

$\beta$ -Aminopropionsäureestern<sup>1)</sup> selbst, durch salpetrige Säure sofort angegriffen und durch Hydroxyl ersetzt wird, wodurch also in der Lösung zunächst  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -Oxypropionsäureester, Serinester, entsteht, der dann erst in die Diazoverbindung, den  $\beta$ -Oxy- $\alpha$ -Diazopropionsäureester übergeht.

A. Ellinger<sup>2)</sup>, sowie C. Neuberg und M. Silbermann<sup>3)</sup> haben beobachtet, dass salzsaure  $\alpha$ ,  $\beta$ -Diaminopropionsäure mit Silbernitrit Isoserin, die  $\beta$ -Amino- $\alpha$ -Oxypropionsäure, lieferte. Diese Beobachtung steht also in Widerspruch mit der unsrigen. Allerdings sind die Verhältnisse ganz andere, wenn zweifach salzsaurer Diaminopropionsäureester mit Natriumnitrit behandelt, als wenn das Monochlorhydrat der freien Säure durch Silbernitrit<sup>1)</sup><sup>2)</sup> umgesetzt wird.

#### 197. Th. Curtius und A. Benrath: Ueber Benzoyl-pentaglycylamidoessigsäure ( $\gamma$ -Säure).

[Mittheilung aus dem chemischen Institut der Universität Heidelberg.]

(Eingegangen am 15. März 1904.)

Vor 22 Jahren hat der Eine von uns<sup>4)</sup> zuerst gezeigt, dass bei der Einwirkung von Benzoylchlorid auf Glykocollsilber zwei Glycinreste mit einander verknüpft werden, und Benzoylglycylglycin, »Hippurylamidoessigsäure«, entsteht. Gleichzeitig bildete sich als Endproduct der Reaction die sobenannte  $\gamma$ -Säure, eine sehr schwer lösliche Substanz, der die Zusammensetzung  $C_{10}H_{12}N_3O_4$  zuertheilt wurde, die sich dadurch auszeichnete, dass sie sehr schön die Biuretreaction<sup>5)</sup> zeigte. Dieselbe Verbindung wurde etwas später durch Zusammenschmelzen von Hippursäureester mit Glykocoll<sup>6)</sup> in reichlicheren Mengen isolirt. Nebenbei wurde bei der letzteren Reaction auch eine Benzoylbisglycylamidoessigsäure erhalten<sup>6)</sup>.

Nachdem Curtius mit Wüstenfeld<sup>7)</sup> gefunden hatte, dass bei dem Aufbau der Glycylketten mittels der Säureazide die Substanzen von den Triglycylverbindungen an die Biuretreaction zeigen, haben wir die  $\gamma$ -Säure, welche diese Reaction ebenfalls aufweist, deren Con-

<sup>1)</sup> Siehe oben.      <sup>2)</sup> A. Ellinger, diese Berichte **37**, 335 [1904].

<sup>3)</sup> C. Neuberg und M. Silbermann, diese Berichte **37**, 341 [1904].

<sup>4)</sup> Curtius, Journ. für prakt. Chem. [2] **24**, 239.

<sup>5)</sup> Curtius, Journ. für prakt. Chem. [2] **26**, 202.

<sup>6)</sup> Curtius, diese Berichte **16**, 756 ff. [1883].

<sup>7)</sup> Curtius, diese Berichte **35**, 3226 [1902]. R. Wüstenfeld: Ueber die Bildung von Glycylketten mittels Säureaziden. Diss. Heidelberg 1903. Druck K. Rössler.

stitution aber unaufgeklärt geblieben war, von neuem untersucht. Schon aus der Zusammensetzung  $C_{10}H_{12}N_3O_4$ , welche Curtius seinerzeit für diese Säure festgestellt hatte, geht hervor, dass das Molekül verdoppelt werden muss. Eine sorgfältige Untersuchung des Silberosalzes und des daraus dargestellten Esters der Säure bestätigte diese Vermuthung. Ausserdem zeigte sich, dass — entgegen den Angaben von Curtius — auf zwei Moleküle der einfachen Zusammensetzung nur ein Benzoyl kommt. Der Zusammensetzung der Säure entspricht aber nach unseren weiteren Untersuchungen nicht das verdoppelte Molekül  $C_{20}H_{24}N_6O_8$ , sondern die Formel  $C_{19}H_{24}N_6O_8$ . Sie ist als Benzoylpentaglycyl-amidoessigsäure  $C_6H_5CO(NHCH_2CO)_5NHCH_2COOH$ , aufzufassen und mit der von Wüstenfeld<sup>1)</sup> zuerst beobachteten und von Levy<sup>2)</sup> im hiesigen Institut neuerdings genauer untersuchten Säure identisch, welche in der normalen Weise durch Aufbau der Glycylkette mittels der Säureazide erhalten worden ist.

Es ist allerdings ungemein schwierig, diese  $\gamma$ -Säure ganz frei von Beimengungen der niederen »Homologen«, namentlich der Benzoyltetraglycylamidoessigsäure zu erhalten.

Bei der Einwirkung von Hippursäureester auf Glykocoll entsteht ein Gemisch der verschiedenen Benzoylglycylamidoessigsäuren, von denen sich die schwerlöslichen glycylreichen Verbindungen am leichtesten durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser gewinnen lassen. Aus den Rückständen konnten durch fractionirte Krystallisation auch Hippurylamidoessigsäure,  $C_6H_5CO.NHCH_2CO.NHCH_2COOH$ <sup>3)</sup>, und Benzoyltriglycylamidoessigsäure,  $C_6H_5CO(NHCH_2CO)_3NHCH_2COOH$ , Letztere ebenfalls schon durch Untersuchungen von Wüstenfeld<sup>4)</sup> bekannt, isolirt werden. Dagegen gelang es nicht, jene Benzoylbisglycylamidoessigsäure,  $C_6H_5CO(NHCH_2CO)_2NHCH_2COOH + H_2O$ , welche Curtius früher beobachtet hatte<sup>5)</sup>, wieder aufzufinden.

Wir glauben, mit Sicherheit behaupten zu können, dass bei der Einwirkung von Hippursäureester auf Glykocoll längere, normal aufgebaute Glycinketten als diejenige, welche in der sechsgliedrigen  $\gamma$ -Säure vorliegt, nicht entstehen. Bei gewaltsamerem Erhitzen von Hippursäureester und Glykocoll tritt weitergehende Zersetzung ein.

Wir haben ferner noch Folgendes festgestellt: Erhitzt man Glykocoll allein anhaltend auf Schmelztemperatur, so entsteht, während die Schmelze stark verkohlt, keine Substanz, welche die Biuretreaction aufweist. Ebenso wenig erhält man durch Kochen von Glykocoll mit

<sup>1)</sup> Wüstenfeld, loc. cit. S. 40.

<sup>2)</sup> Privatmittheilung. <sup>3)</sup> Curtius, loc. cit. <sup>4)</sup> Wüstenfeld, loc. cit. S. 36.

<sup>5)</sup> Curtius, diese Berichte 16, 756 ff. [1883]. Vergl. auch Wüstenfeld, loc. cit. S. 31, und Curtius, diese Berichte 35, 3227 [1902].

Benzoëssäureester einen solchen Körper, obwohl die Einwirkung sehr heftig ist. Erhitzt man dagegen Acetursäureester mit Glykocoll<sup>1)</sup>, so entstehen Substanzen, welche die Biuretreaction zeigen. Es ist uns aber nicht gelungen, aus dem Gemisch eine acetylrte Säure mit einer bestimmten Anzahl von Glycylgruppen zu isoliren. Sehr leicht bildet sich, wie wir fanden, die  $\gamma$ -Säure, wenn man Hippurylamidoessigsäure mit Glykocoll zusammenschmilzt, und zwar reagirt auch die freie Hippurylamidoessigsäure mit Glykocoll unter Bildung von  $\gamma$ -Säure, während die Reaction mit Hippursäure nur bei Anwendung ihres Esters gelingt.

Sehr bemerkenswerth ist, dass das Molekül des freien Glykocolls sich bei hoher Temperatur fünffach in normaler Weise verkettet, während das Endproduct der freiwilligen Zersetzung des Glykocoll-esters bei gewöhnlicher Temperatur unter nur vierfacher normaler Verkettung der Amidoacetylbisglycylamidoessigsäureester,  $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CO}(\text{NHCH}_2\text{CO})_2\text{NHCH}_2\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ , ( $\gg$ Biuretbase $\ll$ ) ist<sup>2)</sup>.

Benzoyl-pentaglycyl-amidoessigsäure ( $\gamma$ -Säure),  
 $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}(\text{NHCH}_2\text{CO})_5\text{NHCH}_2\text{COOH}$ .

Darstellung. Man erhitzt 21 g Hippursäureäthylester mit 20 g Glykocoll auf  $190^\circ$  und rührt das Reaktionsgemisch so lange durch, bis es fest geworden ist. Hierbei destillirt in reichlicher Menge Alkohol, in geringer Menge Benzoëssäureester und Wasser über. Ferner entweicht Kohlensäure und ein ammoniakalisches Gas. Die erkaltete gepulverte Schmelze wird mit 1 L Wasser und Thierkohle bis zur Entfärbung gekocht. Aus dem heissen Filtrat scheidet sich beim Erkalten ein Krystallmehl ab, das abgesaugt, mit Wasser ausgewaschen und bei  $100^\circ$  getrocknet wird. Der Schmelzpunkt dieser zuerst ausgeschiedenen Substanz liegt zwischen  $280$  und  $285^\circ$ . Dieselbe wird aus heissem Wasser umkrystallisirt, wobei keine Aenderung des Schmelzpunktes eintritt.

0.1837 g Sbst.: 29.6 ccm N ( $18.5^\circ$ , 748 mm). — 0.122 g Sbst.: 19.1 ccm N ( $18^\circ$ , 750 mm). — 0.1322 g Sbst.: 20.2 ccm N ( $15^\circ$ , 760 mm).

$\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{N}_6$ . Ber. N 18.10. Gef. N 18.27, 17.84, 17.89.

Spaltung der  $\gamma$ -Säure mit Salzsäure.

Erhitzt man  $\gamma$ -Säure mit concentrirter Salzsäure im Rohr auf  $100^\circ$ , so zerfällt sie glatt in Benzoëssäure und salzsaures Glykocoll<sup>3)</sup>. Das Rohr zeigt beim Oeffnen keinen Druck. Benzoëssäure

<sup>1)</sup> Curtius, diese Berichte 16, 756 [1883]; id. 17, 1666 [1884].

<sup>2)</sup> Siehe die nachfolgende Abhandlung 198 von Curtius: Ueber die freiwillige Zersetzung des Glykocoll-esters.

<sup>3)</sup> Curtius, Journ. für prakt. Chem. [2] 26, 200. Die Angaben sind nach dem oben Gesagten zu berichtigen.

und salzsaures Glykocoll wurden durch Aether getrennt. Nach freiwilligem Verdunsten des Aethers wurde die Benzoësäure über Kali getrocknet und gewogen. Das wässrige Filtrat wurde im Vacuum verdampft, und der Rückstand zur Wägung gebracht. Das so erhaltene salzsaure Glykocoll enthielt sehr geringe Spuren von Chlorammonium, wie wir unter dem Polarisationsmikroskop nach Zusatz von Platinchlorid zu einer Probe nachweisen konnten.

I. 1.2096 g Sbst. (mit HCl gespalten): 0.30 g Benzoësäure und 1.63 g salzsaures Glykocoll. — II. 0.855 g Sbst. (mit HCl gespalten): 0.2268 g Benzoësäure und 1.16 g salzsaures Glykocoll.

$C_6H_5CO(NHCH_2CO)_6OH$ . Ber. I. 0.318 g Benzoësäure und 1.78 g HCl-Glycin. II. 0.188 g Benzoësäure und 1.23 g HCl-Glycin.

Gef. I. 0.30 g Benzoësäure und 1.63 g HCl-Glycin. II. 0.226 g Benzoësäure und 1.168 g HCl-Glycin.

#### Silbersalz der $\gamma$ -Säure, $C_6H_5CO(NHCH_2CO)_6O Ag$ .

Fein gepulverte, reinste  $\gamma$ -Säure wird mit wässrigem Ammoniak geschüttelt, bis Auflösung eingetreten ist, und die eventuell filtrirte Flüssigkeit so lange im Exsiccator stehen gelassen, bis der Geruch nach Ammoniak nahezu verschwunden ist. Auf Zusatz von Silbernitrat fällt das Salz als dicker, voluminöser Niederschlag aus. Dasselbe wird abgesaugt, mit Wasser, dann mit Alkohol und Aether ausgewaschen und im Vacuum bis zur Gewichtsconstanz getrocknet.

0.1856 g Sbst. (geglüht): 0.0358 g Ag. — 0.1880 g Sbst. (geglüht): 0.0357 g Ag.

$C_{19}H_{23}O_8N_6 Ag$ . Ber. Ag 18.93. Gef. Ag 19.29, 18.99.

Stellt man das Silbersalz von einer  $\gamma$ -Säure dar, welche nicht den höchsten erhaltenen Schmelzpunkt besitzt, so zeigen die aus den verschiedenen Producten gewonnenen Silbersalze einen bis zu 4 pCt. höheren Metallgehalt, indem Salze der niederen »Homologen« beigemischt sind.

#### Benzoyl-pentaglycyl-amidoessigsäure-äthylester, $C_6H_5CO(NHCH_2CO)_5OC_2H_5$ .

Die reinsten erhaltenen Silbersalze werden in Benzol suspendirt und mit überschüssigem Jodäthyl mehrere Stunden gekocht. Das erkaltete Filtrat hinterlässt beim Verdunsten keinen Rückstand; der abgesaugte Niederschlag wird mit Benzol und Alkohol ausgewaschen. Digerirt man nun mit viel heissem Wasser, filtrirt und lässt erkalten, so scheidet sich der Ester als weisser Niederschlag aus. Derselbe wird abgesaugt und im Vacuum getrocknet. Benzoylpentaglycyl-amidoessigsäureäthylester bildet ein lockeres Pulver, welches bei 263° unter Bräunung und Zersetzung schmilzt. Der Ester ist nur in

heissem Wasser leichter löslich, fast garnicht in Alkohol oder in  
 differenten Lösungsmitteln.

0.1654 g Sbst. (nach Dumas): 24.4 ccm N (20°, 758 mm). — 0.1639 g Sbst  
 0.3086 g CO<sub>2</sub>, 0.087 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>O<sub>8</sub>N<sub>6</sub>. Ber. C 51.22, H 5.69, N 17.07.  
 Gef. » 51.35, » 5.81, » 16.83.

Wie oben angegeben, liegt der höchst erhaltene Schmelzpunkt  
 der  $\gamma$ -Säure zwischen 280 und 285°, 12—15° höher als der von  
 Wüstenfeld<sup>1)</sup> für die von ihm synthetisch erhaltene Benzoylpenta-  
 glycyamidoessigsäure angegebene. Hr. L. Levy<sup>2)</sup> hat im hiesigen  
 Institut den Aethylester dieser Säure durch directe Vereinigung von  
 Benzoyltriglycyamidoessigsäureazid<sup>3)</sup> und dem von E. Fischer aus  
 Glycinanhydrid gewonnenen Glycylglycinäthylester<sup>4)</sup> erhalten und den  
 Schmelzpunkt des Esters ebenfalls bei 263° ermittelt. Denselben  
 Ester erhielt Hr. Levy auch durch Vereinigung von Hippurylamido-  
 essigsäureazid<sup>5)</sup> mit der Biuretbase von Curtius<sup>6)</sup>.

Wir haben den Ester der  $\gamma$  Säure weiter durch Ueberführung in  
 das Hydrazid C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO(NHCH<sub>2</sub>CO)<sub>5</sub>NHCH<sub>2</sub>CO.NH.NH<sub>2</sub> und dessen  
 Benzalverbindung C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO(NHCH<sub>2</sub>CO)<sub>5</sub>NHCH<sub>2</sub>CO.NH.N:CH.C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>  
 charakterisirt. Diese Producte wurden noch nicht näher untersucht.  
 Die Stickstoffbestimmungen ergaben indessen unzweifelhaft, dass ein  
 Molekül Hydrazin mit dem  $\gamma$ -Säureester in Reaction tritt, und dass das  
 so erhaltene Hydrazid sich mit einem Molekül Benzaldehyd condensirt.

#### Untersuchung der Mutterlauge von der Gewinnung der $\gamma$ - Säure aus Hippursäureester und Glykocoll.

Aus den Mutterlauge von den am schwersten löslichen Antheilen,  
 welch' Letztere hauptsächlich aus  $\gamma$ -Säure bestehen, tritt erst nach stärkerem  
 Eindampfen beim Erkalten eine Fällung ein. Durch Umkrystallisiren  
 des Niederschlages aus Wasser konnten wir die Benzoyl-triglycy-  
 amidoessigsäure, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO(NHCH<sub>2</sub>CO)<sub>3</sub>NHCH<sub>2</sub>COOH, isoliren,  
 welche Wüstenfeld schon synthetisch erhalten hat. Die Säure zeigte  
 die angegebenen Eigenschaften. Ihr Schmelzpunkt lag zwei Grad  
 niedriger (bei 233°)<sup>6)</sup>.

<sup>1)</sup> Wüstenfeld, loc. cit. S. 41.

<sup>2)</sup> Privatmittheilungen. Vergl. die nachstehende Abhandlung 198 von  
 Curtius: Ueber die freiwillige Zersetzung des Glykocollesters.

<sup>3)</sup> Wüstenfeld, loc. cit. S. 39.

<sup>4)</sup> Diese Berichte 34, 2869 [1901].

<sup>5)</sup> Wüstenfeld, loc. cit. S. 29.

<sup>6)</sup> Wüstenfeld, loc. cit. S. 36.

Die Benzoyl-triglycyl-amidoessigsäure wurde nach den Angaben von Wüstenfeld in das Silbersalz übergeführt, welches aus Wasser umkrystallisirt wurde.

0.121 g Subst. (geglüht): 0.0290 g Ag.

$C_{15}H_{17}O_6N_4$  Ag. Ber. Ag 23.63. Gef. Ag 23.96.

Der Rest des Silbersalzes wurde mit Jodäthyl in Benzoyl-triglycyl-amidoessigsäure-äthylester,  $C_6H_5CO(NHCH_2CO)_3 \cdot NHCH_2COOC_2H_5$ , umgewandelt. Durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser wurden dieselben farblosen Blättchen vom Schmp.  $213^\circ$  erhalten, welche Wüstenfeld<sup>1)</sup> beschreibt. Derselbe Ester vom scharfen Schmp.  $213^\circ$  entsteht, wie der Eine von uns neuerdings gezeigt hat<sup>2)</sup>, durch directe Vereinigung der Biuretbasis von Curtius mit Benzoylchlorid.

Die Mutterlauge der zuletzt beschriebenen Säure wurde nunmehr ganz zur Trockne verdampft. Aus dem krystallinischen, gelben Rückstand konnten mit heissem Alkohol unveränderter Hippursäureester und freie Hippurylamidoessigsäure,  $C_6H_5CO \cdot NHCH_2CO \cdot NHCH_2COOH$ , ausgezogen werden. Der Rückstand gab beim Umkrystallisiren aus Wasser noch kleine Mengen der beschriebenen Benzoyltriglycylamidoessigsäure. Die Hippurylamidoessigsäure krystallisirte beim Erkalten der alkoholischen Lösung des Rückstandes aus, während der Hippursäureester gelöst blieb. Sie zeigte nach dem Umkrystallisiren aus heissem Alkohol die bekannten Eigenschaften<sup>3)</sup>. Das alkoholische Filtrat liess auf Zusatz von Wasser Hippursäure-äthylester ausfallen.

### 198. Th. Curtius: Ueber die freiwillige Zersetzung des Glykocollsters.

[Mittheilung aus dem chem. Institut der Universität Heidelberg.]

(Eingegangen am 15. März 1904.)

Im Jahre 1883 habe ich einen freien Ester des Glykocolls zum ersten Male dargestellt, nachdem ich gezeigt hatte, dass man ausserordentlich leicht Aminosäuren mit alkoholischer Salzsäure in berechneter Menge in die Chlorhydrate ihrer Ester überführen kann<sup>4)</sup>. Durch

<sup>1)</sup> Wüstenfeld, loc. cit. S. 38.

<sup>2)</sup> Vergl. die nachstehende Abhandlung 198 von Curtius: Ueber die freiwillige Zersetzung des Glykocollsters.

<sup>3)</sup> Curtius, Journ. f. prakt. Chem. [2] 26, 183 ff.

<sup>4)</sup> Curtius, diese Berichte 16, 753 [1883].