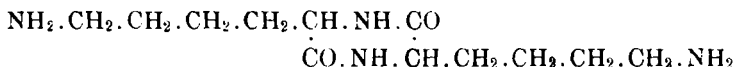


eine starke Base, die wir in Form des gut krystallisirenden Pikrats und Hydrochlorats analysirt haben, und die wir für ein Piperazin-derivat von der Formel:



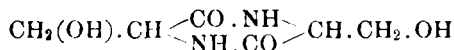
halten.

Als Zwischenproduct dürfte aber bei dem Vorgang auch der Methylester des Dipeptids entstehen. Darauf deuten wenigstens die Resultate, die wir erhielten, als der Lysinmethylester nur 2 Stunden auf 50° erbitzt wurde; denn es entsteht dann ein Syrup, aus dem man die Salze des Piperazinderivates nicht gut isoliren kann, der aber nach der Verseifung mit Alkali reichliche Mengen des Dipeptids des Lysins liefert.

Da das angewandte Lysin racemisch war, so konnten bei der Synthese des Anhydrids und des Dipeptids ebenfalls zwei racemische Stereoisomere entstehen.

Histidin-methylester giebt beim Erhitzen auf 100° auch ein schön krystallisirendes Product von der Formel $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_2$, das wir wiederum für ein Diketopiperazin halten, und das durch verdünntes Alkali zu dem entsprechenden Dipeptid aufgespalten wird.

Bei dem Methylester des Serins findet der gleiche Vorgang schon bei gewöhnlicher Temperatur statt, und da das benutzte Serin racemisch war, so haben wir ganz übereinstimmend mit der Theorie zwei isomere Producte von der Formel $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4$ isoliren können, die wir als Stereoisomere von der Structur:



betrachten. Sie werden ebenfalls von kaltem Alkali leicht gelöst, und es ist dadurch gelungen, auch ein Dipeptid des Serins zu gewinnen.

Bei dem Isoserin, welches die Aminogruppe in der β -Stellung enthält, ist die Bildung des Diketopiperazins nicht möglich. In Uebereinstimmung damit verwandelt sich der Isoserin-methylester bei gewöhnlicher Temperatur in ein festes Product, das wir als Methylester des Dipeptids von der Formel:



ansetzen, denn es lässt sich durch Verseifen mit Alkali leicht in das Dipeptid umwandeln.

Die Nomenclatur der neuen Producte wollen wir, soweit es möglich ist, derjenigen der einfachen Polypeptide anpassen. Wir nennen deshalb die Dipeptide: Lysyl-lysin, Histidyl-histidin, Serylserin, Isoseryl-isoserin, und die dazu gehörigen Diketopiperazine: Lysin-anhydrid, Histidin-anhydrid und Serin-anhydrid. Eine Ausnahme

ist nur bei der Diaminopropionsäure unvermeidlich, weil hier zu monströse Namen resultiren würden; wir bezeichnen deshalb ihr Derivat als Diaminopropionsäure-Dipeptid.

Besonders complicirten Verhältnissen sind wir beim Arginin begegnet. Sein Methylester verwandelt sich auch schon bei gewöhnlicher Temperatur im Laufe von wenigen Stunden in einen dicken Syrup, aus dem wir in reichlicher Menge ein verhältnissmässig schön krystallisirendes Pikrat bezw. Nitrat isoliren konnten. Aber dieser Körper scheint kein einfaches Dipeptid zu sein, denn die Analyse des Nitrats hat ziemlich stark abweichende Werthe gegeben, und es ist uns auch nicht gelungen, die Base durch Kochen mit Säuren in Arginin zurückzuverwandeln. Wir müssen deshalb die Frage nach der Zusammensetzung dieser Base vorläufig unentschieden lassen, werden aber bei dem grossen Interesse, das gerade die peptidartigen Derivate des Arginins darbieten, die Versuche wiederholen und vervollständigen.

Die Ester der Diaminosäuren, die als Ausgangsmaterial dienen: waren bisher im freien Zustand nicht bekannt. Dagegen sind die Hydrochlorate von Diaminopropionsäureäthylester und Histidinmethylester einerseits von Curtius und Müller¹⁾ und andererseits von Pauly²⁾ vor kurzer Zeit beschrieben worden.

Diaminopropionsäure-methylester.

Die Verbindung ist als Hydrochlorat viel leichter darzustellen, als das von Curtius beschriebene Salz des Aethylesters.

Suspendirt man 5 g salzsaure Diaminopropionsäure oder die entsprechende Menge Bromwasserstoffsalz in 250 ccm trockenem Methylalkohol und leitet ohne Kühlung trocknes Salzsäuregas bis zur Sättigung ein, so findet klare Lösung statt. Wird dann unter stark vermindertem Druck eingeengt, so scheidet sich das Hydrochlorat des Methylesters krystallinisch ab. Um die Krystallisation zu vervollständigen, fügt man ziemlich viel Aethylalkohol zu und lässt einige Stunden bei 0° stehen. Die Krystalle werden abgesaugt und mit Alkohol und Aether gewaschen. Aus der Mutterlauge lässt sich durch Verdampfung im Vacuum noch eine kleine Menge desselben Salzes gewinnen. Die Gesamtausbeute betrug 76 pCt. der Theorie. Für die Analyse wurde bei 80° im Vacuum getrocknet.

0.1953 g Sbst.: 0.2901 g AgCl.

$C_4H_{10}N_2O_2 \cdot 2HCl$. Ber. Cl 37.11. Gef. Cl 36.72.

Im Capillarrohr rasch erhitzt, schmilzt das Salz nicht ganz scharf gegen 166° (corr.) unter starkem Schäumen und Braunfärbung. Es löst sich in Wasser sehr leicht, in Methylalkohol schon viel schwerer

¹⁾ Diese Berichte 37, 1278 [1904].

²⁾ Zeitschr. für physiolog. Chem. 42, 514.

und in Aethylalkohol sehr schwer; in Aether, Chloroform, Benzol ist es so gut wie unlöslich.

Die Verwandlung des Salzes in den freien Ester hat einige Schwierigkeiten gemacht. Die Zersetzung mit Silberoxyd ist nicht rathsam, weil das Chlorsilber durch den stark basischen Ester in Lösung gehalten wird, und die Methode, die bei den Estern der Monoaminosäuren so gute Resultate liefert, d. h. Zerlegen des Salzes in concentrirter wässriger Lösung mit Alkali unter Zusatz von Kaliumcarbonat und Ausschütteln mit Aether, giebt hier eine sehr schlechte Ausbeute. Wir haben deshalb die Zerlegung des Hydrochlorats in methylalkoholischer Lösung mit der berechneten Menge Natrium-methylat ausgeführt und dadurch ein sehr befriedigendes Resultat erzielt.

10 g fein gepulverter, salzsaurer Methylester werden mit einer Lösung von 2.41 g Natrium in 120 ccm trockenem Methylalkohol 5—10 Minuten geschüttelt, bis Umsetzung erfolgt ist; dann versetzt man mit der dreifachen Menge absolutem Aether, lässt einige Stunden stehen, bis durch Abscheidung des Chlornatriums die Flüssigkeit geklärt ist, filtrirt und verdampft unter stark vermindertem Druck bei einer Temperatur, die nicht über 35° hinausgeht. Der zurückbleibende Ester bildet einen fast farblosen, stark alkalisch reagirenden Syrup, der in Wasser und Alkohol sehr leicht, in Aether aber sehr schwer löslich ist und durch Salzsäure in das ursprüngliche Product zurückverwandelt wird.

Diaminopropionsäure-dipeptid-methylester.

Die Verwandlung des zuvor beschriebenen freien Methylesters in das Dipeptid erfolgt schon bei Zimmertemperatur im Laufe von einigen Tagen. Dasselbe erreicht man bei 100° in einer Stunde, nur muss beim Erhitzen der Zutritt von Wasser vermieden werden. Die Operation wird deshalb am besten im geschlossenen Rohr ausgeführt. Der ursprünglich fast farblose Ester färbt sich schwach braun und verwandelt sich in einen dicken Syrup, der in Wasser äusserst leicht, aber in absolutem Alkohol sehr schwer löslich ist. Beim Verreiben des Rohproductes mit Aethylalkohol geht der Syrup in eine fast weisse, feste, aber amorphe Masse über, die sich filtriren und mit Alkohol und Aether waschen lässt, aber an feuchter Luft zerfliesst und stark alkalisch reagirt. Für die Reinigung haben wir das Pikrat oder Hydrochlorat benutzt.

Um das erste Salz darzustellen, löst man das Dipeptid in möglichst wenig kaltem Wasser und setzt alkoholische Lösung von Pikrinsäure so lange zu, als noch ein Niederschlag entsteht. Auf die Menge des Dipeptidesters, die aus 10 g salzsaurem Diaminopropionsäuremethylester erhalten wird, braucht man ungefähr 9 g Pikrinsäure. Ein Ueberschuss derselben schadet aber nichts, da er leicht entfernt werden kann. Das ausfallende Pikrat ist zuerst ein amorpher, gelber Niederschlag, verwandelt sich aber im Laufe einiger

Stunden in eine harte, krystallinische Masse, die abgesaugt und mit Alkohol und Aether gewaschen wird. Die Ausbeute an Pikrat betrug aus obigen 10 g Ausgangsmaterial 11.65 g oder 67 pCt. der Theorie. Zur Reinigung wird das Salz zuerst mit Aether fein zerrieben und dann mit absolutem Alkohol, worin es fast unlöslich ist, ausgekocht. Zum Umkrystallisiren dient dann 50-procentiger Alkohol. Es hat sich dabei als zweckmässig erwiesen, zuerst mit einer verhältnissmässig kleinen Menge des Lösungsmittels (auf 1 Th. Pikrat etwa 15 Th.) auszukochen, wobei der grösste Theil der Verunreinigungen in Lösung geht, und dann den reineren Rückstand vollends in dem kochenden, 50-procentigen Alkohol aufzulösen, wovon ungefähr noch 70 Theile nöthig sind. Aus der erkalteten Flüssigkeit scheidet sich das Pikrat langsam als gelbe, leichte, krystallinische Masse ab. Zur Analyse wurde nochmals in derselben Weise umkrystallisirt und im Vacuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet.

0.1271 g Sbst.: 0.1600 g CO₂, 0.0417 g H₂O. — 0.1074 g Sbst.: 19.2 ccm N (18°, 776 mm).

(C₇H₁₆N₄O₃)(C₆H₃N₃O₇)₂. Ber. C 34.44, H 3.33, N 21.15.

Gef. » 34.33, » 3.64, » 21.12.

Das Salz hat keinen constanten Schmelzpunkt. Beim Erhitzen im Capillarrohr sinkt es schon von 100° an etwas zusammen, färbt sich zwischen 170—180° dunkler und schmilzt zwischen 200° und 210° unter Aufschäumen. Es ist in kaltem Wasser ziemlich schwer, in warmem leicht löslich. Von heissem Alkohol wird es nur sehr wenig und von Aether, Benzol, Chloroform so gut wie garnicht gelöst.

Um das Pikrat in Hydrochlorat zu verwandeln, suspendirten wir 2.65 g in 10 ccm kaltem Wasser und 8 ccm Normalsalzsäure und verrieben dann sorgfältig in einem Mörser. Die ausgeschiedene Pikrinsäure wurde mehrmals ausgeäthert, dann die entfärbte Flüssigkeit möglichst rasch bei niederer Temperatur eingeeengt, um Verseifung zu vermeiden, und schliesslich mit absolutem Alkohol gefällt. Das Hydrochlorat wird so als weisses, amorphes Pulver erhalten, das sich mit Alkohol und Aether waschen lässt. Die Ausbeute betrug 1.04 g oder 93 pCt. der Theorie. Zur Reinigung wurde es nochmals in wenig Wasser gelöst, mit Thierkohle geschüttelt und aus dem Filtrat durch Methylalkohol und Aether gefällt. Für die Analyse wurde es im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1688 g Sbst.: 0.1847 g CO₂, 0.0979 g H₂O. — 0.1332 g Sbst.: 23.1 ccm N (17°, 770 mm). — 0.0844 g Sbst.: 0.0881 g AgCl.

C₇H₁₆N₄O₃·2HCl. Ber. C 30.32, H 6.50, N 20.22, Cl 25.63.

Gef. » 29.85, » 6.44, » 20.39, » 25.8.

Das Hydrochlorat ist ein fast weisses, ziemlich schweres Pulver, das aber keine deutliche Krystallform zeigt und keinen Schmelzpunkt hat. Im Capillarrohr fängt es schon gegen 90° an, zu sintern und schwillt gegen 135° stark auf. Es ist in Wasser sehr leicht, in Methylalkohol und Aethylalkohol aber sehr schwer und in Aether, Benzol fast garnicht löslich. Die wässrige Lösung reagirt auf Lakmus.

sauer und giebt mit Phosphorwolframsäure einen dicken, amorphen Niederschlag, der sich bei gelindem Erwärmen in ein schweres, körniges Pulver verwandelt. Chloroplatinat und Aurochlorat sind in Wasser leicht löslich. Das erste wird durch Alkohol als undeutlich krystallinisches Pulver gefällt. Das zweite scheidet sich schon beim Abkühlen aus der concentrirten, wässrigen Lösung als dicker, gelber Syrup ab.

Wie schon in der Einleitung erwähnt, besteht die Möglichkeit, dass unsere Präparate Gemische von Isomeren sind.

Diaminopropionsäure-dipeptid.

Wird das zuvor erwähnte Hydrochlorat des Dipeptid-methylesters mit Wasser eine Stunde auf 80° erhitzt, so findet Verseifung statt. Aber die Reaction ist nicht vollständig und verläuft auch nicht glatt. Viel bessere Resultate erhält man bei der Verseifung mit Alkali in gewöhnlicher Temperatur. Es ist dann auch nicht nöthig, erst die Salze des Dipeptid-methylesters darzustellen, sondern man kann direct das rohe Condensationsproduct verarbeiten. Dementsprechend gestaltet sich die Darstellung des Diaminopropionsäure-dipeptids folgendermaassen:

Der aus 5 g Hydrochlorat in der zuvor beschriebenen Weise dargestellte freie Diaminopropionsäure-methylester wird als Syrup zuerst zwei Tage bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt, wobei schon partielle Condensation stattfindet und dann zum Schluss noch eine Stunde auf 90° erhitzt. Das Product ist ein brauner Syrup, der zuerst mit absolutem Alkohol bei etwa 60° digerirt wird, wobei nur ein kleiner Theil in Lösung geht. Der unlösliche Rückstand wird sofort in 15 ccm Wasser gelöst und die Flüssigkeit nach Zusatz von 15 ccm Normalnatronlauge zwei Stunden bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt. Dann fügt man zur Neutralisation des Alkalis 15 ccm farblose Normaljodwasserstoffsäure zu, schüttelt in der Kälte mit etwas Thierkohle und verdampft das Filtrat unter sehr stark vermindertem Druck bei möglichst niedriger Temperatur zum Syrup. Dieser ist durch wenig freies Jod gelblich-braun gefärbt. Er wird zur Entfernung des Jodnatriums mehrmals mit absolutem Alkohol sorgfältig ausgekocht; hierbei bleibt das Dipeptid als zähe, gummiartige Masse zurück, die durch Spuren von Jod gelb bis bräunlichgelb gefärbt sein kann. Es löst sich sehr leicht in Wasser und reagirt stark alkalisch. Von den Salzen haben wir das Pikrat und das Hydrochlorat genauer untersucht.

Pikrat. Das aus 5 g salzsaurem Diaminopropionsäure-methylester gewonnene Dipeptid wird in 30 ccm Wasser gelöst, mit Thierkohle geklärt und zum Filtrat eine Lösung von 5.7 g reiner Pikrinsäure in 30 ccm absolutem

Alkohol zugegeben. Der sofort ausfallende, gelbe, krystallinische Niederschlag wird abgesaugt und mit absolutem Alkohol, später mit Aether gewaschen. Die Ausbeute beträgt ungefähr 6 g oder 75 pCt. der Theorie, berechnet auf den angewandten Diaminopropionsäure-methylester. Zur Reinigung des Salzes haben wir 5 g dieses Rohproductes zuerst zwei Mal mit je 50 ccm 50-procentigem Alkohol ausgekocht, heiss filtrirt, mit demselben Alkohol nachgewaschen, dann den Rückstand in kochendem, 50-procentigem Alkohol gelöst und die filtrirte Flüssigkeit bei 0° der Krystallisation überlassen. Die ausgeschiedene Masse wurde für die Analyse nochmals aus heissem, 50-procentigem Alkohol umgelöst und im Vacuum bei 80° getrocknet.

0.1940 g Sbst.: 0.2347 g CO₂, 0.0566 g H₂O. — 0.108 g Sbst.: 20.4 ccm N (24°, 760 mm).

(C₆H₁₄N₄O₃)(C₆H₃N₃O₇)₂. Ber. C 33.53, H 3.09, N 21.60.

Gef. » 33.00, » 3.25, » 21.31.

Das Salz enthält mithin auf ein Dipeptid zwei Mol. Pikrinsäure. Es ist ein citronengelbes, undeutlich krystallinisches Pulver und hat keinen scharfen Schmelzpunkt. Im Capillarrohre fängt es bei 200° an, zu sintern und sich braun zu färben, und schmilzt beim raschen Erhitzen gegen 222° (corr.) unter Aufschäumen. In kaltem Wasser ist es sehr schwer löslich; beim Kochen damit löst es sich theilweise, und der andere Theil schmilzt zu einem Oel. In absolutem Alkohol ist es auch sehr schwer löslich; leichter wird es, wie zuvor erwähnt, von heissem, 50 procentigem Alkohol aufgenommen. In warmem Aceton löst es sich auch verhältnissmässig leicht, dagegen ist es in Aether, Essigester, Benzol und Petroläther fast unlöslich.

Hydrochlorat. Das Salz kann sowohl aus dem gereinigten Pikrat, wie direct aus dem rohen Dipeptid bereitet werden.

Im ersten Falle löst man eine abgewogene Menge des Pikrats in heissem 50-procentigem Alkohol, kühlt auf etwa 60° ab und fügt, bevor Krystallisation eintritt, die berechnete Menge Salzsäure hinzu. Dann kühlt man sofort stärker auf gewöhnliche Temperatur und schüttelt diese Lösung wiederholt mit grösseren Mengen Aether aus, bis alle Pikrinsäure dadurch entfernt ist. Das Hydrochlorat des Dipeptids bleibt hierbei in der wässrigen Flüssigkeit. Diese wird zuerst durch Schütteln mit etwas Thierkohle völlig entfärbt und dann unter sehr geringem Druck verdampft. Das Hydrochlorat bleibt als krystallinische Masse zurück, die mit Alkohol und Aether gewaschen wird. Die Ausbeute ist nahezu quantitativ. Für die Analyse wurde das Präparat nochmals in sehr wenig Wasser gelöst, durch Alkohol gefällt und im Vacuum bei 80° getrocknet.

0.1688 g Sbst.: 0.1683 g CO₂, 0.0956 g H₂O. — 0.128 g Sbst.: 0.1378 g AgCl.

C₆H₁₄N₄O₃·2HCl. Ber. C 27.38, H 6.08, Cl 27.00.

Gef. » 27.19, » 6.29, » 26.63.

Das Salz enthält also ebenso wie das Pikrat zwei Moleküle Säure. Es hat keinen constanten Schmelzpunkt. Im Capillarrohr zersetzt es

sich über 250° unter Bräunung und Schmelzung. Es löst sich sehr leicht in kaltem Wasser und reagirt ziemlich stark sauer. An feuchter Luft aufbewahrt, zerfließt es allmählich. In Alkohol, Aether, Benzol ist es so gut wie unlöslich.

Die wässrige Lösung giebt mit überschüssigem Alkali und Kupfer-salzen die Biuretfärbung, und diese ist selbst bei den reinsten Präparaten so stark, dass sie nicht durch eine Beimengung von höherem Peptid verursacht zu sein scheint. Wir heben das hervor, weil die Biuretfärbung bei den einfachen Dipeptiden nicht auftritt.

Wird das Salz mit der 10-fachen Menge 20-procentiger Salzsäure 5—6 Stunden am Rückflusskühler gekocht, so scheint völlige Spaltung in Diaminopropionsäure einzutreten. Wir haben letztere als Methyl-ester-hydrochlorat isolirt (ber. Cl 37.11; gef. Cl 36.77) und 70 pCt. der Theorie erhalten, während bei Anwendung von reinem Diamino-propionsäure-hydrochlorat die Ausbeute 76 pCt. betrug.

Wie oben erwähnt, kann das Hydrochlorat auch aus dem rohen Diamino-propionsäure-Dipeptid direct gewonnen werden. Man löst dann das möglichst von Jodnatrium befreite Präparat zuerst in sehr wenig Wasser, fällt mit absolutem Alkohol, löst nach Entfernung der Mutterlauge wieder in wenig Wasser, fügt einen kleinen Ueberschuss von Salzsäure hinzu und fällt jetzt das Hydrochlorat durch Alkohol. Zur Reinigung des Salzes werden die Lösung in Wasser und die Fällung mit Alkohol wiederholt. Bei diesem abgekürzten Verfahren beträgt die Ausbeute ungefähr die Hälfte des angewandten salz-sauren Diaminopropionsäure-methylesters.

Lysin-methylester (inactiv), $C_6H_{13}N_2O_2 \cdot CH_3$.

Für die nachfolgenden Versuche diente synthetisch gewonnenes racemisches Lysin, von dem uns Hr. Dr. F. Weigert eine grössere Menge gütigst zur Verfügung gestellt hat. Wir werden sie aber mit der activen Base wiederholen. Suspendirt man 5 g Lysinchlorid in 200 ccm Methylalkohol und leitet Salzsäuregas bis zur Sättigung ein, so geht das Salz bald in Lösung, und nach kurzer Zeit beginnt schon die Krystallisation des salzsauren Methylesters. Um sie zu vervollständigen, fügt man nach dem Erkalten die gleiche Menge Aether zu und lässt einige Stunden stehen. Die farblose Krystallmasse, die meistens aus schief abgeschnittenen Prismen besteht, wird abgesaugt und mit Alkohol und Aether gewaschen. Die Ausbeute betrug mehr als 90 pCt. der Theorie.

Für die Analyse wurde das Salz nochmals in heissem Methylal-
kohol gelöst, durch Aether wieder gefällt und im Vacuum bei 80°
getrocknet.

0.1168 g Sbst.: 11.7 ccm N (18°, 769 mm). — 0.1445 g Sbst.: 0.1794 g
AgCl.

$C_7H_{16}N_2O_2 \cdot 2HCl$. Ber. N 12.02, Cl 30.47.

Gef. » 11.76, » 30.69.

Das Salz ist in Wasser sehr leicht löslich. Die Löslichkeit nimmt dann successiv ab für Methylalkohol, Aethylalkohol und Aceton, und in Aether, Benzol ist es so gut wie unlöslich. Es schmilzt nicht scharf unter starkem Aufschäumen beim raschen Erhitzen gegen 218° (corr.), während das entsprechende Lysinhydrochlorat schon bei 167° (corr.) schmilzt.

Lysin-anhydrid (inactiv).

2 g salzsaurer Lysinmethylester werden in 25 ccm warmem Methylalkohol gelöst und nach dem Erkalten mit 19.7 ccm einer Lösung versetzt, die aus 2 g Natrium und 100 ccm Methylalkohol bereitet ist; dann wird die ganze Flüssigkeit mit dem dreifachen Volumen reinem Aether vermischt, wobei das Natriumchlorid ausfällt. Wird die nach einigen Stunden filtrirte Flüssigkeit unter stark vermindertem Druck verdampft, so bleibt der Lysinmethylester als fast farbloser, alkalisch reagirender Syrup zurück. Zur Umwandlung in das Anhydrid erhitzt man ihn im Einschlussrohr zwei Stunden auf 100° , wobei er sich in eine schwach braune, zähflüssige Masse verwandelt. Diese wurde mit Aether gewaschen und diente dann zur Darstellung des Pikrats und Hydrochlorats, die beide krystallisiren. Zur Bereitung des ersten Salzes löst man das rohe Lysin-anhydrid in wenig warmem Aethylalkohol und fügt eine alkoholische Lösung von Pikrinsäure zu. Von dieser genügen 2.5 g, wenn man von 2 g salzsaurem Lysinmethylester ausgegangen ist. Das Pikrat des Lysin-anhydrids ist in Alkohol löslich. Es wird deshalb durch Aether gefällt und bildet eine schöne, gelbe, krystallinische Masse. Die Ausbeute betrug auf obige Menge Ausgangsmaterial berechnet 2.11 g oder 70 pCt. der Theorie.

Zur völligen Reinigung wurde das Salz aus wenig heissem Wasser umkrystallisirt und für die Analyse im Vacuum bei 80° getrocknet.

0.1597 g Sbst.: 0.2354 g CO_2 , 0.0610 g H_2O . — 0.1125 g Sbst.: 18.9 ccm N (18° , 762 mm).

$C_{12}H_{24}N_4O_2 \cdot (C_6H_3N_3O_7)_2$. Ber. C 40.33, H 4.20, N 19.61.

Gef. » 40.20, » 4.24, » 19.46.

Das Salz krystallisirt aus Wasser in gelben, kleinen Prismen oder Platten. Im Capillarrohr rasch erhitzt, fängt es gegen 210° an, sich dunkel zu färben, und schmilzt unter Zersetzung gegen 230° (corr.). Es löst sich in warmem Wasser leicht, in kaltem erheblich schwerer; in Methyl- und Aethyl-Alkohol ist es besonders in der Wärme ziemlich leicht löslich, dagegen wird es von Aether und Petroläther äusserst schwer aufgenommen.

Um das entsprechende Hydrochlorat darzustellen, löst man das rohe Lysinanhydrid in Methylalkohol und leitet in der Kälte vorsichtig Salzsäuregas ein. Dadurch wird das Hydrochlorat als weisse Masse gefällt, die abgesaugt und mit Aether gewaschen wird. Bei Anwendung von 2 g salzsaurem Methylester betrug die Ausbeute 3.3 g oder 91 pCt. der Theorie. Für die Analyse wurde das Salz nochmals in Alkohol gelöst, durch Benzol wieder gefällt und im Vacuum bei 80° getrocknet.

0.1751 g Sbst.: 0.2790 g CO₂, 0.1245 g H₂O. — 0.1152 g Sbst.: 0.1004 g AgCl.

(C₁₂H₂₄N₄O₂).2HCl. Ber. C 43.77, H 7.90, Cl 21.58.
Gef. » 43.46, » 7.90, » 21.55.

Das gleiche Salz erhält man aus dem Pikrat, indem man dieses in verdünntem Alkohol löst, durch die berechnete Menge Salzsäure zerlegt, durch Ausäthern die Pikrinsäure entfernt und die wässrige Lösung im Vacuum verdampft. Das Hydrochlorat bildet feine, farblose Nadeln, die im Capillarrohr rasch erhitzt, bei 225° anfangen, sich schwarz zu färben, dann sintern und bei höherer Temperatur unter Aufschäumen schmelzen. Es ist spielend leicht löslich in Wasser und reagirt auf Lakmus schwach sauer. Es löst sich auch leicht in Methyl- und Aethyl-Alkohol; dagegen ist es fast unlöslich in Aether Benzol, Chloroform und Petroläther.

Lysyl-lysin (inactiv), C₁₂H₂₆O₃N₄.

Lysinmethylester, der aus 3 g Hydrochlorat in der zuvor angegebenen Weise dargestellt war, wurde 2 Stunden auf 50° erwärmt. Der hierbei entstehende, ganz schwach braune Syrup besteht wahrscheinlich zum grösseren Theil aus Lysyl-lysin-methylester, enthält aber vielleicht auch kleine Mengen des Anhydrids. Zur Umwandlung in das Dipeptid wurde er in 30 ccm n-Natronlauge gelöst und 15 Stunden bei 12—15° aufbewahrt, um einerseits den Ester zu verseifen und andererseits das etwa vorhandene Anhydrid aufzuspalten. Zur Neutralisation des Alkalis gaben wir dann 30 ccm n-Salzsäure zu, versetzten diese Flüssigkeit ohne weiteres mit 4 g gepulverter Pikrinsäure und erwärmten gelinde bis zur klaren Lösung. Beim Abkühlen in Eis schied sich aus der Flüssigkeit ein Pikrat in feinen, gelben Krystallen ab, die abgesaugt und zwei Mal aus Wasser oder 50-procentigem Alkohol unter gelindem Erwärmen umgelöst wurden. Die Menge des rohen Pikrats betrug 3.5 g, die sich durch das zweimalige Umkrystallisiren auf 2.1 g verminderte. Das feine, gelbe Pulver zeigte unter dem Mikroskop keine charakteristischen Formen; es besteht grösstentheils aus kleinen Körnchen. Es besitzt auch keinen scharfen

Schmelzpunkt, denn es verwandelt sich gegen 70° allmählich in gelbes Oel. Das hängt mit dem Gehalt an Krystallwasser zusammen, welches bei 80° im Vacuum völlig entweicht.

0.1233 g wasserhaltiges Salz verloren bei 80° im Vacuum 0.0062 g = 5 pCt.

Bei dem Entweichen des Wassers erstarrt das Salz in der Hitze wieder krystallinisch. Ein bei 80° im Vacuum völlig getrocknetes Präparat fing von 170° an zu sintern, schmolz gegen 185° (corr.) zu einem hellbraunrothen Oel und zersetzte sich bei wenig höherer Temperatur unter Schäumen.

0.1596 g wasserhaltige Stbst.: 0.2037 g CO₂, 0.0633 g H₂O. — 0.1901 g Stbst.: 29.7 ccm N (13°, 749 mm). — 0.1233 g Stbst. verloren bei 80° im Vacuum 0.0062 g = 5.0 pCt. H₂O.

C₁₂H₂₆N₄O₃.3C₆H₃N₃O₇ + 3 H₂O. Ber. C 35.46, H 4.04, N 17.93, H₂O 5.3.
Gef. » 34.81, » 4.41, » 18.21, » 5.0.

Analyse des bei 80° im Vacuum getrockneten Salzes.

0.2002 g Stbst.: 0.2723 g CO₂, 0.0631 g H₂O. — 0.1502 g Stbst.: 24.3 ccm N (20°, 767 mm).

C₁₂H₂₆N₄O₃.3C₆H₃N₃O₇ Ber. C 37.46, H 3.64, N 18.94.
Gef. » 37.10, » 3.50, » 18.75.

Um die Formel des Salzes zu controlliren, wurde noch eine Bestimmung der Pikrinsäure ausgeführt. Zu dem Zweck wurde das Salz in warmem Wasser gelöst und mit einem Ueberschuss von Salzsäure, etwa 6 Mol., versetzt und die Flüssigkeit auf 0° abgekühlt. Die Pikrinsäure wurde abfiltrirt und der in Lösung gebliebene Theil durch wiederholtes Ausäthern gewonnen.

0.1171 g Stbst. (wasserfrei): 0.0850 g Pikrinsäure = 72.6 pCt. Berechnet 71.5 pCt.

Das Pikrat ist in warmem Wasser und kaltem Methylalkohol leicht löslich. Durch Aethylalkohol wird es in der Wärme auch leicht, in der Kälte aber erheblich schwerer aufgenommen. In Benzol, Aether und Petroläther ist es fast unlöslich.

Da die Pikrate solcher complicirten Basen keine erheblichen Unterschiede in der Zusammensetzung zeigen und deshalb die Analysen keine entscheidende Bedeutung haben können, so wurde wiederum das Hydrochlorat dargestellt.

Zu dem Zweck wurden 2 g Pikrat in 15 ccm Wasser und 5 ccm Alkohol in gelinder Wärme gelöst, dann rasch abgekühlt, mit 6 ccm *n*-Salzsäure versetzt und nun die Pikrinsäure durch wiederholtes Ausäthern entfernt. Die sehr wenig gefärbte, wässrige Lösung wurde noch mit etwas Thierkohle völlig entfärbt und die Flüssigkeit im Vacuumexsiccator verdunstet. Der Rückstand war ein zäher Syrup und enthielt sicherlich keine grosse Mengen von salzsaurem Lysin. Da er auch bei längerem Stehen nicht krystallisirte, so wurde er mit etwa der 10-fachen Menge Methylalkohol übergossen und durch Einleiten von trockner Salzsäure verestert. Beim Einengen der Lösung unter

sehr geringem Druck schieden sich dann hübsche Krystalle ab, welche abfiltrirt und mit Aethylalkohol gewaschen wurden. Die Ausbeute betrug 0.6 g.

Zur Reinigung wurde das Rohproduct in wenig warmem Methylalkohol gelöst und durch Verdunsten der Lösung wieder krystallisirt, dann mit Alkohol und schliesslich mit Aether gewaschen.

Die Krystalle unterschieden sich von dem salzsauren Lysin-methylester durch die äussere Form. Sie sind zuweilen unregelmässige Täfelchen, häufiger aber kurze, zwillingsartig verwachsene Prismen und schmelzen etwas niedriger, beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 205° (corr.) unter starkem Schäumen. Sie lösen sich sehr leicht in Wasser und in warmem Methylalkohol; schwerer in kaltem Methylalkohol, noch schwerer in Aethylalkohol und fast garnicht in Aether. Die wässrige Lösung reagirt schwach sauer. Für die Analyse wurde das Salz bei 80° im Vacuum getrocknet.

0.1617 g Subst.: 0.2307 g CO_2 , 0.1154 g H_2O . — 0.1110 g Subst.: 13.2 ccm N (19° , 764 mm). — 0.1120 g Subst.: 8.65 ccm $\frac{1}{10} n$. $\text{AgNO}_3 = 0.03075$ g Cl.
— 0.103 g Subst.: 8.20 ccm $\frac{1}{10} n$. $\text{AgNO}_3 = 0.02911$ g Cl.

$\text{C}_{13}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_3 \cdot 3\text{HCl}$. Ber. C 39.24, H 7.79, N 14.09, Cl 26.89.

Gef. » 38.90, » 7.93, » 13.79, » 27.41, 26.95.

Histidin-anhydrid, $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{N}_6$.

Der als Ausgangsmaterial dienende salzsaure Histidinmethylester ist von H. Pauly schon beschrieben¹⁾. Man löst 3 g Salz in heissem Methylalkohol (etwa 20 ccm), fügt nach dem Erkalten 9.5 ccm einer Lösung zu, die aus 2 g Natrium und 100 ccm Methylalkohol bereitet ist, und vermischt mit dem dreifachen Volumen Aether. Nach einigen Stunden wird filtrirt, im Vacuum verdampft, und der als Syrup zurückbleibende Histidinmethylester im Einschlussrohr auf 100° erhitzt. Schon nach einer Stunde fängt die Masse an, in der Hitze Krystalle des Anhydrides abzuscheiden. Dieses lässt sich mit Alkohol und Aether waschen und aus heissem Wasser umkrystallisiren. Für die Analyse wurde im Vacuum bei 80° getrocknet.

0.1817 g Subst.: 0.3490 g CO_2 , 0.0862 g H_2O . — 0.1072 g Subst.: 27.8 ccm N (16° , 762 mm).

$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_2$. Ber. C 52.55, H 5.11, N 30.66.

Gef. » 52.39, » 5.27, » 30.32.

Die Verbindung löst sich leicht in heissem Wasser und krystallisirt beim Abkühlen in feinen, weissen, glänzenden Nadeln oder Prismen. Sie hat keinen Schmelzpunkt. Im Capillarrohr fängt sie gegen 260° (corr.) an, sich dunkel zu färben, und schmilzt gegen 340° zu einer dunkelbraunen Flüssigkeit. In Alkohol ist sie schwer löslich

¹⁾ a. a. O.

und in Aether, Benzol, Petroläther fast unlöslich. Ihre wässrige Lösung giebt mit Phosphorwolframsäure einen starken Niederschlag, der auch beim Kochen schwer löslich ist. Hat man aber vorher mit Schwefelsäure angesäuert, so geht das Phosphorwolframat in der Hitze völlig in Lösung und kommt beim Erkalten krystallinisch heraus. Die wässrige Lösung des Histidinanhydrids reagirt alkalisch und löst Kupferoxyd beim Kochen mit schön blauer Farbe.

Die Base bildet mit Pikrinsäure und Salzsäure krystallisirte Salze.

Pikrat, $C_{12}H_{14}N_6O_2(C_6H_3N_3O_7)_2$. Man löst 1 g Histidinanhydrid in 40 ccm warmem Wasser, fügt 2.5 g fein gepulverte Pikrinsäure hinzu und erwärmt auf 50—60°. Ohne dass klare Lösung erfolgt, findet die Bildung des Pikrats beim starken Umrühren fast vollständig statt. Nach dem Abkühlen auf 0° wird das Salz filtrirt und erst mit Wasser, dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Die Ausbeute beträgt 2.2 g oder 82 pCt. der Theorie. Zur Reinigung wird das Präparat zuerst mit sehr wenig Aceton ausgekocht, filtrirt, mit Alkohol und Aether gewaschen und zum Schluss in heissem Wasser gelöst. Beim langsamen Abkühlen scheidet es sich in citronengelben, flachen, spießartigen Krysalen ab, die vielfach sternförmig vereinigt sind. Für die Analyse wurde bei 100° getrocknet:

0.1915 g Sbst.: 0.2758 g CO_2 , 0.0481 g H_2O . — 0.1190 g Sbst.: 23.4 ccm N (18°, 757 mm).

$C_{12}H_{14}N_6O_2(C_6H_3N_3O_7)_2$. Ber. C 39.34, H 2.73, N 22.95.
Gef. » 39.28, » 2.79, » 22.67.

Im Capillarrohr erhitzt, beginnt das Salz gegen 235° (corr.) braun zu werden und zersetzt sich gegen 255° (corr.) unter Aufschäumen und Schwärzung. Es ist in kaltem Wasser recht schwer, in heissem erheblich leichter löslich. Die Löslichkeit nimmt dann successive ab für Methyl- und Aethyl-Alkohol; in Essigester, Aether und Benzol ist es sehr schwer löslich. Verhältnissmässig leicht wird es von warmem Aceton aufgenommen.

In geringem Ueberschuss von verdünnter Salzsäure löst sich das Histidinanhydrid sehr leicht. Lässt man diese Flüssigkeit bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten, so scheidet sich das Hydrochlorat in mikroskopisch kleinen, dünnen, farblosen, prismenähnlichen Krystallen ab, die meist sternförmig verwachsen sind und unscharf gegen 320° (corr.) unter Zersetzung schmelzen.

Histidyl-histidin, $C_{12}H_{16}O_3N_6$.

Schüttelt man 1 g Histidinanhydrid mit 50 ccm *n*-Natronlauge 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur (15—20°), so erfolgt klare Lösung. Nachdem diese noch 24 Stunden bei gewöhnlicher Tem-

peratur gestanden hat, neutralisirt man durch Zusatz von 50 ccm *n*-Salzsäure. Zur Isolirung des Dipeptids benutzen wir das Pikrat.

Man fügt direct zu der wässrigen Lösung 2.5 g gepulverte Pikrinsäure und erwärmt unter Umrühren auf 50—60°, wobei der grösste Theil gelöst und der Rest in ein gelbes Oel verwandelt wird. Bei zweitägigem Stehen in der Kälte scheidet sich eine erhebliche Menge des Pikrats wieder ab, aber nur theilweise krystallinisch. Man entfernt deshalb das Wasser, löst den Rückstand in warmem Alkohol und fällt diese Lösung mit Benzol. Die Ausbeute beträgt ungefähr 2 g. Dieses Product wird in Wasser von etwa 60° gelöst. In der Kälte scheidet sich dann das Pikrat in sehr kleinen, citronengelben Prismen, die meist sternförmig verwachsen sind, aus. Die Krystalle scheinen Wasser zu enthalten, denn sowohl beim Waschen mit absolutem Alkohol, wie beim Erhitzen im Vacuum auf 80° verändern sie ihre Farbe in orangegeb. Für die Analyse diente das bei 80° im Vacuum getrocknete Präparat.

0.1101 g Sbst.: 0.1543 g CO₂, 0.0321 g H₂O. — 0.144 g Sbst.: 27.8 ccm N (18°, 750 mm).

C₁₂H₁₆N₆O₃(C₆H₃N₃O₇)₂. Ber. C 38.40, H 2.93, N 22.40.

Gef. » 38.22, » 3.24, » 22.05.

Das Salz löst sich in warmem Wasser und kochendem Aceton verhältnissmässig leicht; in Alkohol ist es schwer löslich und in Aether und Benzol gänzlich unlöslich. Das Salz hat keinen scharfen Schmelzpunkt; es schmilzt zwischen 165—175° (uncorr.) und zersetzt sich bei höherer Temperatur vollständig.

Da bei der Aufspaltung der optisch-activen Diketopiperazine, die sich von den gewöhnlichen Aminosäuren ableiten, eine partielle Racemisirung stattfindet, so ist das Gleiche im vorliegenden Falle wahrscheinlich. Vielleicht erklärt sich damit die geringe Neigung des Dipeptidpikrats zur Krystallisation; Mangel an Material hat uns aber verhindert, diese Vermuthung weiter zu prüfen. Leider ist es uns auch nicht gelungen, aus dem Pikrat ein krystallisirtes Hydrochlorat, oder ein schönes Hydrochlorat des entsprechenden Esters darzustellen.

Arginin-methylester-Hydrochlorat.

Als Ausgangsmaterial benutzen wir zuerst das schön krystallisirte Doppelsalz von Arginin und Kupfernitrat, von dem uns Hr. Prof. E. Schulze in Zürich 30 g freundlichst zur Verfügung gestellt hat. Das Salz wurde in wässriger Lösung mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat zur Trockne verdampft. 10 g des so erhaltenen Argininnitrats wurden in 500 ccm Methylalkohol suspendirt und trocknes Salzsäuregas ohne Abkühlung bis zur Sättigung eingeleitet. Das Salz geht dabei leicht in Lösung. Die Flüssigkeit wird nun unter vermindertem Druck verdampft, der zurückbleibende Syrup in wenig Aethyl-

alkohol warm gelöst und nach dem Abkühlen viel Aether zugesetzt. Zuerst fällt das Hydrochlorat des Argininmethylesters häufig als Syrup aus. Dieser verwandelt sich aber beim Stehen in lange, farblose Nadeln oder Prismen. Die Ausbeute betrug 9.96 g oder 94 pCt. der Theorie.

Später haben wir grössere Mengen, etwa 200 g dieses Salzes aus Edestin nach einem abgekürzten Verfahren bereitet, dessen Mittheilung uns nicht überflüssig erscheint.

1 Kilo Edestin wird mit 3 L rauchender Salzsäure übergossen, 8 Stunden am Rückflusskühler gekocht, dann mit der 3-fachen Menge Wasser verdünnt und bei gewöhnlicher Temperatur mit einer 50-procentigen Lösung von Phosphorwolframsäure (etwa 4 Kilo) gefällt, so lange noch ein erheblicher Niederschlag entsteht. Dieser wird scharf abgesaugt, darauf stark gepresst, dann mit viel 5-procentiger Schwefelsäure sorgfältig verrieben, abgesaugt und gepresst und die gleiche Wäsche mit Schwefelsäure nochmals wiederholt, bis die Salzsäure entfernt ist. Jetzt suspendirt man den zerriebenen Niederschlag in so viel Wasser von 25—30°, dass ein dünner Brei entsteht, fügt einen Ueberschuss von fein zerriebenem, krystallisirtem Barythydrat zu und rührt die Masse wieder bei 20—25° andauernd 12—15 Stunden, bis die Flüssigkeit freien Baryt enthält. Sie wird nun filtrirt, der Baryt durch Kohlensäure gefällt und das Filtrat unter geringem Druck bei etwa 40° bis auf ungefähr 3 L eingedampft, wobei alles Ammoniak wegeht. Entsprechend der bekannten Vorschrift von Kossel zur Trennung von Histidin und Arginin, sättigt man nun die Lösung mit Kohlensäure und fällt das Histidin mit einer gesättigten Lösung von Quecksilberchlorid. Aus dem Filtrat wird das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff und das Chlor durch Silbernitrat entfernt, dann die Lösung mit überschüssigem Silbernitrat (etwa 300 g) versetzt und das Arginin durch kaltes, aber möglichst concentrirtes Barytwasser gefällt. Den sorgfältig gewaschenen Niederschlag suspendirt man nun in Wasser, zerlegt durch Schwefelwasserstoff, neutralisirt das Filtrat durch Salzsäure und verdampft unter einem Druck von 15—20 mm bis zum Syrup. Dieser wird direct verestert, indem man ihn mit 1 L trockenem Methylalkohol übergiesst und ohne Kühlung einen starken Strom von Salzsäuregas bis zur Sättigung einleitet. Man verdampft dann die Lösung wiederum unter einem Druck von 15—20 mm bis zum Syrup, giebt abermals 1 L Methylalkohol zu und wiederholt die Sättigung mit Salzsäure, um die Veresterung möglichst vollständig zu machen. Beim Abkühlen dieser Lösung tritt in der Regel schon die Krystallisation von salzsaurem Argininmethylester ein. Um die Abscheidung des Salzes zu erleichtern, fügt man noch die doppelte

Menge Aether hinzu. Das Salz wird filtrirt und ist in der Regel ganz rein. Die Mutterlauge wird stark eingeengt und wieder mit Aether versetzt, wobei eine zweite Krystallisation eintritt. Da dieses Product etwas unreiner ist, so wird es in heissem Methylalkohol gelöst, mit Thierkohle gekocht und das Filtrat stark abgekühlt.

Die Ausbeute an reinem Hydrochlorat beträgt etwa 10 pCt. des angewandten Edestins.

Für die Analyse wurde bei 80° im Vacuum getrocknet.

0.2012 g Sbst.: 0.2374 g CO₂, 0.1223 g H₂O. — 0.1246 g Sbst.: 23.1 ccm N (19°, 765 mm). — 0.1015 g Sbst.: 0.1106 g AgCl.

C₇H₁₆N₄(O₂).2HCl. Ber. C 32.18, H 6.89, N 21.45, Cl 27.20.
Gef. » 32.18, » 6.75, » 21.47, » 26.94.

Im Capillarrohr rasch erhitzt, schmilzt das Salz unter starkem Schäumen gegen 195° (corr.). Es ist in Wasser sehr leicht, in kaltem Methylalkohol und heissem Aethylalkohol ebenfalls noch leicht, in den meisten anderen organischen Lösungsmitteln aber fast garnicht löslich. Die wässrige Lösung reagirt auf Lakmus schwach sauer.

Der freie Argininmethylester ist noch viel empfindlicher als die Ester der anderen Diaminosäuren, sodass wir ihn im reinen Zustand bisher überhaupt nicht isoliren konnten.

Werden 5 g des Hydrochlorats mit 42 ccm der 2 procentigen Lösung von Natrium im Methylalkohol geschüttelt, dann die Flüssigkeit mit der dreifachen Menge Aether versetzt und das Natriumchlorid abfiltrirt, so enthält die Lösung freien Argininmethylester. Versetzt man sie mit Wasser, verdampft dann rasch den Methylalkohol unter sehr geringem Druck und erwärmt die wässrige Lösung eine Stunde auf 50°, so kann man durch Fällung mit Pikrinsäure daraus reichliche Mengen von Arginin gewinnen. Wird dagegen die methylalkoholisch-ätherische Lösung direct unter geringem Druck verdampft, so bleibt ein wenig gefärbter, dicker Syrup zurück, der ganz andere Producte enthält. Um die Umwandlung ganz zu vollziehen, lässt man den Syrup entweder 2 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur oder noch besser 24 Stunden bei 0° stehen. Wir konnten dann in reichlicher Menge eine Base in Form des Pikrats und des Nitrats isoliren, die wir anfänglich für das Dipeptid des Arginins hielten, die aber nach der Analyse des Nitrats eine erheblich grössere Menge von Stickstoff enthält.

Um das Pikrat darzustellen, kann man den Syrup, der aus 5 g salzsauren Argininmethylester erhalten wurde, direct in etwa 50 ccm Wasser lösen, dann 7 g reine Pikrinsäure zugeben und bis zur vollständigen Lösung wieder erwärmen. Beim Erkalten scheidet sich das Pikrat krystallinisch ab. Es wird nach mehrstündigem Stehen der Flüssigkeit in Eis abgesaugt und mit Alkohol und Aether gewaschen. Die Ausbeute beträgt etwa 6 g. Es wurde

zuerst aus der 10-fachen Menge warmem Wasser umkrystallisirt und dann das reinere Product nochmals aus viel heissem Wasser umgelöst. Für die Analyse wurde es zum dritten Mal aus heissem Wasser krystallisirt und im Vacuum bei 80° getrocknet.

Das Pikrat ist ein krystallinisches, citronengelbes Pulver. Im Capillarrohr erhitzt, fängt es gegen 200° an, sich braun zu färben und zu sintern, und schmilzt gegen 218° (corr.) unter Zersetzung. In Aceton löst es sich schon in der Kälte leicht. Etwas schwerer ist es in Methylalkohol und noch schwerer in kaltem Aethylalkohol löslich. In Aether, Benzol, Chloroform ist es fast unlöslich.

Dasselbe Pikrat erhält man, wenn der oben erwähnte, aus dem Arginin-methylester erhaltene Syrup erst in 25 ccm $\frac{1}{2}$ -*n*. Natronlauge gelöst 2 Stunden stehen bleibt, um allen Ester zu verseifen, und dann die Flüssigkeit nach Neutralisation des Alkalis durch die entsprechende Menge *n*-Salzsäure mit Pikrinsäure, wie zuvor beschrieben ist, behandelt wird. Die Analyse des Pikrats gab folgende Zahlen:

0.1967 g Sbst.: 0.2523 g CO₂, 0.0649 g H₂O. — 0.1504 g Sbst.: 0.1936 g CO₂, 0.0461 g H₂O. — 0.1500 g Sbst.: 31.6 ccm N (24°, 762 mm). — 0.1144 g Sbst.: 24.0 ccm N (19°, 758 mm).

Gef. C 34.98, 35.11, H 3.66, 3.41, N 23.80, 24.04.

Die Werthe passen ziemlich gut zu der Formel eines Arginyl-arginin-Tripikrats, (C₁₂H₂₆N₈O₉)(C₆H₃N₃O₇)₃, welche verlangt C 35.39, H 3.44, N 23.4. Das Gleiche gilt für die Bestimmung der Pikrinsäure in dem Salz, die ebenso ausgeführt wurde, wie bei dem Pikrat des Lysyl-lysins.

0.2150 g Sbst.: 0.145 g Pikrinsäure.

Ber. 67.55. Gef. 67.14.

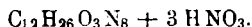
Wie schon betont, sind aber die Analysen solcher complicirten Pikrate wenig entscheidend.

Andere Resultate gab in der That das Nitrat.

Um dieses aus dem Pikrat herzustellen, wurden 5 g in 200 ccm 50-procentigem Alkohol warm gelöst, nach dem Abkühlen 14.2 ccm *n*-Salpetersäure zugegeben und die Pikrinsäure durch wiederholtes Ausäthern entfernt. Nach dem Behandeln mit Thierkohle war die wässrige Lösung ganz farblos; sie wurde unter stark vermindertem Druck bei 30–40° verdampft, wobei das Nitrat in farblosen, schönen Prismen auskrystallisirte. Die Ausbeute betrug 1.1 g. Zur Reinigung wurde es in wenig warmem Wasser gelöst und die Flüssigkeit im Vacuum-Exsiccator eingedunstet. Die ausgeschiedenen schönen Krystalle wurden abgesaugt und erst mit wenig eiskaltem Wasser, dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Man kann sie auch in Methylalkohol warm lösen und durch Zusatz von Aether wieder fällen. Für die Analyse wurde das Salz im Vacuum bei 80° getrocknet.

0.1670 g Sbst.: 0.1624 g CO₂, 0.0773 g H₂O. — 0.1028 g Sbst.: 30.5 ccm N (22.5°, 759 mm). — 0.1404 g Sbst.: 0.1349 g CO₂, 0.0690 g H₂O. — 0.0854 g

Sbst.: 25.4 ccm N (22°, 756 mm). — 0.1000 g Sbst.: 28.4 ccm N (13.5°, 765 mm). — 0.2074 g Sbst.: 0.2053 g CO₂, 0.0970 g H₂O.



Ber. C 27.74, H 5.58, N 29.67.
Gef. » 26.52, 26.14, 26.91, » 5.14, 5.43, 5.20, » 33.64, 33.68, 33.75.

Wie man sieht, stimmen die gefundenen Zahlen besonders für den Stickstoff recht schlecht mit den Werthen, die für das Trinitrat des Arginyl arginins berechnet sind. Wir haben deshalb noch die Menge der Salpetersäure nach der neuen schönen Methode von Busch¹⁾ mittels Nitron bestimmt.

0.1065 g Sbst.:	0.2350 g Nitronverbindung =	37.07 pCt. HNO ₃
0.1230 » »	0.2580 » »	= 35.24 » »
0.1030 » »	0.2215 » »	= 36.13 » »
0.1290 » »	0.2919 » »	= 38.01 » »
0.1210 » »	0.2610 » »	= 36.24 » »

Durchschnitt: 36.54



Da diese Zahlen merkwürdiger Weise wieder ziemlich gut auf ein Trinitrat des Arginyl-arginins stimmen, so kamen wir auf den Gedanken, dass vielleicht die volumetrische Stickstoffbestimmung bei diesem sehr stickstoffreichen Salz unrichtige Werthe gebe. Wir haben deshalb auch Bestimmungen nach Kjeldahl ausgeführt und zwar auf folgende Weise.

Ungefähr 0.2 g des Salzes wurden in 20 ccm Wasser gelöst, mit 2 ccm verdünnter Schwefelsäure (18 pCt.) versetzt und bei 15 mm Druck aus einem 45° warmen Bade bis zum dünnen Syrup verdampft, dann mit 10 ccm Wasser verdünnt, abermals verdampft und diese Operation nochmals wiederholt, bis das Destillat keine Spur von Salpetersäure mehr enthielt. Der ganz farblose Syrup wurde jetzt in 10 ccm concentrirter Schwefelsäure gelöst und nach Zusatz von 2 g Kaliumsulfat 4–5 Stdn. gekocht, bis die Flüssigkeit ganz farblos geworden war. Jetzt wurde in gewöhnlicher Weise das gebildete Ammoniak bestimmt. Bei der zweiten Analyse war an Stelle des Kaliumsulfats die gleiche Menge trocknes Kupfersulfat verwandt worden.

Die so erhaltenen Mengen von Stickstoff stimmen nun mit den für Arginyl-arginin berechneten Zahlen merkwürdiger Weise gut überein.

0.167 g Sbst.: 0.03668 g N = 21.96 pCt. — 0.205 g Sbst.: 0.04508 g N = 21.99 pCt.

Ber. Amid-Stickstoff 21.6 pCt.

Wie der Widerspruch zwischen den Resultaten der Methoden von Kjeldahl und derjenigen von Dumas zu erklären ist, können wir

¹⁾ Diese Berichte 38, 861 [1905].

nicht sagen. Wir waren durch das Resultat der Kjeldahl'schen Bestimmungen fast zu der Ueberzeugung gekommen, dass wir es mit Arginyl-arginin zu thun haben; aber leider hat die Prüfung des Körpers bei der Hydrolyse diese Hoffnung wieder sehr herabgesetzt, denn es ist uns durch Kochen des aus dem Pikrat dargestellten syrupförmigen Hydrochlorats mit starker Salzsäure bis jetzt nicht gelungen, Arginin zu regeneriren.

Das Nitrat bildet ziemlich grosse Prismen, die meist sternförmig verwachsen sind. Es ist in kaltem Wasser und warmem Methylalkohol ziemlich leicht, in Aethylalkohol aber sehr schwer löslich. Es giebt keine Biuretfärbung. Es schmilzt ziemlich scharf unter starkem Schäumen bei 189° (corr.).

Dasselbe Salz lässt sich mit Umgehung des Pikrats direct aus dem Condensationsproduct des Argininesters gewinnen. Man löst zu dem Zweck das aus 5 g salzsaurem Argininmethylester erhaltene rohe Condensationsproduct in 50 ccm Wasser, fügt 14 ccm *n*-Salpetersäure zu und verdampft unter sehr geringem Druck bis zur Krystallisation. Die Ausbeute ist dann besser als beim Umwege über das Pikrat. Sie betrug bei obiger Menge 1.6 g.

Dass das Nitrat derselben Base zugehört wie das Pikrat, haben wir durch Rückverwandlung in dieses beweisen können. Man braucht zu dem Zweck nur das Nitrat in Wasser zu lösen und mit der berechneten Menge Natriumpikrat zu fällen.

Endlich haben wir uns überzeugt, dass der Argininäthylester bei 2-tägigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur in reichlicher Menge die gleiche Base liefert; daneben entsteht allerdings ein anderes Product, das ebenfalls ein gut krystallisirendes Pikrat giebt.

Isoseryl-isoserin-Methylester, $C_7H_{14}O_5N_2$.

Dass das Isoserin sich durch Alkohol und Salzsäure leicht verestern lässt, ist schon früher gezeigt worden¹⁾. Sein Aethylester konnte sogar krystallisirt erhalten werden, aber es ist schon damals bei der Sublimation des Productes beobachtet worden, dass es gegen Wärme recht empfindlich ist und bereits bei 95° ziemlich rasch, theilweise unter Abspaltung von Alkohol, in ein complicirtes Product verwandelt wird. Nach unseren Erfahrungen erleidet der Methylester die gleiche Veränderung noch viel rascher, denn er geht schon bei gewöhnlicher Temperatur im Laufe von 1–2 Tagen zum grösseren Theil in den Ester des Dipeptids über.

Für die Bereitung des Isoserin-Methylesters werden 5 g gepulvertes Isoserin in 100 ccm trockenem Methylalkohol suspendirt und ohne

¹⁾ E. Fischer und Leuchs, diese Berichte 35, 3795 [1902].

Abkühlung trocknes Salzsäuregas bis zur Sättigung eingeleitet, wobei klare Lösung stattfindet. Beim Verdampfen der Flüssigkeit unter stark vermindertem Druck bleibt der salzsaure Ester als Syrup zurück. Um daraus den freien Ester ohne erheblichen Verlust zu gewinnen, haben wir den Syrup in 30 ccm Methylalkohol gelöst, in einer kleinen Menge dieser Flüssigkeit titrimetrisch das Chlor bestimmt und dann die Hauptmenge der Flüssigkeit mit der für das Chlor berechneten Quantität einer 2-proc. Auflösung von Natrium in Methylalkohol versetzt. Die Gesamtlösung wurde dann zur Fällung des Chlornatriums mit der gleichen Menge Aether versetzt und die sofort filtrirte Lösung unter geringem Druck aus einem Bade, das auf etwa 30° erwärmt war, verdampft. Dabei bleibt der freie Isoserin-methylester als farbloser, stark alkalischer Syrup zurück. Auf seine völlige Reinigung haben wir verzichtet. Lässt man diesen Syrup einige Tage bei Zimmertemperatur stehen, so verwandelt er sich in farblose Krystalle, die in Methyl- und Aethyl-Alkohol schwer löslich sind und durch Waschen mit Aethylalkohol leicht gereinigt werden können. Die ziemlich grossen Krystalle sind der Methylester des Isoserin dipeptids. Die Ausbeute betrug 3.67 g aus 5 g Isoserin, mithin 75 pCt. der Theorie. Zur Reinigung wird das Product in wenig Wasser unter gelindem Erwärmen rasch gelöst und mit einem Gemisch von absolutem Alkohol und Aceton wieder gefällt. Für die Analyse wurde es nochmals in der gleichen Weise umkrystallisirt und nach dem Waschen mit Alkohol und Aether bei 80° im Vacuum getrocknet.

0.1645 g Sbst.: 0.2470 g CO₂, 0.1031 g H₂O. — 0.1368 g Sbst.: 15.7 ccm N (15°, 756 mm).

C₇H₁₄O₅N₂. Ber. C 40.78, H 6.80, N 13.59.

Gef. » 40.95, » 6.95, » 13.40.

Die Verbindung ist in Wasser leicht löslich und reagirt alkalisch. In Methyl- und Aethyl-Alkohol löst sie sich selbst in der Wärme schwer; in Aether, Essigester und Benzol ist sie fast unlöslich. Sie giebt auch eine ziemlich starke Biuretfärbung. Einen Schmelzpunkt hat sie nicht; schon gegen 100° erfährt sie eine sichtbare Veränderung, und erst gegen 180° findet völlige Schmelzung statt.

Offenbar im Zusammenhang damit steht die Beobachtung, dass beim einstündigen Erhitzen des Isoserin-methylesters auf 100° ein anderes, noch höher schmelzendes Product (gegen 200°) entsteht, das wir nicht ganz rein gehabt haben, welches aber durch Behandlung mit Alkali auch in das nachfolgend beschriebene Dipeptid des Isoserins übergeht und möglicher Weise eine Lacton-ähnliche Verbindung ist.

Durch 5-stündiges Kochen mit einem grossen Ueberschuss von 10-procentiger Salzsäure (40-fache Menge) wird der Isoseryl-isoserin-

ester in die Aminosäure zurückverwandelt. Wir haben das Isoserin aus der salzsauren Lösung in bekannter Weise isolirt und 90 pCt. der Theorie erhalten.

Isoseryl-isoserin.

Der Ester wird in der 10-fachen Menge *n*-Natronlauge bei Zimmertemperatur gelöst und 3—4 Stunden aufbewahrt. Dann fügt man die dem Alkali genau entsprechende Menge verdünnter, farbloser Jodwasserstoffsäure zu, verdampft bei 10—20 mm Druck fast bis zur Trockne und kocht den Rückstand zur Entfernung des Jodnatriums mehrmals mit absolutem Alkohol aus. Hierbei bleibt das Dipeptid krystallinisch zurück. Es wird in Wasser gelöst, die Flüssigkeit mit etwas Thierkohle geklärt und das Filtrat durch absoluten Alkohol gefällt.

Für die Analyse wurde bei 80° im Vacuum getrocknet.

0.1125 g Subst.: 0.1555 g CO₂, 0.0612 g H₂O. — 0.135 g Subst.: 17.2 ccm N (23°, 758 mm).

C₆H₁₂N₂O₅. Ber. C 37.50, H 6.25, N 14.58.

Gef. » 37.69, » 6.04, » 14.40.

Das Dipeptid löst sich leicht in Wasser, in Alkohol sehr schwer und in Aether, Benzol fast garnicht. Aus der wässrigen Lösung durch Verdunsten oder Fällung mit Alkohol abgeschieden, bildet es ein farbloses, körniges Pulver, das keine deutliche Krystallform zeigt.

Es hat keinen scharfen Schmelzpunkt. Von 220° an beginnt es zu sintern und zersetzt sich bei höherer Temperatur unter Schwarzwerden. Die wässrige Lösung reagirt ziemlich stark sauer.

Wir betonen auch hier die Möglichkeit, dass das Präparat ein Gemisch von zwei Stereoisomeren war.

Serin-methylester.

Das zu den folgenden Versuchen verwendete, synthetische, inactive Serin verdanken wir den HHrn. Dr. Leuchs und Geiger, die im hiesigen Institut eine neue, recht brauchbare Methode für die Bereitung dieser wichtigen Aminosäure ausgearbeitet haben.

Suspendirt man 2 g fein gepulvertes Serin in 60 ccm trockenem Methylalkohol und leitet ohne Abkühlung trocknes Salzsäuregas bis zur Sättigung ein, so findet alsbald Lösung statt. Man verdampft schliesslich unter stark vermindertem Druck aus einem Bade, dessen Temperatur nicht über 50° geht, bis zum Syrup, der bald krystallinisch erstarrt. Die Krystalle werden mit wenig Aethylalkohol vermischt, abgesaugt und mit Alkohol, später mit Aether, gewaschen. Die Ausbeute betrug 2.6 g oder 80 pCt. der Theorie. Für die Ana-

lyse wurde das Präparat in warmem Methylalkohol gelöst, durch Zusatz von Aether wieder abgeschieden und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1106 g Sbst.: 0.1018 g AgCl. — 0.1512 g Sbst.: 11.8 ccm N (19°, 749 mm).

$C_4H_9NO_3 \cdot HCl$. Ber. N 9.00, Cl 22.83.

Gef. » 8.87, » 22.76.

Das Salz ist in Wasser äusserst leicht löslich. Auch von Methylalkohol wird es ziemlich leicht, von Aethylalkohol aber schon schwerer aufgenommen; in Aether und Petroläther ist es fast unlöslich. Aus Methylalkohol scheidet es sich bei langsamem Zusatz von Aether allmählich in farblosen, durchsichtigen Krystallen ab, die unter dem Mikroskop entweder als schiefe sechseitige Tafeln oder als zugespitzte Prismen erscheinen. Es schmilzt nicht scharf gegen 114° (corr.), und die farblose Flüssigkeit zersetzt sich bei höherer Temperatur unter Gasentwicklung und Bräunung.

Zur Bereitung des freien Esters werden 2 g des Hydrochlorats in 20 ccm Methylalkohol gelöst und die berechnete Menge (14.7 ccm) einer 2-procentigen Auflösung von Natrium in trockenem Methylalkohol zugegeben. Um das Chlornatrium abzuschneiden, fügt man noch etwa 40 ccm Aether zu, lässt eine halbe Stunde stehen und verdampft dann die filtrirte Lösung unter sehr geringem Druck bei gewöhnlicher Temperatur. Hierbei bleibt der Serinmethylester als farbloser, stark alkalisch reagirender Syrup zurück, der sich äusserst leicht zum Diketopiperazinderivat condensirt.

Serin-anhydrid.

Lässt man den freien Serinester 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen oder erhitzt ihn 2—3 Stunden auf 35—40°, so verwandelt er sich in ein farbloses, krystallinisches Product, das mit wenig Methylalkohol erwärmt und nach dem Erkalten abfiltrirt wird. Die Ausbeute beträgt 55—65 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte salzsaure Salz. Das Product ist, wie schon erwähnt, ein Gemisch von zwei isomeren Serinanhydriden. Zu ihrer Trennung benutzt man die verschieden rasche Krystallisation aus warmem Wasser. Man löst also das Rohproduct in wenig heissem Wasser, klärt mit Thierkohle, filtrirt heiss und lässt abkühlen. Dabei fällt zuerst die Verbindung A in mikroskopisch kleinen, meist vierseitigen, schiefen Tafeln aus. Später erscheinen die langen, schmalen, zugespitzten Prismen des Isomeren B. Sobald dies eintritt, filtrirt man rasch. Der zuerst ausgeschiedene Körper wird dann in der gleichen Weise umkrystallisirt und so nach ein- bis zwei-maligem Umlösen rein erhalten.

Serinanhydrid A. Für die Analyse wurde das Präparat mit Alkohol und Aether gewaschen und bei 100° getrocknet.

0.1406 g Sbst.: 0.2144 g CO₂, 0.0735 g H₂O. — 0.1032 g Sbst.: 14.5 ccm N (18°, 747 mm).

C₆H₁₀N₂O₄. Ber. C 41.38, H 5.75, N 16.09.

Gef. » 41.58, » 5.81, » 15.98.

Es ist in warmem Wasser leicht, in kaltem Wasser erheblich schwerer löslich. Die Löslichkeit nimmt dann successive ab für Methylalkohol, Aethylalkohol, Aceton; in Aether und Benzol ist es fast unlöslich. Die wässrige Lösung reagirt fast neutral. Es hat keinen bestimmten Schmelzpunkt. Gegen 265° (corr.) fängt es im Capillarrohr an braun zu werden und zersetzt sich gegen 280° (corr.) unter Schäumen und Dunkelfärbung.

Serinanhydrid B. Es findet sich in der wässrigen Mutterlauge, die nach dem Auskrystallisiren des Isomeren hinterbleibt. Wird diese weiter eingedampft, so scheidet es sich beim Abkühlen in Eis in den oben erwähnten Formen ab, anfangs gewöhnlich gemischt mit einer kleineren Menge des Isomeren; durch systematisches Umlösen kann es aber verhältnissmässig leicht getrennt werden. Wie schon erwähnt, krystallisirt es in mikroskopisch feinen, dünnen und meist zugespitzten Prismen oder Nadeln. Zum Unterschied von dem Isomeren hat es einen Schmelzpunkt. Bei raschen Erhitzen im Capillarrohr schmilzt es bei 226° (corr.) zu einer wenig gefärbten Flüssigkeit, die sich aber gleich nachher unter Gasentwicklung zersetzt. Für die Analyse war ebenfalls bei 100° getrocknet.

0.1713 g Sbst.: 0.2592 g CO₂, 0.0903 g H₂O. — 0.1254 g Sbst.: 17.5 ccm N (18°, 747 mm).

C₆H₁₀N₂O₄. Ber. C 41.38, H 5.75, N 16.09.

Gef. » 41.27, » 5.86, » 15.88.

In der Löslichkeit unterscheidet es sich wenig von dem Isomeren.

Seryl-serin.

Von verdünntem Alkali werden die Serinanhydride ziemlich rasch gelöst, offenbar unter Bildung von Dipeptiden. Da wir nicht genug Material hatten, um die beiden isomeren Anhydride getrennt zu behandeln, so benutzten wir für einen grösseren Versuch ein Gemisch.

1 g desselben wurde mit 10 ccm *n*-Natronlauge bei gewöhnlicher Temperatur geschüttelt. Nach einer Stunde war schon klare Lösung eingetreten. Nach weiteren zwei Stunden wurde diese mit der auf die Natronlauge berechneten Menge Essigsäure neutralisirt, durch Schütteln mit etwas Thierkohle geklärt und das Filtrat auf dem

Wasserbade zum dünnen Syrup eingedampft. Beim Verreiben mit absolutem Alkohol verwandelte er sich zum grössten Theil in eine krystallinische Masse. Sie wurde filtrirt und zur völligen Entfernung des Natriumacetats nochmals mit absolutem Alkohol ausgekocht.

Zur weiteren Reinigung lösten wir das Product in wenig heissem Wasser und fügten in der Wärme die doppelte Menge Alkohol hinzu. In dem mikrokrySTALLINISCHEN Pulver unterscheidet man, wenn es langsam ausgefallen ist, zweierlei Formen; die Einen sind ziemlich breite, aber zugespitzte, vielfach sternförmig verwachsene Blätter; sie bilden die Hauptmenge. Daneben befinden sich feine, fächerartig gruppirte Nadeln. Durch wiederholtes Lösen in Wasser und Füllen mit Alkohol verschwinden die Letzteren, und das Product sieht dann einheitlich aus. Wir vermuthen deshalb, dass ursprünglich zwei Dipeptide durch Aufspaltung der isomeren Anhydride entstanden waren, von denen aber das eine, in geringerer Menge vorhandene, durch Krystallisation entfernt wurde.

Für die Analyse wurde das zuletzt erhaltene, einheitlich aussehende Präparat bei 80—90° getrocknet. Die Ausbeute betrug 50 pCt. des angewandten Anhydrids.

0.1903 g Sbst.: 0.2643 g CO₂, 0.1126 g H₂O. — 0.1529 g Sbst.: 19.2 ccm N (19°, 767 mm).

C₈H₁₂N₂O₅. Ber. C 37.50, H 6.25, N 14.58.

Gef. » 37.87, » 6.57, » 14.50.

Das Seryl-serin fängt beim Erhitzen im Capillarrohr gegen 200° an braun zu werden und zersetzt sich gegen 210° (corr.) unter Schäumen. Es löst sich in warmem Wasser leicht, in kaltem Wasser etwas schwerer und in Alkohol sehr schwer. Die wässrige Lösung reagirt ziemlich stark sauer und löst, zum Unterschied vom Anhydrid, Kupferoxyd in der Wärme sehr rasch mit schön blauer Farbe. Mit Methylalkohol und Salzsäure lässt es sich leicht verestern. Das Esterchlorhydrat krystallisirt in sehr kleinen, meist sternförmig verwachsenen, spiessartigen Nadeln.