

368. Emil Fischer: Synthese von Derivaten der Polypeptide<sup>1)</sup>.

[Aus dem I. Chem. Institut der Universität Berlin.]

(Eingegangen am 18. Juni 1903.)

In den Proteinstoffen sind die Aminosäuren höchstwahrscheinlich nach Art der Säureamide mit einander verkuppelt. Dafür spricht, wie ich früher wiederholt betont habe, nicht allein die Hydrolyse durch Säuren und Alkalien, sondern insbesondere auch die Beobachtung, dass aus dem Seidenfibrin durch partielle Spaltung ein Stoff entsteht, der wahrscheinlich eine solche Combination von Glykocoll mit Alanin ist<sup>2)</sup>. Ich habe mich deshalb schon seit längerer Zeit bemüht, solche einfache Anhydride der Aminosäuren synthetisch zu bereiten. Der erste Erfolg in dieser Richtung war die Gewinnung des Glycylglycins,  $\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2\text{H}$ , welches aus dem Glycinanhydrid (Diacipiperazin) durch Aufspaltung mit Säuren gewonnen wird<sup>3)</sup>. Um an dieses System ein drittes Molekül einer Aminosäure anzuheften, musste ein Kunstgriff angewendet werden. Die leicht veränderliche Aminogruppe wurde festgelegt durch Einführung der Carbäthoxygruppe, und die so resultirende Verbindung, Carbäthoxyglycylglycin, konnte dann in Form ihres Esters mit anderen Aminosäureestern durch blosses Erhitzen combinirt werden. Es gelang auf diesem Wege, folgendes System  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2\text{C} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH} \cdot (\text{C}_4\text{H}_9) \cdot \text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$  (Carbäthoxyldiglycylleucinester) zu gewinnen<sup>4)</sup>.

Die weitere Fortsetzung der Synthese stiess aber auf Schwierigkeiten, weil diese complicirten Ester immer weniger zu Condensationen geneigt werden. Ich habe deshalb nach einer anderen Methode gesucht, die den Erfolg unter leichteren Bedingungen gewährleistet, und dieselbe in folgenden Reactionen gefunden.

Während die gewöhnlichen Aminosäuren bisher auf keine Weise in die entsprechenden Säurechloride verwandelt werden können, gelingt dies nach Einführung der Carbäthoxygruppe mit Hilfe von Thionylchlorid, das von Hans Meyer mit so gutem Erfolg zur Bereitung der Chloride der Pyridincarbonensäure benutzt wurde. So wird das Carbäthoxyglycin,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2\text{C} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2\text{H}$ , durch ganz gelindes Erwärmen mit Thionylchlorid recht glatt in das Chlorid umgewandelt, und dieses reagirt dann mit den Estern der Aminosäuren

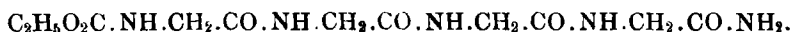
<sup>1)</sup> Der Berliner Akademie vorgelegt am 2. April 1903. Siehe Sitzungsberichte 1903, 387; ferner Chem. Centralblatt 1903, I, 1303.

<sup>2)</sup> Chemikerzeitung 1902, Nr. 80. Bericht über die Naturforscherversammlung zu Karlsbad. Autoreferat.

<sup>3)</sup> E. Fischer und E. Fournéau, diese Berichte 34, 2870 [1901].

<sup>4)</sup> Diese Berichte 35, 1100 [1902].

schon bei niedriger Temperatur. Nach Versuchen, die in der zweiten Abhandlung beschrieben sind, kann man auf diese Art den Carbäthoxylglycylglycinester oder den Carbäthoxyldiglycylglycinester,  $(C_2H_5O_2C).NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO_2C_2H_5$ , leicht bereiten. Dasselbe Verfahren lässt sich nun glücklicher Weise von Neuem auf diese complicirten Systeme anwenden. Wird z. B. Carbäthoxylglycylglycin mit Thionylchlorid behandelt, so entsteht ein Chlorid, welches zwar nicht analysirt wurde, aber aller Wahrscheinlichkeit nach folgende Structur hat:  $C_2H_5O_2C.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.Cl$ . Dieses Chlorid kann dann mit Glycylglycinester combinirt werden und es entsteht folgende Verbindung:  $C_2H_5O_2C.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO_2C_2H_5$ , in welcher nicht weniger, als vier Glycinmoleküle anhydridartig verkuppelt sind, und die ich Carbäthoxyltriglycylglycinester nenne<sup>1)</sup>. Die Estergruppen sind darin recht reactionsfähig. Durch Verseifung erhält man Säuren und durch Ammoniak lässt sich auch eine derselben leicht in die Amidgruppe verwandeln. Dieser letzten Verbindung gebe ich die Formel:



Es liegt auf der Hand, dass man mit Hülfe des gleichen Verfahrens zahllose Combinationen durch Verwendung der verschiedenen Aminosäuren bereiten kann, und wenn man noch die Diamino- und Oxyamino-Säuren heranzieht, so werden meiner Ansicht nach Producte zum Vorschein kommen, die mit den natürlichen Peptonen schon manche Aehnlichkeit besitzen. Ein fremdes Element darin ist nur noch das Carbäthoxyl, bzw. in den freien Säuren das Carboxyl, welches an den Stickstoff gebunden ist. Ich hatte erwartet, dass diese Gruppe sich leicht als Kohlensäure abspalten lasse, wie dies bei der Carbaminsäure und der Allophansäure so leicht gelingt. Das ist aber nicht der Fall, da die Kohlensäure hier auffallend fest haftet, und es bedarf noch der Auffindung eines besonderen Verfahrens, um sie ohne tiefergehende Veränderung des Moleküls zu entfernen. Solche Erfahrungen zeigen, wie wenig man aus dem bisherigen Beobachtungsmaterial auf die Eigenschaften jener complicirten Stoffe, für welche ich den Sammelnamen Polypeptide<sup>2)</sup> vorgeschlagen habe, schliessen kann. Man muss vielmehr darauf gefasst sein, hier ganz eigenartigen Erscheinungen zu begegnen, und ich kann schon jetzt eine neue un-

<sup>1)</sup> Aehnliche Verbindungen der Benzoëssäure hat kürzlich Hr. Th. Curtius aus Hippurylglycin nach einem anderen Verfahren dargestellt, aber leider bei ihrer Beschreibung meine älteren Versuche, deren Ziel doch deutlich genug von mir angegeben ist, nicht erwähnt. (Diese Berichte 35, 3226 [1902].)

<sup>2)</sup> Vortrag zu Karlsbad, Chemikerzeitung 1902.

erwartete Isomerie erwähnen. Der eben angeführte Carbäthoxyglycylglycinester wird durch überschüssiges Alkali zu einer Dicarbonsäure verseift, die ich unter dem Namen Glycylglycincarbonsäure beschrieben habe<sup>1)</sup>, und der nach der Bildungsweise folgende Structur zugeschrieben wurde:  $\text{HO}_2\text{C.NH.CH}_2\text{.CO.NH.CH}_2\text{.CO}_2\text{H}$ . Durch Erhitzen mit alkoholischer Salzsäure lässt sich nun diese Verbindung leicht in einen neutralen Ester zurückverwandeln. Derselbe hat zwar die gleiche Zusammensetzung wie der ursprüngliche Ester, ist aber von ihm sowohl in den physikalischen Eigenschaften wie in manchen chemischen Reactionen total verschieden. Während z. B. der ältere Ester bei der Behandlung mit flüssigem Ammoniak bei gewöhnlicher Temperatur in ein Monamid verwandelt wird, geht der zweite in ein Diamid über. Die beiden Ester bieten mithin ein neues Beispiel von Isomerie dar, die aber bei der Rückverwandlung in die Dicarbonsäure wieder verschwindet. Ob die Ursache dieser Erscheinungen, die an die Isomerie der Monomethylharnsäuren erinnern<sup>2)</sup>, in der Structur der Carbäthoxylimidgruppe oder der anderen Säureimidgruppen liegt, lässt sich nach den bisherigen Beobachtungen nicht sicher beurtheilen. Ich unterscheide deshalb vorläufig die beiden Ester als  $\alpha$ - und  $\beta$ -Verbindung.

Die gleiche Art der Isomerie wurde bei dem Carbäthoxyldiglycylglycinester gefunden. Sie besteht endlich auch bei den Doppelamiden, wie folgende Beobachtung zeigt. Aus dem Glycylglycinester entsteht durch Anlagerung von Cyansäure ein Harnstoff, dem ich nach der Bildungsweise die Formel  $\text{NH}_2\text{.CO.NH.CH}_2\text{.CO.NH.CH}_2\text{.CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$  und den Namen Carbamidoglycylglycinester gegeben habe<sup>3)</sup>. Letzterer verwandelt sich bei der Behandlung mit flüssigem Ammoniak in das entsprechende Amid und dieses ist wiederum nicht, wie man hätte erwarten sollen, identisch, sondern isomer mit dem Doppelamid, das aus dem  $\beta$ -Carbäthoxyldiglycylglycinester entsteht.

Die eben erwähnte Methode zur Verkuppelung von Aminosäuren lässt sich auch auf andere Säurederivate der Aminosäuren übertragen. Ich habe sie speciell benutzt, um einige  $\beta$ -Naphthalinsulfoderivate der Dipeptide zu bereiten, weil diese Producte für die Abscheidung der betreffenden Stoffe aus complicirten Gemischen werthvoll sind. So wurde das Chlorid des  $\beta$ -Naphthalinsulfoglycins combinirt mit dem Glycin und dem Alanin.

<sup>1)</sup> Diese Berichte 35, 1097 [1902].

<sup>2)</sup> E. Fischer u. F. Ach, diese Berichte 32, 2721 [1899].

<sup>3)</sup> Diese Berichte 35, 1099 [1902].

$\beta$ -Carbäthoxylglycylglycinester.

Wie zuvor erwähnt, entsteht die Verbindung bei der Veresterung der Glycylglycincarbonsäure. 3 g der Letzteren werden fein gepulvert und mit 15 ccm einer bei gewöhnlicher Temperatur gesättigten Lösung von Salzsäure in absolutem Alkohol einige Minuten gekocht, bis völlige Lösung eingetreten ist. Versetzt man dann die abgekühlte Flüssigkeit mit dem 3-fachen Volumen Aether, so beginnt nach kurzer Zeit die Krystallisation des neuen Esters. Derselbe wird nach einer Stunde abfiltrirt und mit Aether gewaschen. Die Ausbeute betrug 3.4 g, was ungefähr 86 pCt. der Theorie entspricht. Zur Reinigung wird das Product aus ungefähr der 6-fachen Menge heissem, absolutem Alkohol umkrystallisirt. Es bildet dann kleine, farblose Prismen, welche für die Analyse über Schwefelsäure getrocknet waren.

0.1949 g Sbst.: 0.3312 g CO<sub>2</sub>, 0.1168 g H<sub>2</sub>O. — 0.1995 g Sbst.: 21.1 ccm N (21°, 772 mm).

C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>. Ber. C 46.55, H 6.89, N 12.07.

Gef. » 46.35, » 6.72, » 12.24.

Der Ester schmilzt nicht ganz scharf bei 146—148° (corr. 148—150°), nachdem er einige Grade vorher gesintert ist, während die isomere  $\alpha$ -Verbindung bei 87° (corr.) schmilzt. Der neue Ester ist in Aether so gut wie unlöslich, auch von Benzol wird er recht schwer gelöst und krystallisirt daraus in äusserst feinen Nadelchen. Von Chloroform wird er leichter aufgenommen; aus heissem Wasser, wovon er fast ebenso leicht wie von Alkohol gelöst wird, lässt er sich gleichfalls gut umkrystallisiren.

Behufs Rückverwandlung in die Dicarbonsäure wurde 1 g mit 10 g Normalnatronlauge 4 Stdn. am Rückflusskühler gekocht und dann nach Zugabe von 10 ccm Normalsalzsäure auf die Hälfte eingedampft. Beim Abkühlen schied sich die Dicarbonsäure aus und ihre Menge betrug nach längerem Stehen 0.64 g oder 84 pCt. der Theorie. In Schmelzpunkt, äusserer Form der Krystalle und der Löslichkeit zeigte sie keine bemerkbare Verschiedenheit von der ursprünglichen Glycylglycincarbonsäure.

0.1087 g Sbst.: 15.4 ccm N (20°, 757 mm).

C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>. Ber. N 15.91. Gef. N 16.15.

Einwirkung von flüssigem Ammoniak auf den  $\beta$ -Carbäthoxylglycylglycinester.

Wird der gepulverte Ester im Einschmelzrohr mit ungefähr der 4-fachen Menge flüssigem Ammoniak zusammengebracht, so entsteht, sobald die Flüssigkeit sich auf Zimmertemperatur erwärmt hat, klare Lösung. Oeffnet man nach 36-stündigem Liegen bei gewöhnlicher Temperatur das vorher stark abgekühlte Rohr und lässt das Ammoniak

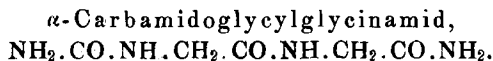
verdunsten, so bleibt eine farblose, feste Masse, die in absolutem Alkohol so gut wie unlöslich ist. Sie wurde aus ungefähr der 7-fachen Menge heissem Wasser umkrystallisirt. Die Ausbeute an reinem Product betrug die Hälfte des angewandten Esters oder  $\frac{2}{3}$  der Theorie. Für die Analyse war das Präparat noch ein Mal aus Wasser umgelöst und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1596 g Sbst.: 0.2023 g CO<sub>2</sub>, 0.0841 g H<sub>2</sub>O. — 0.0669 g Sbst.: 18.6 ccm N (19°, 768 mm).

C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>N<sub>4</sub>. Ber. C 34.47, H 5.80, N 32.17.

Gef. » 34.57, » 5.91, » 32.31.

Die Verbindung hat keinen scharfen Schmelzpunkt. Sie bräunt sich beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 230° und schmilzt gegen 240° (corr. 246°) unter Zersetzung. Ihre wässrige Lösung reagirt neutral und schmeckt schwach süß. Versetzt man sie mit Alkali und Kupfervitriol, so erhält man nicht die rothe Farbe des Biuret, sondern eine rein blaue Färbung. Das Amid löst sich sehr leicht in starker Salz- oder Salpeter-Säure. Mit Platinchlorid giebt es in concentrirter, kalter Lösung feine gelbe, häufig sechsseitige Täfelchen, die sich in der Wärme wieder leicht lösen. Phosphorwolframsäure fällt die verdünnte wässrige Lösung nicht. Ich nenne die Verbindung vorläufig  $\beta$ -Carbamidoglycylglycinamid.



Um dieses mit der vorhergehenden Verbindung isomere Amid zu bereiten, bewahrt man den früher beschriebenen Carbamidoglycylglycinester mit etwa der vierfachen Menge flüssigem Ammoniak im Einschmelzrohr 36 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur auf. Anfangs erfolgt klare Lösung; oh-später Ausscheidung des neuen Amids stattfindet, hängt von der Menge des Ammoniaks ab. Wird das abgekühlte Rohr geöffnet und das Ammoniak verdunstet, so bleibt ein farbloser Rückstand, welcher aus der drei- bis vierfachen Menge heissem Wasser umkrystallisirt wird. Die Ausbeute an krystallisirtem Präparat betrug  $\frac{2}{3}$  des angewandten Esters oder 77 pCt. der Theorie.

Für die Analyse wurde nochmals aus Wasser umgelöst und im Vacuum getrocknet.

0.1902 g Sbst.: 0.2402 g CO<sub>2</sub>, 0.0984 g H<sub>2</sub>O. — 0.0948 g Sbst.: 26.9 ccm N (21°, 756 mm).

C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>N<sub>4</sub>. Ber. C 34.47, H 5.80, N 32.17.

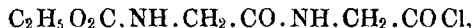
Gef. » 34.44, » 5.80, » 32.12.

Die Substanz krystallisirt aus Wasser in kleinen, schief abgeschnittenen Prismen, welche auch bisweilen wie schmale Tafeln aussehen. Im Capillarrohr rasch erhitzt, schmilzt sie gegen 206° (corr.

210<sup>o</sup>) unter Gasentwicklung, mithin erheblich niedriger als die isomere Substanz. Sie ist auch in Wasser, Alkohol und Chloroform leichter löslich als jene. Als weiterer Unterschied ist die blauviolette Färbung zu erwähnen, die sie mit Alkali und Kupfersalzen giebt.

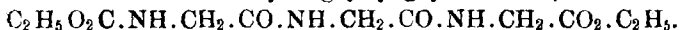
Einwirkung von Thionylchlorid auf Carbäthoxylglycylglycin.

Uebergiesst man 3 g der fein gepulverten Glycinverbindung mit 2 g Thionylchlorid und erwärmt vorsichtig auf 35—40<sup>o</sup>, so giebt sich der Eintritt der Reaction durch Gasentwicklung kund. Die Masse färbt sich röthlich und nach etwa 5 Minuten ist der Process beendet. Verdunstet man jetzt den kleinen Ueberschuss des Thionylchlorids bei 40<sup>o</sup> unter stark vermindertem Druck, so bleibt eine amorphe, roth gefärbte Masse zurück, die aller Wahrscheinlichkeit nach das Chlorid des Carbäthoxylglycylglycins,



enthält. Leider ist seine Krystallisation bisher nicht gelungen und musste deshalb das Rohproduct direct für die Synthesen verwendet werden.

Carbäthoxyldiglycylglycinester,



Um die Verbindung aus dem zuvor erwähnten Chlorid zu bereiten, löst man dasselbe in Chloroform. Verwendet man 20 ccm auf die Menge, welche aus 3 g Carbäthoxylglycylglycin entsteht, so bleibt nur ein geringer Rückstand. Diese Flüssigkeit wird ohne vorherige Filtration eingegossen in die gekühlte Lösung von 4 g Glyciner in 20 g Chloroform. Die Wechselwirkung tritt sofort ein. Das Chloroform wird jetzt verdampft, der Rückstand mit 20 ccm Wasser genommen und die von einem geringen Rest abfiltrirte Flüssigkeit

Exsiccator bis auf 6 ccm verdunstet. Dabei fällt die neue Verbindung als krystallinische Masse aus. Die Ausbeute an diesem Product schwankte bei verschiedenen Versuchen zwischen 25 und 40 pCt. der Theorie. In der wässrigen Mutterlauge bleibt der gleichzeitig gebildete salzsaure Glycinester bezw. Glycinhydrochlorat. Das Rohproduct wird aus warmem Spirit oder 3—4 Th. heissem Wasser unter Zusatz von etwas Thierkohle umkrystallisirt. Für die Analyse war das Präparat im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1803 g Sbst.: 0.3028 g CO<sub>2</sub>, 0.1065 g H<sub>2</sub>O. — 0.1308 g Sbst.: 16.3 ccm N (20<sup>o</sup>, 769 mm).

C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub>. Ber. C 45.64, H 6.64, N 14.52.

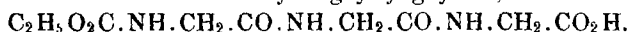
Gef. » 45.80, » 6.62, » 14.43.

Der Carbäthoxyldiglycylglycinester schmilzt bei 160—161° (corr. 163—164°) und krystallisirt meist in mikroskopisch kleinen Nadeln, die häufig kugelförmig zusammengewachsen sind. Die Löslichkeit nimmt successive für Alkohol, Chloroform, Aether ab. Mit Alkali und Kupfersalz giebt er eine ziemlich stark in's Röthliche spielende blauviolette Farbe.

Dieselbe Verbindung entsteht aus dem Chlorid des Carbäthoxyglycins durch Combination mit Glycylglycinester, und dieses Verfahren, welches in nachfolgenden Abhandlung ausführlich beschrieben wird, ist für die praktische Darstellung der viel besseren Ausbeute wegen vorzuziehen. Nach ihm wurde auch das Material gewonnen, welches für die Bereitung der nachfolgenden Derivate diente.

Bei der Verseifung mit Alkali liefert der Doppel ester zunächst eine Monocarbonsäure, und bei weiterer Einwirkung die Doppelsäure. nach der Analogie mit dem Carbäthoxyldiglycylglycinester nehme ich an, dass die Verseifung zuerst an der Gruppe des Glycinesters eintritt.

#### Carbäthoxyldiglycylglycin,



Werden 5 g des gepulverten Carbäthoxyldiglycylglycinesters 20 ccm Normalnatronlauge bei gewöhnlicher Temperatur geschüttelt, so tritt nach einigen Minuten klare Lösung ein. Nach zweistündiger Stehen versetzt man mit 21 ccm Normalsalzsäure. Die Abscheidung der neuen Säure erfolgt dann spontan und ihre Menge betrug nach 15 Stdn. 3.3 g. Aus der eingedampften Mutterlauge wurden noch 0.35 g gewonnen, sodass die Gesamtausbeute 81 pCt. der Theorie erreicht. Das Rohproduct wurde aus 20 ccm heissem Wasser umgelöst, wobei nur ein geringer Verlust eintrat. Für die Analyse war im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1900 g Sbst.: 0.2900 g CO<sub>2</sub>, 0.0985 g H<sub>2</sub>O. — 0.1174 g Sbst.: 15.8 ccm N (18°, 764 mm).

C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub>. Ber. C 41.35, H 5.82, N 16.08.

Gef. » 41.63, » 5.81, » 15.63.

Die Säure löst sich in weniger als der dreifachen Menge heissem Wasser und krystallisirt daraus in mikroskopischen Nadeln oder dünnen Prismen. Im Capillarrohr rasch erhitzt sintert sie gegen 200° und schmilzt von 208—210° (corr. 212—214°) unter schwacher Färbung. In heissem Alkohol und Chloroform ist sie recht schwer löslich; die wässrige Lösung reagirt stark sauer, löst Kupferoxyd beim Kochen mit schwach blauer Farbe und giebt mit Alkali und Kupfersalz eine kräftige, in's Violette spielende blaue Färbung. Versetzt man die nicht zu verdünnte Lösung der Säure in Ammoniak mit Sil-

bernitrat, so entsteht ein farbloser Niederschlag, der aus feinen, meist concentrisch verwachsenen Nadelchen besteht und sich in heissem Wasser leicht löst.

Diglycylglycincarbonsäure,  
 $\text{CO}_2\text{H} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2\text{H}$ .

3 g des Carbäthoxyldiglycylglycinesters werden in 24 ccm Normalnatronlauge (etwas mehr als 2 Molekülen) gelöst und 5 Stunden auf  $80^\circ$  erwärmt, dann mit 24 ccm Normalsalzsäure versetzt und die Flüssigkeit auf dem Wasserbade auf etwa 10 ccm eingedampft. Beim Abkühlen scheidet sich die neue Säure in Form eines sandigen, krystallinischen Pulvers ab. Die Ausbeute betrug 1 g und die Mutterlauge gab nach dem Einengen noch 0.15 g, was ungefähr 48 pCt. der Theorie entspricht. Das Rohproduct wurde zur Analyse zwei Mal aus je 5 ccm Wasser umgelöst und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.2001 g Sbst.: 0.2651 g  $\text{CO}_2$ , 0.0845 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.1718 g Sbst.: 26.6 ccm N ( $21^\circ$ , 772 mm).

$\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_6\text{N}_3$ . Ber. C 36.04, H 4.76, N 12.02.

Gef. » 36.13, » 4.73, » 17.91.

Die Säure krystallisirt aus warmem Wasser in mikroskopisch kleinen, schiefen Tafeln und schmilzt, im Capillarrohr rasch erhitzt, gegen  $206^\circ$  (corr.  $210^\circ$ ) unter Zersetzung. Ihre wässrige Lösung reagirt stark sauer und löst Kupferoxyd beim Kochen mit blass grünblauer Farbe. Beim Eindampfen dieser Lösung scheidet sich das Kupfersalz krystallinisch ab. In heissem Alkohol ist die Säure sehr schwer löslich.

Carbäthoxyldiglycylglycinamid,  
 $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2\text{C} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$ .

Werden 3 g Carbäthoxyldiglycylglycinester im Einschmelzrohr mit etwa der doppelten Menge flüssigem Ammoniak bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt, so erfolgt sehr bald Lösung und nach 2 Tagen ist eine reichliche Krystallisation eingetreten. Man lässt nun das Ammoniak verdunsten und krystallisirt den farblosen Rückstand aus etwa 60 ccm heissem 60-procentigem Alkohol. Die Ausbeute des so gereinigten Productes betrug 2.3 g oder 85 pCt. der Theorie. Zur Analyse war das Präparat nochmals in warmem Wasser gelöst, durch Zusatz von Alkohol wieder abgeschieden und über Schwefelsäure getrocknet.

0.2010 g Sbst.: 0.3067 g  $\text{CO}_2$ , 0.1116 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.1837 g Sbst.: 33.7 ccm N ( $17^\circ$ , 769 mm).

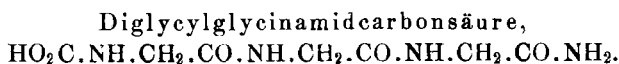
$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_5\text{N}_4$ . Ber. C 41.51, H 6.23, N 21.52.

Gef. » 41.61, » 6.22, » 21.56.



Die Verbindung schmilzt im Capillarrohr beim raschen Erhitzen gegen  $230^{\circ}$  (corr.  $235^{\circ}$ ) unter schwacher Färbung, nachdem sie schon vorher etwas gesintert ist. Sie löst sich in etwa 6 Theilen kochendem Wasser und krystallisirt daraus in mikroskopisch kleinen Prismen oder Platten. In absolutem Alkohol ist sie schwer löslich. Mit Alkali und Kupfersalzen giebt sie eine schön rothviolette Färbung, ähnlich dem Biuret.

Durch vorsichtige Verseifung wird sie in die folgende Säure verwandelt.



3 g Carbäthoxyldiglycylglycinamid werden in 120 ccm heissem Wasser gelöst, dann rasch auf Zimmertemperatur abgekühlt, wobei Krystallisation erfolgt, und nach Zusatz von 13 ccm Normalnatronlauge geschüttelt, bis wieder klare Lösung erfolgt ist. Man lässt jetzt noch eine Stunde bei gewöhnlicher Temperatur stehen und fügt dann 13 ccm Normalsalzsäure zu. Nach kurzer Zeit beginnt die Krystallisation der neuen Säure. Sie wird nach einer Stunde abfiltrirt. Die Mutterlauge giebt beim Eindampfen nur noch eine geringe Krystallisation. Die gesammte Ausbeute betrug 1.74 g oder 65 pCt. der Theorie. Zur Analyse wurde das Präparat zweimal aus je 40 ccm heissem Wasser umgelöst und über Schwefelsäure getrocknet.

0.1826 g Subst.: 0.2420 g  $\text{CO}_2$ , 0.0859 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.1320 g Subst.: 27.9 ccm N ( $20^{\circ}$ , 772 mm).

$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_5\text{N}_4$ . Ber. C 36.19, H 5.21, N 24.13.

Gef. » 36.14, » 5.27, » 24.58.

Die Säure krystallisirt aus heissem Wasser, worin sie ziemlich leicht löslich ist, in mikroskopisch kleinen, schiefen Tafeln und schmilzt im Capillarrohr rasch erhitzt nicht ganz constant bei  $225\text{--}229^{\circ}$  (corr.  $230\text{--}234^{\circ}$ ) unter Zersetzung. Die wässrige Lösung reagirt sauer und giebt mit Alkali und Kupfersalz eine blauviolette Färbung. In heissem Alkohol ist sie sehr schwer löslich.

#### $\beta$ -Carbäthoxyldiglycylglycinester.

Die Verbindung entsteht durch Veresterung der Diglycylglycin-carbonsäure, und ich nehme deshalb an, dass hier ein ähnlicher Fall von Isomerie vorliegt, wie sie ausführlich für Carbäthoxyglycylglycinester zuvor besprochen wurde.

2 g Diglycylglycin-carbonsäure wurden mit 20 ccm gesättigter, alkoholischer Salzsäure einige Minuten bis zur Lösung gekocht. Beim Einengen der Flüssigkeit über Schwefelsäure und Kalk schied sich

eine reichliche Menge des neuen Esters als krystallinisches Pulver ab. Der Rest wurde durch Zusatz von Aether aus der alkoholischen Lösung gefällt. Die abgepresste Masse wog nach dem Trocknen 1.75 g. Das Product wurde zur Reinigung aus etwa 6 Theilen heissem Wasser umkrystallirt. Zur Analyse war das Präparat nochmals aus Wasser umgelöst und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1835 g Sbst.: 0.3077 g CO<sub>2</sub>, 0.1098 g H<sub>2</sub>O. — 0.1337 g Sbst.: 17.3 ccm N (20°, 770 mm).

C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>O<sub>5</sub>N<sub>3</sub>. Ber. C 45.64, H 6.64, N 14.52.  
Gef. » 45.73, » 6.71, » 15.01.

Der Ester unterscheidet sich von der isomeren  $\alpha$ -Verbindung schon in der äusseren Form; denn er fällt sowohl aus Wasser, wie aus Alkohol in sehr kleinen Krystallblättchen, die keine bestimmte Form zeigen. Der Schmelzpunkt lag auch bei mehrmaligem Umkrystallisiren bei 146—148° (corr. 148—150°), mithin etwa 12° niedriger, als derjenige der isomeren Verbindung. Der neue Ester ist auch in den meisten Lösungsmitteln, besonders aber in Chloroform leichter löslich. Er giebt endlich mit Alkali und Kupfersalzen eine rein blaue Farbe.

Carbäthoxyltriglycylglycinester,  
C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>C.NH.CH<sub>2</sub>.CO.NH.CH<sub>2</sub>.CO.NH.CH<sub>2</sub>.CO.NH.CH<sub>2</sub>.CO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.

Für die Bereitung dieser Verbindung diente ebenfalls das Chlorid des Carbäthoxylglycylglycins, dessen Darstellung oben beschrieben ist. Das aus 4 g bereitete Chlorid wurde in 30 ccm Chloroform gelöst und mit einer Lösung von 6.3 g Glycylglycinester ebenfalls in 30 ccm Chloroform vermischt, dann das Chloroform verdampft, der Rückstand in 100 ccm heissem Wasser gelöst und mit etwas Thierkohle gekocht. Beim Abkühlen des Filtrats begann bald die Krystallisation des neuen Esters und nach einstündigem Stehen bei 0° betrug die Menge 2.2 g oder 32 pCt der Theorie. Da die Substanz in kaltem Wasser sehr schwer löslich ist, so lässt sich aus der Mutterlauge durch Eindampfen nur recht wenig mehr gewinnen. Zur Analyse wurde sie aus etwa 40 Theilen heissem Wasser umgelöst und über Schwefelsäure getrocknet.

0.0975 g Sbst.: 0.1603 g CO<sub>2</sub>, 0.0555 g H<sub>2</sub>O. — 0.1601 g Sbst.: 22.3 ccm N (18°, 774 mm).

C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>O<sub>7</sub>N<sub>4</sub>. Ber. C 45.06, H 6.41, N 16.18.  
Gef. » 44.84, » 6.38, » 16.39.

Die Substanz krystallisirt aus heissem Wasser in mikroskopisch kleinen, schief abgeschnittenen Prismen und schmilzt bei 230—231° (corr. 235—236°) unter schwacher Gelbfärbung. In Alkohol ist sie noch schwerer löslich als in Wasser.

Carbäthoxyltriglycylglycinamid,  
 $C_2H_5O_2C.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH_2.$

Wird 1 g des vorhergehenden Esters fein gepulvert, mit etwa der zehnfachen Menge flüssigem Ammoniak bei gewöhnlicher Temperatur behandelt, so geht er langsam in Lösung, und nach 24 Stunden ist eine reichliche Menge des neuen Amids als farblose, krystallinische Masse abgeschieden. Man lässt dann das Ammoniak verdunsten und löst den Rückstand in ungefähr 11 ccm heissem Wasser. Beim Erkalten fällt das Amid rasch wieder krystallinisch aus. Die Ausbeute an diesem gereinigten Product betrug 0.75 g oder 82 pCt. der Theorie. Zur Analyse wurde nochmals aus der gleichen Menge Wasser krystallisirt und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1900 g Sbst.: 0.2908 g  $CO_2$ , 0.1026 g  $H_2O$ . — 0.1442 g Sbst.: 27.6 ccm N (19°, 770 mm).

$C_{11}H_{19}O_6N_5$ . Ber. C 41.61, H 6.05, N 22.07.  
 Gef. » 41.74, » 6.05, » 22.30.

Das Amid schmilzt beim raschen Erhitzen gegen 268° (corr. 275°) unter Zersetzung.

Mit Alkali und Kupfersalz giebt es die rothviolette Biuret-Färbung.

Triglycylglycincarbonsäure,  
 $HO_2C.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO_2H.$

2 g Carbäthoxyltriglycylglycinester wurden mit 13 ccm Normalnatronlauge (etwas mehr als der für 2 Moleküle berechneten Menge) auf 80° erhitzt, wobei bald klare Lösung eintrat. Nach 3 Stunden wurde die Flüssigkeit abgekühlt und mit 13 ccm Normalsalzsäure versetzt, worauf ziemlich bald die Krystallisation der neuen Säure begann. Ihre Menge betrug nach zweistündigem Stehen 0.85 g, und die Mutterlauge gab noch 0.1 g, sodass die Gesamtausbeute 57 pCt. der Theorie erreichte. Das Rohproduct wurde zweimal aus etwas mehr als der zehnfachen Menge Wasser umkrystallisirt und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1904 g Sbst.: 0.2597 g  $CO_2$ , 0.0838 g  $H_2O$ . — 0.1506 g Sbst.: 25.2 ccm N (18°, 773 mm).

$C_9H_{14}O_7N_4$ . Ber. C 37.21, H 4.89, N 19.30.  
 Gef. » 37.20, » 4.93, » 19.68.

Die Säure schmilzt im Capillarrohr, rasch erhitzt, gegen 230° (corr. 235°) unter Zersetzung. In Alkohol ist sie äusserst schwer löslich. Die wässrige Lösung reagirt stark sauer und giebt mit Alkali und Kupfersalz eine blauviolette Färbung.

$\beta$ -Naphthalinsulfoglycylglycin,  
 $C_{10}H_7SO_2.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO_2.H$ .

Zur Bereitung des Chlorids wird das  $\beta$ -Naphthalinsulfoglycin<sup>1)</sup> mit der dreifachen Menge Thionylchlorid bis zur Lösung erwärmt und das überschüssige Thionylchlorid unter stark vermindertem Druck bei 40° verdampft. Den festen Rückstand löst man in ungefähr der zwölfwachen Menge Chloroform und giesst dann in eine Chloroformlösung von etwas mehr als 2 Molekülen Glycinester. Nach kurzer Zeit erfolgt die Abscheidung von salzsaurem Glycinester. Man verdampft das Chloroform, ohne zu filtriren, und wäscht den Rückstand zur Entfernung des Glycinesters und seines Hydrochlorats mit wenig Wasser. Dabei bleibt eine amorphe, zähe Masse zurück. Man kann daraus durch Umlösen in viel heissem Wasser ein Product isoliren, welches in ausserordentlich kleinen Prismen krystallisirt, bei 118—119° (corr. 119—120°) schmilzt und den Stickstoffgehalt des  $\beta$ -Naphthalinsulfoglycylglycinesters zeigte.

0.1603 g Sbst.: 10.9 ccm N (21°, 774 mm).

$C_{16}H_{18}O_5N_2S$ . Ber. N 8.00. Gef. N 7.89.

Die Substanz wurde aber wegen der geringen Menge und des untergeordneten Interesses nicht näher untersucht.

In viel besserer Ausbeute lässt sich das  $\beta$ -Naphthalinsulfoglycylglycin selbst gewinnen. Zu dem Zweck wird die amorphe Masse, die beim Verdampfen der Chloroformlösung bleibt, mit sehr verdünnter Natronlauge verseift. Bei Anwendung von 2 g Naphthalinsulfoglycin wurde eine Mischung von 20 ccm Normalnatronlauge und 30 ccm Wasser angewandt. Dabei ging das harzige Product grösstentheils in Lösung. Nach 20-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde die alkalische Lösung von einem geringen Rückstand abfiltrirt und mit verdünnter Salzsäure übersättigt. Dabei fiel ein gallertartiger Niederschlag, der sich bald zu Flocken zusammenballte. Beim Umlösen aus 100 ccm heissem Wasser resultirte zunächst ein Product von ähnlichen Eigenschaften. Als dasselbe aber in 15 ccm heissem Alkohol gelöst war, schieden sich beim Erkalten kleine, aber ganz hübsch ausgebildete Kryställchen ab, die getrocknet den Schmp. 177—179° (corr. 180—182°) und auch den Stickstoffgehalt des bereits bekannten  $\beta$ -Naphthalinsulfoglycylglycins zeigten. Für die Analyse war bei 100° getrocknet.

0.1959 g Sbst.: 14.8 ccm N (19°, 759 mm).

$C_{14}H_{14}O_5N_2S$ . Ber. N 8.69. Gef. N 8.67.

<sup>1)</sup> E. Fischer und P. Bergell, diese Berichte 35, 3780 [1902].

$\beta$ -Naphtalinsulfoglycylalanin,  
 $C_{10}H_7.SO_2.NH.CH_2.CO.NH.CH(CH_3).COOH.$

Die Darstellung war genau dieselbe wie bei der vorigen Verbindung. Angewandt wurden 5 g  $\beta$ -Naphtalinsulfoglycin, 15 ccm Thionylchlorid und 5 g optisch inactiver Alaninester. Die Ausbeute an Rohproduct betrug 5 g und nach dem Umlösen aus 150 ccm heissem Wasser unter Zusatz von etwas Thierkohle 3.5 g. Für die Analyse war im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1866 g Sbst.: 0.3689 g  $CO_2$ , 0.0805 g  $H_2O$ . — 0.1827 g Sbst.: 0.3612 g  $CO_2$ , 0.0794 g  $H_2O$ . — 0.1822 g Sbst.: 0.3606 g  $CO_2$ , 0.0795 g  $H_2O$ . — 0.1818 g Sbst.: 13.3 ccm N (20°, 766 mm).

$C_{15}H_{16}O_5N_2S$ . Ber. C 53.54, H 4.78, N 8.33.  
 Gef. » 53.92, 53.92, 53.96, » 4.84, 4.87, 4.89, » 8.44.

Alle drei Analysen, zu denen Präparate verschiedener Herkunft dienten, haben 0.4 pCt. zu viel Kohlenstoff ergeben. Die Ursache dieser Abweichungen konnte nicht ermittelt werden. Die Verbindung löst sich leicht in kaltem, verdünntem Ammoniak und schmilzt bei 169—170° (corr. 172—173°). Sie krystallisirt aus heissem Wasser in mikroskopischen, winzigen Prismen. In Alkohol ist sie schon in der Kälte leicht löslich, dagegen wird sie schwer von Aether, Benzol, Chloroform aufgenommen.

Zum Schluss sage ich Hrn. Dr. Leuchs für die eifrige Hilfe, die er mir bei den vorstehenden Versuchen leistete, besten Dank.

### 369. Emil Fischer und Erich Otto: Synthese von Derivaten einiger Dipeptide.

[Aus dem I. chemischen Institut der Universität Berlin.]

(Eingegangen am 18. Juni 1903.)

Die in der vorhergehenden Abhandlung erwähnte Methode zum Aufbau von Polypeptiden lässt sich auch auf die Carbäthoxylderivate der einfachen Aminosäuren anwenden. So wird das Carbäthoxylglycin leicht von Thionylchlorid angegriffen und das hierbei entstehende Chlorid, das in Aether leicht löslich ist, aber nicht krystallisirt, reagirt energisch mit den Estern der Aminosäuren. Ausser den schon bekannten Verbindungen Carbäthoxylglycylglycinester und Carbäthoxyl-diglycylglycinester konnte auf diesem Wege auch ein gemischtes Dipeptid, das Carbäthoxylglycylalanin nebst Ester und Amid gewonnen werden. Da die Verwandlung der so resultirenden Verbindungen in die einfachen Polypeptide wegen der starken Bindung der Kohlensäure gleichfalls nicht möglich war, so haben wir noch folgenden,