

man nun aber aus ihm durch Acetylierung zu dem bei 120 — 121° schmelzenden Körper gelangt, so ist es nach der im allgemeinen Theil gegebenen Formel I zusammengesetzt. Man erhält das Acetylproduct am besten durch 1-stündiges Kochen des »*m*-Amido-(1)-tolyl-(2.5)-dimethylpyrrol-(3.4)-dicarbonsäureesters« mit der 15-fachen Menge Eisessig, dem einige Tropfen Essigsäureanhydrid zugesetzt werden. Das zunächst als Oel durch Wasserzusatz ausgefällte Präparat wird dann zur Reinigung, wie oben angegeben, aufgearbeitet und besitzt nun alle dort erwähnten Eigenschaften.

0.1261 g Sbst.: 0.3005 g CO<sub>2</sub>, 0.0787 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>. Ber. C 65.15, H 6.74.

Gef. » 64.99, » 6.98.

Die Untersuchung der Basicitätsdifferenz der beiden Amidogruppen substituierter Diamine und ähnlicher, mit dieser Frage zusammenhängenden Körper wird fortgesetzt. Es sollen zunächst nach dieser Richtung 2.3-, 2.5-, 2.6- und 3.4-Toluyldiamin untersucht werden.

### 382. Emil Fischer: Spaltung racemischer Aminosäuren in die optisch activen Componenten. III.

[Aus dem I. Berliner Universitätslaboratorium.]

(Eingegangen am 4. August.)

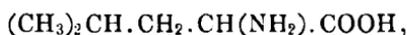
Die Spaltung der Benzoylverbindungen durch Alkaloide, welche bisher bei dem racemischen Alanin, Tyrosin, der Glutamin- und Asparagin-Säure ausgeführt wurde, gelingt auch beim racemischen Leucin. Mit Hülfe des Cinchoninsalzes erhält man die in alkalischer Lösung linksdrehende Form in reinem Zustande, und das rechtsdrehende Isomere lässt sich ebenfalls völlig rein durch das Chinidinsalz gewinnen. Grössere Schwierigkeiten bietet die Verwandlung der Benzoylkörper in die entsprechenden activen Leucine. Dieselben werden verhältnissmässig schwer hydrolysiert, am besten gelingt dies noch durch Kochen mit der hundertfachen Menge 10-procentiger Salzsäure. Aber dabei findet eine theilweise Racemisirung statt; den so hergestellten activen Leucinen waren nach der optischen Untersuchung 4—10 pCt. Racemkörper beigemischt. Wenn es somit auch nicht gelang, die activen Basen ganz rein auf synthetischem Wege darzustellen, so ist das Resultat immerhin beachtenswerth, da man bisher das in der Natur so weit verbreitete, in wässriger Lösung linksdrehende Leucin synthetisch überhaupt nicht darstellen konnte

und den optischen Antipoden aus dem Racemkörper nur durch Pilzgährung erhalten hat<sup>1)</sup>.

Die Neigung zur Racemisirung scheint beim Leucin überhaupt grösser zu sein, als bei den meisten übrigen Aminosäuren. Das zeigte sich auch bei der Benzoylirung, wo bei Anwendung freier Natronlauge leicht eine partielle Racemisirung eintritt. Das Leucin nähert sich also in dieser Beziehung der Glutaminsäure<sup>2)</sup>.

Die Benzoylderivate des Leucins sind so schön krystallisirte und durch ihre physikalischen Eigenschaften so scharf definirte Producte, dass sie eine willkommene Gelegenheit boten, das natürliche Leucin mit den synthetischen Aminocaprinsäuren zu vergleichen.

Bekanntlich haben E. Schulze und Likiernik vor 9 Jahren<sup>3)</sup> nachgewiesen, dass das durch Erhitzen mit Barythydrat racemisirte natürliche Leucin mit der aus Isovaleraldehyd synthetisch erhaltenen  $\alpha$ -Aminoisobutyllessigsäure,



identisch ist, und durch Vergährung der Letzteren mit Schimmelpilzen gelang es ihnen ferner, den optischen Antipoden des natürlichen Leucins zu gewinnen. Ihre Resultate werden durch die Untersuchung der Benzoylverbindungen bestätigt. Denn sowohl die racemischen wie die optisch activen Benzoylkörper, welche einerseits aus dem natürlichen Leucin des thierischen Horns oder Caseins und andererseits aus synthetischer  $\alpha$ -Aminoisobutyllessigsäure dargestellt waren, zeigten völlig gleiche Eigenschaften. Zu demselben Resultat führte schliesslich noch die Vergleichung der beiden racemischen Benzolsulfoverbindungen. Andererseits gab die normale  $\alpha$ -Aminocaprinsäure ein Monobenzoylderivat, welches nicht allein durch den niedrigeren Schmelzpunkt (Unterschied 7°), sondern auch durch die Salze mit activen Basen, welche z. Z. von Hrp. Hagenbach genauer untersucht werden, von dem *r*-Benzoylleucin scharf unterschieden ist. Eine noch grössere Differenz (21°) zeigte sich bei den Schmelzpunkten der Benzolsulfoverbindungen.

In den chemischen Lehrbüchern findet man trotz der Arbeit von Schulze die normale  $\alpha$ -Aminocaprinsäure noch immer als Leucin bezeichnet. Da diese Gewohnheit nur zu Verwechslungen führt, und da bisher die normale  $\alpha$ -Aminocaprinsäure überhaupt noch nicht mit Sicherheit in der Natur aufgefunden worden ist, so wird es sich empfehlen, den Namen Leucin nur für die Isoverbindung:



zu benutzen.

<sup>1)</sup> E. Schulze und Bosshard, Zeitschr. für physiolog. Chem. 10, 138.

<sup>2)</sup> E. Fischer, diese Berichte 32, 2466.      <sup>3)</sup> Diese Berichte 24, 669.

## Darstellung des racemischen Leucins.

Trotz der vielen, über diesen Gegenstand gemachten Angaben halte ich die Mittheilung meiner Erfahrungen nicht für überflüssig, weil sich daraus Vortheile für die Praxis ergeben haben.

Um das racemische Leucin aus der natürlichen activen Base zu gewinnen, haben E. Schulze und Bosshard<sup>1)</sup> dieselbe mit Barytwasser drei Tage lang auf 150—160° erhitzt. Da das racemische Product leichter krystallisirt, so empfiehlt es sich, für solche Versuche das rohe Leucin, wie es nach dem üblichen Verfahren aus Horn gewonnen wird, zu verwenden. Bekanntlich enthält dieses Präparat aber als Verunreinigung einen schwefelhaltigen Körper, der gewöhnlich durch Kochen mit Alkali und Bleioxyd entfernt wird. Dasselbe erreicht man mit Bleioxyd allein bei 165°, und gleichzeitig findet dann die Racemisirung des Leucins statt. Daraus ergibt sich folgendes Verfahren für die Darstellung des *r*-Leucins aus natürlichem Rohmaterial:

40 g eines schwefelhaltigen und noch braun gefärbten Rohleucins werden in 600 ccm heissem Wasser gelöst und mit 40 g gelbem Bleioxyd im Autoclaven 7 Stunden auf 165° erhitzt. Die übel riechende, braune Flüssigkeit wird heiss abfiltrirt, der Rückstand noch mehrmals mit Wasser ausgekocht, das vereinigte Filtrat in der Wärme mit Schwefelwasserstoff entbleit und verdampft. Enthält das Rohleucin noch Tyrosin, so ist es nöthig, den Rückstand mit siedendem, 25-procentigem Alkohol auszulaugen, in welchem Tyrosin sehr schwer löslich ist. Die Flüssigkeit wird durch Kochen mit Thierkohle entfärbt und so lange in der Wärme mit absolutem Alkohol versetzt, bis die Krystallisation des racemischen Leucins beginnt. Dasselbe scheidet sich in stark glänzenden Blättchen ab, welche meist zu Büscheln vereinigt sind.

Bei der Qualität unseres Rohleucins betrug die Ausbeute 25 g. Das Product war optisch völlig inactiv und gab folgende Zahlen:

0.2013 g Sbst.: 0.4040 g CO<sub>2</sub>, 0.1796 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>. Ber. C 54.96, H 9.92.

Gef. » 54.73, » 9.92.

Viel bequemer ist die synthetische Darstellung des *r*-Leucins. Sie wurde im Wesentlichen nach der letzten Vorschrift von Schulze und Likiernik<sup>2)</sup>, welche wieder auf den älteren Angaben von Hüfner und Limpricht beruht, ausgeführt, dabei aber die unbequeme Zerlegung der Hydrochlorate mit Bleioxyd in folgender Weise umgangen:

<sup>1)</sup> Zeitschr. für physiolog. Chem. 10, 135.

<sup>2)</sup> Zeitschr. für physiolog. Chem. 17, 513.

Aus dem durch Eindampfen der salzsauren Lösung gewonnenen Gemisch von Chlorammonium und salzsaurem Leucin lässt sich das Letztere leicht mit warmem Alkohol auslaugen. Versetzt man dann die alkoholische Flüssigkeit mit concentrirtem Ammoniak in geringem Ueberschuss und wäscht den hierbei entstandenen Niederschlag nach dem Abfiltriren mit kleinen Mengen kalten Wassers, bis das Chlorammonium entfernt ist, so bleibt nahezu reines Leucin zurück. Aus 250 g Valeraldehyd, der durch einmalige Fractionirung des käuflichen Productes hergestellt war, wurden so 160 g *r*-Leucin erhalten. Zur völligen Reinigung wird die Aminosäure in heissem Wasser gelöst und durch Zusatz von 1—2 Volumina Alkohol wieder abgeschieden.

Die viel geringere Löslichkeit in Wasser, welche das Präparat im Vergleich zu den activen Formen zeigt, spricht entschieden für die Annahme, dass es ein wahrer Racemkörper ist. Dagegen besteht im Schmelzpunkt von activer und inactiver Form kaum ein Unterschied; derselbe wurde im geschlossenen Capillarrohr und beim raschen Erhitzen nahezu constant bei 293—295° (corr.) beobachtet. Dabei findet aber Zersetzung und Gasentwicklung statt. Das ist der Grund, warum beim langsamen Erhitzen die Schmelzung schon bei niedriger Temperatur eintritt, dann aber viel stärker variirt. So beobachtete Cohn<sup>1)</sup> ebenfalls in geschlossenem Capillarrohr 275—276°. Die älteren Angaben über den Schmelzpunkt des Leucins, 170°, sind jedenfalls unrichtig.

#### *r*-Benzoylleucin.

Ein Benzoylleucin ist bereits von Destrem<sup>2)</sup> durch Erhitzen von Leucin mit Benzoesäure auf 200° erhalten worden, neben Leucinimid. Leider fehlt die Angabe über den Schmelzpunkt, und da Destrem auch nicht mittheilt, ob er natürliches actives Leucin oder synthetisches racemisches Product verwandt hat, so ist der Vergleich mit den nachfolgenden Körpern nicht möglich.

Für die Darstellung des *r*-Benzoylleucins diene das bei den Aminosäuren meist recht vortheilhafte Verfahren der Benzoylirung mit einem grossen Ueberschuss von Benzoylchlorid in Gegenwart von Natriumbicarbonat.

20 g *r*-Leucin wurden in 153 ccm (1 Mol.) Normalnatronlauge und 400 ccm Wasser gelöst, hierzu 76 g Natriumbicarbonat gegeben und 64 g Benzoylchlorid in kleinen Portionen eingetragen. Nach jedesmaligem Zusatz des Chlorids wurde heftig geschüttelt, bis der Geruch verschwunden war. Die Operation dauerte 4 Stdn. Zum Schluss war die Flüssigkeit durch eine geringe Menge eines Oeles

<sup>1)</sup> Zeitschr. für physiolog. Chem. 20, 205.

<sup>2)</sup> Bull. soc. chim. [2], 30, 481 (1878).

getruht. Sie wurde deshalb mit wenig Thierkohle geschüttelt, filtrirt, mit einem Ueberschuss von Schwefelsäure versetzt und der Krystallbrei, nach zweistündigem Stehen in Eis, filtrirt. Das Gemisch von Benzoësäure und Benzoylleucin blieb in dünner Schicht ausgebreitet an der Luft liegen, bis es trocken war, und wurde dann zur Entfernung der Benzoësäure wiederholt mit grösseren Mengen Ligoïn (Sdp. 65—72°) ausgekocht. Der Rückstand löste sich in etwa 20 Theilen warmem Aether, und als die durch Eindampfen etwas concentrirte Flüssigkeit bis zur beginnenden Trübung mit warmem Ligoïn versetzt war, schied sich beim Abkühlen das Benzoylleucin in farblosen, rhombenähnlichen Platten oder kurzen, zu Drusen vereinigten Prismen ab.

Die Ausbeute an diesem reinen Product betrug 70—75 pCt. der Theorie. Der Verlust ist zum Theil durch die merkliche Löslichkeit des Körpers in heissem Ligoïn bedingt. Die im Vacuum über Schwefelsäure getrocknete Substanz verlor bei 110° nicht mehr an Gewicht.

0.2019 g Sbst.: 0.4896 g CO<sub>2</sub>, 0.1347 g H<sub>2</sub>O. — 0.2204 g Sbst.: 12.0 ccm N (18°, 752 mm).

C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>. Ber. C 66.38, H 7.23, N 5.96.

Gef. » 66.13, » 7.41, » 6.23.

Das *r*-Benzoylleucin schmilzt bei 135—139° (137—141° corr.), d. i. 34° höher als die activen Componenten. In kaltem Wasser ist es sehr schwer löslich, in der Siedehitze verlangt es etwa 200 Theile davon. Beim Abkühlen der wässrigen Lösung scheidet es sich zuerst als Oeltropfen ab, welche nach einiger Zeit zu feinen Nadeln oder Blättchen erstarren. Durch Alkohol wird es schon in der Kälte leicht gelöst, ähnlich verhält es sich gegen Aether, Essigester, Aceton, Chloroform und Eisessig. Es krystallisirt aus allen diesen Flüssigkeiten in der Regel in Blättchen, welche häufig sechseckig ausgebildet sind. Als ausgesprochene Säure löst es sich auch leicht in verdünnten Alkalien und Alkalicarbonaten. Kupfer- und Blei-Salz sind in Wasser sehr schwer lösliche, feinkörnige Niederschläge; leichter löslich ist das Silbersalz, welches aus heissem Wasser in langen Nadeln krystallisirt.

Die Hauptmenge des *r*-Benzoylleucins, welches für die nachfolgenden Versuche diente, war aus synthetischem Leucin gewonnen, zum Vergleich wurde aber auch eine andere Probe aus dem racemisirten, natürlichen Product bereitet. Ein Unterschied zwischen beiden Präparaten in Bezug auf Schmelzpunkt oder die anderen, oben geschilderten Eigenschaften war nicht zu bemerken.

0.2007 g Sbst.: 0.4863 g CO<sub>2</sub>, 0.1316 g H<sub>2</sub>O. — 0.2777 g Sbst.: 13.8 ccm N (6°, 757 mm).

C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>. Ber. C 66.38, H 7.23, N 5.96.

Gef. » 66.03, » 7.28, » 6.03.

Da ferner die Spaltung in die optisch-activen Componenten mit beiden Producten ganz das gleiche Resultat gab, so glaube ich, ihre Identität gewährleisten zu können.

#### Benzoyl-*d*-Leucin.

Mit obigem Namen bezeichne ich die in alkalischer Lösung linksdrehende Form des Benzoylleucins, denn sie entspricht derjenigen Form des Leucins, welche in wässriger Lösung nach rechts dreht und deswegen schon in dem Buche von Landolt: »Das optische Drehungsvermögen«, *d*-Leucin genannt wird. Für die praktische Unterscheidung vom natürlichen *l*-Leucin wird man allerdings nicht die wässrige Lösung, welche nur schwach dreht, sondern die salzsaure oder die alkalische Lösung benutzen, und da ist zu beachten, dass diese beiden Lösungen bei der *d*-Verbindung nach links drehen.

Für die Gewinnung des Benzoyl-*d*-Leucins aus dem racemischen Product diene, wie schon erwähnt, das Cinchoninsalz.

30 g *r*-Benzoylleucin und 37.7 g Cinchonin (gleiche Moleküle) werden fein zerrieben und in 3 L siedendem Wasser gelöst. Beim Erkalten scheidet sich zunächst eine kleine Menge des Salzes als zähe Masse ab, dann aber folgen feine, farblose Nadeln. Ihre Menge beträgt nach zwölfstündigem Stehen etwa 25 g. Aus der Mutterlauge gewinnt man noch 5 g, sodass die Gesamtausbeute 88 pCt. der Theorie beträgt. Zur Reinigung wird das Salz aus 100 Theilen siedendem Wasser umkrystallisirt, wobei die erste Krystallisation, welche ungefähr 60 pCt. des gelösten Salzes beträgt, ganz rein ist, während aus der Mutterlauge noch etwa 25 pCt. weniger reines Material erhalten werden.

Das Salz bildet farblose, meist zu Büscheln vereinigte Nadeln, welche nicht ganz scharf bei 85° schmelzen. Aus verdünnter Lösung scheidet es sich manchmal bei längerem Stehen in grossen, rautenförmigen Blättern oder Prismen ab. In heissem Alkohol ist es sehr leicht löslich und krystallisirt beim Abkühlen in biegsamen Nadeln. Von Aether wird es etwa ebenso leicht, wie von heissem Wasser gelöst.

Zur Gewinnung des Benzoylleucins werden 20 g fein gepulvertes Salz in 500 ccm Wasser suspendirt, mit 50 ccm Normalalkali versetzt und auf dem Wasserbade unter kräftigem Schütteln digerirt, bis vom ursprünglichen Salz nichts mehr zu bemerken ist. Man lässt erkalten, filtrirt vom Cinchonin, fügt zur Mutterlauge 54 ccm Normal-salzsäure und verdampft im Vacuum auf etwa 40 ccm. Dabei fällt das Benzoylleucin grösstentheils als harzige Masse aus. Dasselbe wird ausgeäthert, die ätherische Lösung concentrirt und bis zur Trübung mit Ligoïn versetzt. Beim völligen Erkalten scheidet sich in der Regel ein dickes Oel ab, das bei starker Abkühlung in einer

Kältemischung und beim häufigen Reiben nach ein bis zwei Tagen krystallisirt. Ist man einmal im Besitz der Krystalle, so kann man weitere Krystallisationen durch Impfen ausserordentlich beschleunigen. Die kurzen, derben Prismen enthalten  $\frac{1}{2}$  Mol. Krystalläther, welcher durch zweistündiges Erwärmen im Vacuum auf  $50^{\circ}$  bestimmt wurde.

1.4575 g Sbst. verloren 0.1862 g an Gewicht.

$C_{13}H_{17}NO_3 + \frac{1}{2}C_4H_{10}O$ . Ber.  $C_4H_{10}O$  13.60. Gef.  $C_4H_{10}O$  12.77.

Bei gewöhnlicher Temperatur entweicht der Aether auch im Vacuum nur unvollständig. Die ätherhaltige Substanz schmilzt unscharf gegen  $60^{\circ}$ , die ätherfreie Verbindung bei  $104-106^{\circ}$  ( $105-107^{\circ}$  corr.). Letztere lässt sich auch direct aus der Lösung in Aether-Ligroin durch Einimpfen von ätherfreien Krystallen gewinnen. Zur Lösung bedarf die Verbindung ungefähr 120 Theile kochendes Wasser; beim Erkalten fällt sie daraus zunächst als Oel, das jedoch bald zu kurzen, dicken Prismen erstarrt.

Die vom Aether befreite Substanz gab folgende Zahlen:

0.2003 g Sbst.: 0.4864 g  $CO_2$ , 0.1324 g  $H_2O$ . — 0.2436 g Sbst.: 12.8 ccm N ( $17^{\circ}$ , 760 mm).

$C_{13}H_{17}NO_3$ . Ber. C 66.38, H 7.23, N 5.96.

Gef. » 66.23, » 7.34, » 6.10.

Für die optische Untersuchung diene eine wässrige Lösung, welche etwas mehr als die für ein Molekül berechnete Menge Normalkalilauge enthielt.

0.9924 g Benzoylleucin, 6 ccm Normalkalilauge, 11.7305 g Lösung, mit hin Procentgehalt 8.46. Spec. Gewicht 1.036. Temperatur  $20^{\circ}$ . Drehung im Zweidecimeterrohr bei Natriumlicht  $-1.12^{\circ}$ . Daraus spezifische Drehung:  $[\alpha]_D^{20} = -6.39^{\circ}$  (in alkalischer Lösung).

Ein anderes Präparat, welches aus 4-mal umkrystallisirtem Ciuchoninsalz dargestellt war, gab  $[\alpha]_D^{20} = -6.44^{\circ}$  ( $p = 9.57$ ).

#### d-Leucin.

Erhitzt man die Benzoylverbindung mit der hundertfachen Menge 10-procentiger Salzsäure am Rückflusskühler, so tritt nach etwa  $1\frac{1}{2}$  Stdn. völlige Lösung des geschmolzenen Benzoylkörpers ein, und nach 7 Stdn. ist die Hydrolyse beendet. Die Flüssigkeit wurde im Vacuum auf den zwanzigsten Theil eingedampft, dann zur völligen Entfernung der Benzoësäure mehrmals ausgeäthert und nun wieder im Vacuum zur Trockne verdampft. Das zurückbleibende, salzsaure Leucin wurde in der üblichen Weise durch Kochen der wässrigen Lösung mit gelbem Bleioxyd entchlort, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit und die Mutterlauge verdampft, bis der grösste Theil des Leucins auskrystallisirt war. Die abfiltrirte Masse wurde wieder in heissem Wasser gelöst und durch Verdampfen in zwei

Krystallfractionen zerlegt. Für die optische Untersuchung diente die etwa 5-procentige Lösung in 21-procentiger Salzsäure. Bestimmung I wurde mit der ersten, Bestimmung II mit der zweiten Fraction ausgeführt.

I. 0.4275 g Leucin, 9.1492 g Lösung, mithin Procentgehalt 4.67. Spec. Gewicht 1.10. Temperatur 20°. Drehung im Decimeterrohr bei Natriumlicht  $-0.82^{\circ}$ . Mithin spezifische Drehung  $[\alpha]_D^{20^{\circ}} = -16.00^{\circ}$ .

II. 0.4320 g Leucin, 9.1282 g Lösung, mithin Procentgehalt 4.73. Spec. Gewicht 1.10. Temperatur 20°. Drehung im Decimeterrohr bei weissem Licht  $-0.88^{\circ}$ . Mithin spezifische Drehung  $[\alpha]_D^{20^{\circ}} = -16.91^{\circ}$ .

Da Schulze bei wiederholten Bestimmungen für das natürliche Leucin unter denselben Bedingungen 17.3—17.5° fand, so war die eine Krystallisation fast rein, die andere enthielt noch 7—8 pCt. der inactiven Verbindung. Wie schon früher bemerkt, ist es nicht gelungen, die Racemisirung gänzlich zu vermeiden. Im Uebrigen zeigte das Präparat ganz die Eigenschaften des Leucins und die Analyse gab stimmende Zahlen:

0.2013 g Sbst.: 0.4032 g CO<sub>2</sub>, 0.1785 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>. Ber. C 54.96, H 9.92.

Gef. » 54.63, » 9.85.

Das *d*-Leucin ist bisher nur von Schulze und Bosshard<sup>1)</sup> durch partielle Vergährung des inactiven Körpers mit *Penicillium glaucum* dargestellt worden. Ihr Verfahren dauert zwar länger, erfordert aber viel weniger Arbeit und ist deshalb für die praktische Gewinnung des Körpers gewiss vorzuziehen, zumal man so auch das Präparat ganz frei von inactiven Körpern erhalten kann.

Für obige Versuche wurde hauptsächlich *r*-Benzoylleucin aus synthetischem Leucin verwendet; die ganze Spaltung wurde aber in einem Falle auch mit einem Präparat durchgeführt, welches aus Horn dargestellt und durch Erhitzen mit Bleioxyd auf 165° racemisirt war. Das Resultat war genau das gleiche. Die Krystalle enthielten ebenfalls 1/2 Mol. Krystalläther.

0.8253 g Sbst. verloren 0.1136 g an Gewicht.

C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub> + 1/2 C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O. Ber. C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O 13.60. Gef. C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O 13.76.

0.6554 g Sbst., 4 ccm Normalkalilauge, Gewicht der Lösung 7.0150 g, mithin Procentgehalt 9.34. Temperatur 20°. Spec. Gewicht 1.040. Drehung bei Natriumlicht im Decimeterrohr  $-0.62^{\circ}$ . Mithin spezifische Drehung

$[\alpha]_D^{20^{\circ}} = -6.38^{\circ}$ .

#### Benzoyl-*l*-Leucin.

Zur Gewinnung desselben dienen die ersten Mutterlaugen vom Cinchoninsalz des optischen Isomeren. Sie werden zunächst mit einem kleinen Ueberschuss von Normalkalilauge zur Fällung des

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. 10, 134.

Cinchonins versetzt, dann das Filtrat mit Normalsalzsäure schwach übersättigt. Lässt man jetzt die Flüssigkeit 12 Stunden stehen, so scheidet sich das noch in Lösung befindliche racemische Benzoylleucin, welches namentlich in kaltem Wasser viel schwerer löslich ist als die active Form, zum grössten Theile ab. Seine Menge beträgt etwa 20 pCt. des angewandten Racemkörpers. Die Mutterlauge wird im Vacuum stark eingedampft, bis der grösste Theil des Benzoyl-*l*-Leucins abgeschieden ist. Man giesst dann den Rest der Flüssigkeit weg, löst das abgeschiedene Harz in wenig Alkali und fällt wieder in der Kälte mit Säure; nach kurzer Zeit erstarrt der Niederschlag krystallinisch. Zur völligen Reinigung wird das Product in das Chinidinsalz verwandelt.

Zu dem Zweck werden 16 g Benzoylleucin mit 25 g der krystallisirten Base in  $4\frac{1}{2}$  L heissem Wasser gelöst. Beim Erkalten scheiden sich davon 21 g des Salzes in farblosen, ziemlich dicken Prismen oder rechteckigen Tafeln ab. Die Mutterlauge giebt, in geeigneter Weise concentrirt, noch eine zweite, nicht unbeträchtliche Krystallisation. Zur völligen Reinigung ist es rathsam, das Salz noch einmal aus heissem Wasser umzukrystallisiren. Für die Rückverwandlung in Benzoyl-*l*-Leucin diene das bei dem Cinchoninsalz der isomeren Substanz beschriebene Verfahren.

Die Verbindung schmolz, ebenso wie der optische Antipode, im ätherhaltigen Zustand gegen  $60^{\circ}$  und getrocknet bei  $105-107^{\circ}$  corr. Sie drehte in alkalischer Lösung nach rechts.

1.0463 g Benzoylleucin, 6 ccm Normalkalilauge, 11.9082 g Lösung, mithin Procentgehalt 8.79 pCt. Spec. Gewicht 1.036. Temperatur  $20^{\circ}$ . Drehung im Zweidecimeterrohr bei Natriumlicht  $+1.20^{\circ}$ .

$$\text{Mithin } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = +6.59^{\circ}.$$

Die im Vacuum bei  $45^{\circ}$  getrocknete Substanz gab folgende Zahlen:

0.2011 g Sb-st.: 0.4910 g  $\text{CO}_2$ , 0.1325 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ . Ber. C 66.38, H 7.23.

Gef. » 66.59, » 7.32.

#### Synthetisches *l*-Leucin.

Die Gewinnung aus dem Benzoylkörper geschah genau nach der Vorschrift, welche vorher für die isomere Verbindung gegeben wurde. Das erhaltene Leucin war, wie die Verbrennung zeigte, rein.

0.2010 g Sb-st.: 0.4058 g  $\text{CO}_2$ , 0.1816 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$ . Ber. C 54.96, H 9.92.

Gef. » 55.06, » 10.04.

Für die optische Bestimmung diene wieder die Lösung in 21-procentiger Salzsäure.

0.6076 g Sbst : 13.2778 g Lösung, mithin Procentgehalt 4.577 pCt. Spec. Gewicht 1.099 Temperatur 20°. Drehung bei Natriumlicht im Zweidecimeterrohr + 1.57°.

Mithin spec. Drehung  $[\alpha]_D^{20} = + 15.59^{\circ}$ .

Demnach enthielt das Präparat noch ungefähr 11 pCt. Racemkörper. Immerhin ist man so im Stande, auf rein synthetischem Wege das natürliche active Leucin in fast reinem Zustande darzustellen.

Als diese Versuche längst abgeschlossen waren, erschien vor Kurzem die Mittheilung von Albert Schultze<sup>1)</sup> über Benzoylleucin. Er erhielt ein inactives Product vom Schmp. 135—140° durch Einwirkung von Benzoylchlorid auf die alkalische Lösung eines Leucins, welches aus Casein mit Salzsäure dargestellt war und deshalb die active Form gewesen sein muss. Bei dem Versuch von Schultze muss also eine Racemisirung des ursprünglich activen Materials stattgefunden haben. Meine erste Angabe<sup>2)</sup> über den Schmelzpunkt des Benzoylleucins, 126—128°, weicht erheblich von obigen Zahlen ab. Das Präparat war aus einem käuflichen Leucin von unbekanntem Herkommen mit Benzoylchlorid und Natriumbicarbonat dargestellt und hatte bei der Analyse ziemlich gut stimmende Zahlen ergeben. Seitdem habe ich wiederholt actives Leucin aus Horn oder Casein, welche möglichst sorgfältig gereinigt waren, und von denen namentlich das aus Casein den Eindruck einer reinen Substanz machte, bei Gegenwart von Natriumbicarbonat benzoylirt. Aus dem Product, welches nach Entfernung der Benzoësäure zunächst ölig ist, konnte durch Krystallisation nur actives Benzoyl-*l*-Leucin vom Schmp. 105° isolirt werden. Die Ausbeute an krystallisiertem Material war allerdings wenig befriedigend (20—25 pCt. der Theorie), weil die Entfernung der Benzoësäure Schwierigkeiten macht und weil die Verbindung im unreinen Zustand auch schwer krystallisirt. Racemisches Benzoylleucin wurde hier nicht beobachtet, und wenn es überhaupt entstanden war, so kann seine Menge nicht gross gewesen sein.

Bewerkstelligt man die Benzoylirung des Leucins mit Natronlauge und Benzoylchlorid, so ist das Resultat je nach den angewandten Mengen des Letzteren verschieden. Bei den von Schultze empfohlenen Quantitäten, wo das Benzoylchlorid mehr als das Fünffache der theoretischen Menge beträgt, und in Folge dessen die Temperatur der Flüssigkeit nicht unerheblich steigt, ist das Hauptproduct in der That racemisches Benzoylleucin, aber die Mutterlaugen liefern ein niedriger schmelzendes Präparat, welches wahrscheinlich aus der activen Form besteht. Beschränkt man dagegen die Menge des

<sup>1)</sup> Zeitschr. für physiolog. Chem. 29, 470.

<sup>2)</sup> Diese Berichte 32, 2454.

Benzoylchlorids auf 3 Moleküle und sorgt dafür, dass die Temperatur nicht über 30° steigt, so hat das Product eine ähnliche Beschaffenheit wie bei der Anwendung von Bicarbonat, und es lässt sich daraus actives Benzoylleucin isoliren. Nach diesen Beobachtungen ist die Racemisirung bei der Bildung des Benzoylleucins durch die Bedingungen der Operation sehr stark beeinflusst.

Inactives Benzolsulfoleucin,  
 $(\text{CH}_3)_2\text{CH}.\text{CH}_2.\text{CH}(\text{NH}.\text{SO}_2.\text{C}_6\text{H}_5).\text{COOH}.$

Die Verbindung ist aus dem racemischen Leucin ebenso leicht darzustellen, wie der Benzoylkörper, und da sie fast noch schönere Eigenschaften besitzt wie jener, so ist sie auch zur Identificirung der Aminosäure recht geeignet. Ich habe sie deshalb nochmals benutzt, um das synthetische Product mit dem racemisirten Präparat aus Horn zu vergleichen, und auch hier völlige Uebereinstimmung gefunden.

Zur Darstellung werden 5 g Leucin in 40 ccm Normalnatronlauge gelöst und dann unter dauerndem Schütteln im Laufe von zwei Stunden abwechselnd in kleinen Portionen 21 g Benzolsulfochlorid und 60 ccm einer 22-procentigen Kalilauge zugesetzt. Der grosse Ueberschuss des Chlorids ist, gerade so wie bei der Benzoylirung, für die Ausbeute vortheilhaft. Wenn der Geruch des Chlorids verschwunden ist, scheidet sich beim Ansäuern der Flüssigkeit das Benzolsulfoleucin alsbald krystallinisch ab. Seine Menge betrug 80 pCt. der Theorie. Es wird aus siedendem Benzol, von welchem auf 1 g etwa 12 ccm erforderlich sind, umkrystallisirt. Zur Vervollständigung der Abscheidung ist Zusatz von Ligroin förderlich. Das Benzolsulfoleucin wird so in derben Prismen erhalten, welche bei 140° zu sintern beginnen und bei 146° (corr.) schmelzen. Die Verbindung ist in Alkohol, Aether, Aceton, Essigester und Chloroform leicht löslich. Aus kochendem Wasser, von welchem sie etwa 80 Theile verlangt, scheidet sie sich beim Erkalten in schräg zugespitzten Prismen ab. Die Salze mit Alkalien, Ammoniak, ferner mit Kalium und Baryum sind in Wasser leicht löslich und krystallisiren meist in Nadeln. Das Bleisalz ist schwer löslich und bildet mikroskopische Prismen, das Silbersalz ist in heissem Wasser ziemlich leicht löslich und krystallisirt beim Erkalten in feinen, meist kugelförmig vereinigten Nadelchen.

Da die activen Formen nicht bekannt sind, so lässt sich nicht sagen, ob die vorliegende Verbindung ein echter Racemkörper oder nur ein Gemisch der optischen Antipoden ist.

Zur Analyse wurde die Substanz bei 108° getrocknet. Product I ist aus synthetischem, Product II aus natürlichem, racemisirtem Leucin dargestellt.

0.2012 g Sbst.: 0.3888 g CO<sub>2</sub>, 0.1137 g H<sub>2</sub>O. — 0.3162 g Sbst.: 14.6 ccm N (20°, 760.5 mm). — 0.2048 g Sbst.: 0.3963 g CO<sub>2</sub>, 0.1148 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub>S. Ber. C 53.14, H 6.26, N 5.16.  
Gef. » 52.70, 52.77, » 6.27, 6.23, » 5.29.

Verbindung des *r*-Leucins mit Phenylcyanat,  
(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH.CH<sub>2</sub>.CH.COOH  
NH.CO.NH.C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>.

Die Verbindung ist so leicht darzustellen und besitzt so schöne Eigenschaften, dass sie ebenso wie Benzoyl- und Benzolsulfo-Körper zur Erkennung des Leucins dienen kann. Sie wird ähnlich den Derivaten der einfacheren Aminosäuren, welche von Paal beschrieben wurden, durch Schütteln der alkalischen Leucinlösung mit Phenylcyanat erhalten.

1 g *r*-Leucin wurde in 8 ccm Normalkalilauge gelöst und zur stark gekühlten Flüssigkeit in kleinen Portionen 1 g Phenylcyanat zugefügt und jedes Mal heftig geschüttelt, bis der Geruch des Cyanats verschwunden war. Die Operation dauerte 1/2 Stunde. Nachdem die Flüssigkeit, welche sich schwach röthlich gefärbt und etwas getrübt hatte, durch Schütteln mit Thierkohle geklärt und entfärbt war, fiel beim Ansäuern eine zähe Masse aus, welche bald krystallinisch erstarrte. Ihre Menge betrug 1.82 g. Sie wurde in warmem Alkohol gelöst und diese Lösung bis zur Trübung mit heissem Wasser versetzt. Beim Erkalten schied sich die Substanz als dicker Brei farbloser Nadeln aus, welche für die Analyse im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet wurden.

0.2026 g Sbst.: 0.4651 g CO<sub>2</sub>, 0.1307 g H<sub>2</sub>O. — 0.2150 g Sbst.: 21.2 ccm N (22°, 763 mm).

C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 62.40, H 7.20, N 11.20.  
Gef. » 62.61, » 7.17, » 11.21.

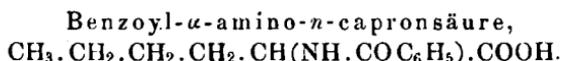
Die Verbindung schmilzt unter Gasentwicklung gegen 165° (corr). Sie verlangt zur Lösung ungefähr 300 Theile kochendes Wasser, von kochendem Alkohol aber nicht mehr als zwei Theile, und krystallisirt aus Letzterem in flachen Prismen oder glänzenden Blättchen. In Aceton und Essigester ist sie ebenfalls sehr leicht löslich, und dann successive schwerer in Aether, Chloroform, Benzol und Ligroin. Das schwer lösliche Silbersalz krystallisirt in Nadelchen.

Derivate der  $\alpha$ -Amino-*n*-capronsäure.

Zum Vergleich mit den Derivaten des Leucins schien es wünschenswerth, auch Benzoyl- und Benzolsulfo-Verbindung der normalen  $\alpha$ -Aminocapronsäure kennen zu lernen.

Als Rohmaterial diente die käufliche Gährungscapronsäure, welche erst fractionirt, dann mit Brom und Phosphor bromirt und in be-

kannter Weise amidirt wurde. Für die Bereitung der Derivate wurden dieselben Verfahren wie beim Leucin angewandt.



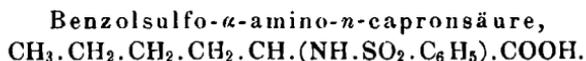
Das Product wird entweder aus Aether und Ligroin oder aus heissem Wasser umkrystallisirt. Für die Analyse war es im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.2009 g Sbst.: 0.4885 g  $\text{CO}_2$ , 0.1318 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ . Ber. C 66.38, H 7.23.

Gef. » 66.32, » 7.28.

Schmelzpunkt nach geringem Sintern  $134^\circ$  (corr.). Die Säure krystallisirt meist in kleinen, länglichen, sechsseitigen Blättchen. Sie ist leicht löslich in Alkalien und Ammoniak; das Baryumsalz ist ebenfalls in kaltem Wasser noch ziemlich leicht löslich und krystallisirt in kleinen Prismen. Das Silbersalz ist in kaltem Wasser schwer, in heissem aber ziemlich leicht löslich und krystallisirt in Blättchen. Kupfer- und Blei-Salz sind in Wasser sehr schwer löslich. Ueber die Spaltung der Säure in die optischen Componenten, welche Hr. Hagenbach in Angriff genommen hat, wird später berichtet.



Die Ausbeute an Rohproduct betrug 90 pCt. der Theorie. Dasselbe wurde in der 10-fachen Menge siedendem Benzol gelöst und durch Zusatz von Ligroin wieder abgeschieden. Die so erhaltenen, dünnen, meist fächerförmig gruppirten Prismen sinterten etwas bei  $120^\circ$  und schmolzen bei  $125^\circ$  (corr.).

0.2029 g Sbst.: 0.3930 g  $\text{CO}_2$ , 0.1115 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_4\text{S}$ . Ber. C 53.13, H 6.27.

Gef. » 52.83, » 6.11.

Aus heissem Wasser krystallisirt sie in farblosen Nadeln. Baryum- und Calcium-Salz sind auch in kaltem Wasser ziemlich leicht löslich. Letzteres krystallisirt in feinen Nadelchen. Das Silbersalz ist in heissem Wasser ziemlich leicht löslich und krystallisirt in feinen Nadelchen, welche meist zu kugelförmigen Aggregaten vereinigt sind. Schwer löslich ist das Kupfersalz.

Bei obigen Versuchen bin ich von Hrn. Dr. Wolfes auf's Eifrigste unterstützt worden, wofür ich demselben besten Dank sage.