

in 15 ccm Methylalkohol versetzt. Die Mischung färbt sich sofort dunkelbraun und wird etwa 1 Stunde lang am Rückflusskühler auf dem Wasserbade erhitzt. Nach der Abkühlung setzt man allmählich wasserfreien Aether hinzu, so lange sich ein gelblich-grüner Niederschlag der Natriumverbindung bildet. Die abgesogene Masse löst sich in wenig heissem Wasser zu einer rothbraunen Flüssigkeit, woraus durch verdünnte Essigsäure ein gelblicher Krystallbrei abgeschieden wird. Er ist löslich in Ammoniak und Alkalien, leichter noch in Eisessig und giebt, aus 50 procentiger Essigsäure unter Zusatz von Thierkohle umkrystallisirt, haarfeine, theilweise verfilzte Nadeln vom Schmp. 231—232°. Ausbeute 0.5 g.

0.0963 g Sbst.: 0.2331 g CO₂, 0.0431 g H₂O.

C₁₂H₁₁NO₃. Ber. C 66.36, H 5.12.

Gef. » 66.03, » 5.07.

Mischt man eine kleine Menge der Substanz im Reagensglas mit Zinkstaub, so tritt beim Erhitzen deutlich der Geruch nach Isochinolin auf.

Um die Ketogruppe in der neuen Verbindung nachzuweisen, erwärmte ich 0.2 g dieses Isocarbostyriderivates mit etwa 5 ccm Phenylhydrazin auf 110°, d. h. in siedendem Toluol. Nach einiger Zeit trat Lösung ein, und bald darauf begann ein gelbliches Product sich auszuscheiden. Nach etwa 1/2 Stunde liess ich erkalten und saugte das bräunlich-gelbe Rohmaterial ab. Durch Umkrystallisiren aus gewöhnlichem Alkohol ging es in ein citronengelbes, amorphes Pulver über, das im getrockneten Zustande bei 212—213° unter Zersetzen und Aufschäumen zu einer dunkelrothen Flüssigkeit zusammenschmolz.

0.1265 g Sbst.: 15.1 ccm N (16°, 755 mm).

C₁₈H₁₇N₃O₂. Ber. N 13.68. Gef. N 13.82.

Das Product ist demnach ein Phenylhydrazon, (C₁₂H₁₁NO₂):N₂H.C₆H₅.

372. Emil Fischer: Synthese von Polypeptiden. II.

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

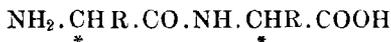
(Eingegangen am 13. Juni 1904.)

Die in der ersten Mittheilung¹⁾ beschriebene Methode zum Aufbau von Polypeptiden, welche darin besteht, Aminosäuren mit halogenhaltigen Säureradicalen zu combiniren und dann das Halogen durch die Aminogruppe zu ersetzen, hat sich bei weiterer Prüfung als eine sehr fruchtbare Reaction erwiesen; denn mit ihrer Hülfe ist es gelungen, die verschiedenartigsten Di-, Tri- und Tetra-Peptide darzustellen, und

¹⁾ Diese Berichte 36, 2982 [1903].

in einem Falle (beim Glycin) wurde die Synthese bis zum Pentapeptid fortgeführt. Ohne Zweifel ist damit das Ende des Aufbaues noch keineswegs erreicht; denn der Verlauf der Reaction gestaltet sich bei diesen höheren Gliedern in Bezug auf technische Ausführung und Ausbeute fast noch günstiger als in den einfacheren Fällen.

Die Structur der Polypeptide lässt sich in der Regel direct aus der Synthese ableiten; das gilt insbesondere für die Derivate der Monoaminosäuren, auf welche sich die Untersuchung bisher hauptsächlich erstreckte. Etwas complicirter ist die Stereochemie der Klasse. Mit Ausnahme des Glykocolls enthalten alle Aminosäuren, die in den Proteinstoffen bisher beobachtet wurden und um die es sich vorwiegend bei diesen Synthesen handelt, ein asymmetrisches Kohlenstoffatom. Ihre Zahl in den Polypeptiden entspricht also der Anzahl der anhydridartig verknüpften Aminosäuren (mit Ausnahme des Glykocolls), und die Berechnung der selbständigen optischen Isomeren ist durch die bekannte van't Hoff'sche Formel 2ⁿ gegeben. Zum Beispiel ein Dipeptid von der allgemeinen Formel



muss wegen der beiden durch Sternchen markirten asymmetrischen Kohlenstoffatome in vier activen Formen *dd*, *ll*, *dl* und *ld* existiren, von denen je zwei eine racemische Verbindung bilden können.

Arbeitet man mit racemischem Rohmaterial, so darf man also zwei isomere inactive Verbindungen erwarten; und diese müssen nach der Theorie schon auftreten bei den halogenhaltigen Zwischenproducten:



In einzelnen Fällen (z. B. beim Leucyl-Phenylalanin nach Versuchen von Dr. Leuchs und Prof. Suzuki) ist es in der That gelungen, diese beiden Isomeren zu gewinnen. In der Regel aber wurde nur ein Product beobachtet. Man muss deshalb annehmen, dass unter den Bedingungen der Synthese eine Form die begünstigte ist und darum, wenn auch nicht ausschliesslich, so doch in überwiegender Menge entsteht. Das lässt sich durch folgende Betrachtung erklären. Wenn inactives Chlorid und inactive Aminosäure in Lösung zusammentreffen, so spielt sich der Vorgang der Vereinigung zwischen den vier activen Molekülen *d* und *l* einerseits und *d*^l, *l*^l andererseits ab. Nach den jetzigen Erfahrungen über den Einfluss der Asymmetrie auf den Verlauf chemischer Verwandlungen, der am deutlichsten bei der Wirkung der Enzyme zu Tage tritt, ist es nun selbstverständlich, dass von den beiden Paaren *dd*^l, *ll*^l und *dl*^l, *d*^l*l* eines leichter und deshalb in grösserer Menge als das andere entstehen kann.

Anders liegen die Verhältnisse, wenn für den Aufbau der Polypeptide active Componenten, d. h. eine active Aminosäure oder ein actives halogenhaltiges Säureradical benutzt werden. Dann entstehen selbstverständlich optisch active Polypeptide, und wenn eine der Componenten racemisch ist, so hat man auch noch die Bildung von zwei Isomeren zu erwarten. Als Beispiel mag die Combination von natürlichem, activem Tyrosin mit inactiver α -Bromisocaprinsäure dienen.

Die hierbei resultirende Verbindung



muss nach der Theorie in den beiden sterischen Combinationen *dl* und *ll* existiren. In Wirklichkeit macht nun allerdings das später beschriebene Präparat, obschon es in reichlicher Ausbeute entsteht, mehr den Eindruck einer einheitlichen Substanz.

Es ist jedoch möglich, dass die beiden Isomeren sich sehr ähnlich sind und deshalb Mischkrystalle bilden, die man als halbracemische Combinationen betrachten könnte.

In anderen Fällen wird man aber aller Wahrscheinlichkeit nach solchen isomeren Formen begegnen, die durch Krystallisation getrennt werden können.

Im Nachfolgenden sind einige Polypeptide des Glykocolls, des inactiven Alanins, Leucins und des activen *l*-Tyrosins beschrieben, die durch Combination mit Chloressigsäure und inactiver α -Bromisocaprinsäure gewonnen wurden.

Ausserdem sind im hiesigen Institut durch die HH. Leuchs, Suzuki, Koenigs, Warburg, Johnson, Axhausen, Brunner zahlreiche Combinationen des Glykocolls, Alanins, Leucins, Phenylalanins, Cystins, Asparagins, der Asparaginsäure und Glutaminsäure mit Chloressig-, Brompropion- und Bromisocapron-Säure studirt worden, über die später berichtet werden soll. Weitere Versuche betreffen die Anwendung der activen Halogensäuren, sowie der Diamino- und Oxyamino-Säuren.

Manche der künstlichen Polypeptide werden ähnlich den natürlichen Proteinen von Trypsin in die Aminosäuren gespalten. So zerfällt das Glycyl-*l*-Tyrosin ziemlich rasch unter dem Einfluss des Enzyms in die Componenten.

In anderen Fällen, z. B. bei dem racemischen Leucylleucin oder Leucylalanin verläuft die Spaltung asymmetrisch, ähnlich wie es früher bei den Derivaten des Glycyl-*dl*-Leucins beobachtet wurde¹⁾.

Ueber diese Versuche werde ich später in Gemeinschaft mit Hrn. P. Bergell berichten.

¹⁾ E. Fischer und P. Bergell, diese Berichte 36, 2603 [1903].

Nach allen bisher vorliegenden Beobachtungen besteht zwischen den künstlichen Polypeptiden und den natürlichen Peptonen eine unverkennbare Aehnlichkeit. Besonders gilt das für die synthetischen Producte, die verschiedene Aminosäuren enthalten, und die ich in Zukunft als »gemischte Polypeptide« bezeichnen werde. Die gewöhnlichen Reactionen der Peptone: Biuret-färbung, Fällbarkeit durch Phosphorwolframsäure, Hydrolyse durch Trypsin sind bei den complicirteren Producten vorhanden und treten noch schärfer zu Tage bei deren Amidn. Allerdings bestehen auch einige Unterschiede in den physikalischen Eigenschaften; so sind manche künstliche Polypeptide in Wasser relativ schwer löslich, aber diese Differenz verliert an Bedeutung durch die Beobachtung, dass die Löslichkeit in kaltem Wasser bei den gemischten Formen und ganz besonders bei den optisch activen Combinationen viel grösser wird. Man darf ferner erwarten, dass mit der Einführung der Diamino- und Oxyamino-Säuren in das Molekül die Löslichkeit in Wasser noch wachsen und die Neigung zur Krystallisation sich vermindern wird. Alles in allem neige ich zu der Ansicht, dass mit der Gewinnung der künstlichen Polypeptide der wichtigste Schritt zum Aufbau der Peptone gethan ist.

Dipeptide.

Die bisher bekannten Dipeptide Glycylglycin, Alanylalanin und Leucylleucin wurden durch Aufspaltung der Diacipiperazine gewonnen und enthalten zwei gleiche Aminosäuren. Für die Bereitung gemischter Formen ist das Verfahren aber wenig geeignet, da die Herstellung der gemischten Diacipiperazine aus den Aminosäuren bezw. Estern Schwierigkeiten bietet und auch die Aufspaltung sich öfters schwer reguliren lässt.

Das einzige, bisher bekannte, gemischte Diacipiperazin, das Glycin-

Alanin-Anhydrid¹⁾, $\begin{array}{c} \text{CO} \\ \text{NH} \diagdown \quad \diagup \text{CH} \cdot \text{CH}_3 \\ \text{H}_2\text{C} \quad \quad \quad \text{NH} \\ \text{CO} \end{array}$, ist in der That auf dem Umweg

über den Chloracetylalaninester gewonnen worden.

Ungleich bequemer für die Bereitung der gemischten Dipeptide ist deshalb das neue Verfahren.

Glycylalanin (inactiv), $\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}(\text{CH}_3) \cdot \text{CO}_2\text{H}$.

Um das als Zwischenproduct nöthige Chloracetyl-alanin zu bereiten, kann man Chloracetylchlorid zusammenbringen entweder mit Alaninester oder mit einer alkalisch wässrigen Lösung von Alanin.

¹⁾ E. Fischer und E. Otto, diese Berichte **36**, 2113 [1903].

Das zweite Verfahren ist das bequemere und soll zuerst beschrieben werden.

In eine durch Eis gekühlte Lösung von 30 g inactivem Alanin in 340 ccm Normal-Natronlauge werden im Laufe von $\frac{1}{4}$ Stunde unter starkem Schütteln abwechselnd 170 ccm einer ätherischen Lösung, die 42 g Chloracetylchlorid (statt der ber. 38.1 g) enthält, und ausserdem 510 ccm Normal-Natronlauge zugegeben. Die Temperatur des Gemisches soll nicht über 20° steigen. Sobald der Geruch nach Chloracetylchlorid verschwunden ist, wird die Flüssigkeit mit Salzsäure ganz schwach übersättigt, wozu 102 ccm $\frac{5}{1}$ -n. Salzsäure ausreichen. Zur Isolierung des Chloracetylalanins muss jetzt die Flüssigkeit zur Trockne verdampft werden, und das ist, wenn man Zersetzung vermeiden will, unter stark vermindertem Druck auszuführen. Der Rückstand wird mit 200 ccm Aceton ausgekocht, das Filtrat möglichst stark verdunstet und die dabei eintretende Krystallisation zum Schluss durch Zusatz von 50 ccm Chloroform vervollständigt. Die Ausbeute an diesem krystallisirten Product betrug 49 g oder 88 pCt. der Theorie. Zur Reinigung wurde es in 80 ccm warmem Aceton gelöst und durch Zusatz von 160 ccm Chloroform und Abkühlung wieder ausgeschieden, wobei die Menge auf 42 g zurückging.

Die Substanz ist leicht löslich in Wasser, Aceton, Alkohol und Essigester, schwer in Chloroform. Sie reagirt und schmeckt stark sauer. Sie krystallisirt aus Aceton und Chloroform meist in mikroskopisch kleinen, vierseitigen, schiefen Tafeln. Der Schmelzpunkt ist nicht ganz constant, er liegt bei $124-126^{\circ}$ (corr. $125-127^{\circ}$). Für die Analyse wurde im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1870 g Sbst.: 0.2478 g CO_2 , 0.0836 g H_2O . — 0.1912 g Sbst.: 0.2556 g CO_2 , 0.0854 g H_2O . — 0.2256 g Sbst.: 13.9 ccm $\frac{1}{10}$ -n. NH_3 .

$\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_3\text{NCl}$. Ber. C 36.26, H 4.83, N 8.46.
Gef. » 36.14, 36.46, » 4.99, 5.01, » 8.63.

Dieselbe Säure entsteht durch Verseifung ihres Esters, dessen Darstellung und Eigenschaften bereits beschrieben sind¹⁾. Man übergiesst zu dem Zweck 1 g des Esters mit 5.7 ccm Normal-Natronlauge, schüttelt bei gewöhnlicher Temperatur kurze Zeit, bis Lösung eingetreten, fügt dann 5.7 ccm Normal-Salzsäure zu und isolirt das Chloracetylalanin in der zuvor geschilderten Weise. Die Verseifung erfolgt so glatt, dass die Ausbeute 93 pCt. der Theorie beträgt.

Für die Darstellung²⁾ des Glycyl-alanins erhitzt man entweder 5 g Chloracetylalanin mit 25 ccm wässrigem Ammoniak $\frac{3}{4}$ Stunde auf 100° , oder man lässt 2 Tage lang bei gewöhnlicher Temperatur stehen.

¹⁾ E. Fischer und E. Otto, diese Berichte 36, 2112 [1903].

Zur Isolirung werden dann Ammoniak und Wasser, zuletzt unter Zusatz von Alkohol, verdampft, der feste Rückstand durch Extraction mit Alkohol von der Hauptmenge des Chlorammoniums befreit und zur weiteren Reinigung zwei Mal in je 5 ccm Wasser heiss gelöst und durch Zugabe von je 25 ccm heissem, absolutem Alkohol wieder abgetrennt. Die Substanz fällt zuerst ölig aus, erstarrt aber bald zu eisblumenartigen Krystallen. Die Ausbeute betrug in beiden Fällen nur 1.7 g oder 39 pCt. der Theorie. Für die Analyse wurde bei 100° getrocknet, wobei die Substanz nichts an Gewicht verlor.

0.1773 g Sbst.: 0.2684 g CO₂, 0.1096 g H₂O. — 0.1966 g Sbst.: 31.3 ccm N (15°, 772 mm).

C₅H₁₀O₃N₂. Ber. C 41.09, H 6.85, N 19.18.
Gef. » 41.31, » 6.87, » 18.95.

Das Glycylalanin schmilzt bei raschem Erhitzen im Capillarrohr gegen 223° (corr. 227°) unter lebhafter Gasentwicklung und färbt sich dann roth. In Wasser ist es sehr leicht, in Alkohol aber äusserst schwer löslich. Seine wässrige Lösung schmeckt und reagirt gegen Lakmus sehr schwach sauer. Sie löst Kupferoxyd beim Kochen sofort mit tiefblauer Farbe.

Zur weiteren Charakteristik des Dipeptids diene die Carbäthoxylverbindung. Für ihre Bereitung wurde 1 g Glycylalanin in 7 ccm Normal-Natronlauge gelöst, auf 0° abgekühlt und mit 1 g Chlorkohlensäureester anhaltend geschüttelt unter weiterem Zusatz von 0.4 g trockenem Natriumcarbonat, bis der Geruch des Chloresters verschwunden war. Auf Zusatz von 8 ccm Normal-Salzsäure schied sich dann das Carbäthoxylglycylalanin krystallinisch ab.

Die Ausbeute betrug 90 pCt. der Theorie. Nach dem Umlösen aus heissem Wasser zeigte die in langen Nadeln krystallisirte Substanz denselben Schmp. 187.5—188.5° (corr.) wie das früher auf anderem Wege¹⁾ dargestellte Präparat.

0.1960 g Sbst.: 17.8 ccm $\frac{1}{10}$ -n. NH₃.

C₈H₁₄N₂O₅. Ber. N 12.85. Gef. N 12.72.

Leucyl-leucin (inactiv).

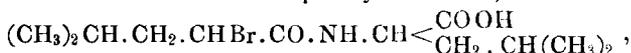
Dieses Dipeptid entsteht, wie bekannt²⁾, durch Aufspaltung des Leucinimids. Aber die Darstellung wird durch die verhältnissmässig

¹⁾ Diese Berichte 36, 2111 [1903].

²⁾ F. Fischer, diese Berichte 35, 1104 [1902].

geringe Ausbeute erschwert. Viel bequemer ist deshalb seine Synthese aus inactivem Leucin und α -Bromisocapronsäure. Um das

α -Brom-isocapronyl-Leucin,



zu bereiten, löst man 10 g synthetisches Leucin (aus Isovaleraldehyd) in 77 ccm Normal-Natronlauge, kühlt auf 0° ab und giebt dann unter tüchtigem Umschütteln abwechselnd 116 ccm Normal-Natronlauge (1.5 Mol.) und 18 g α -Bromisocapronylchlorid¹⁾ (1.1 Mol.) portionenweise hinzu.

Das Schütteln wird fortgesetzt, bis der Geruch des Chlorids verschwunden ist, und dann die Flüssigkeit durch 23 ccm 5 fach Normal-Salzsäure angesäuert.

Das hierdurch in Freiheit gesetzte Bromcapronylleucin wird durch Aether leicht aufgenommen.

Beim Verdampfen des Aethers erfolgt ziemlich bald Krystallisation, die durch Zusatz von Petroläther vervollständigt wird. Die Ausbeute an krystallisiertem Product betrug 19.3 g oder 82 pCt. der Theorie.

¹⁾ Zur Gewinnung des Chlorids wurde nach der früheren Vorschrift (diese Berichte 36, 2989 [1903]) die Bromisocapronsäure mit Phosphortrichlorid erwärmt. Nach neueren Beobachtungen geht die Reaction besser bei Anwendung von Phosphorpentachlorid. Man giesst 10 Theile α -Bromisocapronsäure auf 13 Theile Phosphorpentachlorid (statt der ber. 10.7 Theile). Unter Erwärmung und starker Entwicklung von Salzsäure verschwindet das feste Pentachlorid grösstentheils. Nachdem noch $\frac{1}{4}$ Stunde auf dem Wasserbade erhitzt ist, wird mit trockenem Aether aufgenommen, wenn nöthig, von unverändertem Pentachlorid abfiltrirt, auf dem Wasserbade verdampft und der Rückstand im Vacuum destillirt. Bei 12 mm Druck geht das Phosphoroxychlorid schon unter 25° fort und das Bromisocapronylchlorid destillirt bei $68-71^\circ$. während nur eine ganz geringe Menge brauner Substanz als Rückstand bleibt. Die Ausbeute ist beinahe quantitativ.

Die von Kahlbaum bezogene Isocapronsäure musste nach der Synthese die dem Leucin entsprechende Structur haben. Um diesen Schluss zu prüfen, wurde die daraus bereitete Bromverbindung in die Aminosäure verwandelt.

Zu dem Zweck wurden 10 g der bromirten Säure in 50 ccm wässrigem Ammoniak, das bei gewöhnlicher Temperatur gesättigt war, 4 Stunden im Rohr auf 100° erhitzt. Schon beim Abkühlen schied sich ein Theil der Aminosäure in Blättchen aus. Der Rest wurde durch Abdampfen und Fällen mit Alkohol gewonnen. Die Ausbeute betrug 70 pCt. der Theorie. Das Präparat zeigte alle Eigenschaften des racemischen Leucins. Das Gleiche gilt für die Phenylisocyanatverbindung, die gegen 165° (corr.) unter Gasentwicklung schmolz. Sie enthielt 11.28 pCt. Stickstoff, während 11.2 pCt. N für $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3$ berechnet sind.

Zur Reinigung wurden 10 Gewichtstheile des Präparates in 100 Volumtheilen heissem Aceton gelöst und nach dem Abkühlen durch 200 Volumtheile Petroläther wieder abgeschieden. Nach zweimaligem Umlösen schmolz die Substanz von 185–186° (corr. 188–189°) zu einer farblosen Flüssigkeit, die sich nach kurzer Zeit unter Färbung und Gasentwicklung zersetzte. Schon vor der Schmelzung war aber Sinterung zu beobachten. Für die Analyse wurden die Krystalle über Schwefelsäure getrocknet.

0.1478 g Sbst.: 0.2550 g CO₂, 0.0965 g H₂O. — 0.1901 g Sbst.: 7.8 ccm N (18°, 762 mm).

C₁₂H₂₂O₃NBr. Ber. C 46.75, H 7.14, N 4.55.

Gef. » 47.05, » 7.25, » 4.75.

Die Substanz löst sich leicht in Alkohol und dann gradweise schwerer in Aceton, Aether, Chloroform, Benzol, Wasser und Ligroin. Sie krystallisirt meist in mikroskopisch kleinen, schiefen, vierseitigen Tafeln. In Alkalien und Ammoniak ist sie leicht löslich.

Zur Umwandlung in Leucyl-leucin wurden 7 g des Bromisocapronylleucins in 35 ccm wässrigem Ammoniak, das bei gewöhnlicher Temperatur gesättigt war, gelöst und $\frac{3}{4}$ Stunden im Rohr auf 100° erhitzt. Beim Stehen der erkalteten Lösung begann die Abscheidung von langen farblosen Krystallen, die wohl das Ammoniumsalz des Leucylleucins sind. Durch Verdampfen des Ammoniaks auf dem Wasserbade und Abkühlung der Flüssigkeit wurde das freie Dipeptid erhalten. Die Ausbeute betrug 3.7 g oder 60 pCt. der Theorie.

Das Präparat zeigte ganz die Eigenschaften des Leucylleucins, welches früher aus Leucinimid gewonnen wurde; insbesondere enthielt es auch im lufttrockenen Zustande $1\frac{1}{2}$ Mol. Krystallwasser.

0.5501 g Sbst. verloren bei 100° 0.0558 g H₂O.

C₁₂H₂₄O₃N₂ + $1\frac{1}{2}$ Mol. H₂O. Ber. H₂O 9.96. Gef. H₂O 10.14.

0.1811 g Sbst.: 0.3925 g CO₂, 0.1600 g H₂O.

C₁₂H₂₄O₃N₂. Ber. C 59.02, H 9.84.

Gef. » 59.10, » 9.81.

Die Darstellung des Leucylleucins kann auch bei gewöhnlicher Temperatur ausgeführt werden. Zu dem Zweck lässt man 1 g Bromkörper, in 5 ccm wässrigem Ammoniak von 25 pCt. gelöst, 4 Tage lang stehen. Nach dieser Zeit hat sich ein Theil des Ammoniumsalzes des Leucylleucins in langen, dünnen Prismen ausgeschieden. Die Isolirung ist dieselbe wie oben angegeben. Die Ausbeute ist etwas besser, nämlich 70 pCt. der Theorie.

Derivate des *l*-Tyrosins.

Das Tyrosin hat zwei leicht reagirende Gruppen: das Amid und das Hydroxyl im Benzolkern. Infolge dessen fixirt es in alkalischer

Lösung leicht 2 Phenylcyanat- oder 2 Benzoyl-Reste. Glücklicher Weise lässt sich aber für die Synthese von Polypeptiden die Wirkung des Säurechlorids durch richtige Wahl der Bedingungen so reguliren, dass der Eintritt des Säureradicals nur an der Aminogruppe erfolgt. Als Derivate des natürlichen Tyrosins sind die folgenden Verbindungen alle optisch activ.

Chloracetyl-*l*-tyrosin. Es wird erhalten durch Einwirkung von Chloracetylchlorid entweder auf die alkalische Lösung von Tyrosin oder auf den Tyrosinester und nachträgliche Verseifung des hierbei entstehenden Chloracetyltyrosinesters.

Nach dem ersten Verfahren werden 9 g *l*-Tyrosin in 100 ccm Normal-Natronlauge (2 Mol.) gelöst, auf 0° abgekühlt und dann unter starkem Schütteln abwechselnd in kleinen Portionen 6.2 g Chloracetylchlorid (1.1 Mol.), das mit der dreifachen Menge Aether verdünnt ist, und 50 ccm Normal Natronlauge zugegeben.

Während der Reaction fällt manchmal eine geringe Menge unverändertes Tyrosin aus. Man fügt zum Schluss soviel Salzsäure zu, dass alles Alkali dadurch gebunden wird, verdampft die Flüssigkeit im Vacuum zur Trockne und extrahirt den Rückstand mit heissem Aceton. Beim Verdampfen dieser Lösung krystallisirt das Chloracetyl-*l*-tyrosin. Die Ausbeute beträgt allerdings nur 50 pCt. der Theorie. Die Ursache des grossen Verlustes ist nicht aufgeklärt. Zur Reinigung wird das Product in etwa 6 Theilen heissem Wasser gelöst. Beim Abkühlen auf 0° fällt der grösste Theil, etwa $\frac{4}{5}$, in sehr kleinen Prismen wieder aus. Für die Analyse wurde über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet.

0.1783 g Sbst.: 0.3350 g CO₂, 0.0760 g H₂O.

C₁₁H₁₂O₄NCl. Ber. C 51.26, H 4.66.

Gef. • 51.24, » 4.74.

Die Verbindung schmilzt bei 153—154° (corr. 155—156°) ohne Zersetzung. Sie löst sich sehr leicht in Alkohol und Aceton, schwerer in Chloroform und Aether, fast garnicht in Petroläther. Sie giebt in wässriger Lösung die Millon'sche Reaction.

Glatter verläuft die Synthese des entsprechenden Esters. Für seine Darstellung wird Tyrosinäthylester mit Chloracetylchlorid zusammengebracht. Da aber durch die Reaction die Hälfte des Esters in Hydrochlorat verwandelt wird, das nicht mehr wirkt, so ist es rathsam, die Bedingungen so zu wählen, dass das Salz während der Operation wieder zerlegt wird. Dem entspricht folgende Vorschrift, bei der an Stelle des freien Esters das leichter zugängliche Hydrochlorat von vornherein zur Anwendung kommt.

10 g salzsaurer Tyrosinester werden mit 100 ccm Chloroform übergossen und nach dem Abkühlen auf 0° mit 41 ccm Normal-Natronlauge (1 Mol.

unter Schütteln versetzt. Der in Freiheit gesetzte Ester geht rasch in das Chloroform über. Ferner werden 5 g Chloracetylchlorid (statt der berechneten 4.6 g) mit 50 ccm Chloroform verdünnt und die Hälfte dieser Lösung zu obiger Mischung zugefügt. In der Chloroformlösung vollzieht sich dann die gewünschte Reaction. Um den hierbei wiederum entstehenden salzsauren Tyrosinester noch nutzbar zu machen, werden jetzt zu der gekühlten Mischung unter Schütteln abwechselnd 20 ccm einer Natriumcarbonatlösung, die 4.7 g des trocknen Salzes enthält, und der Rest der obigen Chloroformlösung des Chloracetylchlorids zugegeben. Zum Schluss wird das Chloroform abgehoben, mit Natriumsulfat getrocknet, auf dem Wasserbade sehr stark eingedampft und endlich der Chloracetyl-*l*-tyrosinester durch Petroläther gefällt.

Die Ausbeute ist nahezu quantitativ. Sie schwankte bei verschiedenen Versuchen zwischen 93—95 pCt. der Theorie, berechnet auf den Tyrosinester. Zur Reinigung wird das Product nochmals in wenig Chloroform gelöst und durch Petroläther wieder abgeschieden. Für die Analyse war das Präparat wieder in dieser Weise umgelöst und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1678 g Sbst.: 0.3365 g CO₂, 0.0860 g H₂O. — 0.2653 g Sbst.: 12.0 ccm N (19°, 775 mm).

C₁₃H₁₆O₄NCl. Ber. C 54.64, H 5.60, N 4.90.

Gef. » 54.69, » 5.70, » 5.31.

Die Verbindung bildet meist kleine Nadeln, die bei 86—87° (corr. 87—88°) schmelzen. Sie löst sich selbst in heissem Wasser schwer und krystallisiert daraus schnell beim Erkalten. Sie löst sich sehr leicht in Alkohol, Aceton, Chloroform, Essigester und heissem Benzol, schwerer in Aether, sehr schwer in Petroläther. Sie giebt ebenfalls Millon's Reaction. Zur Verseifung des Esters werden 10 g bei Zimmertemperatur in 70 ccm Normal-Natronlauge (2 Mol.) gelöst und nach ¼ Stunde die äquivalente Menge Salzsäure zugefügt. Nach kurzer Zeit begann die Krystallisation des Chloracetyl-*l*-tyrosins, und nach mehrstündigem Stehen bei 0° betrug die Menge der Krystalle 6.85 g. Die Mutterlauge (85 ccm) wurde unter stark vermindertem Druck auf 20 ccm eingedampft und gab dann noch 1.35 g, sodass die Gesamtausbeute 8.2 g oder 91 pCt. der Theorie betrug.

Die Ausbeute, vom Tyrosin aus gerechnet, steigt also bei diesem Verfahren auf etwa 85 pCt. der Theorie, sodass es trotz des Umweges für die Darstellung des Chloracetyltyrosins der directen Synthese vorzuziehen ist.

Glycyl-*l*-tyrosin, NH₂.CH₂.CO.NH.CH $\begin{matrix} \text{COOH} \\ \text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{OH} \end{matrix}$

4 g Chloracetyl-*l*-tyrosin wurden mit 20 ccm wässrigem Ammoniak von 25 pCt. im geschlossenen Rohr 1 Stunde auf 100° erhitzt; dann dampfte man die Flüssigkeit auf dem Wasserbade stark ein, zuletzt unter Zusatz von Alkohol, um das Wasser möglichst zu entfernen.

Der syrupöse Rückstand wurde mit 100 ccm Alkohol in der Kälte digerirt. Dabei ging das Chlorammonium grösstentheils in Lösung, und das Dipeptid verwandelte sich in eine pulverige, amorphe Masse, die nur noch wenig Chlor enthielt. Die Ausbeute an diesem Product, das hygroskopisch ist, betrug 2.1 g statt der berechneten 3.7 g. Zur Reinigung wurde es in 3 ccm Wasser gelöst, durch Kochen mit wenig Thierkohle entfärbt, und aus dem kalten Filtrat durch 100 ccm absoluten Alkohol wieder gefällt. Die Menge betrug jetzt nur noch 0.95 g. Diese, nochmals in 1 ccm Wasser aufgenommen und mit Alkohol gefällt, gaben 0.5 g eines Präparates, das nach dem Trocknen über Schwefelsäure die Zusammensetzung des Glycyltyrosins zeigte.

0.1662 g Sbst.: 0.3363 g CO₂, 0.0927 g H₂O. — 0.1733 g Sbst.: 14.25 ccm $\frac{1}{10}$ -n. NH₃.

C₁₁H₁₄N₂O₄. Ber. C 55.46, H 5.88, N 11.76.

Gef. » 55.18, » 6.19, » 11.51.

Das Product sinterte von 125° an und war unter Aufblähung bei 165° völlig geschmolzen. Es löst sich sehr leicht in Wasser und Methylalkohol, recht schwer in absolutem Alkohol und garnicht in Aether. Es giebt die Millon'sche Reaction. Durch Trypsin wird es bei 36° in 5-procentiger wässriger Lösung, die mit wenig Ammoniak versetzt ist, unter Abscheidung von Tyrosin gespalten. Leider gelang es bisher nicht, das Präparat zu krystallisiren. Um so erfreulicher ist es, dass das Hydrochlorat seines Aethylesters diese Eigenschaft besitzt.

Für seine Bereitung werden 1.5 g Glycyltyrosin mit 5 ccm starker alkoholischer Salzsäure übergossen, wobei Lösung eintritt, und dann rasch aufgeköcht. Beim Abkühlen scheidet sich der grösste Theil der neuen Verbindung als farblose Masse ab. Den Rest gewinnt man durch Verdunsten des Filtrats über Schwefelsäure und Kalk.

Die Ausbeute beträgt gegen 85 pCt. der Theorie. Das Salz ist sehr leicht löslich in Wasser, unlöslich in Aether und Essigester. Löst man es in etwa 10 Theilen heissem Alkohol, so scheidet es sich beim Erkalten daraus in mikroskopisch kleinen, wetzsteinartigen Kryställchen ab. Für die Analyse wurde über Schwefelsäure getrocknet. Das Salz schmilzt nicht constant gegen 240° (corr. 245°) unter Gasentwicklung.

0.1914 g Sbst.: 15.3 ccm N (18°, 758 mm). — 0.1897 g Sbst.: 6.25 ccm $\frac{1}{10}$ -n. Cl.

C₁₃H₁₈O₄N₂.HCl. Ber. Cl 11.74, N 9.26.

Gef. » 11.70, » 9.21.

α -Bromisocapronyl-*l*-tyrosin.

Ebenso wie die vorhergehende Chloracetylverbindung kann dieser Körper sowohl aus freiem Tyrosin wie aus Tyrosinester gewonnen werden.

Im ersten Fall werden 3 g Tyrosin in 33.3 ccm *n*-Natronlauge (2 Mol.-Gew.) gelöst, dann nach dem Abkühlen in Eiswasser unter Schütteln abwechselnd in kleinen Portionen eine concentrirte ätherische Lösung von 3.8 g α -Bromisocapronylchlorid und 16.5 ccm *n*-Natronlauge zugesetzt. Beim Ansäuern fiel ein Oel aus, das ausgeäthert und aus der stark concentrirten, ätherischen Lösung durch Petroläther wieder gefällt wurde. Es erstarrte dann bald krystallinisch. Zur Reinigung wurde es mit 20 ccm Chloroform, worin es schwer löslich ist, ausgekocht. Die Ausbeute betrug 2.7 g oder 46 pCt. der Theorie. Für die Analyse wurde es zwei Mal in Normal-Natronlauge kalt gelöst, durch Säure wieder abgeschieden und schliesslich über Schwefelsäure getrocknet.

0.1767 g Sbst.: 0.3239 g CO₂, 0.0900 g H₂O. — 0.2612 g Sbst.: 8.8 ccm N (19°, 766 mm).

C₁₅H₂₀O₄NBr. Ber. C 50.28, H 5.59, N 3.91.
Gef. » 50.00, » 5.66, » 3.91.

Die Verbindung schmilzt bei 137—138° (corr. 139—140°), sie löst sich leicht in Alkohol, Aceton und Aether, sehr schwer in Chloroform und Petroläther. Aus Aceton wird sie durch Petroläther in mikroskopisch kleinen, meisselförmigen Prismen gefällt. Aus heissem Wasser, worin sie schwer löslich ist, scheidet sie sich beim Erkalten in kleinen, zu kugelförmigen Aggregaten verwachsenen Nadeln ab.

Um die Verbindung aus dem Tyrosinester darzustellen, werden 16.5 g (2 Mol.) in 100 ccm Chloroform gelöst und dazu 9 g (1 Mol.) α -Bromisocapronylchlorid in 50 ccm Chloroform zugefügt, wobei sofort salzsaurer Tyrosinester ausfällt. Beim Verdampfen des Chloroforms bleibt ein Oel, das bisher nicht krystallisirt erhalten wurde. Es wurde deshalb direct zur Verseifung in 90 ccm Normal-Natronlauge bei Zimmertemperatur gelöst und nach viertelstündigem Stehen durch die äquivalente Menge Salzsäure das Bromisocapronyltyrosin gefällt. Es fiel als Oel aus, welches bald fest wurde, und die Ausbeute betrug 83 pCt. der Theorie, wobei allerdings zu beachten ist, dass die Hälfte des Tyrosinesters als Hydrochlorat der Reaction entzogen wurde. Leider hat die Modification, die beim Chloracetyltyrosinester die Ausnutzung dieses salzsauren Tyrosinesters ermöglichte, hier versagt.

Wie in der Einleitung allgemeiner auseinander gesetzt ist, muss man annehmen, dass aus dem inactiven α -Bromisocapronylchlorid und dem activen Tyrosin zwei stereoisomere Formen entstehen. Es ist deshalb

wohl möglich, dass die vorstehende und die folgende Verbindung Gemische sind.

Leucyl-*l*-tyrosin.

Erhitzt man 4 g α -Bromcapronyltyrosin mit 20 ccm Ammoniak von 25 pCt. eine Stunde auf 100°, so ist das Brom völlig abgespalten. Die Lösung hinterlässt beim vollständigen Verdampfen zuletzt unter Zusatz von Alkohol einen halbfesten, amorphen Rückstand. Wird dieser mit 100 ccm kaltem Wasser aufgenommen, so bleibt eine kleine Menge eines krystallinischen Körpers zurück, von dem weiter unten die Rede sein wird. Die wässrige Lösung wird zur Entfernung des Broms mit Silbersulfat geschüttelt, aus dem Filtrat das Silber genau durch Salzsäure gefällt und nach abermaliger Filtration die Schwefelsäure durch Kochen mit Baryumcarbonat beseitigt. Die Lösung hinterliess jetzt beim Verdampfen auf dem Wasserbade eine amorphe Masse, die in Alkohol gelöst und durch Aether wieder gefällt wurde. Sie scheidet sich dabei in ähnlichem Zustand wie gefällte Eiweisskörper ab. Nachdem die Mutterlauge decantirt und der Rest der Flüssigkeit im Exsiccator verdunstet ist, bildet sie eine leicht zerreibliche, aber ganz amorphe Masse, die schwach sauer reagirt, sich in Wasser äusserst leicht, in Alkohol etwas schwerer löst, Kupferoxyd mit tiefblauer Farbe aufnimmt und die Millon'sche Reaction zeigt. Leider ist ihre Krystallisation bisher nicht gelungen. Infolge dessen hat auch die Analyse des bei 100° getrockneten Präparates nur annähernde Werthe gegeben.

0.1073 g vacuumtrockne Substanz verloren bei 100° 0.0044 g H₂O oder 4.1 pCt.

Substanz bei 100° getrocknet:

0.1029 g Sbst.: 0.2257 g CO₂, 0.0679 g H₂O. — 0.1536 g Sbst.: 0.3367 g CO₂, 0.1021 g H₂O. — 0.1566 g Sbst.: 12.6 ccm N (17°, 768 mm).

C₁₅H₂₂O₄N₂. Ber. C 61.23, H 7.48, N 9.53.
Gef. » 59.83, 59.79, » 7.33, 7.39, » 9.43.

Die Bildungsweise und auch die Eigenschaften der Substanz lassen aber kaum einen Zweifel darüber, dass sie der Hauptmenge nach Leucyl-tyrosin ist.

Leucin-tyrosin-anhydrid, C₄H₉.CH $\begin{matrix} \text{CO} \cdot \text{NH} \\ \text{NH} \cdot \text{CO} \end{matrix}$ > CH.CH₂.C₆H₄.OH.

Das oben erwähnte Nebenproduct, dessen Menge nur 3.5 pCt. des angewandten Bromkörpers betrug, lässt sich aus 50-procentiger Essigsäure gut umkrystallisiren und bildet dann mikroskopisch kleine Nadeln, die gegen 310° (corr.) unter Zersetzung schmelzen. Im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet, gab es Zahlen, die auf die Formel C₁₅H₂₂O₄N₂ passen.

0.1349 g Sbst.: 0.3034 g CO₂, 0.0898 g H₂O.

C₁₅H₂₂O₄N₂. Ber. C 61.23, H 7.5.

Gef. » 61.34, » 7.4.

In viel grösserer Ausbeute entsteht dieselbe Substanz bei der Einwirkung von Ammoniak auf α -Bromisocapronyl-*l*-tyrosinester.

Ihre nähere Untersuchung hat ergeben, dass in obiger Formel ein Molekül Krystallwasser enthalten ist, dass also die trockne Substanz die Zusammensetzung C₁₅H₂₀O₃N₂ hat.

Nach ihren Eigenschaften ist sie zu betrachten als ein Analogon des Leucinimids, d. h. als ein Piperazinderivat.

Dem entspricht der als Ueberschrift gewählte Name Leucityrosinanhydrid und die daneben stehende Strukturformel.

Für die praktische Darstellung erhitzt man den oben erwähnten öligen Aethylester des α -Bromisocapronyl-*l*-tyrosins mit alkoholischem Ammoniak auf 100°. Für die Menge Ester, die aus 7 g salzsaurem Tyrosinester erhalten wird, kamen 30 ccm alkoholisches Ammoniak, das bei 0° gesättigt war, zur Anwendung. Die Dauer des Erhitzens war vier Stunden. Gegen Ende der Reaction schieden sich aus der Flüssigkeit feine Nadelchen ab, deren Menge sich beim Abkühlen vergrösserte. Sie sind die Ammoniumverbindung des Piperazinkörpers und werden schon beim Wegkochen des Ammoniaks gleichzeitig gelöst und zersetzt. Zur Isolirung des freien Piperazinkörpers wird die stark eingedampfte, alkoholische Lösung durch Wasser gefällt. Den Rest gewinnt man aus der Mutterlauge durch Wegkochen des Alkohols. Die Ausbeute betrug 3 g aus 7 g salzsaurem *l*-Tyrosinester. Das entspricht 70 pCt. der Theorie, da die Hälfte des Tyrosinesters bei der Combination mit Bromcapronylchlorid der Reaction als Hydrochlorat entzogen wird.

Das Rohproduct von Leucityrosinanhydrid ist schon ziemlich rein. Für die Analyse wurde es aus 30 Theilen kochender 50-procentiger Essigsäure umkrystallisirt. Die im Vacuum über Schwefelsäure getrocknete Substanz enthält 1 Molekül Krystallwasser, das bei 110° entweicht.

0.7553 g Sbst. verloren beim einstündigen Erhitzen auf 110° 0.047 g H₂O.

Ber. H₂O 6.13. Gef. H₂O 6.22.

Die trockne Substanz gab folgende Zahlen:

0.1919 g Sbst.: 0.4598 g CO₂, 0.1263 g H₂O. — 0.1819 g Sbst.: 15.9 ccm N (17°, 770 mm).

C₁₅H₂₀O₃N₂. Ber. C 65.22, H 7.25, N 10.14.

Gef. » 65.35, » 7.32, » 10.28.

Das Leucityrosinanhydrid schmilzt unter Zersetzung beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 310° (corr.).

Es ist in Wasser selbst in der Hitze ziemlich schwer löslich und krystallisirt daraus beim Abkühlen in feinen Nadelchen. Auch in Aether ist es schwer löslich. Viel leichter wird es von heissem Alkohol und ganz besonders leicht von warmem Eisessig aufgenommen. Als Tyrosinderivat giebt es Millon's Reaction und löst sich leicht in Alkalien. Auch in überschüssigem Ammoniak ist es erheblich leichter löslich als in Wasser. Dagegen verhält es sich indifferent gegen verdünnte, wässrige Mineralsäuren.

Tripeptide.

Zur Darstellung des früher ausführlich beschriebenen Diglycylglycins¹⁾ sind noch folgende ergänzende Beobachtungen gemacht worden.

Das als Ausgangsmaterial dienende Chloracetylglycylglycin, welches früher auf dem Umweg über den Ester gewonnen wurde, kann vortheilhafter direct aus dem salzsauren Glycylglycin in folgender Weise bereitet werden.

15 g des Hydrochlorats werden in 160 ccm Normal-Natronlauge gelöst, auf 0° abgekühlt und abwechselnd eine ätherische Lösung von 10 g Chloracetylchlorid und 160 ccm Normal Natronlauge in kleinen Portionen unter Schütteln zugefügt. Zum Schluss giebt man noch die zur Bindung des Alkalis ausreichende Menge Salzsäure zu und verdampft unter 20 mm Druck auf 120 ccm. Die Menge des auskrystallisirten Chloracetylglycylglycins betrug nach einigem Stehen bei 0° 8.6 g. Aus der Mutterlauge wurden durch Verdampfen unter geringem Druck und Auslaugen des trocknen Rückstandes mit 200 ccm heissem Alkohol, abermaliges Verdampfen und Umlösen aus wenig heissem Wasser noch 2.8 g gewonnen. Die Ausbeute betrug also 11.4 g oder 68 pCt. der Theorie.

Für die Umwandlung in Diglycylglycin ist es nicht nöthig, mit Ammoniak auf 100° zu erhitzen; denn die Reaction findet schon in der Kälte statt. Bei Anwendung von 5 g Chlorkörper und 25 ccm Ammoniak von 25 pCt. ist nach 15 Stunden das Halogen fast quantitativ abgespalten. Die Isolirung des Tripeptides geschieht in der früher angegebenen Weise. Die Ausbeute ist etwas besser. Sie betrug 62 pCt. der Theorie, während beim Erhitzen nur 50 pCt. erhalten wurden.

Endlich lässt sich die Umwandlung auch mit flüssigem Ammoniak bei gewöhnlicher Temperatur herbeiführen. Da die Ausbeute aber nicht besser ist (61 pCt. der Theorie), so hat das Verfahren keinen praktischen Werth.

¹⁾ Diese Berichte 36, 2983 [1903].

Bei der Darstellung des Diglycylglycins mit wässrigem Ammoniak entsteht, zumal in der Wärme, als Nebenproduct Glycinanhydrid. Es bleibt bei der Reinigung des Tripeptids in den wässrig-alkoholischen Mutterlaugen und kann daraus durch Eindampfen und Krystallisiren isolirt werden. Seine Menge betrug bei einer grösseren Darstellung 3.4 pCt. des Chlorkörpers oder 6.8 pCt. des Tripeptids.

Zur Reinigung war es aus heissem Wasser umgelöst.

0.1746 g Sbst.: 0.2705 g CO₂, 0.0833 g H₂O. — 0.2503 g Sbst.: 44.0 ccm $\frac{1}{10}$ -n. NH₃.

C₄H₆O₂N₂. Ber. C 42.11, H 5.26, N 24.56.

Gef. » 42.25, » 5.30, » 24.61.

Es zeigte völlige Uebereinstimmung mit dem Glycinanhydrid. Da aber ein Anhydrid des Triglycins ähnliche Eigenschaften haben konnte, so wurde das Präparat noch durch Kochen mit alkoholischer Salzsäure in salzsauren Glycylglycinester übergeführt, der ebenso wie ein Vergleichspräparat gegen 182° (corr.) unter Zersetzung schmolz.

Wie früher beschrieben, lässt sich das Diglycylglycin sehr leicht mit alkoholischer Salzsäure verestern, und der Aethylester bildet ein schön krystallisirendes, in Alkohol schwer lösliches Hydrochlorat. Wird dieses in kalter, wässriger Lösung mit Silberoxyd zerlegt, dann das Filtrat durch genauen Zusatz von Salzsäure vom Silber befreit, so hinterlässt die Flüssigkeit jetzt beim Eindunsten im Vacuum den Diglycylglycinester als krystallisirte, alkalisch reagirende, in Wasser leicht lösliche Masse. Aehnlich den Estern der einfachen Aminosäuren, ist diese Substanz zur Condensation geneigt. Erhitzt man sie z. B. mehrere Stunden auf 110°, so wird ein erheblicher Theil in solche complicirteren Producte, die u. a. die Biuretreaction geben, verwandelt, die man durch Behandeln mit viel alkoholischer Salzsäure von Diglycylglycin und seinem Ester trennen kann und über deren Zusammensetzung später ausführlich berichtet werden soll.

Tetrapeptide.

Ihre Synthese vollzieht sich genau in derselben Weise wie diejenige der vorher behandelten Substanzen.

Tri-glycyl-glycin,

NH₂CH₂CO.NHCH₂CO.NHCH₂CO.NHCH₂COOH.

Zur Bereitung des Chloracetyl-diglycyl-glycins kamen folgende Mengenverhältnisse zur Anwendung:

12 g Diglycylglycin, gelöst in 63 ccm Normal-Natronlauge, eine ätherische Lösung von 8.25 g Chloracetylchlorid und weitere 126 ccm Normal-Natronlauge. Die Operation war die gleiche wie in den analogen Fällen. Beim Ausäuern der Lösung schied sich der grösste

Theil des neuen Chlorkörpers krystallinisch ab. Der Rest wurde aus der Mutterlauge durch Einengen unter geringem Druck gewonnen. Die Ausbeute betrug 14.45 g oder 86 pCt. der Theorie. Das Rohproduct ist nahezu rein. Für die Analyse wurden 1.5 g aus 20 ccm heissem Wasser umkrystallisirt und die in der Kälte ausgefallenen 1.1 g über Schwefelsäure getrocknet.

0.1627 g Sbst.: 0.2177 g CO₂, 0,0675 g H₂O. — 0.1399 g Sbst.: 16.1 ccm $\frac{1}{10}$ -n. NH₃.

C₈H₁₂O₅N₃Cl. Ber. C 36.16, H 4.52, N 15.82.

Gef. » 36.48, » 4.65, » 16.11.

Im Capillarrohr erhitzt, bräunt sich die Substanz und schmilzt unter Zersetzung gegen 220° (corr. 224°); sie krystallisirt aus Wasser meist in kleinen, vierseitigen, schiefen Tafeln; sie löst sich in Alkohol in der Kälte schwer, in der Wärme leichter. Die Löslichkeit nimmt dann gradweise ab für Aceton, Chloroform, Essigester, Aether.

Zur Umwandlung in das Tetrapeptid wurde die Chlorverbindung mit der 5-fachen Menge wässrigem Ammoniak von 25 pCt. 1 Stunde auf 100° erhitzt, dann die Lösung stark eingedampft und mit viel Alkohol versetzt. Dabei fiel das Tetrapeptid aus, während Chlorammonium in Lösung blieb. Zur Reinigung wurde das Rohproduct in der 8-fachen Menge Wasser gelöst, mit etwas Thierkohle gekocht und das Filtrat durch Alkohol wieder gefällt. Die Menge des so erhaltenen chlorfreien und schon recht reinen Präparates betrug 66 pCt. der Theorie. Für die Analyse wurde es noch zwei Mal aus Wasser durch Alkohol gefällt und dann bei 100° getrocknet, da es bei gewöhnlicher Temperatur auch im Vacuum eine wechselnde Menge Wasser (2—5 pCt.) zurückhält.

0.1558 g Sbst.: 0.2243 g CO₂, 0.0800 g H₂O. — 0.1605 g Sbst.: 25.7 ccm $\frac{1}{10}$ -n. NH₃.

C₈H₁₄O₅N₄. Ber. C 39.03, H 5.69, N 22.77.

Gef. » 39.26, » 5.74, » 22.42.

Das Tri-glycyl-glycin hat keinen Schmelzpunkt. Es beginnt von 220° an sich zu färben und ist gegen 270° ganz dunkel, bei stärkerem Erhitzen entwickelt es viel Ammoniak. In alkalischer Lösung giebt es mit Kupfersalzen eine ziemlich starke Biuret-färbung, und auch die wässrige Lösung nimmt beim Erwärmen Kupferoxyd mit blauvioletter Farbe auf. Die wässrige Lösung reagirt gegen Lakmus sehr schwach sauer und ist so gut wie geschmacklos. In Wasser ist es schwerer löslich als die einfacheren Polypeptide des Glycins; es verlangt von heissem Wasser ungefähr 4 Theile. Obschon es in der Kälte sehr viel schwerer löslich ist, so scheidet es sich doch aus der warmen Flüssigkeit nur sehr langsam ab. Sofort erfolgt die Fällung auf Zu-

satz von Alkohol; so gewonnen, bildet das Tetrapeptid ein farbloses Pulver, das zweifellos eine krystallinische Structur hat, in dem man aber selbst unter dem Mikroskop keine besonders charakteristischen Formen findet.

Als Nebenproduct entsteht bei der Darstellung dieses Peptids auch eine kleine Menge Glycinanhydrid, das in den wässrig-alkoholischen Mutterlaugen bleibt. Isolirt wurden aber nur 2 pCt. vom Gewicht des angewandten Chlorkörpers.

0.1675 g Sbst.: 0.2597 g CO₂, 0.0810 g H₂O.

C₄H₆N₂O₂. Ber. C 42.11, H 5.26.

Gef. » 42.28, » 5.37.

Die Aufspaltung mit alkoholischer Salzsäure gab auch hier salzsauren Glycylglycinester.

Derivate dieses Tetrapeptids sind bereits bekannt. Die Benzoylverbindung wurde von Curtius aus dem Azid des Hippurylglycins¹⁾ und Glycylglycin aufgebaut, und der Aethylester ist, wie ebenfalls

¹⁾ Diese Berichte 35, 3226 [1902]. Vor kurzem hat Hr. Th. Curtius mir den Vorwurf gemacht, dass ich seine älteren Versuche über die Verkettung von Aminosäuren nicht berücksichtigt habe, und er knüpft diese Bemerkung an die Erwähnung des Hippurylglycins (diese Berichte 37, 1285 [1904]). Ich habe meinen Augen nicht getraut, als ich diese Aeusserung des Hrn. Curtius las, denn sein Name ist gerade in der von ihm beanstandeten Abhandlung von Fourneau und mir (diese Berichte 34, 2868 [1901]) auf Seite 2 drei Mal genannt. Er wird angeführt als der Entdecker des Hippurylglycins, ferner des Glycinanhydrids und endlich der sogenannten Biuretbasis, die aus Glycinester entsteht. Ausführlicher ist diese Biuretbasis nebst dem Glycinester und Glycinanhydrid als Entdeckungen des Hrn. Curtius von mir in einer kurz vorher publicirten Abhandlung (diese Berichte 34, 433 [1901]) besprochen. Das waren meines Erachtens alle Beobachtungen des Hrn. Curtius, die mit meinen Versuchen und dem von mir verfolgten Problem der Synthese von Anhydriden der Aminosäuren in directer Beziehung standen.

Allerdings habe ich nicht erwähnt die beiden von Curtius beschriebenen complicirten Benzoylkörper, die er bei Einwirkung von Benzoylchlorid auf Glykocollsilber (Journ. für prakt. Chem. [2] 26, 197) oder auch beim Erhitzen von Hippursäureester mit Glykocoll (diese Berichte 16, 756 [1883]) erhielt, und von denen nach der neuesten Publication von Curtius (diese Berichte 37, 1279 [1904]) nur eine mit einer veränderten Formel übrig geblieben ist. Aber ich habe das mit guter Absicht unterlassen, erstens weil die Angaben des Hrn. Curtius kein Urtheil über die wirkliche Zusammensetzung dieser Producte oder der auf ähnliche Art entstehenden Acetylkörper (diese Berichte 17, 1666 [1884]) gestatteten und auch in einem Zeitraum von 18 Jahren keine Vervollständigung erfuhren, ferner und hauptsächlich, weil diese complicirten Benzoylverbindungen doch nur ein sehr untergeordnetes Interesse für

Curtius¹⁾ vor kurzem gezeigt hat, die sogenannte Biuretbase, die er vor 20 Jahren allerdings nur in unreinem Zustand bei der freiwilligen Zersetzung des Glycinesters erhalten hatte. Immerhin schien ein directer Vergleich der auf verschiedenen Wegen gewonnenen Producte wünschenswerth, da nach den Erfahrungen mit den Carbäthoxyderivaten²⁾ eigenartige Isomerien in der Klasse der Polypeptide nicht ausgeschlossen sind. Es wurden deshalb Aethylester und Benzoylverbindung des Triglycylglycins dargestellt.

Salzsaurer Triglycyl-glycin-äthylester.

Erwärmt man 4 g Tetrapeptid mit 100 ccm heiss gesättigter alkoholischer Salzsäure gelinde, so geht es in Lösung, und sobald man aufkocht, beginnt die Krystallisation des salzsauren Esters. Nach dem Erkalten wurde er abfiltrirt und mit Alkohol und Aether gewaschen. Seine Menge betrug 4 g.

Für die Analyse wurde 1 g des Salzes in 200 ccm heissem absolutem Alkohol gelöst und nach Zusatz von wenig alkoholischer Salzsäure durch Abkühlen wieder abgeschieden. Das Präparat gab nach dem Trocknen über Schwefelsäure folgende Zahlen:

0.1966 g Sbst.: 0.2778 g CO₂, 0.1059 g H₂O. — 0.1840 g Sbst.: 0.2586 g CO₂, 0.1023 g H₂O. — 0.1664 g Sbst.: 25.2 ccm N (17°, 762 mm). — 0.1890 g Sbst.: 0.0852 g AgCl.

C₁₀H₁₉O₅N₄Cl. Ber. C 38.63, H 6.16, N 18.06, Cl 11.41.
Gef. » 38.33, 38.54, » 6.23, 6.04, » 17.63, » 11.15.

die Kenntniss der benzoylfreien Verbindungen haben. Für das Studium der natürlichen Proteine kommen aber nur die Anhydride der Aminosäuren selbst in Betracht, und in der Abhandlung von Fourneau und mir ist ausdrücklich angegeben, dass unsere Versuche auf die künstliche Synthese solcher Stoffe gerichtet seien.

Der Vorwurf des Hrn. Curtius, dass in unserer kurzen historischen Einleitung seine Arbeiten nicht berücksichtigt seien, ist deshalb durchaus ungerechtfertigt. Ich habe mich darüber um so mehr wundern müssen, als Hr. Curtius selbst die Gewohnheit hat, meine Versuche zu ignoriren. Als er nach 19-jähriger Unterbrechung seine Versuche über die Benzoylderivate der Anhydride des Glykocolls wieder aufnahm (diese Berichte 35, 3226 [1902]), hielt er es für überflüssig, die von mir inzwischen publicirten Untersuchungen auf dem gleichen Gebiete zu erwähnen. Ich habe deshalb Veranlassung genommen, in einer Fussnote (diese Berichte 36, 2905 [1903]) auf diese Unterlassung aufmerksam zu machen. Seine einzige Antwort darauf war die oben von mir kritisirte Gegenklage.

¹⁾ Diese Berichte 37, 1284 ff. [1904].

²⁾ E. Fischer, diese Berichte 36, 2096 [1903].

Die feinen Krystallblättchen schmolzen unter schwacher Gasentwicklung und Färbung bei 208—210° (corr. 212—214°). Curtius hat allerdings einen niedrigeren Schmelzpunkt angegeben (192—193°). Aber auf diese Differenz ist wohl nicht viel zu geben, da der Schmelzpunkt bei solchen Salzen durch kleine Verunreinigungen sehr stark herabgedrückt wird. Allerdings genügt auch der Versuch nicht zur Identificirung.

Besser war das Resultat bei der Benzoylverbindung. Zu ihrer Bereitung wurde 1 g Triglycylglycin mit 2.6 g Natriumbicarbonat in 40 ccm Wasser gelöst und dazu tropfenweise 1.7 g Benzoylchlorid unter Schütteln zugegeben, dann die Lösung angesäuert, und der Niederschlag nach dem Absaugen, Waschen und Trocknen durch Auslaugen mit 50 ccm Aether von der Benzoësäure befreit. Die Ausbeute an unlöslicher Benzoylverbindung, die schon fast rein war, betrug 1 g oder 70 pCt. der Theorie. Für die Analyse wurde das Präparat aus der 40-fachen Menge Wasser umgelöst und bei 100° getrocknet.

0.1703 g Sbst.: 0.3207 g CO₂, 0.0805 g H₂O.

C₁₅H₁₈O₆N₄. Ber. C 51.43, H 5.14.

Gef. » 51.36, » 5.25.

Die Verbindung zeigte den Schmp. 235°, den Curtius für die auf anderem Wege¹⁾ gewonnene Substanz angiebt. Ferner wurde für den Ester, der aus der Säure durch Erwärmen mit alkoholischer Salzsäure entsteht, der angegebene Schmp. 213° (corr. 217°) unter Braunfärbung gefunden.

α-Bromisocapronyl-leucyl-glycyl-glycin,

C₄H₉.CHBr.CO.NH.CH(C₄H₉).CO.NHCH₂.CO.NHCH₂.CO₂H.

Zu einer Lösung von 4 g Leucylglycylglycin²⁾ in 16.4 ccm Normal Natronlauge (1 Mol.) fügte man abwechselnd und portionsweise eine concentrirte ätherische Lösung von 3.8 g *α*-Bromisocapronylchlorid (etwas mehr als 1 Mol.) und 24.6 ccm Normal-Natronlauge. Nachdem das unverbrauchte Säurechlorid durch Ausäthern entfernt war, wurde mit Salzsäure übersättigt und die ölig ausgeschiedene Bromisocapronylverbindung ausgeäthert. Beim völligen Verdampfen des Aethers blieb eine feste, gummiartige Masse, die beim Verreiben mit Petroläther weiss und pulverig wurde. Ihre Menge betrug 5.4 g oder 78 pCt. der Theorie. Sie löst sich in wenig heissem Essigester und krystallisirt daraus beim Abkühlen. Für die Analyse wurde sie in der 6-fachen Volummenge Essigester gelöst und dazu das 12-fache Volumen Aether gefügt. Die anfangs klare Lösung schied beim längeren Stehen ²/₃ der aufgelösten Menge in äusserst kleinen flimmern-

¹⁾ Diese Berichte 35, 3227 [1902].

²⁾ Diese Berichte 36, 2990 [1903].

den Krystallen ab, welche für die Analyse im Vacuum getrocknet wurden.

0.1798 g Sbst.: 16.0 ccm N (19°, 764 mm). — 0.1533 g Sbst.: 0.0674 g AgBr.

$C_{16}H_{28}O_5N_3Br$. Ber. Br 18.95, N 9.95.

Gef. » 18.71, » 10.29.

Die Substanz sinterte von 152° ab und schmolz bei 158—159° (corr. 161—162°). Sie ist in Wasser selbst in der Hitze recht schwer löslich und fällt daraus beim Abkühlen zuerst als Oel aus, erstarrt aber später krystallinisch. Sie ist leicht löslich in Alkohol, Aceton und heissem Essigester, schwer löslich in Chloroform und Aether. Trotzdem kann sie leicht ausgeäthert werden, wie in obiger Vorschrift angegeben ist, solange sie unrein und ölig ist.

Dileucyl-glycyl-glycin (inactiv),

$NH_2 \cdot CH(C_4H_9) \cdot CO \cdot NH \cdot CH(C_4H_9) \cdot CO \cdot NHCH_2CO \cdot NHCH_2COOH$.

Werden 4.2 g der vorigen Bromverbindung mit 20 ccm Ammoniak (spec. Gewicht 0.91) 1 Std. auf 100° erhitzt und dann die Lösung auf dem Wasserbade möglichst vollständig, zuletzt unter Zusatz von Alkohol, verdampft, so bleibt ein halbfester Rückstand. Beim Anrühren mit 30 ccm absolutem Alkohol geht das Bromammonium ganz in Lösung, und der Rückstand verwandelt sich nach kurzer Zeit in eine pulverige Masse. Er ist schon ziemlich reines Tetrapeptid. Seine Menge betrug 1.4 g oder 39 pCt. der Theorie. Beim längeren Stehen schied die alkoholische Mutterlauge noch 0.4 g ab, sodass die Gesamtausbeute 51 pCt. der Theorie betrug.

Das Tetrapeptid ist in den gewöhnlichen organischen Lösungsmitteln, ausgenommen Eisessig, fast garnicht löslich; auch in Wasser selbst in der Hitze löst es sich im Vergleich zu den anderen Polypeptiden ziemlich schwer, wahrscheinlich weil es von Wasser so schwer benetzt wird. Andererseits aber kommt es aus der heissen, wässrigen Lösung beim Abkühlen nicht mehr heraus, auch nicht auf Zusatz von Alkohol. Für die Analyse wurde deshalb 1 g des Präparates in 24 ccm verdünntem Alkohol von 50 pCt. warm gelöst und nach dem Abkühlen 60 ccm Aether zugefügt. Es krystallisirte so in mikroskopisch kleinen Nadeln, die meist büschelförmig verwachsen waren.

Nach mehrstündigem Stehen waren 0.6 g als krystallinisches Pulver abgeschieden, die für die Analyse über Schwefelsäure getrocknet wurden.

0.1686 g Sbst.: 0.3295 g CO_2 , 0.1281 g H_2O . — 0.1717 g Sbst.: 22.8 ccm N (17°, 764 mm).

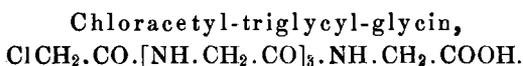
$C_{16}H_{30}O_5N_4$. Ber. C 53.63, H 8.38, N 15.64.

Gef. » 53.32, » 8.44, » 15.43.

Das Tetrapeptid schmolz nicht scharf gegen 250° unter Zersetzung; seine alkalische Lösung giebt mit Kupfersalzen eine starke Biuret-färbung. Seine wässrige Lösung schmeckt bitter und reagirt gegen Lakmus sehr schwach sauer. Es wird von Phosphorwolframsäure auch aus stark verdünnter Lösung gefällt. Der Niederschlag löst sich aber im Ueberschuss der Phosphorwolframsäure, sowie beim Erhitzen.

Pentapeptide.

Das einzige bisher gewonnene Glied dieser Gruppe ist das Derivat des Glykocolls. Als Ausgangsmaterial dient das



Seine Bereitung aus Triglycylglycin und Chloracetylchlorid wurde genau so wie in den analogen Fällen ausgeführt. Es scheidet sich beim Ansäuern der alkoholischen Lösung als feste, voluminöse Masse aus. Die Ausbeute betrug ebenso viel wie das angewandte Tripeptid oder 76 pCt. der Theorie.

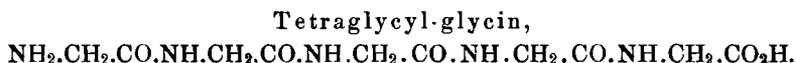
Zur Reinigung wurde es aus der 15-fachen Menge heissem Wasser umgelöst, wobei etwa $\frac{1}{5}$ in Lösung blieb. Für die Analyse wurde über Schwefelsäure getrocknet.

0.1910 g Sbst.: 0.2605 g CO_2 , 0.0811 g H_2O . — 0.1888 g Sbst.: 23.7 ccm $\frac{1}{10}$ -n. NH_3 .

$C_{10}H_{15}O_6N_4Cl$. Ber. C 37.21, H 4.65, N 17.36.

Gef. » 37.20, » 4.72, » 17.57.

Im Capillarrohr färbt sich die Verbindung von 230° an gelb und schmilzt unter Gasentwicklung gegen 250° (corr. 256°). In den meisten Lösungsmitteln ist sie sehr schwer löslich. Von kochendem Wasser verlangt sie etwa die 10-fache Menge und scheidet sich daraus beim Erkalten als mikrokristallinisches, farbloses Pulver ab. Sie schmeckt und reagirt sauer. Mit Alkali und Kupfersalzen giebt sie eine blauviolette Färbung.



2 g des vorigen Chlorkörpers wurden mit 10 ccm Ammoniak (spec. Gewicht 0.91) 1 Stunde auf 100° erhitzt, dann die Lösung grösstentheils verdampft und das Pentapeptid durch Zusatz von Alkohol gefällt.

Seine Menge betrug 1.27 g oder 65 pCt. der Theorie. Zur Reinigung wurde das Präparat in der 50-fachen Menge heissem Wasser gelöst und mit dem gleichen Volumen Alkohol gefällt, wobei nur $\frac{1}{3}$ in der Mutterlauge blieb. Im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet, enthielt die Substanz noch etwas Wasser (4 pCt.). Sie wurde deshalb für die Analyse bei 100° getrocknet.

0.1691 g Sbst.: 0.2460 g CO₂, 0.0862 g H₂O. — 0.1972 g Sbst.: 32.35 ccm $\frac{1}{10}$ -n. NH₃.

C₁₀H₁₇N₅O₆. Ber. C 39.93, H 5.61, N 23.10.

Gef. > 39.68, > 5.67, > 22.97.

Das Pentapeptid wurde bisher nur als farbloses, lockeres Pulver erhalten, das unter dem Mikroskop körnig, aber ohne deutliche Kristallstructur erscheint. Im Capillarrohr bräunt es sich gegen 240° (corr. 246°) und zersetzt sich bei höherer Temperatur, ohne zu schmelzen. Mit Alkali und Kupfersalzen giebt es starke Biuret-färbung. Es gleicht dem Triglycylglycin, unterscheidet sich aber von diesem durch geringere Löslichkeit in Wasser. In Alkohol, Aether u. s. w. ist es so gut wie unlöslich. In Alkali und Mineralsäuren ist es leicht löslich.

Da die natürlichen Proteine in der Regel neben den Monoaminosäuren auch Diamino- und Oxyamino-Säuren enthalten, so erwächst der Synthese selbstverständlich die Aufgabe, diese gleichfalls zum Aufbau der Polypeptide zu verwenden. Man kann für diesen Zweck einerseits von den Diaminosäuren und Oxyaminosäuren ausgehen, und es sind im hiesigen Institut bereits Versuche in Angriff genommen, das Lysin und Serin mit Brompropionylchlorid und Bromcapronylchlorid zu verbinden. Andererseits kann man die Monoaminosäuren combiniren mit den Chloriden der Dihalogensäuren und darf dann hoffen, die beiden Halogene durch Amid oder Amid und Hydroxyl ersetzen zu können.

Die erste Phase dieser Reaction liess sich bei dem Dibrompropionylchlorid¹⁾ verwirklichen, bezüglich der zweiten sind aber die Versuche noch nicht abgeschlossen.

¹⁾ Das schon von Moureu (Ann. chim. phys. [7], 2, 165) aus Acrylsäurechlorid und Brom gewonnene α, β -Dibrompropionylchlorid lässt sich bequemer aus der α, β -Dibrompropionsäure mit Phosphorpentachlorid bereiten. Zu dem Zweck wird die Säure mit dem gleichen Gewicht Phosphorpentachlorid zusammengebracht, wobei bald Schmelzung und starke Salzsäureentwicklung eintritt. Nachdem noch $\frac{1}{4}$ Stunde auf dem Wasserbade erhitzt ist, wird die bräunliche Flüssigkeit mit wenig absolutem Aether vermischt, vom unbrauchten Pentachlorid abfiltrirt und unter stark vermindertem Druck fractionirt. Aether und Phosphoroxychlorid destilliren bei niedriger Temperatur, und das Dibrompropionylchlorid geht unter 12 mm Druck bei 71—73° über. Die Ausbeute betrug 85 pCt. der Theorie.

α, β -Dibrompropionyl-glycin, $\text{CH}_2\text{Br} \cdot \text{CHBr} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$.

Wird 1 g Glykocoll in 13 ccm Normal-Natronlauge gelöst und dazu bei 0° unter Schütteln abwechselnd eine ätherische Lösung von 3.3 g Dibrompropionylchlorid und 13 ccm Normal-Natronlauge zugefügt, so geht, abgesehen von dem Auftreten eines stechenden Geruchs, die Reaction ohne sichtbare Erscheinungen von statten.

Zum Schluss wird mit Salzsäure übersättigt und ausgeäthert. Aus der stark eingeengten ätherischen Lösung fällt auf Zusatz von Petroläther zuerst das Dibrompropionylglycin als farblose, krystallinische Masse aus. Später kann auch Dibrompropionsäure ausfallen. Die Ausbeute war allerdings wenig befriedigend. Sie betrug nur 0.5 g oder 13 pCt. der Theorie, wird sich aber hoffentlich noch durch Aenderung der Bedingungen verbessern lassen. Für die Analyse wurde das Präparat in Aether gelöst, durch Petroläther ausgefällt und über Schwefelsäure getrocknet.

0.3280 g Subst.: 22.75 ccm $\frac{1}{10}$ -n.-Br. — 0.1789 g Subst.: 7.4 ccm N (19°, 764 mm).

$\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_3\text{NBr}_2$. Ber. Br 55.36, N 4.85.

Gef. » 55.49, » 4.78.

Die Verbindung schmilzt bei 145—146° (corr. 147—148°) und zersetzt sich gegen 170° unter Gasentwicklung und Braunfärbung. Sie löst sich leicht in Wasser, Alkohol und Aceton, schwerer in Benzol und Chloroform und noch schwerer in Aether, wenn sie rein und krystallisirt ist. In Petroläther ist sie so gut wie unlöslich. Aus den meisten Lösungsmitteln krystallisirt sie in Nadeln oder dünnen Prismen. Durch Alkali, Alkalicarbonat und Ammoniak wird sie schon in kalter wässriger Lösung unter Abspaltung von Bromwasserstoff angegriffen. Ebenso erfolgt beim Kochen mit Silbernitratlösung Abscheidung von Bromsilber.

α, β -Dibrompropionyl-glycyl-glycin,
 $\text{CH}_2\text{Br} \cdot \text{CHBr} \cdot \text{CO} \cdot \text{NHCH}_2\text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2\text{H}$.

5 g salzsaures Glycylglycin werden in 53.6 ccm Normal-Natronlauge (2 Mol.) gelöst, dann in einer Kältemischung stark gekühlt und unter Schütteln abwechselnd 7 g Dibrompropionylchlorid und 40 ccm Normal-Natronlauge zugegeben. Wird die angesäuerte Flüssigkeit jetzt ausgeäthert, so gehen die regenerirte Dibrompropionsäure und andere Zersetzungsproducte in den Aether, während das Glycylglycin-derivat in der wässrigen Flüssigkeit bleibt und sich daraus beim Stehen in Eis krystallinisch abscheidet. Durch Einengen der Mutterlauge unter stark vermindertem Druck wurde noch eine zweite, aber ziemlich geringe Krystallisation erhalten. Die Ausbeute betrug 5.1 g oder 55 pCt. der Theorie.

Das Product wurde aus der 10-fachen Menge heissem Wasser umgelöst und über Schwefelsäure getrocknet.

0.2061 g Sbst.: 0.2255 g AgBr. — 0.1754 g Sbst.: 12.1 ccm N (16°, 766 mm).

$C_7H_{10}O_4N_2Br_2$. Ber. N 8.09, Br 46.24.

Gef. » 8.11, » 46.45.

Das Dibrompropionylglycylglycin schmilzt unter Zersetzung beim raschen Erhitzen gegen 180° (corr. 184°); es krystallisirt aus Wasser, worin es in der Kälte schwer löslich ist, in mikroskopisch kleinen, schief abgeschnittenen Prismen. In Aether, Petroläther, Benzol, Chloroform ist es so gut wie unlöslich; ziemlich schwer löst es sich in warmem Aceton und kaltem Alkohol, ziemlich leicht in warmem Alkohol.

Durch wässriges Ammoniak wird bald alles Brom abgespalten. Ebenso leicht als die Säure lässt sich ihr Ester nach folgendem Verfahren bereiten:

α, β -Dibrompropionyl-glycyl-glycinester.

6.2 g Glycylglycinester werden in 30 ccm Chloroform gelöst und dazu eine ätherische Lösung von 4.8 g Dibrompropionylchlorid in Aether gegeben. Unter Erwärmen fällt ein Oel aus, das bald erstarrt und ein Gemisch von salzsaurem Glycylglycinester mit der neuen Verbindung ist. Letztere bleibt aber auch in erheblicher Menge in der Mutterlauge. Wird diese verdampft und mit etwa 20 ccm Aether aufgenommen, so bleibt der darin schwer lösliche Dibrompropionylglycylglycinester zurück. Den Rest gewinnt man aus dem ersten Niederschlage durch Auslaugen mit 100 ccm Essigester, Verdunstung des Filtrats und Uebergiessen des Rückstandes mit Aether. Die Gesamtausbeute an Rohproduct betrug 4.8 g oder 66 pCt. der Theorie, da die Hälfte des angewandten Glycylglycinesters der Reaction als Hydrochlorat entzogen wird.

Zur Reinigung wurde der Ester aus der 20-fachen Menge heissem Wasser unter Zusatz von etwas Thierkohle umgelöst. Für die Analyse wurde über Schwefelsäure getrocknet.

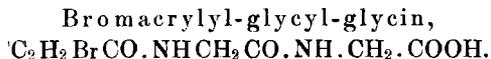
0.2012 g Sbst.: 0.2017 g AgBr. — 0.1936 g Sbst.: 12.4 ccm N (20° , 762 mm).

$C_9H_{14}O_4N_2Br_2$. Ber. Br. 42.78, N 7.49.

Gef. » 42.66, » 7.35.

Die Verbindung krystallisirt meist in kleinen Prismen; im Capillarrohr sintert sie gegen 145° und schmilzt bei $149-150^{\circ}$ (corr. $151-152^{\circ}$); sie ist leicht löslich in Alkohol, Chloroform und heissem Essigester, schwerer löslich in Benzol und Aether, fast unlöslich in Petroläther.

Bei der Behandlung mit kaltem Alkali wird der Ester nicht allein verseift, sondern verliert auch Bromwasserstoff, und es entsteht eine Säure von der Formel $C_7H_9O_4N_2Br$, die man wohl als die Combination von Glycylglycin und Bromacrylsäure betrachten kann, und die dementsprechend bezeichnet werden darf als



10 g Dibrompropionylglycylglycinester werden mit 60 ccm Normal-Natronlauge bei gewöhnlicher Temperatur geschüttelt, bis Lösung eingetreten ist, dann die Flüssigkeit mit 6 ccm $\frac{5}{1}$ -n. Salzsäure versetzt. Es bildet sich sofort ein krystallinischer Niederschlag, der nach einigem Stehen der auf 0^0 abgekühlten Lösung filtrirt und mit wenig kaltem Wasser gewaschen wird. Die Ausbeute betrug 85 pCt. der Theorie. Die Verarbeitung der Mutterlauge lohnt sich nicht.

Zur Reinigung wird die Säure aus der 10-fachen Menge kochendem Wasser umgelöst. Für die Analyse wurde im Vacuum getrocknet.

0.1853 g Sbst.: 0.2178 g CO_2 , 0.0591 g H_2O . — 0.1917 g Sbst.: 17.6 ccm N (18^0 , 746 mm). — 0.1416 g Sbst.: 12.8 ccm N (18^0 , 764 mm). — 0.1969 g Sbst.: 0.1389 g AgBr.

$C_7H_9O_4N_2Br$. Ber. C 31.69, H 3.39, N 10.56, Br 30.19.
Gef. » 32.05, » 3.54, » 10.41, 10.49, » 30.01.

Die Verbindung bräunt sich beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 190^0 und schmilzt unter Zersetzung gegen 198^0 (corr. 202^0). Sie krystallisirt in mikroskopisch kleinen Prismen. Sie löst sich ziemlich leicht in warmem Alkohol, aber schwer in Aceton, Chloroform und fast garnicht in Aether und Petroläther.

Die Säure reducirt in Natriumcarbonatlösung Permanganat momentan. Sie verliert ferner in ammoniakalischer Lösung schon in der Kälte Halogen. Ueber das hierbei entstehende Product soll später berichtet werden.

Auch bei dieser Untersuchung habe ich mich der überaus geschickten und thatkräftigen Mitwirkung meines Assistenten Dr. H. Leuchs erfreut, wofür ich ihm gerne meinen herzlichen Dank ausspreche.