwesenheit geeigneter Wasserstoffakzeptoren erfolgt, so könnte das Rückgängigmachen dieses Schrittes durch die Anwesenheit geeigneter Wasserstoffdonatoren bewerkstelligt werden. Beide Funktionen können anscheinend durch Ascorbinsäure und die untersuchten Sulfhydrylkörper ausgeübt werden. Den Wirkungsablauf der Gesamtreaktion könnte man sich daher am Beispiel der Ascorbinsäure folgendermaßen vorstellen: Ein Teil der in

⁸ Wieland, H. u. A. Bergel: Liebigs Ann. 439, 196 (1924).

der Reduktionsform zugesetzten Ascorbinsäure geht unter dem Einfluß des Luftsauerstoffs in die erste Oxydationsform über. Diese wirkt jetzt als Wasserstoffakzeptor und dehydriert Histidin zur Iminocarbonsäure. Das durch CO_2 -Abspaltung aus dieser entstehende Imin wird nunmehr von den noch in der Reduktionsform vorliegenden Ascorbinsäureanteilen zu Histamin hydriert.

Der erörterte Reaktionsmechanismus würde verständlich machen, daß unter dem Einfluß von Cystein oder Thioglykolsäure mehr Histamin aus Histidin entsteht als bei der Einwirkung von Ascorbinsäure. Denn das primäre Oxydationsprodukt der Ascorbinsäure, dem die Einleitung des ersten, zur Histaminbildung führenden Schrittes, der Dehydrierung des Histidins, zufällt, ist sehr labil und wird sehr bald zu irreversiblen Oxydationsstufen umgewandelt, während die ersten Oxydationsprodukte des Cysteins und der Thioglykolsäure, das Cystin und die Dithioglykolsäure, stabile Substanzen sind.

Wir haben nachzuweisen versucht, daß unter den von uns angewandten Versuchsbedingungen tatsächlich eine Dehydrierung von Histidin stattfindet.

Methodisches. Die Versuche wurden mit der Warburg-Apparatur bei 37° gemacht. Die Atmungströge enthielten 0,5 ccm $m/2$ Kaliumphosphat vom p_{H} 7,4, im Einsatz 0,2 ccm 10%ige KOH. Wechselnde Mengen Ascorbinsäure, Cystein oder Thioglykolsäure in wässriger Lösung wurden verschiedenen konzentrierten Lösungen von Histidinmonochlorhydrat zugesetzt. Alle Lösungen waren lakmusneutral. Das Gesamtflüssigkeitsvolumen betrug im allgemeinen 2,5 ccm.

Die Tabelle 1 zeigt das Ergebnis einiger Versuche. Der Eigenverbrauch des Histidins an Sauerstoff, der meistens unmeßbar klein war, ist bei den Zahlenwerten der Tabelle schon in Abzug gebracht. — Die Anwesenheit von Histidin erhöht in allen Fällen den Sauerstoffverbrauch, der auf die Eigenoxydation der Ascorbinsäure bzw. der SH-Verbindung zurückzuführen ist. Die Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs könnte der Ausdruck für eine stattgefundene Dehydrierung des Histidins sein. Wenn sie auch gering ist, so würde sie doch genügen, um die Entstehung der in Frage kommenden Histaminmengen zu erklären.

Wir finden z. B. (vgl. Abb. 3), daß bei der Einwirkung von 25 mg Cystein auf 100 mg Histidinmonochlorhydrat in 10 ccm aqua dest. 2 ccm der Lösung die Wirksamkeit von 4 γ Histamin besitzen. Aus 200 mg Histidin haben sich also 20 γ Histamin gebildet. Da theoretisch aus 200 mg Histidinmonochlorhydrat ungefähr 115 mg Histamin entstehen könnten, ist in Wirklichkeit nur wenig mehr als $1/5000$ der theoretisch möglichen Menge entstanden. — Beim Übergang von 1 Millimol Histidinmonochlorhydrat (190 mg) in 1 Millimol Histamin (110 mg) müßten 2 mg Wasserstoff abgegeben werden. Da aus 1 Millimol Histidin aber nur ungefähr $1/5000$ Millimol Histamin (20 γ) entsteht, so würde hierzu die Abspaltung von nur 0,4 γ H_2 genügen. $0,4 \gamma \text{H}_2 = 3,2 \gamma \text{O}_2 = 2,24 \text{ ccm O}_2$. Die Entstehung der gefundenen Histaminmengen erfordert demnach nur eine Dehydrierung, der ein Sauerstoffmehrerbrauch von etwas mehr als 2 ccm Sauerstoff entsprechen würde. Der in den Versuchen der Tabelle 1 gemessene Sauerstoffmehrerbrauch ist demgegenüber weit größer. Aber das erklärt sich vermutlich auf Grund folgender

Überlegung. Die durch Dehydrierung des Histamins zunächst entstehende Iminosäure wird wohl nur zum Teil unter Decarboxylierung in das Imin übergehen, ein anderer Teil wird wahrscheinlich nicht decarboxyliert, sondern gleich desaminiert und entgeht damit der Umwandlung in Histamin. Auch das entstandene Imin wird vielleicht nur in geringem Umfang durch die noch in der Reduktionsform vorliegende Ascorbinsäure oder SH-Substanz zum Amin hydriert. Auf diese Weise tritt die Dehydrierung des Histidins nur zu einem sehr kleinen Teil in Form von Histamin in Erscheinung.

Tabelle 1.

Dehydrierung von Histidin durch Ascorbinsäure und SH-Körper. Warburg-Apparatur. In den Atmungsgefäßen 0,5 ccm m/2 Kaliumphosphat, p_H 7,4. Im Einsatz 0,2 ccm 10%ige KOH. Das „Versuchsmaterial“ wurde, in 1,5–2,0 ccm aq. dest. gelöst, zugegeben. Temperatur 38°. — Kontrollen mit Histidin allein verbrauchten im allgemeinen keine meßbaren O₂-Mengen. Anderenfalls wurden sie in Abzug gebracht.

Versuchsmaterial	ccm O ₂	Versuchsdauer in Std.
Etwa 1 mg Ascorbinsäure	170	5
" 1 " " + 25 mg Histidin	195	
" 1 " " 	153	4½
" 1 " " + 30 " "	239	
" 1 " " 	199	6
" 1 " " + 50 " "	223	
" 2 " " 	305	8
" 2 " " + 50 " "	367	
" 2,5 " " 	459	7½
" 2,5 " " + 50 " "	586	
" 2 " Cystein	63	8½
" 2 " " + 20 " "	84	
" 2 " " 	74	6
" 2 " " + 30 " "	94	
" 2,5 " Thioglykolsäure	143	5
" 2,5 " " + 20 " "	165	

Aus dem Ergebnis der Dehydrierungsversuche darf gefolgert werden, daß unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen eine Dehydrierung von Histidin in einem Ausmaß erfolgt, das ausreichend ist, um die Entstehung der gefundenen Histaminmengen zu erklären.

Wenn die Dehydrierung der Aminosäure, wie in dem aufgestellten Reaktionsschema angenommen, auf der dehydrierenden Wirkung der primären Oxydationsprodukte der Ascorbinsäure und der SH-Substanzen beruhte, so mußte sie sich auch in Versuchen unter Sauerstoffabschluß nachweisen lassen, wenn man den Sauerstoff durch andere Wasserstoffakzeptoren wie z. B. Methylenblau ersetzte. Das ist aber nicht der Fall. Im System Cystein—Histidin—Methylenblau oder Thioglykolsäure—Histidin—Methylenblau wird nicht mehr Farbstoff zur Leukobase reduziert als in den entsprechenden histidinfreien Ansätzen. Das müßte aber der Fall sein, wenn die durch Methylenblau aus den SH-Körpern entstandenen

Disulfidformen einen Teil des Histidins dehydriert hätten und dabei selbst wieder in die Reduktionsform übergeführt worden wären. Außerdem hätte dann die Reaktion in der Art einer katalytischen Reaktion verlaufen müssen, d. h. kleine Mengen Ascorbinsäure oder SH-Substanz hätten große Mengen Histidin umsetzen müssen. Das trifft aber nicht zu, wie aus den sehr kleinen entstehenden Histaminmengen und der geringfügigen Desaminierung hervorgeht. — Dementsprechend findet in den unter Sauerstoffabschluß untersuchten Systemen auch keine Histaminbildung statt, da der hierfür erforderliche erste Schritt, die Dehydrierung, nicht ausgeführt werden kann (vgl. Abb. II, 3).

Die zur Entstehung von Histamin führende Dehydrierung von Histidin, die unter der Einwirkung von Ascorbinsäure und SH-Verbindungen bei Sauerstoffgegenwart stattfindet, kann deshalb nicht von den primären Oxydationsprodukten dieser Substanzen ausgeübt werden. Sie muß vielmehr auf der Wirkung kräftigerer Oxydationsmittel beruhen. Als solche kämen Wassersuperoxyd oder peroxydartige Zwischenprodukte in Frage. In noch nicht veröffentlichten Versuchen mit G. Triem konnten wir denn auch durch eine mit Luminol (3-Aminophthalsäurehydrazidchlorhydrat) auftretende starke Lumineszenz zeigen, daß bei der Oxydation von Ascorbinsäure, Cystein und Thioglykolsäure Peroxyde entstehen*.

Es ist daher anzunehmen, daß die Dehydrierung der Seitenkette des Histidins durch peroxydartige Zwischenprodukte erfolgt, die sich bei der Oxydation der Ascorbinsäure und SH-Körper bilden.

Schon O. Meyerhof⁹ hat bei seinen Untersuchungen über die oxydationskatalytische Wirkung von SH-Verbindungen auf ungesättigte Fettsäuren das intermediäre Entstehen von Peroxyden in Erwägung gezogen, ohne allerdings einen Beweis für ihre Existenz zu erbringen. Er stellt sich vor, daß peroxydartige Ver-

$$\begin{array}{c} \text{O} - \text{O} \\ | \quad | \\ \text{R} \cdot \text{SH} \quad \text{HS} \cdot \text{R} \end{array}$$

bindungen von der allgemeinen Formel $\text{R} \cdot \text{SH} \quad \text{HS} \cdot \text{R}$ die Sauerstoffübertragung auf die ungesättigte Fettsäure übernehmen und dabei selbst wieder zum Ausgangsprodukt $2 \cdot \text{R} \cdot \text{SH}$ regeneriert würden. Hierdurch wäre verständlich geworden, daß kleine Mengen SH-Substanz genügen, um eine große Menge Substrat umzusetzen, erkennbar an einer Steigerung des Sauerstoffverbrauches, der den zur Eigenoxydation des Katalysators benötigten um ein Vielfaches übertrifft. Ähnliche Verhältnisse dürften wohl der oxydationsbeschleunigenden Wirkung der Ascorbinsäure auf ungesättigte Fettsäuren¹⁰ zugrunde liegen, wenn auch sowohl hier als bei den von Meyerhof untersuchten Systemen ein anderer Mechanismus mit in Betracht gezogen werden muß, die besonders von Franke¹¹ bei einer größeren Anzahl von Katalysatoren der Fettsäureoxydation erörterte Auslösung von Kettenreaktionen durch die bei der Oxydation des Katalysators freiwerdende Energie.

Die Reaktion, welche der Dehydrierung des Histidins durch Ascorbinsäure oder SH-Körper zugrunde liegt, unterscheidet sich darin grundsätzlich von derjenigen zwischen ungesättigten Fettsäuren und Ascorbinsäure bzw. SH-Verbin-

* Über diese Versuche wird in anderem Zusammenhang mit G. Triem in der Z. f. physiol. Chem. ausführlich berichtet.

⁹ Meyerhof, O.: Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **199**, 531 (1923). — ¹⁰ Holtz, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 98 (1936). — ¹¹ Franke, W.: Ann. d. Chem. **498**, 129 (1932).

Bemerkungen zu den Versuchsergebnissen.

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, daß unter dem Einfluß von Redoxsystemen, wie sie von der Ascorbinsäure und einer Anzahl schwefelhaltiger Verbindungen gebildet werden, aus der Aminosäure Histidin kleine Mengen Histamin entstehen. Die Histaminbildung war besonders deutlich, wenn die schwefelhaltigen Redoxsysteme auf Histidin einwirkten. Diese sind ausgezeichnet durch ein stark negatives Redoxpotential und besitzen dementsprechend eine hohe Reduktionskraft. Wir haben uns die Frage vorgelegt, ob Redoxsystemen mit stark negativem Redoxpotential bei der Histaminbildung im Organismus eine physiologische Bedeutung zukommen könnte.

Bei der Erörterung des Reaktionsmechanismus, nach dem die Umwandlung der Aminosäure in das Amin vermutlich erfolgt, haben wir als die beiden wesentlichen Schritte die Dehydrierung der Aminosäure und die Hydrierung des Imins herausgestellt. — Die Dehydrierung erfolgt in unseren Versuchen mit Ascorbinsäure und Thiokörpern nur bei Sauerstoffgegenwart. Wir haben wahrscheinlich gemacht, daß sie von peroxydartigen Zwischenprodukten, die bei der Oxydation von Ascorbinsäure oder SH-Substanzen entstehen, ausgeübt wird. Wenn auch der Annahme nichts im Wege steht, daß solche peroxydartigen Zwischenprodukte sich im intermediären Stoffwechsel bilden, so verfügt der Organismus doch über dehydrierende Fermente, die wahrscheinlich auch unter anaeroben Bedingungen Aminosäuren anzugreifen vermögen. Die wichtigsten Organe hierfür sind Leber und Niere. Nachdem Meyerhof¹³ gefunden hatte, daß eine ganze Reihe von Aminosäuren durch Lebergewebe desaminiert wird, wies Krebs¹⁴ nach, daß die Leber in ihrer Wirksamkeit durch die Niere noch übertroffen wird, und daß auch zellfreie Nierenextrakte desaminierend wirken, wobei es unter Sauerstoffaufnahme zur Bildung der entsprechenden Ketonensäuren kommt. Wenn es auch bisher noch nicht möglich war, den Sauerstoff durch andere Wasserstoffakzeptoren (Methylenblau) zu ersetzen, so glaubt man doch¹⁵, in der von Krebs untersuchten Fermentreaktion eine Dehydrasenwirkung sehen zu dürfen. Zur Begründung wird unter anderem die weitgehende Unempfindlichkeit gegen Blausäure angeführt. Es ist deshalb anzunehmen, daß für die Dehydrierung des Histidins im Organismus Redoxsysteme von der Art der Ascorbinsäure und SH-Verbindungen keine wesentliche Bedeutung besitzen, daß vielmehr die dehydrierende Funktion, die sie in unseren Modellversuchen ausüben, in Leber und Niere von echten Dehydrasen übernommen wird.

Nach stattgefundener Dehydrierung könnte dagegen die Anwesenheit von Redoxsystemen mit starker Reduktionskraft für den Weiterverlauf der Reaktion von Bedeutung sein. Im Abschnitt IV wurde schon darauf

¹³ Meyerhof, O., K. Lohmann u. R. Meier: *Biochem. Z.* **157**, 459 (1925).
— ¹⁴ Krebs, H. A.: *Z. physiol. Chem.* **217**, 191 (1933); *Klin. Wschr.* **11**, 1744 (1932). — ¹⁵ Vgl. z. B. Bergel, F. u. K. Bolz: *Z. physiol. Chem.* **215**, 25 (1933); **220**, 201 (1933); **223**, 66 (1934).

hingewiesen, daß beim Aminosäureabbau neben dem Hauptweg der oxydativen Desaminierung eine bisher zwar erst in Modellversuchen beobachtete Decarboxylierung der Iminosäure zum Imin als Nebenweg in Betracht gezogen werden kann. Die Gegenwart stark reduzierender Substanzen könnte hier in zweifacher Hinsicht auch für die Vorgänge im lebenden Organismus von Einfluß sein. Einmal könnte die Desaminierung der Iminosäure zugunsten ihrer Decarboxylierung eingeschränkt und ein größerer Teil damit in das Imin übergeführt werden. Hierfür sprechen schon die Ergebnisse der Meyerhofschen Versuche, in denen bei Sauerstoffmangel oder gar in Stickstoffatmosphäre die desaminierende Wirkung von Lebergewebe deutlich geringer war als bei guter Sauerstoffversorgung. Sodann wäre durch die Gegenwart von Redoxsystemen mit stark negativem Potential die Möglichkeit gegeben, daß wenigstens ein Teil des entstandenen Imins, das sonst vielleicht quantitativ unter hydrolytischer Ammoniakabspaltung in den Aldehyd übergeführt wird, zum Amin hydriert würde.

Die hier für die von der Ascorbinsäure und den Thiokörpern gebildeten Redoxsysteme erörterten Möglichkeiten könnten natürlich auch für eine Reihe anderer körpereigener Redoxsysteme mit ähnlich gelagerten Potentialverhältnissen gegeben sein. Es wäre hier vielleicht vor allem an das Flavinsystem zu denken, das ein ganz besonders stark negatives Redoxpotential entwickelt.

Zusammenfassung.

1. Unter der Einwirkung von Ascorbinsäure, Glutathion, Cystein und Thioglykolsäure bei Sauerstoffgegenwart wandelt sich Histidin zum Teil in Histamin um.

2. Bei der Reaktion zwischen Ascorbinsäure und Histidin entsteht aus der d-Form des Histidins mehr Histamin als aus der l-Form. Die Reaktion ist also optisch spezifisch.

3. Während ein Teil des Histidins unter dem Einfluß der untersuchten Redoxsysteme decarboxyliert und in Histamin übergeführt wird, findet bei einem anderen Teil eine Abspaltung von Ammoniak statt.

4. Der Reaktionsmechanismus, welcher der Entstehung von Histamin aus Histidin zugrunde liegt, wird besprochen und die physiologische Bedeutung von Redoxsystemen mit stark negativem Redoxpotential für die Histaminbildung im Organismus erörtert.
