

Die Vertiefung der Farbe wird hier vielmehr dadurch bedingt, dass die Anzahl der Aminmoleküle im Complexmolekül der Succinimidverbindungen allmählich abnimmt. Inwieweit die Farbe dieser Verbindungen von ihrer Constitution abhängt, muss vorläufig dahingestellt werden. Vielleicht spielt hierbei die Bindungsweise des Succinimidrestes mit dem Kupferatom auch eine gewisse Rolle. Andererseits darf aber auch nicht ausser Acht gelassen werden, dass durch Basicitätsabschwächung auch in manchen organischen Farbstoffen Vertiefung der Farbe¹⁾ erzielt werden kann.

Nachschrift.

In dem hier soeben eingetroffenen 9. Heft der »Berichte« befindet sich die Abhandlung von H. Ley, in welcher u. a. ebenfalls das Hexahydrat des Succinimidkupfers²⁾ beschrieben ist. Dasselbe wurde auf anderem Wege, als von mir, erhalten, jedoch erweisen sich die Eigenschaften als ganz dieselben.

516 Emil Fischer: Synthese von Polypeptiden. XIII. Chloride der Aminosäuren und Polypeptide und ihre Verwendung zur Synthese.

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

(Eingegangen am 11. August 1905.)

Durch Schütteln mit Acetylchlorid und Phosphorpentachlorid lassen sich manche Aminosäuren in chlorhaltige Producte verwandeln, die nach Zusammensetzung und Reactionen als die salzsauren Salze ihrer Chloride von der allgemeinen Formel $R \cdot CH(NH_3Cl) \cdot COCl$ aufzufassen sind. Speciell beschrieben wurden in der Mittheilung IX³⁾ die Derivate des racemischen Alanins, der Aminobuttersäure und des Leucins. Für die letzte Verbindung wurde dann ferner gezeigt, dass sie mit Glykocoll ester sich leicht zum Leucylglycinester verkuppeln lässt

Bei der weiteren Prüfung dieser vielversprechenden synthetischen Methode hat sich gezeigt, dass alle einfachen Aminosäuren unter

¹⁾ Vergl. Stock, Journ. für prakt. Chem. 47, 401. Kehrman, Arch. des sciences physiques et naturelles de Genève 10, 97.

²⁾ Das Hexahydrat ist von mir bereits vor einem Jahre in dem Journ. d. Russ. phys.-chem. Ges. beschrieben worden (Sitzungsbericht Nr. 5, Jahrg. 1904).

³⁾ Diese Berichte 38, 606 [1905].

richtig gewählten Bedingungen in die entsprechenden Chlorderivate verwandelt werden können. Genauer beschrieben sind im Nachfolgenden die Derivate des Glykocolls, *d*-Alanins und des racemischen Phenylalanins. Grössere Schwierigkeiten zeigten sich bei den Diamino- und Oxyamino-Säuren, weil hier als Nebenproducte wechselnde Mengen von phosphorhaltigen Substanzen entstehen. Dasselbe gilt für die Ester der Aminosäuren, deren heftige Reaction mit Phosphorpentachlorid schon in der Mittheilung IX erwähnt ist. Aehnlich den gewöhnlichen Aminen erzeugen sie dabei complicirte Phosphorverbindungen. Dagegen hat sich die Reaction auf zwei Polypeptide, das Leucyl-glycin und das Leucyl-glycyl-glycin, anwenden lassen.

Beide liefern Derivate mit 2 Chloratomen, die ich auch als die Hydrochlorate der Chloride von der Formel:



und $\text{C}_4\text{H}_9 \cdot \text{CH}(\text{NH}_3\text{Cl}) \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COCl}$ betrachte.

Alle diese Producte lassen sich verhältnissmässig leicht mit den Estern der Aminosäuren vereinigen; dabei entstehen zunächst Ester von höheren Polypeptiden, die durch Verseifung mit Alkali in die entsprechenden Peptide verwandelt werden können. So wurden aus den beiden zuvor erwähnten Substanzen durch Kuppelung mit Leucinester bezw. Glycinester das bisher unbekannte Leucyl-glycyl-leucin, $\text{C}_4\text{H}_9 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}(\text{C}_4\text{H}_9) \cdot \text{COOH}$ und das schon auf anderem Wege gewonnene Leucyl-diglycyl-glycin, $\text{C}_4\text{H}_9 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CO} \cdot (\text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO})_2 \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$, erhalten.

Auf dieselbe Art konnte das Phenylalanin in Phenylalanyl-glycin, $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$, verwandelt werden.

Besonders gute Dienste leistet diese Methode für den Aufbau von optisch-activen Polypeptiden, wie die Untersuchung des *d*-Alanins gezeigt hat. Durch Combination seines Chlorids mit dem Glykocoll-ester entsteht das stark drehende *d*-Alanyl-glycin, das optische Isomere des früher auf anderem Wege gewonnenen *l*-Alanyl-glycins¹⁾. Ferner liess sich durch Kuppelung mit *d*-Alaninester das bisher unbekannte *d*-Alanyl-*d*-alanin gewinnen, dessen Untersuchung aber noch nicht abgeschlossen ist.

Salzsaures Glycylchlorid, $\text{CH}_2(\text{NH}_3\text{Cl}) \cdot \text{COCl}$.

Nachdem manche Versuche, das gewöhnliche, aus Wasser krystallisirte Glykocoll in das salzsaure Chlorid zu verwandeln, fehlgeschlagen waren, führte eine zufällige Beobachtung auf den richtigen Weg.

¹⁾ E. Fischer und O. Warburg, Ann. d. Chem. 340, 165 [1905].

Es ist nur nöthig, das Glykocoll in wenig warmem Wasser zu lösen, dann durch einen grossen Ueberschuss von absolutem Alkohol rasch zu fällen, das so erhaltene Präparat sorgfältig bei 100° zu trocknen, zu pulverisiren und durch ein feines Haarsieb zu treiben.

Werden 10 g der so vorbereiteten Aminosäure mit 200 ccm frischem Acetylchlorid in einer Schüttelflasche übergossen, in Eiswasser gekühlt und dann unter kräftigem Schütteln 31 g frisches und rasch gepulvertes Phosphorpentachlorid in 2 Portionen zugegeben, so verwandelt sich das feine Pulver in ein krystallinisches Product, das in der Flüssigkeit fein vertheilt ist. Nachdem das Schütteln bei 0° etwa 20 Minuten gedauert hat, wird es auf der Maschine bei gewöhnlicher Temperatur erst eine Stunde und dann nach Zusatz von weiteren 3 g Phosphorpentachlorid noch 4 Stunden fortgesetzt. Nun filtrirt man in dem früher empfohlenen Apparate¹⁾, wäscht zuerst mit Acetylchlorid, später mehrmals mit trockenem Petroläther und trocknet im Vacuum über Phosphorsäureanhydrid.

0.1792 g Sbst.: 26.6 ccm $\frac{1}{10}$ -AgNO₃. — 0.1756 g Sbst.: 26.4 ccm $\frac{1}{10}$ -AgNO₃.

C₂H₅ONCl₂. Ber. Cl 54.6. Gef. Cl 52.7, 53.4.

Die analysirten Proben, die von verschiedenen Darstellungen herührten, waren frei von Phosphor. Die Differenz zwischen der gefundenen und der berechneten Chlormenge zeigt, dass die Präparate nicht ganz rein waren, aber die Annäherung ist doch andererseits so gross, dass man angesichts der Analogie mit den Derivaten der anderen Aminosäuren über die Zusammensetzung des Productes nicht zweifelhaft sein kann. Dazu kommt die Aehnlichkeit des Verhaltens. Uebergiesst man die Substanz mit dem mehrfachen Gewicht absoluten Alkohols, so tritt alsbald starke Erwärmung und Lösung ein, und bald nachher beginnt die Krystallisation des salzsauren Glykocoll-esters.

Die Ausbeute betrug 9 g, das ist nur 53 pCt. der Theorie; in der That geht ein erheblicher Theil des Glykocolls in ein Product über, das sich in Acetylchlorid löst. Es bleibt als dunkelrothes Oel zurück, wenn die Acetylchlorid-Mutterlauge bei geringem Druck verdampft wird, und lässt sich von dem anhaftenden Phosphoroxychlorid durch Waschen mit Petroläther trennen. Auch dieses Oel löst sich unter Erwärmen in Alkohol, und bei starkem Abkühlen scheidet sich aus der Flüssigkeit salzsaurer Glykocoll-ester ab; aber seine Menge ist verhältnissmässig gering.

Anders verläuft, wie schon erwähnt, die Wirkung des Phosphorpentachlorids auf Glykocoll, das aus Wasser krystallisirt ist.

¹⁾ Diese Berichte 38, 616 [1905].

Wird dieses nach scharfem Trocknen, Pulvern und Sieben ganz genau in der vorher angegebenen Weise mit Acetylchlorid und Phosphorpentachlorid behandelt, so geht der grösste Theil in Lösung. Der Rückstand ist ein schweres krystallinisches Pulver, dessen Menge nur 15—20 pCt. der angewandten Aminosäure beträgt, das sich nicht mit Alkohol erwärmt und dessen Chlorgehalt selbst hinter dem des salzsauren Glykocolls weit zurückbleibt.

Beim Verdampfen der Acetylchlorid-Mutterlauge bleibt ebenfalls ein dunkelrothes Oel, das durch Waschen mit Petroläther von dem anhaftenden Phosphoroxychlorid befreit werden kann. Es löst sich in Alkohol unter lebhafter Erwärmung, und aus dieser Flüssigkeit kann man durch Abkühlen bezw. Einengen salzsauren Glykocoll ester isoliren; aber seine Menge entspricht nur etwa 20 pCt. des angewandten Glykocolls. Es müssen also bei der Wirkung des Phosphorpentachlorids auf das Glykocoll andere Körper in erheblicher Menge entstehen, die durch Alkohol nicht glatt in Glykocoll ester zurückverwandelt werden.

Bevor deren Zusammensetzung bekannt ist, scheint es mir schwierig, den merkwürdigen Unterschied zwischen dem aus Wasser krystallisirten und dem mit Alkohol gefällten Glykocoll richtig zu beurtheilen. Am nächsten liegt der Gedanke, dass der Grad der Vertheilung hier eine Rolle spielt. Da aber die Pulverung und die Siebung in beiden Fällen ganz gleich war, so halte ich diese Erklärung doch nicht für ausreichend, und ich neige mehr zu der Ansicht, dass es sich um verschiedene Zustände des Glykocolls handelt, die auf Isomerie schliessen lassen. Ich will jedoch diese interessante Frage nicht eingehender behandeln, bis die thatsächlichen Beobachtungen ein vollkommeneres Bild geben.

Salzsaures *d*-Alanylchlorid, $\text{CH}_3\cdot\text{CH}(\text{NH}_3\text{Cl})\cdot\text{COCl}$.

Für die folgenden Versuche diente reines *d*-Alanin, das aus Seide gewonnen war. Verwendet man das aus Wasser krystallisirte Präparat, so bleibt die Chlorirung auch bei höchst fein gepulvertem Material recht unvollständig, und es gelang nicht, den Chlorgehalt über 41.5 pCt. zu bringen, während für das reine salzsaure Alanylchlorid 49.24 pCt. berechnet sind. Bessere Resultate wurden durch den Kunstgriff erzielt, der beim Glykocoll erwähnt ist; dementsprechend war das *d*-Alanin aus heisser, concentrirter, wässriger Lösung durch absoluten Alkohol gefällt, bei 100° getrocknet, dann nochmals gepulvert und durch ein Haarsieb getrieben.

5 g des so vorbereiteten *d*-Alanins werden mit 100 ccm frisch destillirtem Acetylchlorid übergossen, auf 0° abgekühlt und dazu in 2 Portionen 14 g rasch gepulvertes, frisches Phosphorpentachlorid unter kräftigem Schütteln

zugefügt. Das feine Pulver verwandelt sich dabei in eine krystallinische Masse, welche die ganze Flüssigkeit erfüllt. Das Schütteln wird zuerst bei 0° etwa 20 Minuten und dann bei gewöhnlicher Temperatur noch 3 Stunden fortgesetzt. Die Filtration und die weitere Behandlung des Productes erfolgt ebenso wie beim Glykocoll. Die Ausbeute beträgt etwa 6 g. Das so erhaltene Präparat ist auch noch nicht ganz rein, denn der Chlorgehalt bleibt 1½—2 pCt. unter dem berechneten, wie folgende maassanalytische Bestimmungen zeigen, bei denen das abgewogene Chlorid in kaltem Wasser gelöst und mit Silberlösung titirt wurde.

0.1780 g Sbst.: 23.75 ccm $\frac{1}{10}$ -AgNO₃. — 0.4430 g Sbst.: 59.58 ccm $\frac{1}{10}$ -AgNO₃.

C₃H₇ONCl₂. Ber. Cl 49.2. Gef. Cl 47.4, 47.8.

Behufs Prüfung, ob das Product noch optisch-activ sei, wurden 0.6366 g in ungefähr 5 ccm eiskaltem Wasser gelöst. Die Flüssigkeit wog 5.554 g, hatte das specifische Gewicht 1.0416 und drehte bei 20° im 1 dm-Rohr Natriumlicht 0.75° nach rechts. Hieraus berechnet sich für das im Präparat enthaltene salzsaure Alanin $[\alpha]_D^{20} + 7.23^\circ$, während der Werth für reines salzsaures *d* Alanin + 9.55° ist. Mit hin waren vom *d*-Alanin durch die Ueberführung in das Chlorid und dessen Rückverwandlung in die Aminosäure ungefähr 25 pCt. racemisirt worden.

Nimmt man den ungünstigsten Fall an, dass bei der Zersetzung des Chlorids durch Wasser gar keine Racemisirung erfolgt, so würde das salzsaure Alanylchlorid noch 75 pCt. des optisch-activen Körpers enthalten. Infolgedessen ist es für die Synthese von activen Dipeptiden, wie im Folgenden gezeigt wird, noch ein recht brauchbares Material.

Salzsaures Phenylalanylchlorid, C₆H₅.CH₂.CH(NH₃Cl).COCl.

Als Material diente synthetisches Phenylalanin, das aus Benzylmalonsäure gewonnen war¹⁾.

Uebergießt man 5 g der scharf getrockneten und sorgfältig pulverisirten Aminosäure mit 100 ccm frischem Acetylchlorid, kühlt in Eiswasser und fügt dann unter Schütteln 7.5 g frisches, rasch gepulvertes Phosphorpentachlorid in 2 Portionen zu, so findet die Hauptreaction ziemlich rasch statt, wie man an dem theilweisen Verschwinden des Phosphorpentachlorids beobachten kann. Dann aber geht der Process langsam weiter und erst nach 24-stündigem Schütteln auf der Maschine war die Chlorirung vollständig. Das Product war dann als feines Pulver in der Flüssigkeit suspendirt. Es wurde ebenso behandelt, wie das Präparat aus Glykocoll und war nach dem Trocknen ein farbloses, lockeres Pulver. Die Ausbeute betrug 5.2 g.

¹⁾ Diese Berichte 37, 3064 [1904].

0.1956 g Sbst.: 17.70 ccm $\frac{1}{10}$ -AgNO₃.

C₉H₁₁ONCl₂. Ber. Cl 32.3. Gef. Cl 32.1.

In Alkohol löst sich die Chlorverbindung sofort unter Erwärmung und liefert dabei in grosser Menge Phenylalaninester.

Salzsaures Leucyl-glycylchlorid,
C₄H₉.CH(NH₃Cl).CO.NH.CH₂.COCl.

Die Reaction verläuft unter genau den gleichen Bedingungen wie bei den einfachen Aminosäuren. Selbstverständlich muss auch das Dipeptid sehr fein gepulvert sein. Angewandt wurden 5 g Leucylglycin, 100 ccm Acetylchlorid und 6 g Phosphorpentachlorid. Anfangs löst sich das Dipeptid theilweise, aber bald nachher scheidet sich das Chlorid ab, indem es die Flüssigkeit als sehr feine Masse erfüllt. Nach 2-stündigem Schütteln auf der Maschine bei gewöhnlicher Temperatur wurde der Niederschlag wie gewöhnlich filtrirt, gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute ist fast quantitativ. Das Präparat enthielt aber etwas zu wenig Chlor.

0.2330 g Sbst.: 18.1 ccm $\frac{1}{10}$ -AgNO₃.

C₈H₁₆O₂N₂Cl₂. Ber. Cl 29.2. Gef. Cl 27.6.

Salzsaures Leucyl-glycyl-glycylchlorid,
C₄H₉.CH(NH₃Cl).CO.NH.CH₂.CO.NH.CH₂.COCl.

1 g Leucylglycylglycin, das bei 100⁰ getrocknet, dann fein gepulvert, durch ein Haarsieb getrieben und abermals getrocknet war, wurde mit 20 ccm Acetylchlorid übergossen, in Eiswasser gekühlt und unter Schütteln in 2 Portionen 1.1 g Phosphorpentachlorid zugegeben. Das Pentachlorid verschwindet bei kräftigem Schütteln zum grössten Theil ziemlich rasch, und in demselben Maasse verwandelt sich das Tripeptid in das Chlorid, das die Flüssigkeit als lockeres Pulver erfüllt. Später aber scheint die Reaction recht langsam zu gehen, denn selbst nach 24-stündigem Schütteln auf der Maschine bei gewöhnlicher Temperatur enthielt das Präparat, das in der gewöhnlichen Weise filtrirt, gewaschen und getrocknet war, noch 2 pCt. Chlor zu wenig.

0.2854 g Sbst.: 17.45 ccm $\frac{1}{10}$ -AgNO₃.

C₁₀H₁₉O₃N₃Cl₂. Ber. Cl 23.7. Gef. Cl 21.7.

Auch dieses Chlorid erwärmt sich mit Alkohol spontan, offenbar unter Bildung des Esters.

Verwandlung des salzsauren
Phenylalanylchlorids in Phenylalanyl-glycin.
C₆H₅.CH₂.CH(NH₂).CO.NH.CH₂.COOH.

Die Einwirkung des Chlorids auf den Glycinester vollzieht sich am besten in Chloroformlösung. Da es vortheilhaft ist, bei Ausschluss von Wasser zu arbeiten, so wird der Glycinester durch 12-stündiges Schütteln mit Baryumoxyd und das Chloroform durch Schütteln mit Phosphorsäureanhydrid getrocknet. Zu einer Mischung von 5 g Gly-

kocollester und 50 ccm Chloroform, die durch Eis gekühlt ist, fügt man unter starkem Schütteln im Laufe von etwa 15 Minuten in mehreren Portionen 5 g rasch gepulvertes, salzsaures Phenylalanylchlorid. Dieses löst sich anfangs, und wenn das Eintragen beendet ist, beginnt bald die Abscheidung eines Krystallbreies, der nach $\frac{1}{4}$ -stündigem Stehen abgesaugt und mit Chloroform gewaschen wird. Seine Menge betrug 3.9 g; er besteht zum grösseren Theil aus salzsaurem Glykocollester.

Beim Verdampfen des Chloroforms unter geringem Druck bleibt ein farbloser, dicker Syrup, der zur Entfernung von überschüssigem Glykocollester mehrmals mit Aether gewaschen wird. Der Rückstand enthält die Hydrochlorate von Phenylalanylglycinester und Glykocollester. Er wird in 20 ccm Methylalkohol gelöst. Bleibt diese Flüssigkeit einige Tage stehen, so scheidet sich Glycinanhydrid ab; da aber die vollständige Entfernung des Glykocollesters durch diese Verwandlung zu langsam geht, so bestimmt man in einem kleinen Theil der Lösung durch Titration den Chlorgehalt, und fügt zu der Hauptmenge in der Kälte die dem Chlor genau entsprechende Menge Natrium-methylat als verdünnte methylalkoholische Lösung. Zur Abscheidung des Kochsalzes verdampft man den grössten Theil des Methylalkohols unter geringem Druck, nimmt mit wenig Aethylalkohol auf, verdunstet das Filtrat wieder unter geringem Druck und wäscht den Rückstand zur Entfernung des Glykocollesters mit Petroläther. Dabei bleibt der Phenylalanyl-glycinester als Oel zurück. Da er schwer krystallisirt und auch keine schönen Salze bildet, so wurde er zur Verseifung mit 25 ccm Normalnatronlauge bis zur Lösung kräftig geschüttelt und die Flüssigkeit nach 2-stündigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur mit 25 ccm Normalschwefelsäure versetzt. Der hierbei ausfallende amorphe Niederschlag wurde durch Erwärmen gelöst, dann die Flüssigkeit mit Thierkohle aufgeköcht und das Filtrat auf dem Wasserbade eingedampft. Hierbei schied sich das Phenylalanyl-glycin schon in der Hitze krystallinisch ab. Es wurde mehrmals abfiltrirt und die Mutterlauge immer weiter bis auf etwa 5 ccm concentrirt. Die Ausbeute an Rohproduct, das frei von anorganischen Salzen war, betrug 2.75 g oder 60 pCt. der Theorie. Es wurde in ca. 50 ccm Wasser heiss gelöst, von einem geringen Rückstand filtrirt und die Flüssigkeit bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft; das Dipeptid schied sich dann beim Abkühlen in kleinen, farblosen Tafeln ab, die zur Analyse bei 100° getrocknet wurden.

0.1648 g Sbst.: 0.3609 g CO₂, 0.0964 g H₂O. — 0.1593 g Sbst.: 17.7 ccm N (23°, 758 mm).

C₁₁H₁₄O₃N₂. Ber. C 59.46, H 6.35, N 12.64.
Gef. » 59.72, » 6.54, » 12.56.

Die Substanz färbt sich im Capillarrohr beim raschen Erhitzen von 255° an braun und schmilzt dann gegen 273° (corr.) zu einer dunkelrothen Flüssigkeit.

In absolutem Alkohol ist sie recht schwer löslich; versetzt man die Lösung in heissem Wasser mit überschüssigem Alkohol, so bleibt sie anfangs klar, beim Erkalten und Reiben beginnt aber bald die Abscheidung von mikroskopischen, feinen Nadeln, die häufig zu derberen Aggregaten vereinigt sind.

Leichter als durch diese Synthese lässt sich das Phenylalanyl-glycin nach den Versuchen der HHrn. Webster und Blanck, die später beschrieben werden sollen, aus Glykocoll und α -Bromhydrozimmtsäurechlorid bereiten.

d-Alanyl-glycin.

5.8 g salzsaures *d*-Alanylchlorid wurden in eine auf 0° gekühlte Lösung von 8 g Glykocoll ester, der durch Baryumoxyd sorgfältig getrocknet war, in 80 ccm trockenem Chloroform in 5 Portionen eingetragen. Beim jedesmaligen kräftigen Schütteln ging das Chlorid fast völlig in Lösung. Die Mischung blieb dann bei Zimmertemperatur eine Stunde stehen, wobei manchmal Krystallisation des salzsauren Glykocoll esters stattfand. Sie wurde nun ohne Filtration unter stark vermindertem Druck verdampft, der Rückstand zuerst mit Petroläther gewaschen, dann in 50 ccm Methylalkohol gelöst und in einer kleinen Menge der Flüssigkeit das Chlor maassanalytisch bestimmt. Zu dem Haupttheil der Lösung fügte man nun die für das Chlor berechnete Menge einer verdünnten Natriummethylatlösung.

Nach einstündigem Stehen bei 0° wurde das Kochsalz abfiltrirt, die Flüssigkeit unter geringem Druck verdampft, und der Rückstand wieder zur Entfernung des freien Glykocoll esters mit Petroläther mehrmals sorgfältig gewaschen, dann mit 5 ccm absolutem Alkohol aufgenommen und die vom Kochsalz abfiltrirte Lösung mit Aether und viel Petroläther versetzt. Hierbei schied sich ein Oel ab, das nach einstündigem Stehen von der Lösung getrennt und zur Verseifung in 40 ccm kalter Normal-Natronlauge gelöst wurde. Diese Flüssigkeit blieb 1½ Stdn. bei Zimmertemperatur stehen, wurde dann nach Zusatz von 40 ccm Normal-Schwefelsäure unter vermindertem Druck stark eingedampft und zur Fällung des Natriumsulfats mit dem 5-fachen Volumen heissem Alkohol vermischt. Die heiss filtrirte Flüssigkeit schied beim Eindampfen auf dem Wasserbade schon in der Wärme das *d*-Alanyl-glycin krystallinisch ab. Es wurde nach dem Erkalten und Zusatz von Alkohol abfiltrirt. Die Ausbeute betrug 1.4 g oder 24 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte salzsaure Alanylchlorid.

Die alkoholisch-wässrige Mutterlauge hinterliess beim völligen Eindampfen auf dem Wasserbade einen dicken Syrup, der starke Biuret-färbung zeigte, aus dem aber kein krystallisirtes Dipeptid mehr gewonnen werden konnte.

Zur Reinigung wurde das Dipeptid in wenig warmem Wasser gelöst und durch heissen Alkohol wieder abgeschieden. Für die Analyse war es bei 100° getrocknet.

0.1445 g Sbst.: 0.2161 g CO₂, 0.0892 g H₂O. — 0.1513 g Sbst.: 25.9 cem N (23°, 758 mm).

C₅H₁₀O₃N₂ (Mol.-Gew. 146). Ber. C 41.10, H 6.85, N 19.18.

Gef. » 40.79, » 6.86, » 19.24.

Aus Wasser scheidet sich das Dipeptid bei Zusatz von warmem Alkohol in sehr verschiedener Form ab. Manchmal sind es lange Nadeln oder spiessartige Formen, manchmal federartige Gebilde, und unter anderen Umständen wieder compacte flächenreiche Krystalle, die vielfach zu Drusen verwachsen sind.

Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr schmilzt es unter Bräunung und Gasentwicklung gegen 235° (corr.). Es ist nahezu geschmacklos. In allen diesen Eigenschaften gleicht es durchaus dem früher beschriebenen¹⁾, auf ganz anderem Wege gewonnenen *l*-Alanylglycin; nur ist das Drehungsvermögen umgekehrt. Bei dem analysirten Präparate wurde beobachtet $[\alpha]_D^{20} + 48.7^\circ$, während für die *l*-Verbindung -48.6° gefunden ist. Als aber das Präparat noch dreimal umkrystallisirt war, stieg die Drehung auf $+ 50.2^\circ$ und blieb dann constant.

Eine Lösung von 0.3855 g Dipeptid in Wasser vom Gesamtgewicht 3.8827 g und dem specifischen Gewicht 1.034 drehte bei 20° im 1-Decimeter-Rohr 5.15° nach rechts. Daraus berechnet sich:

$$[\alpha]_D^{20} + 50.2^\circ.$$

Nach dieser Zahl dürfte auch der Weith für die specifische Drehung der *l*-Verbindung zu corrigiren sein.

Dass man das active Dipeptid durch Umkrystallisiren von dem Racemkörper, der zweifelsohne auch in dem Rohproduct enthalten ist, so völlig trennen kann, ist wohl dem glücklichen Umstande zuzuschreiben, dass es einen höheren Schmelzpunkt und auch eine geringere Löslichkeit hat als jener.

Auf die gleiche Art wie das active Alanyl-glycin lässt sich auch das *d*-Alanyl-*d*-alanin gewinnen, wenn man an Stelle von Glycinester *d*-Alaninester verwendet. Die betreffenden Versuche sind aber noch nicht ganz abgeschlossen und sollen deshalb erst später beschrieben werden.

Neue Synthese des Leucyl-glycyl-glycinesters,



4 g des zuvor beschriebenen salzsauren Leucylglycylchlorids wurden allmählich in eine mit Eis gekühlte Lösung von 3.6 g ganz trockenem Glykocoll-

¹⁾ Ann. d. Chem. 340, 165 [1905].

ester in 50 ccm reinem Aether eingetragen und die Mischung längere Zeit auf der Maschine geschüttelt. Der grösste Theil des Reactionsproductes befand sich in der ungelösten Masse. Sie wurde in 40 ccm Methylalkohol gelöst, mit der für das Chlor berechneten Menge einer Natriummethylatlösung versetzt, nach Zusatz des gleichen Volumens Aether vom Kochsalz filtrirt und unter geringem Druck verdampft. Es blieb ein fast farbloses Oel, das zur Entfernung des noch beigemengten Glykocollesters mit absolutem Aether tüchtig durchgeschüttelt wurde. Das jetzt bleibende Oel wurde mit absolutem Alkohol aufgenommen, eine geringe Menge Kochsalz abfiltrirt und die etwa auf ein Drittel eingedampfte Mutterlauge mit alkoholischer Salzsäure angesäuert. Auf Zusatz von wenig Aether und Abkühlen in einer Kältemischung schied sich das Hydrochlorat des Esters in mikroskopisch feinen Nadeln ab, die nach einiger Zeit abgesaugt und mit Aether gewaschen wurden. Zur Analyse war es nochmals in Alkohol gelöst, mit Aether gefällt und dann im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1540 g Sbst.: 0.2626 g CO₂, 0.1076 g H₂O. — 0.1534 g Sbst.: 5.0 ccm ¹/₁₀-AgNO₃.

C₁₂H₂₃O₄N₃.HCl. Ber. C 46.53, H 7.73, Cl 11.47.
Gef. » 46.50, » 7.80, » 11.57.

Das Salz sinterte beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 220° (corr.) und schmolz bei wenig höherer Temperatur (etwa 230°) unter Zersetzung.

Ich halte es für identisch mit dem früher beschriebenen Präparat¹⁾.

Die Ausbeute betrug nach obigem Verfahren nur 1.5 g. Voraussichtlich wird sie nach späteren Erfahrungen besser werden, wenn man die Wechselwirkung zwischen Chlorid und Ester in Chloroformlösung vor sich gehen lässt.

Leucyl-glycyl-leucin,
C₄H₉.CH(NH₂).CO.NH.CH₂.CO.NH.CH(C₄H₉).COOH.

Um den Ester dieses Tripeptids zu gewinnen, trägt man 3.5 g salzsaures Leucylglycylehlorid, das rasch gepulvert ist, in eine Lösung von 4.8 g Leucinäthylester in 50 ccm Aether unter Eiskühlung portionsweise ein. Beim tüchtigen Schütteln löst sich das Chlorid jedes Mal rasch auf und nach ca. 20 Minuten kann die Operation beendet sein. Um die Hydrochlorate zu zerlegen, fügt man zur ätherischen Lösung etwa 15 ccm Wasser und dann unter tüchtigem Schütteln allmählich Ammoniak bis zur alkalischen Reaction zu. Dabei scheidet sich aus dem Wasser vorübergehend ein dickes Oel ab, das aber von dem Aether völlig aufgenommen wird. Der ätherische Auszug wird schliesslich stark concentrirt und mit viel Petroläther versetzt. Dadurch wird der Leucyl-glycyl-leucinester gefällt, während der Leucinester in Lösung bleibt. Die Ausbeute betrug 3.5 g.

¹⁾ Diese Berichte 36, 2191 [1903].

Der Ester bildet ein schön krystallisirendes Nitrat. Um es zu gewinnen, löst man das Oel in ca. 30 ccm Aether und fügt 1 ccm ausgekochter starker Salpetersäure zu. Sofort beginnt dann die Ausscheidung des Nitrats, die durch Abkühlung in einer Kältemischung befördert wird. Das Salz wird nach einer halben Stunde filtrirt. Die Ausbeute betrug 2.8 g oder 50 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte salzsaure Leucyl-glycylchlorid.

Zur Analyse wurde das Nitrat in wenig warmem Alkohol gelöst, durch Aether gefällt und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1217 g Sbst.: 0.2182 g CO₂, 0.0872 g H₂O. — 0.1579 g Sbst.: 19.9 ccm N (24°, 758 mm).

C₁₆H₂₂O₇N₄. Ber. C 48.93, H 8.22, N 14.3.
Gef. » 48.90, » 8.01, » 14.2.

Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr beginnt das Salz gegen 147° (corr.) zu sintern und schmilzt unter Gasentwicklung gegen 160° (corr.).

Es krystallisirt aus Alkohol auf Zusatz von Aether in mikroskopisch kleinen Täfelchen und ist in Wasser sehr leicht löslich.

Will man das Tripeptid selbst gewinnen, so werden 4 g des rohen, öligen Esters mit 15 ccm Normal-Natronlauge etwa $\frac{3}{4}$ Stdn. auf der Maschine geschüttelt, bis klare Lösung entstanden ist. Dann ässt man noch etwa $\frac{1}{2}$ Stunde stehen und versetzt mit 15 ccm Normal-Mineralsäure. Beim längeren Stehen (10—20 Stdn.) fällt das Tripeptid krystallinisch aus. Es wird filtrirt und mit kaltem Wasser gewaschen. Die Ausbeute beträgt auch ca. 50 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte salzsaure Leucylglycylchlorid.

Zur Reinigung wird das Tripeptid ungefähr in der 10-fachen Menge Wasser suspendirt und Ammoniak zugegeben, wobei es sich bis auf eine kleine Trübung löst. Die Flüssigkeit wird mit etwas Thierkohle aufgekocht, dann filtrirt und auf dem Wasserbade verdampft, bis die Krystallisation des Tripeptides beginnt. Man lässt erkalten, filtrirt die Krystalle ab und verdampft die Mutterlauge weiter. Das so gewonnene Tripeptid bildet eine krystallinische Masse von wenig charakteristischer Form.

Im Capillarrohr rasch erhitzt, bräunt es sich gegen 245° (corr.) und schmilzt ungefähr 8° höher unter Zersetzung.

Für die Analyse war es bei 100° getrocknet.

0.1946 g Sbst.: 0.3958 g CO₂, 0.1583 g H₂O. — 0.2021 g Sbst.: 24.2 ccm N (20°, 765 mm).

C₁₄H₂₇O₄N₃. Ber. C 55.76, H 9.03, N 13.98.
Gef. » 55.50, » 9.10, » 13.86.

Neue Darstellung von Leucyl-diglycyl-glycin¹⁾.

Trägt man allmählich 4.5 g salzsaures Leucyldiglycylchlorid in eine durch Eis gekühlte Lösung von 3.3 g sorgfältig getrocknetem Glycinester in 80 ccm Chloroform ein, so geht beim Schütteln der allergrösste Theil in Lösung. Ohne zu filtriren, wird die Lösung unter geringem Druck eingedampft, wobei ein Gemisch von einem dicken Oel und einem festen Körper zurückbleibt.

Es wird zunächst mit Petroläther durchgeschüttelt, um den freien Glykocoll ester zu entfernen, dann der Rückstand mit 40 ccm trockenem Methylalkohol aufgenommen, von dem ungelösten Theil (ca. 1 g) filtrirt und die kalte Flüssigkeit mit der für das Chlor berechneten Menge einer Natriummethylatlösung versetzt. Man verdampft nun unter geringem Druck und schüttelt den Rückstand wieder wie zuerst mit Petroläther, um den Glykocoll ester zu entfernen. Das Ungelöste wird mit ca. 40 ccm absolutem Alkohol in der Kälte ausgelaut, die Lösung vom Kochsalz abfiltrirt und unter geringem Druck verdampft. Als Rückstand bleibt ein schwach gelbrothes Oel, das zum grössten Theil aus Leucyl-diglycyl-glycinester besteht. Zur Verseifung wird es mit 15 ccm Normal-Natronlauge bis zur Lösung geschüttelt und nach zwei-stündigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur mit 15 ccm Normal-Schwefelsäure neutralisirt.

Zur Abscheidung des Natriumsulfates verdampft man die Lösung auf etwa 5 ccm, versetzt in der Wärme mit dem 5-fachen Volumen absolutem Alkohol und filtrirt warm vom ausgefallten Sulfat. Die Mutterlauge hinterlässt beim Verdampfen auf dem Wasserbade einen anfangs öligen Rückstand, der durch mehrmaliges Abdampfen mit absolutem Alkohol fest wird.

Die Ausbeute an diesem Rohproduct betrug 2.35 g oder ca. 50 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte Chlorid. Zur Reinigung wird das Product in wenig Wasser gelöst, mit Thierkohle in der Wärme entfärbt, das Filtrat wieder stark auf dem Wasserbade concentrirt und bis zur Trübung mit warmem Alkohol versetzt. Beim Erkalten scheidet sich das Tetrapeptid in schönen, feinen Nadelchen ab, die für die Analyse im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet wurden.

0.1758 g Subst.: 0.3057 g CO₂, 0.1144 g H₂O.

C₁₂H₂₂O₅N₄. Ber. C 47.63, H 7.32.

Gef. » 47.42, » 7.26.

Das Tetrapeptid verhielt sich genau so, wie das früher beschriebene Product, und ist zweifelsohne damit identisch. Für die praktische Darstellung ist die ältere Methode vorzuziehen.

Zum Schluss sage ich Hrn. Dr. Ferd. Reuter für die werthvolle Hilfe bei obigen Versuchen besten Dank.

¹⁾ Diese Berichte 38, 611 [1905].