

Von concentrirter Schwefelsäure wird die Dibromverbindung, wie die vorher beschriebenen Chinole, mit blaugrüner Farbe gelöst, die sehr rasch in Braun umschlägt.

Acetylverbindung. Durch Kochen mit Essigsäureanhydrid und Natriumacetat dargestellt. Aus Benzin derbe Prismen vom Schmp. 152°.

0.1547 g Sbst.: 0.1622 g AgBr.

$C_{13}H_{10}O_3Br_2$. Ber. Br 44.67. Gef. Br 44.62.

Die Reduction des Chinols führt wieder zum Dibrom-methylnaphthol.

70. Emil Fischer: Synthese von Polypeptiden. XIV.

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

(Eingegangen am 27. Januar 1906.)

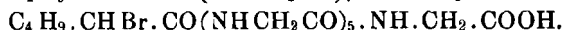
Die bisher bekannten Methoden gestatten den Aufbau von Polypeptiden durch Verlängerung der Kette sowohl an der Aminogruppe wie am Carboxyl, und ich halte sie für genügend, um recht hohe Glieder dieser Klasse darzustellen. Als Ausgangsmaterial für die Gewinnung des ersten Hexa- und Hepta-Peptids habe ich das früher beschriebene α -Bromisocapronyl-diglycyl-glycin benutzt. Durch Schütteln mit Acetylchlorid und Phosphorpentachlorid kann es leicht in ein Chlorid verwandelt werden, das aller Wahrscheinlichkeit nach folgende Structur hat:



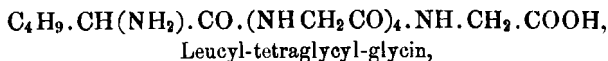
und dementsprechend α -Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid genannt werden mag.

Dies Chlorid lässt sich zwar leicht mit Glykocoll ester kuppeln, aber die Verseifung des hierbei entstehenden Körpers durch Alkali erfolgt so langsam, dass die Ausbeute an der entsprechenden Säure recht gering und dadurch die Synthese zu mühsam wird.

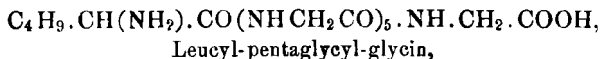
Glücklicherweise ist nun das obige Säurechlorid gegen kaltes Wasser so beständig, dass es mit Aminosäuren und auch mit Polypeptiden in alkalischer Lösung gekuppelt werden kann. Die Versuche wurden mit Glykocoll, Glycylglycin und Diglycyl-glycin ausgeführt und so folgende drei, bisher unbekannte Verbindungen erhalten:



Die beiden Letzten wurden weiter durch Behandlung mit Ammoniak in die Peptide:



und



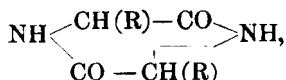
übergeführt.

Ich zweifle nicht im geringsten daran, dass diese Art der Synthese noch weiter fortgesetzt werden kann und werde solche Versuche anstellen, sobald mir mehr Material zur Verfügung steht.

Die beiden Polypeptide zeigen sehr stark die Biuretfärbung, sind in Wasser spielend leicht löslich, in absolutem Alkohol aber so gut wie unlöslich. Sie sind trotz der Anwesenheit der Leucylgruppe optisch inactiv, da sie aus racemischem Material bereitet wurden.

Grösseres Interesse haben selbstverständlich die optisch activen Peptide wegen ihrer näheren Beziehung zu den Spaltproducten der Proteine, und ich halte deshalb ihre Darstellung für die nächste wichtige Aufgabe der Synthese. Im Folgenden ist ein solches Dipeptid beschrieben, das aus zwei Molekülen natürlichem *d*-Alanin gewonnen wurde und dementsprechend als *d*-Alanyl-*d*-alanin bezeichnet werden kann.

Der Besitz dieser Substanz bot eine treffliche Gelegenheit, die Stereochemie der Diketopiperazine, bei denen man bisher nur in der aromatischen Reihe stereoisomere, aber optisch inactive Formen erhalten hat¹⁾, näher zu studiren. Wie am Modell leicht zu erkennen ist, kann ein Diketopiperazin von folgender Structur



mit zwei gleichen Substituenten R in zwei optisch activen und der daraus gebildeten Racemform, und in einer optisch inactiven, nicht spaltbaren Form existiren. Ferner müssen die optisch activen Formen die beiden Substituenten in *cis*-Stellung enthalten. Die Verhältnisse liegen also gerade umgekehrt wie bei der Hexahydroptalsäure, wo die *trans*-Form sowohl nach der Theorie, wie nach den Versuchen von A. Werner und Conrad²⁾, in optisch active Componenten gespalten werden kann.

¹⁾ C. A. Bischoff und Mitarbeiter, diese Berichte 22, 1786 [1889] und folgende Jahrg. Vgl. Zusammenstellung d. Resultate in A. Werner's Lehrb. d. Stereochemie, S. 120.

²⁾ Diese Berichte 32, 3046 [1899].

Das eben erwähnte *d*-Alanyl-*d*-alanin lässt sich nun durch Behandlung seines Esters mit Ammoniak sehr leicht schon bei niedriger Temperatur in das entsprechende Diketopiperazin, welches ich *d*-Alaninanhydrid nenne, umwandeln. Nach der Bildungsweise muss dieses die beiden Methylene in *cis*-Stellung enthalten, und da es optisch stark activ ist, so wird die Folgerung der Theorie bestätigt. Dasselbe *d*-Alaninanhydrid kann aus dem Ester des *d*-Alanins durch Erhitzen auf 100° gewonnen werden. Am besten geht die Synthese mit dem Methyleneester, der, wie leicht begreiflich, reactionsfähiger ist als die Aethylverbindung. Aber in Folge der hohen Temperatur findet selbst bei Anwendung des Methyleneesters eine geringe Racemisation statt, so dass das Endproduct nicht ganz so rein ist, wie bei Anwendung des activen Dipeptids.

Da die letzte Darstellung des *d*-Alaninanhydrids recht bequem ist, so hatte ich gehofft, durch Aufspaltung mit Alkali daraus das interessante *d*-Alanyl-*d*-alanin leichter gewinnen zu können. Diese Erwartung hat sich leider nicht erfüllt, denn bei der Rückverwandlung des Anhydrids in das Dipeptid durch kalte, verdünnte Natronlauge wird ein sehr erheblicher Theil inactiv.

Das früher beschriebene inactive Alanyl-alanin¹⁾ ist wahrscheinlich die Racemform des obigen activen Dipeptids, denn es wird nach den Beobachtungen von Abderhalden und mir²⁾ durch Pankreassaft partiell hydrolysiert, und alle bisherigen Erfahrungen deuten darauf hin, dass das Ferment nur bei denjenigen Dipeptiden angreift, welche die in der Natur vorkommenden activen Aminosäuren, im vorliegenden Falle also *d*-Alanin, enthalten.

Mit der Synthese des optisch inactiven, aber nicht spaltbaren Alaninanhydrids aus *l*-Alanyl-*d*-alanin ist zur Zeit Hr. Dr. Raske beschäftigt.

Für alle diese Versuche waren grössere Mengen von *d*-Alanin nöthig. Es wird am leichtesten aus der Seide in der nachfolgend beschriebenen Weise dargestellt, und ich habe den Besitz grösserer Mengen benutzt, um es völlig zu reinigen und seine Eigenschaften, insbesondere sein optisches Verhalten, sorgfältiger zu bestimmen.

Wie oben erwähnt, ist der Methyleneester des Alanins mehr zur Abspaltung von Alkohol und Bildung des Anhydrids geeignet als die Aethylverbindung. Die gleiche Erfahrung machten Hr. U. Suzuki und ich bei den Estern der Diamino- und Oxyamino-Säuren³⁾. Ich zweifle deshalb nicht daran, dass für die meisten Conden-

¹⁾ Diese Berichte 38, 3775 [1905].

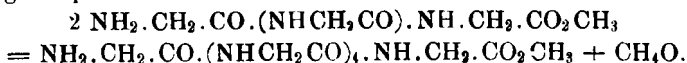
²⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. 46, 52.

³⁾ Diese Berichte 38, 4173 [1905].

sationen der Aminosäuren die Methylester brauchbarer sind, und ich beabsichtige, von dieser Erkenntniss mannigfache Nutzanwendung zu machen. Ein neues Beispiel dafür kann ich schon heute anführen.

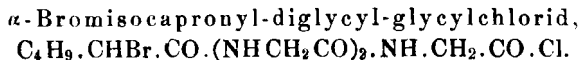
Wie früher mitgetheilt wurde¹⁾, verwandelt sich der Aethylester des Diglycyl-glycins bei mehrstündigem Erhitzen auf 110° in complicirte Stoffe, welche Biuretreaction geben und wahrscheinlich zum Theil aus höheren Peptiden bestehen. Leider war ihre Reinigung ziemlich mühsam und verlangte soviel Material, dass ich ihre ausführliche Untersuchung verschieben musste.

Viel leichter und glatter findet nun dieser Vorgang beim Methylester statt, und es bilden sich zwei Condensationsproducte. An Menge überwiegend ist der in heissem Wasser leicht lösliche, alkalisch reagierende Methylester des Pentaglycylglycins, dessen Bildung der Gleichung entspricht:



Die Annahme, dass die sechs Glycin-Reste in gerader Kette verbunden sind, ist zwar sehr wahrscheinlich, aber doch nicht streng bewiesen. Ich will sie deshalb später durch eine andere Synthese der Substanz prüfen.

Aus dem Ester lässt sich durch Verseifung mit Alkali leicht das Pentaglycylglycin gewinnen. Der andere Körper ist amorph und in Wasser fast unlöslich, aber leicht löslich in concentrirter Salzsäure. Er scheint mir einem Körper zu entsprechen, den Th. Curtius²⁾ vor zwei Jahren als Condensationsproduct des Triglycylglycin-äthylesters (Biuretbasis) ganz kurz beschrieben hat und für Octoglycinanhydrid, $(\text{NHCH}_2 \text{CO})_8$, zu betrachten geneigt ist.



Uebereinstimmend mit den Erfahrungen beim Glykocoll und einigen anderen Aminosäuren ist die Beobachtung, dass die Chlorirung des Bromisocapronyl-diglycyl-glycins, wenn es aus Wasser umkrystallisirt wurde, sehr schwer ist. Ungleich besser sind die Resultate bei dem aus heissem Alkohol krystallisirten Präparat, aber auch hier ist längeres Aufbewahren oder Trocknen bei höherer Temperatur nachtheilig. Diese Erfahrungen deuten meines Erachtens gerade so wie bei den Aminosäuren auf das Bestehen einer neuen Isomerie hin, die noch der näheren Aufklärung bedarf. Das Bromisocapronyl-diglycylglycin wird deshalb aus heissem Alkohol krystallisirt, filtrirt, mit

¹⁾ Diese Berichte 37, 2501 [1904]. ²⁾ Diese Berichte 37, 1300 [1904].

Aether gewaschen, dann 2 Stunden im Vacuum bei 50° getrocknet, jetzt fein gepulvert, durch ein Haarsieb getrieben und sofort für die Chlorirung benutzt.

5 g dieses Materials werden mit 50 ccm frisch destillirtem Acetylchlorid in einer Schüttelflasche übergossen, in Eiswasser abgekühlt und 3.15 g frisches und rasch gepulvertes Phosphorpentachlorid in 2 Portionen unter kräftigem Umschütteln zugegeben. Das Pentachlorid verschwindet rasch, und das Bromisocapronyl-diglycyl-glycin verwandelt sich ohne bemerkenswerthe Erscheinung in das Chlorid. Zur Vollendung der Reaction schüttelt man noch eine halbe Stunde auf der Maschine bei Zimmertemperatur. Jetzt wird das als farbloses Pulver in der Flüssigkeit suspendirte Chlorid in dem früher beschriebenen Apparate¹⁾ bei sorgfältigem Ausschluss von Feuchtigkeit filtrirt, erst mit Acetylchlorid, dann zwei Mal mit trockenem Petroläther gewaschen und im Vacuumexsiccator über Phosphorpentachlorid 1—2 Stunden getrocknet.

0.2703 g Sbst.: 6.2 ccm $\frac{1}{10}$ -n. AgNO₃.

C₁₂H₁₉N₃O₄BrCl. (Mol. 384.7.) Ber. Cl 9.2. Gef. Cl 8.14.

Wie die Analyse zeigt, ist der Chlorgehalt um 1 pCt. zu gering, woran der unvollständige Verlauf der Reaction oder auch die etwas schwierige Nachbehandlung des Präparates Schuld sein kann.

Die Ausbeute beträgt etwa 85 pCt. der Theorie. Das Chlorid ist recht empfindlich gegen Wasser; in Alkohol löst es sich unter dentlicher Erwärmung spielend leicht.

α -Bromisocapronyl-triglycyl-glycinester.

C₄H₉.CHBr.CO.(NHCH₂CO)₃.NH.CH₂.COOC₂H₅.

In eine durch Eis gut gekühlte Mischung von 1.6 g reinem, scharf getrocknetem Glykocoll-ester und 50 ccm trockenem Chloroform trägt man allmählich (in etwa 5 Portionen) unter kräftigem Schütteln im Laufe von etwa 20 Minuten 2.4 g frisch bereitetes Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid ein. Dies geht ziemlich rasch in Lösung. Findet während der Operation die Bildung eines Niederschlages statt, so fügt man noch Chloroform (etwa 20 ccm) hinzu. Schliesslich wird die fast klare Lösung unter vermindertem Druck eingedampft und der farblose, krystallinische Rückstand zur Entfernung von Glykocoll-esterechlorhydrat und etwa vorhandenem Bromisocapronyl-diglycyl-glycin zuerst mit ca. 30 ccm kaltem Wasser und dann nochmals mit etwa 20 ccm Wasser unter Zusatz von wenig Ammoniak ausgelaugt. Der Rückstand ist fast reiner Bromisocapronyl-triglycyl-glycinester,

¹⁾ Diese Berichte 38, 616 [1905].

und die Ausbeute beträgt bei guter Qualität des Chlorides fast 90 pCt. der Theorie.

Zur völligen Reinigung wird er in der 20-fachen Menge heissem isessig gelöst, mit etwas Thierkohle entfärbt und die Lösung in der Hitze mit dem 3-fachen Volumen heissem Wasser vermischt. Beim Erkalten scheidet sich der Ester als farbloses, krystallinisches Pulver ab, das unter dem Mikroskop aus knollenartigen Aggregaten von äussert feinen Nadelchen erscheint.

Für die Analyse wurde bei 100° getrocknet.

0.1887 g Sbst.: 0.2939 g CO₂, 0.1039 g H₂O. — 0.1885 g Sbst.: 20.3 ccm N (19°, 758 mm).

C₁₆H₃₇O₆N₄Br. (Mol. 451.35.) Ber. C 42.54, H 6.03, N 12.45.

Gef. » 42.48, » 6.16, » 12.40.

Im Capillarrohr rasch erhitzt, beginnt der Ester gegen 235° (corr.) braun zu werden und schmilzt gegen 241° (corr.) unter Gasentwicklung. Er ist in heissem Wasser, Alkohol und Essigester recht schwer löslich.

Von verdünntem Alkali wird der Ester bei gewöhnlicher Temperatur sehr langsam angegriffen, und selbst im Brutraum ist 4—5-stündiges Schütteln der sehr fein gepulverten Substanz mit der für 1.5 Moleküle berechneten Menge $\frac{1}{3}$ -n. Natronlauge nöthig, um alles in Lösung überzuführen. Beim Ansäuern und längeren Stehen in der Kälte erhält man eine krystallinische Säure, wahrscheinlich Bromisocapronyl-triglycyl-glycin, aber die Ausbeute betrug noch nicht ein Drittel der Theorie. Voraussichtlich würde die Verseifung bei dem Methylester leichter gehen. Ich habe den Versuch aber unterlassen, weil die Säure sich viel bequemer direct aus dem Glykocoll darstellen lässt.

α-Bromisocapronyl-triglycyl-glycin,

C₄H₉.CHBr.CO.(NHCH₂CO)₃.NH.CH₂.COOH.

1 g Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid (1 Mol.) wird in mehreren Portionen unter kräftigem Schütteln in eine Lösung von 0.4 g Glykocoll (2 Mol.) in 5 ccm *n*-Natronlauge, die bis zum Gefrieren abgekühlt ist, eingetragen. Während dieser Operation fügt man noch 2 ccm *n*-Natronlauge zu. Das Chlorid verschwindet verhältnissmässig langsam, sodass der Vorgang ungefähr 15 Minuten beansprucht. Zum Schluss wird von einem geringen Rückstand filtrirt und die klare Flüssigkeit mit 6 ccm *n*-Salzsäure versetzt. Nach kurzer Zeit beginnt die Abscheidung von Krystallen, welche schliesslich die Flüssigkeit breiartig erfüllen. Sie werden nach 1-stündigem Stehen in Eiswasser filtrirt, auf porösem Thon von der Mutterlauge befreit und aus ca.

30 ccm heissem Wasser umkrystallisirt. Die Ausbeute an reiner Substanz betrug 0.8 g oder 73 pCt. der Theorie. In der obigen Vorschrift ist die Menge des Glykocolls doppelt so gross genommen, als die Theorie verlangt, um das viel werthvollere Chlorid möglichst auszunutzen. Das Gleiche gilt für die beiden folgenden Kuppelungen.

Zur Analyse wurde bei 100° getrocknet.

0.1851 g Sbst.: 21.4 ccm N (20°, 749 mm). — 0.2043 g Sbst.: 0.0902 g AgBr.

$C_{14}H_{23}O_6N_4Br$ (Mol. 423.3). Ber. N 13.26, Br 18.89.

Gef. » 13.10, » 18.79.

Aus Wasser krystallisirt die Säure in mikroskopisch kleinen, ziemlich derben Plättchen, die beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 212° (corr.) sich braun färben und gegen 218° (corr.) unter Zersetzung schmelzen.

Durch Einwirkung von Ammoniak wird man daraus zweifellos das entsprechende Pentapeptid erhalten.

α -Bromisocapronyl-tetraglycyl-glycin,
 $C_4H_9 \cdot CHBr \cdot CO \cdot (NHCH_2CO)_4 \cdot NH \cdot CH_2 \cdot COOH$.

An Stelle des Glycylglycins verwendet man als Ausgangsmaterial bequemer das Glycinanhydrid.

1.2 g desselben (entsprechend 2 Mol. Glycylglycin) werden in 12 ccm *n*-Natronlauge durch Schütteln gelöst und 25 Minuten bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen, sodass die Umwandlung in das Dipeptid sicher vollendet ist. Jetzt fügt man zur Neutralisation des überschüssigen Alkalis 1.4 ccm *n*-Salzsäure zu, kühlt die Flüssigkeit in einer Kältemischung bis zur Eisbildung ab, und trägt dann unter kräftigem Schütteln und weiterem Kühlen 2 g Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid im Laufe von einer halben Stunde portionenweise ein. Wenn ungefähr die Hälfte des Chlorids verbraucht ist, fügt man noch 3 ccm *n*-Alkali und zum Schluss der Operation noch 1 ccm zu. Das Chlorid geht auch hier ziemlich langsam in Lösung. Wenn es bis auf einen geringen Rest verschwunden ist, wird die Flüssigkeit, die ziemlich stark schäumt, filtrirt und mit 9.2 ccm *n*-Salzsäure versetzt. Dabei findet sofort die Abscheidung des Kuppelungsproductes statt. Es wird nach einstündigem Stehen bei 0° abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und aus ca. 100 ccm heissem Wasser umkrystallisirt. Die Ausbeute an reinem Präparat ist gleich der Menge des angewandten Chlorids, was 80 pCt. der Theorie entspricht.

Für die Analyse wurde bei 100° getrocknet.

0.1393 g Sbst.: 17.9 ccm N (18°, 748 mm). — 0.1800 g Sbst.: 0.0700 g AgBr.

$C_{16}H_{23}O_7N_5Br$ (Mol. 480.36). Ber. N 14.61, Br 16.65.
Gef. » 14.65, » 16.55.

Die Substanz bildet ein krystallinisches Pulver, das unter dem Mikroskop aus ziemlich derben Aggregaten von wenig charakteristischer Form erscheint. Rasch erhitzt, beginnt sie gegen 230° (corr.) braun zu werden und schmilzt gegen 237° (corr.) unter Gasentwicklung. Von heissem Wasser braucht sie die 40—50-fache Menge zur Lösung, in heissem Eisessig ist sie etwas leichter löslich und scheidet sich daraus beim Abkühlen in kugligen Aggregaten aus. Von heissem Alkohol wird sie so schwer aufgenommen, dass man für 1 g fast 2 L anwenden muss.

Leucyl-tetraglycyl-glycin,



Uebergiesst man 1.5 g Bromisocapronyl-tetraglycyl glycin mit 15 ccm wässrigem Ammoniak, das bei 0° gesättigt ist, so findet beim Umschütteln ziemlich rasch Lösung statt, und nach 2-tägigem Stehen der Flüssigkeit bei Zimmertemperatur ist die Abspaltung des Halogens vollzogen. Man filtrirt dann die etwas trübe Lösung und verdampft sie zuerst unter vermindertem Druck. Da hierbei aber nach einiger Zeit sehr starkes Schäumen eintritt, so wird der Rest auf dem Wasserbade eingedampft. Der hierbei hinterbleibende, schwach gelbe Syrup verwandelt sich beim nochmaligen Abdampfen mit Alkohol in eine feste Masse. Er wird zunächst in etwa 3 ccm Wasser gelöst und diese Flüssigkeit in der Hitze mit ziemlich viel warmem Alkohol versetzt. Beim Erkalten scheidet sich das Hexapeptid als farbloses Pulver aus. Die Ausbeute betrug 0.8 g oder 62 pCt. der Theorie.

Zur völligen Reinigung wird es in 15 ccm alkoholischem Ammoniak warm gelöst. Beim Wegkochen des Ammoniaks scheidet es sich als weisses Pulver aus, das makroskopisch ein krystallinisches Ansehen hat, unter dem Mikroskop aber als kugelige Aggregate erscheint, bei denen man keine deutliche Krystallform entdeckt.

Zur Analyse wurde bei 100° im Vacuum getrocknet.

0.1240 g Sbst.: 0.2095 g CO_2 , 0.0756 g H_2O . — 0.2042 g Sbst.: 34.2 ccm N (15° , 769 mm).

$C_{16}H_{28}O_7N_6$ (Mol. 416.46). Ber. C 46.1, H 6.77, N 20.23.
Gef. » 46.1, » 6.80, » 19.90.

Die Substanz färbt sich beim raschen Erhitzen von 225° (corr.) an und schmilzt partiell unter starkem Schäumen gegen 240° (corr.). In Wasser ist sie sehr leicht, in absolutem Alkohol aber sehr schwer löslich. Sie zeigt sehr starke Biuretfärbung.

α -Bromisocapronyl-pentaglycyl-glycin,
 $C_4H_9.CHBr.CO.(NHCH_2CO)_5.NH.CH_2.COOH.$

2.4 g α -Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid (1 Mol.) wurden ebenso wie in den vorhergehenden Fällen in eine Lösung von 2.3 g Diglycyl-glycin (2 Mol.) in 12 ccm *n*-Natronlauge allmählich eingetragen und während der Operation noch 4 ccm *n*-Natronlauge zugegeben. Die alkalische Flüssigkeit schäumt sehr stark wie Seifenlösung, sodass das Verschwinden des Chlorids schwerer zu beobachten ist. Nach ungefähr einhalbstündigem Schütteln wird die alkalische Lösung filtrirt und mit 4 ccm 5-fach *n*-Salzsäure versetzt, wobei sofort ein dicker Niederschlag entsteht. Es wird nach einstündigem Stehen in Eiswasser soweit wie möglich abgesaugt, durch Aufstreichen auf eine Thonplatte von der Mutterlauge befreit, dann in etwa 300 ccm heissem Wasser gelöst und die Flüssigkeit mit Thierkohle entfärbt und geklärt. Aus dem heissen Filtrat scheidet sich beim Abkühlen auf 0° schon ein Theil des Kuppelungsproductes (etwa 1 g) aus. Den Rest gewinnt man durch Eindampfen der Mutterlauge unter geringem Druck. Die Gesamtausbeute betrug 2.5 g oder 73 pCt. der Theorie.

Für die Analyse wurde im Vacuum bei 100° getrocknet.

0.1864 g Sbst.: 0.2707 g CO₂, 0.0888 g H₂O. — 0.1643 g Sbst.: 22 ccm N (19.5°, 766.5 mm). — 0.1654 g Sbst.: 0.0587 g AgBr.

$C_{15}H_{23}O_8N_6Br$ (Mol. 537.43). Ber. C 40.19, H 5.44, N 15.67, Br 14.88.
 Gef. » 39.60, » 5.33, » 15.57, » 15.10.

Die Menge des gefundenen Kohlenstoffs weicht allerdings 0.6 pCt. von der Theorie ab, was vielleicht von der schweren Verbrennbarkeit der Substanz herrührt.

Aus Wasser scheidet sich die Verbindung in farblosen, knolligen Aggregaten ab, die unter dem Mikroskop ganz gleichmässig aussehen, aber keine deutliche krystallinische Structur zeigen. Rasch erhitzt, beginnt sie gegen 220° (corr.) sich zu färben und schmilzt unter totaler Zersetzung gegen 250° (corr.). In Alkohol und Eisessig ist sie schwer löslich.

Leucyl-pentaglycyl-glycin,



2.5 g des vorhergehenden Bromkörpers wurden in 13 ccm wässrigem, bei 0° gesättigtem Ammoniak gelöst und mehrere Tage stehen gelassen. Dabei war ein kleiner Niederschlag entstanden, der sich auf Zusatz von Wasser löste. Die Isolirung des Heptapeptids wurde genau so ausgeführt, wie die des Hexapeptids, nur wurde es zur völligen Reinigung nicht in alkoholischem Ammoniak gelöst, sondern aus der wässrigen Lösung durch Alkohol gefällt. Man gewinnt es auf diese Art ebenfalls als farbloses, körniges Pulver, das aus mikro-

skopisch kleinen, kugeligen Aggregaten ohne deutliches, krystallinisches Gefüge besteht.

Für die Analyse wurde ebenfalls im Vacuum bei 100° getrocknet

0.1656 g Sbst.: 0.2739 g CO₂, 0.1012 g H₂O. — 0.1062 g Sbst.: 19.3 ccm N (19°, 764 mm).

C₁₈H₃₁O₈N₇ (Mol. 473.52). Ber. C 45.62, H 6.6, N 20.70.

Gef. » 45.11, » 6.8, » 21.02.

Das Heptapeptid färbt sich ebenfalls beim raschen Erhitzen von ca. 220° gelb, später braun und zersetzt sich gegen 270° vollständig.

Es zeigt sehr stark die Biuretfarbe, löst sich in Wasser leicht und in absolutem Alkohol äusserst schwer.

Für die Darstellung seiner Derivate, unter denen man zweifels- ohne auch krystallinischen Producten begegnen wird, fehlte mir bisher das Material.

Darstellung des *d*-Alanins aus Seide.

Als Rohmaterial benutzt man am besten die billigen Abfälle der Mailänder Grège.

1 Kilo wird mit 4 Liter Salzsäure übergossen und öfter umgeschüttelt, bis nach etwa einer Stunde die Fäden zerfallen sind. Dann erwärmt man wiederum unter häufigem Umschütteln langsam auf dem Dampfbade, wobei unter starkem Schäumen durch die entweichende Salzsäure eine dunkelviolette Lösung entsteht. Diese wird endlich am Rückflusskühler 5 Stunden gekocht, wobei es vortheilhaft ist, ein bis zwei Löffel Thierkohle zuzusetzen. Nach völligem Erkalten filtrirt man die salzsaure Flüssigkeit durch grobes aber starkes Colirtuch und verdampft dann unter stark vermindertem Druck bei 40–45° bis zum dicken Syrup. Dieser wird noch warm mit 3 Liter absolutem Alkohol übergossen und ein sehr kräftiger Strom von trockner Salzsäure ohne Kühlung unter öfterem Umschütteln bis zur Sättigung eingeleitet, wobei wiederum vollständige Lösung und die Erhitzung des Alkohols bis zum Sieden stattfinden muss. Diese Operation soll in 1½ Stunden beendet sein. War der Salzsäurestrom und in Folge dessen die Erhitzung zu schwach, so muss nachträglich noch auf dem Wasserbade etwa eine halbe Stunde im Sieden erhalten werden, um die Veresterung möglichst vollständig zu machen. Wird jetzt die tief dunkelbraune Flüssigkeit bei 0° abgekühlt und mit einigen Kryställchen von salzsaurem Glykocoll ester geimpft, so scheidet sich im Laufe von 12 Stunden bei 0° der grösste Theil des Glykocolls als Esterchlorhydrat in Form eines dicken Krystallbreies ab. Man filtrirt die Masse auf der Nutsche über grobem Colirtuch, presst stark zusammen und wäscht mit wenig eiskaltem Alkohol. Die salzsaure, alkoholische Lösung wird wiederum unter geringem Druck aus einem Bade von 40–45° möglichst stark eingedampft und der zurückbleibende Syrup von neuem mit 1½ Liter Alkohol durch Salzsäuregas verestert. Lässt man dann die erkaltete Lösung nach dem Impfen noch 2 Tage bei 0° stehen, so scheidet sich auch der Rest des Glykocolls als Esterchlorhydrat grösstentheils ab. Die abermals filtrirte Lösung wird

wiederum unter geringem Druck verdampft und daraus in der häufig beschriebenen Weise durch Alkali und Kaliumcarbonat die Ester in Freiheit gesetzt und mit Aether extrahirt, wovon etwa 6 Liter erforderlich sind. Nachdem der grösste Theil des Aethers bei gewöhnlichem Druck auf dem Wasserbade verdampft ist, wird die Destillation unter einem Druck von 10—12 mm fortgesetzt. Bei gewöhnlicher Temperatur geht zunächst noch Aether weg. Erwärmt man dann das Siedegefäss in warmem Wasser, so kommt zuerst ein Vorlauf, der noch Alkohol, Aether, aber auch schon etwas Glykocoll- und Alanin-Ester enthält. Ist die Badtemperatur auf 55° gestiegen, so fängt die Hauptmenge des Alaninesters an zu sieden. Man unterbricht die Operation, wenn bei einer Badtemperatur von 80° nichts mehr übergeht. Auf diese Weise erhält man 220—250 g Destillat, das zum allergrössten Theil aus Alaninester besteht. Der Rückstand kann auf Serin verarbeitet werden.

Zur Gewinnung des freien Alanins wird der Alaninester mit der 5-fachen Menge Wasser etwa 4—5 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt, bis die alkalische Reaction verschwunden ist. Man verdampft dann die Lösung auf dem Wasserbade bis zur beginnenden Krystallisation. Lässt man jetzt die Flüssigkeit bei 0° stehen, so scheiden sich etwa 60 g Alanin ab, die nach der optischen Bestimmung fast reine *d*-Verbindung sind. Als zweite Krystallisation werden aus der Mutterlauge 40—50 g erhalten, die auch noch ziemlich reine, active Aminosäure sind, sodass die Gesamtausbeute 100—110 g beträgt. Die letzten Mutterlaugen enthalten noch ziemlich viel actives Alanin, aber verunreinigt durch soviel Racemkörper, dass sie durch blosse Krystallisation aus Wasser nicht mehr davon getrennt werden können. Die beiden ersten Krystallisationen werden noch einmal in heissem Wasser gelöst und die Flüssigkeit bis zur beginnenden Krystallisation auf dem Wasserbade eingedampft. Bei 0° scheidet sich dann eine grosse Menge der reinen, activen Aminosäure ab.

Eigenschaften des reinen *d*-Alanins. Beim langsamen Verdunsten der wässrigen Lösung bei gewöhnlicher Temperatur scheidet sich die Substanz in prächtig ausgebildeten, manchmal centimetergrossen, dicken und flächenreichen Krystallen ab. Auf Vermittelung meines Collegen, Geb. Rath's C. Klein, hat Hr. Dr. F. von Wolff, Privatdocent der Mineralogie an hiesiger Universität, ihre Untersuchung gütigst übernommen, und ich verdanke ihm folgende Angaben:

Krystallsystem: rhombisch, auf Grund von Aetzfiguren sphenöidisch-hemiëdrisch; Axenverhältniss: $a : \bar{b} : c = 0.9784 : 1 : 0.4924$. Beobachtete Formen: $\infty P(110)$; $P\bar{\infty}(011)$; $\infty P\bar{\infty}(100)$; $\infty P\bar{\infty}(010)$; Ebene der optischen Axen: $\infty P\bar{\infty}(100)$. Die erste negative Mittellinie steht auf $\infty P\bar{\infty}(010)$ senkrecht.

Das reine *d*-Alanin schmeckt ziemlich stark süss, hat aber, wenn es in fein gepulverter Form geprüft wird, einen schwach faden Nachgeschmack. Genau so verhält sich übrigens auch das *l*-Alanin, sodass eine Geschmacksverschiedenheit bei diesen beiden Isomeren nicht besteht. Da das Drehungsvermögen der reinen Aminosäure in Wasser sehr gering ist, so benutzt man für die optische Untersuchung am

besten das Hydrochlorat. Ich habe diese Bestimmung früher bei den beiden Isomeren ausgeführt und $[\alpha]_D^{20}$ im einen Falle $+ 9.55^\circ$, im anderen $- 9.68^\circ$ gefunden. Diese Zahlen sind aber etwas zu gering, und den Präparaten war offenbar etwas Racemkörper beigemischt, denn sie wurden durch Spaltung der Benzoylverbindungen mit Salzsäure dargestellt, und hierbei findet eine partielle Racemisirung statt. Dieser Racemkörper wird beim Umkrystallisiren des salzsauren Salzes aber nicht entfernt. Dagegen findet dieses offenbar statt beim Umkrystallisiren der freien Aminosäure aus Wasser.

Ein Präparat, welches aus dem durch wiederholte Krystallisation aus Wasser sorgfältig gereinigten *d*-Alanin durch Abdampfen mit einem geringen Ueberschuss von Salzsäure, Lösen des Rückstandes in Alkohol und Fällen mit Aether dargestellt war, gab folgende Zahlen:

Eine Lösung vom Gesamtgewicht 3.6173 g, die 0.3662 g salzsaures Alanin enthielt, drehte Natriumlicht bei 20° im 1 dm-Rohr $1.07^\circ \pm 0.02^\circ$ nach rechts und hatte das spec. Gewicht 1.03. Daraus berechnet sich:

$$[\alpha]_D^{20} = + 10.3^\circ \pm 0.2^\circ.$$

Bei einem zweiten Versuch wurde die Aminosäure in Wasser und der berechneten Menge Salzsäure gelöst.

Die Lösung, deren Gesamtgewicht 6.2513 g betrug und die 0.4452 g Alanin, also 10.04 pCt. salzsaures Alanin, enthielt, drehte Natriumlicht bei 20° im 1 dm-Rohr $1.08^\circ \pm 0.02^\circ$ nach rechts und hatte das spec. Gewicht 1.033. Daraus:

$$[\alpha]_D^{20} = + 10.4^\circ \pm 0.2^\circ.$$

Ein mässiger Ueberschuss von Salzsäure verändert die spezifische Drehung kaum.

Zum Vergleich wurde jetzt *l*-Alanin aus dem synthetischen Racemkörper in der früher beschriebenen Weise mittels der Benzoylverbindung dargestellt und auch hier die active Aminosäure durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus Wasser zuvor gereinigt. Die optische Bestimmung gab dann unter denselben Bedingungen für das Hydrochlorat den Werth $[\alpha]_D^{20} = - 10.3^\circ$.

Eine Lösung vom Gesamtgewicht 7.1412 g, die 0.5010 g *l*-Alanin enthielt, drehte Na-Licht bei 20° im 2 dm-Rohr $2.10^\circ \pm 0.02^\circ$ nach links und hatte das spec. Gewicht 1.032. Daraus:

$$[\alpha]_D^{20} = - 10.3^\circ \pm 0.2^\circ.$$

Man kann demnach für das salzsaure active Alanin in ungefähr 10-proc. wässriger Lösung als Mittelwerth annehmen $[\alpha]_D^{20} = + 10.3^\circ$. Es ist aber zu beachten, dass dieser Werth nur erreicht wird, wenn die freie Aminosäure aus Wasser sehr sorgfältig umkrystallisirt ist. Bei den Präparaten, wie sie bei der Hydrolyse der Proteinstoffe nach dem üblichen Verfahren gewonnen werden, bleibt die optische Drehung

in der Regel 1—2⁰ unter diesem Werthe, weil bei dem Kochen mit Säuren stets eine partielle Racemisirung der Aminosäuren stattfindet.

d-Alanyl-*d*-alanin.

Die Darstellung dieses Dipeptids ist im wesentlichen die gleiche wie diejenige des *d*-Alanyl-glycins¹⁾.

5 g salzsaures *d*-Alanylchlorid, das nach der früheren Vorschrift dargestellt ist²⁾, werden in eine auf 0⁰ abgekühlte Lösung von 8.5 g *d*-Alanyl-äthylester, der durch Baryumoxyd getrocknet ist, in 70 ccm Chloroform in 5 Portionen im Laufe von etwa 20 Minuten eingetragen. Beim jedesmaligen Schütteln geht das Chlorid rasch in Lösung. Nach einstündigem Stehen der Lösung bei Zimmertemperatur wird das Chloroform unter stark vermindertem Druck verdampft. Der zurückbleibende farblose Syrup wird in wenig Methylalkohol gelöst und wiederum unter geringem Druck eingedampft, um das Chloroform möglichst zu entfernen. Dann wird von neuem in Methylalkohol gelöst, filtrirt, auf 75 ccm verdünnt, in einer kleinen Probe das Chlor maassanalytisch bestimmt und zu der Hauptmenge die für das Chlor berechnete Quantität einer Natriummethylatlösung zugegeben, die 2 g Natrium auf 100 ccm reinen Methylalkohol enthält.

Nachdem das ausgeschiedene Kochsalz abfiltrirt ist, wird die Lösung wiederum unter geringem Druck verdampft, der Rückstand mit Aethylalkohol ausgelaugt, vom ungelösten Kochsalz abfiltrirt, abermals im Vacuum verdampft und jetzt der Rückstand vier Mal mit Petroläther gewaschen, um den Rest des Alaninesters zu entfernen. Der ölige Rückstand besteht dann zum grossen Theil aus dem Ester des Dipeptids. Zur Verseifung wird er in 18 ccm *n*-Natronlauge, die auf 0⁰ abgekühlt ist, gelöst und diese Lösung 2 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt. Dann fügt man zur Neutralisation des Alkalis 2.1 ccm 50 procentiger Essigsäure hinzu, verdampft abermals unter geringem Druck, löst den Rückstand in kaltem absolutem Alkohol und erwärmt auf dem Wasserbade einige Zeit bis zum Sieden. Dabei erfolgt die Krystallisation des Dipeptids. Man lässt dann erkalten, etwa eine Stunde bei gewöhnlicher Temperatur stehen und filtrirt. Dieses Product ist nahezu rein. Die Ausbeute beträgt ungefähr 1 g, mithin nur 18 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte salzsaure Alanylchlorid. Zur völligen Reinigung wird das Product in etwa 3 Theilen Wasser gelöst, wenn nöthig filtrirt und diese Flüssigkeit mit der 4—5-fachen Menge absolutem Alkohol versetzt. Beim Erkalten scheidet sich das Dipeptid häufig in centimeter-

¹⁾ Diese Berichte 38, 2921 [1905]. ²⁾ Diese Berichte 38, 2917 [1905].

langen, dünnen Prismen ab. Der Verlust beim Umkrystallisiren ist gering.

Für die Analyse wurde das Präparat bei 100° getrocknet.

0.1423 g Sbst.: 0.2344 g CO₂, 0.0983 g H₂O. — 0.1778 g Sbst.: 26.4 ccm N (18°, 762 mm).

C₆H₁₂O₃N₂ (Mol. 160.17). Ber. C 44.95, H 7.55, N 17.53.
Gef. » 44.93, » 7.73, » 17.26.

Für die optische Bestimmung diente eine wässrige Lösung von 7.1448 g Gesamtgewicht, die 0.3523 g Substanz enthielt. Sie drehte Natriumlicht bei 20° im 2 dm-Rohr 2.16° nach links und hatte das spec. Gewicht 1.017. Daraus berechnet sich die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = -21.6^\circ$.

Das Präparat wurde dann noch zwei Mal in obiger Weise umkrystallisiert und zeigte jetzt in 5-procentiger wässriger Lösung genau die gleiche spezifische Drehung. Da eine dritte Bestimmung von einem anderen Präparat — 21.5° gab, so scheint dies in der That der richtige Werth zu sein; wenigstens lässt er sich durch Umkrystallisiren aus Wasser und Alkohol nicht mehr erhöhen.

Die Substanz hat wie alle Dipeptide keinen ganz constanten Schmelzpunkt, weil sie bei höherer Temperatur Wasser verliert. Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr beobachtet man die Schmelzung gegen 298° (corr.); das ist ungefähr der Schmelzpunkt des entsprechenden activen Alaninhydrids. Es verdient hervorgehoben zu werden, dass der Schmelz- resp. Zersetzungs-Punkt des racemischen Alanylalanins ungefähr 20° niedriger ist, dass hier also dieselben Verhältnisse vorliegen wie bei dem activen und racemischen Alanyl-glycin.

Hydrolyse des Dipeptids. Beim Kochen mit Salzsäure wird die Verbindung wie alle ihre Verwandten gespalten und liefert dabei *d*-Alanin. Da das salzsaure Salz des Letzteren nach rechts dreht, während das salzsaure Dipeptid eine starke Linksdrehung hat, so kann man durch die optische Untersuchung den Verlauf der Hydrolyse verfolgen. Ein solcher Versuch zeigt nun, dass diese Hydrolyse bei den einfachen Dipeptiden verhältnissmässig langsam von statten geht.

Eine Lösung von 0.3749 g Dipeptid in 6 ccm 10-procentiger Salzsäure, die das Gesamtgewicht 6.6651 g hatte und mithin 5.6 pCt. Dipeptid enthielt, zeigt zuerst im Dec.-Rohr die Drehung 2.15° nach links, woraus sich mit Berücksichtigung des specifischen Gewichts für das *d*-Alanyl-*d*-alanin in salzsaurer Lösung die spezifische Drehung zu ungefähr — 36.5° berechnet. Diese Lösung wurde im geschlossenen Rohr auf 100° erhitzt. Nach 5 Stunden war die Drehung auf + 0.08° zurückgegangen; nach 7½ Stunden betrug sie + 0.51°, nach 10 Stunden + 0.72°, nach 15 Stunden + 0.87° und blieb dann constant. Der letzte Werth würde ungefähr der vollständigen Spaltung in *d*-Alanin entsprechen. Ganz genau können die Zahlen nicht sein, da bei der Hydrolyse eine geringe Racemisation stattfindet.

Die Berechnung obiger Zahlen ergibt, dass nach 5 Stunden ungefähr 73 pCt., nach 7½ Stunden ungefähr 87 pCt. und nach 10 Stunden 94 pCt. Dipeptid gespalten waren. Aus diesen Zahlen erklärt sich auch, dass man bei der Spaltung der Proteine mit concentrirter Salzsäure 5–6 Stunden kochen muss, um eine völlige Spaltung bis zu den Aminosäuren zu erreichen.

d-Alanin-anhydrid (actives *cis*-Dimethyl-diketopiperazin).

Am reinsten wird die Verbindung gewonnen aus dem Ester des *d*-Alanyl-*α*-alanins durch alkoholisches Ammoniak.

Will man das Dipeptid selbst als Ausgangsmaterial benutzen, so verfährt man folgendermaassen: Das Dipeptid wird mit der 10-fachen Menge Alkohol übergossen und ohne Abkühlung gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung eingeleitet, wobei rasch Lösung erfolgt. Um die Veresterung zu vervollständigen, ist es rathsam, diese Lösung unter sehr geringem Druck zu verdampfen, dann dieselbe Menge Alkohol, wie oben, zuzufügen und das Einleiten von Salzsäure zu wiederholen. Die Flüssigkeit wird jetzt abermals unter sehr geringem Druck verdampft. Der Rückstand ist ein farbloser Syrup. Er wird mit sehr wenig Alkohol vermischt und in ungefähr die 10-fache Menge alkoholisches Ammoniak, das bei 0° gesättigt und auch auf 0° abgekühlt ist, eingetragen. Dabei erfolgt eine Trübung, die aber beim Umschütteln verschwindet. In dieser Lösung beginnt nach mehrstündigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur die Abscheidung des Anhydrids in dünnen, aber ziemlich grossen, glänzenden Blättchen. Es wird nach etwa 12 Stunden abfiltrirt. Die Ausbeute beträgt 85–90 pCt. der Theorie. Einmaliges Umkrystallisiren des Productes aus der 10-fachen Menge heissen Wassers genügt zur völligen Reinigung. Es bildet dann silberglänzende feine Blättchen, die für die Analyse bei 100° getrocknet wurden.

0.1235 g Sbst.: 0.2297 g CO₂, 0.0766 g H₂O. — 0.1742 g Sbst.: 29.4 ccm N (15.5°, 762 mm).

C₆H₁₀O₂N₂ (Mol. 142.16). Ber. C 50.65, H 7.09, N 19.75.

Gef. » 50.72, » 6.94, » 19.81.

Da die Substanz in kaltem Wasser ziemlich schwer löslich ist, so musste für die optische Untersuchung eine nur 2-procentige Flüssigkeit verwandt werden.

Eine Lösung vom Gesamtgewicht 12.8787 g, die 0.2741 g Substanz enthält, drehte Na-Licht bei 20° im 2 cm-Rohr 1.23° ± 0.02° nach links und hatte das spec. Gewicht 1.003. Daraus berechnet sich:

$$[\alpha]_D^{20} = -28.8^\circ \pm 0.5^\circ.$$

Nach zweimaligem Umkrystallisiren aus der 10-fachen Menge Wasser war die spezifische Drehung unverändert. Im Capillarrohr

sehr rasch erhitzt, schmilzt es gegen 297° (corr.) zu einer schwach gelben Flüssigkeit, nachdem einige Grade vorher Sinterung stattgefunden hat.

Unter denselben Umständen schmilzt das einzige, bisher bekannte, inactive Alanin-anhydrid 15° niedriger. Wie alle solche Anhydride wird auch diese Verbindung weder von verdünnten Säuren, noch Alkalien in der Kälte gelöst. Sie schmeckt schwach bitter und färbt sich in wässriger Lösung beim kurzen Kochen mit Kupferoxyd nicht.

Leichter und in derselben Reinheit erhält man das gleiche *d*-Alanin-anhydrid aus dem Ester des Dipeptids, der bei dessen Synthese als Zwischenproduct entsteht. Man verfährt, wie oben für die Synthese des Dipeptids angegeben ist, bis zu dem Punkte, wo das Chloroform abdestillirt ist. Dann löst man den Rückstand, der den salzsauren Dipeptidester enthält, in absolutem Alkohol, fügt die dem Chlor genau entsprechende Menge einer verdünnten Natriumäthylatlösung zu, filtrirt vom abgeschiedenen Kochsalz ab und sättigt die alkoholische Lösung bei 0° mit gasförmigem Ammoniak. Nach 12 Stunden wird das abgeschiedene Anhydrid filtrirt. Die Ausbeute betrug hier 36 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte salzsaure *d*-Alanylechlorid, mithin doppelt so viel als diejenige des Dipeptids. Daraus geht hervor, dass ursprünglich die Synthese glatter verläuft, als man nach der schlechten Ausbeute an Dipeptid vermuthen sollte.

Aus heissem Wasser umkrystallisirt, zeigt das so erhaltene *d*-Alanin-anhydrid die gleiche Drehung wie das oben beschriebene Präparat.

Eine Lösung vom Gesamtgewicht 8.0970 g, die 0.1599 g Anhydrid enthält, drehte Na-Licht bei 20° im 2 dcm-Rohr $1.14^{\circ} \pm 0.02^{\circ}$ nach links und hatte das spec. Gewicht 1.008. Daraus:

$$[\alpha]_D^{20} = -28.8^{\circ} \pm 0.5^{\circ}.$$

Ungleich bequemer ist die Darstellung des Alanin-anhydrids aus den Estern des *d*-Alanins durch Erwärmen, aber das Product wird, wie die optische Untersuchung zeigte, auf diesem Wege nicht so rein. Bei dem *d*-Alaninäthylester geht die Anhydridbildung bei 100° recht langsam von statten. Verwandt wurde für den Versuch ein Präparat, das mit Baryumoxyd sorgfältig getrocknet war. Erst nach 24-stündigem Erhitzen im Wasserbade schied sich ein Theil des Anhydrids krystallinisch aus. Nach 5-tägigem Erhitzen stieg aber die Ausbeute auf 82 pCt. der Theorie. Präparate verschiedener Darstellung zeigten nach dem Umlösen aus heissem Wasser eine erheblich geringere specifische Drehung (-24° , -26° , -26.8°), und durch weiteres Umkrystallisiren konnten diese Werthe nicht erhöht werden. Die Producte enthielten also offenbar eine nicht unerhebliche Menge inactives Anhydrid.

Viel rascher erfolgt die Anhydridbildung bei dem Methylester des *d*-Alanins. Schon nach 12-stündigem Erhitzen auf 100° betrug hier die Ausbeute 73 pCt. der Theorie, und dieses Präparat zeigte dann die spezifische Drehung $[\alpha]_D = -27^\circ$; aber auch dieser Werth blieb bei weiterem Umlösen aus Wasser constant. Nimmt man an, dass der obige Werth 28.8° der richtige ist, so würde das letztere Präparat ungefähr 6 pCt. inactives Anhydrid enthalten. Leider ist die Darstellung des Alaninmethylesters wegen der grösseren Flüchtigkeit etwas schwieriger und verlustreicher als diejenige der Aethylverbindung. Trotzdem bin ich der Ansicht, dass seine Verwendung für die Anhydridbildung zu empfehlen ist, da die Reaction so rasch erfolgt und ein reineres Präparat liefert. Für die meisten Zwecke dürfte die geringe Beimengung des inactiven Productes ohne Bedeutung sein.

Aufspaltung des *d*-Alanin-anhydrids.

Schüttelt man 1 g fein gepulvertes *d*-Alanin-anhydrid mit 8 ccm *n*-Natronlauge bei gewöhnlicher Temperatur, so ist schon nach 30–40 Minuten der allergrösste Theil aufgelöst, und der Rest löst sich im Laufe der nächsten Stunde. Die Flüssigkeit blieb noch eine Stunde stehen, um die Hydrolyse zu vervollständigen; dann wurde mit 50-procentiger Essigsäure schwach angesäuert und unter sehr geringem Druck zur Trockne verdampft. Der Rückstand löste sich in 25 ccm Alkohol völlig auf; als aber die Flüssigkeit zum Kochen erhitzt wurde, begann bald die Krystallisation des Dipeptids. Nachdem das Kochen 5 Minuten gedauert hatte, wurde die Flüssigkeit abgekühlt und der Niederschlag filtrirt. Die Ausbeute an Dipeptid betrug 0.6 g. Das in wenig Wasser gelöste und mit Alkohol gefällte Präparat zeigte in wässriger, 5-procentiger Lösung die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = -12.0^\circ$. Daraus ergibt sich, dass fast die Hälfte desselben inactiv war. Auch die undeutliche Krystallform weist auf ein Gemisch von activem und inactivem Dipeptid hin. Dieser Weg ist also für die Darstellung von reinem, activem Dipeptid nicht geeignet.

Diglycyl-glycinmethylester, $\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot (\text{NHCH}_2\text{CO}) \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{OCH}_3$.

Dass die Veresterung des Tripeptids leicht erfolgt, ist schon früher für die Aethylverbindung gezeigt worden¹⁾. Um den Methylester darzustellen, übergiesst man 6 g Tripeptid mit 90 ccm trockenem Methylalkohol und leitet ohne Kühlung einen starken Strom von Salzsäuregas ein. Dabei tritt Erwärmung und Lösung ein; bald nachher findet

¹⁾ Diese Berichte 36, 2984 [1903].

gewöhnlich Krystallisation des salzsauren Methylesters statt, der bei weiterem Einleiten der Salzsäure und stärkerer Erwärmung wieder in Lösung geht. Man kühlt dann die Lösung auf 0° ab, saugt nach 1 Stunde das reichlich ausgeschiedene Methylesterchlorhydrat ab und wäscht mit Aether. Die Ausbeute beträgt etwa 6.2 g. Die Mutterlauge giebt nach dem Eindampfen unter stark vermindertem Druck eine zweite Krystallisation. Das Salz ist nach dem Trocknen im Vacuum über Natronkalk für die weitere Darstellung des freien Esters rein genug.

Zur völligen Reinigung wurde es einmal aus der 10-fachen Menge (12 Volumtheile) heissem Methylalkohol umkrystallisirt, wobei, wenn stark gekühlt wird, ungefähr $\frac{2}{3}$ ausfallen, während man den Rest durch Aether fällen kann.

Für die Analyse wurde im Vacuumexsiccator getrocknet.

0.1574 g verbrauchten 6.38 ccm $\frac{1}{10}$ n. Silberlösung.

$C_7H_{13}O_4N_3.HCl$ (Mol. 239.5). Ber. Cl 14.8. Gef. Cl 14.4.

Das Salz krystallisirt aus Methylalkohol in glänzenden, sehr kleinen Blättchen. Im Capillarrohr rasch erhitzt, beginnt es gegen 200° (corr.) zu sintern und schmilzt gegen 204° (corr.) unter Aufschäumen.

Für die Bereitung des freien Aethylesters wurde früher das Hydrochlorat mit Silberoxyd zerlegt. Viel bequemer ist die Operation mit Natriummethylat. Man löst 5 g Methylester-Hydrochlorat in 150 ccm heissem Methylalkohol, kühlt rasch ab und fügt, bevor Krystallisation eingetreten ist, die zur Bindung des Chlors berechnete Menge einer Lösung zu, die auf 100 ccm Methylalkohol 2 g Natrium enthält. Hierbei findet keine Abscheidung statt. Man verdampft die Flüssigkeit rasch unter geringem Druck zur Trockne, laugt mit 40 ccm warmem Chloroform aus und fällt das abgekühlte Filtrat mit Aether. Die Ausbeute an Methylester beträgt 3.5 g oder 84 pCt. der Theorie. Dieses Präparat kann direct für die nachfolgend beschriebene Umwandlung in Pentaglycylglycin verwendet werden.

Zur völligen Reinigung wird das Präparat mit ungefähr 10 Volumtheilen warmem Chloroform ausgelaut, wobei eine kleine Menge eines unlöslichen Condensationsproductes zurückbleibt. Versetzt man das warme Filtrat mit Aether bis zur beginnenden Trübung, so scheidet sich der Methylester beim Erkalten in farblosen, manchmal centimeterlangen und häufig sternförmig gruppirten Nadeln oder sehr dünnen Prismen ab, die für die Analyse im Vacuumexsiccator getrocknet wurden.

0.1679 g Sbst.: 0.2536 g CO_2 , 0.0976 g H_2O . — 0.1590 g Sbst.: 28.4 ccm N (19° , 761 mm).

$C_7H_{13}O_4N_3$ (Mol. 203). Ber. C 41.34, H 6.45, N 20.73.
Gef. » 41.20, » 6.50, » 20.63.

Der Ester hat keinen ganz scharfen Schmelzpunkt. Das reinste Präparat schmolz im Capillarrohr gegen 111° (corr.), verwandelte sich aber rasch bei derselben Temperatur in das unten beschriebene, feste Condensationsproduct. Er löst sich leicht in Wasser und reagirt auf Lakmus stark alkalisch. Auch in Alkohol und heissem Chloroform löst er sich leicht, dagegen sehr schwer in Aether.

Pentaglycyl-glycinmethylester,
 $NH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot [NHCH_2CO]_4 \cdot NH \cdot CH_2 \cdot COOCH_3$.

Gepulverter Diglycylglycinmethylester wird in dünner Schicht in einem offenen Kolben auf 100° erhitzt. Ohne zu schmelzen, condensirt er sich dabei unter Abgabe von Methylalkohol. Bei Mengen von 2–3 g ist die Operation in einer halben Stunde beendigt. Man kann dafür den rohen Diglycylglycinmethylester verwenden. Wie schon erwähnt, besteht das Rohproduct der Condensation aus zwei Körpern, zu deren Trennung man mit der 7-fachen Menge kochendem Wasser behandelt und von dem amorphen, sehr fein vertheilten Rückstand heiss abfiltrirt. Beim Erkalten scheidet sich der Pentaglycyl-glycinmethylester als dicke, weisse Masse ab, die nach 1-stündigem Stehen bei 0° abgesaugt und mit wenig eiskaltem Wasser gewaschen wird. Die Ausbeute beträgt etwa 70 pCt. vom Gewicht des angewandten Diglycylglycinmethylesters oder 76 pCt. der Theorie.

Zur völligen Reinigung wurde das Product nochmals aus der 8-fachen Menge heissem Wasser umgelöst, abgesaugt, erst auf porösem Thon, dann im Vacuumexsiccator und schliesslich kurze Zeit im Vacuum bei 100° getrocknet.

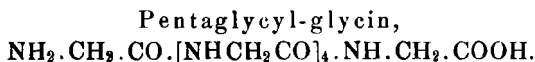
0.2003 g Sbst.: 0.3043 g CO_2 , 0.1085 g H_2O . — 0.1774 g Sbst.: 34.0 ccm N ($16^\circ C$, 763 mm).

$C_{13}H_{22}O_7N_6$ (Mol. 374.4). Ber. C 41.66, H 5.92, N 22.51.
Gef. » 41.43, » 6.06, » 22.49.

Die Substanz hat keinen Schmelzpunkt, sondern zersetzt sich zwischen 200° und 300° . Selbst bei 100° wird sie allmählich in eine amorphe, in Wasser unlösliche Substanz verwandelt, die mit dem bei ihrer Darstellung entstehenden Nebenproduct die grösste Aehnlichkeit hat. Aber diese Verwandlung erfolgt so langsam, dass nach 6-stündigem Erwärmen auf 100° nur der kleinere Theil davon betroffen war. Aus heissem Wasser scheidet sie sich als sehr feiner Niederschlag ab, der unterm Mikroskop keine deutliche Krystallform zeigt. Die wässrige Lösung reagirt schwach alkalisch. In Alkohol ist die Substanz sehr schwer löslich, dagegen wird sie von verdünnten Mineral-

säuren, besonders bei gelinder Wärme, als Salz leicht gelöst. Die wässrige Lösung giebt starke Biuret-Färbung. Durch verdünnte, wässrige Alkalien wird sie ziemlich rasch gelöst und verseift.

Ebenso leicht wie der Methylester des Diglycylglycins lässt sich der Ester des Leucyl-glycyl-glycins durch Erhitzen condensiren, und ich zweifle nicht daran, dass es sich hier um eine allgemeine Reaction handelt, die ich auch auf die Tetra- und Penta-Peptide anwenden will.



Der Methylester wird in der 5-fachen Menge Wasser fein vertheilt, was man am raschesten durch Erhitzen bis zum Sieden und Abkühlen erreicht. Man fügt dann die für $1\frac{1}{4}$ Moleküle berechnete Menge starker Natronlauge zu und schüttelt bei Zimmertemperatur $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde. Dabei geht der allergrösste Theil unter gleichzeitiger Verseifung in Lösung. In der Flüssigkeit bleibt in geringer Menge ein amorphes Product suspendirt, das vom Alkali nicht mehr angegriffen wird. Da es schwer abzufiltriren ist, so versetzt man direct mit etwas mehr als der berechneten Menge Essigsäure, wodurch das Hexapeptid als dicker Niederschlag ausgefällt wird. Es wird nach einigem Stehen bei 0° möglichst abgesaugt und mit wenig kaltem Wasser gewaschen. Zur Reinigung löst man in heissem, verdünntem Ammoniak; auf 4 g ursprünglichen Methylester wurden 45 ccm Wasser und 8 ccm wässriges Ammoniak (von 25 pCt.) angewandt. In der Hitze geht das Hexapeptid ganz in Lösung, während der beigemengte, oben erwähnte, amorphe Körper ungelöst bleibt. Um die Filtration zu erleichtern, fügt man noch etwas Thierkohle hinzu und kocht auf. Wird das klare, farblose Filtrat verdampft, bis fast alles Ammoniak verjagt ist, so fällt das Hexapeptid als körniges, weisses Pulver heraus und wird nach völligem Erkalten der Lösung filtrirt. Die Mutterlauge giebt bei weiterem Einengen eine zweite, aber weit geringere Menge des gleichen Präparates. Die Ausbeute ist recht befriedigend, denn sie betrug bei Anwendung des rohen Methylesters 75 pCt. der Theorie.

Zur völligen Reinigung wurde das Hexapeptid nochmals in der gleichen Art aus heissem, verdünntem Ammoniak umgelöst, mit Wasser und Alkohol gewaschen, erst im Vacuumexsiccator und zuletzt für die Analyse im Vacuum bei 100° getrocknet.

0.1774 g Sbst.: 0.2602 g CO_2 , 0.0889 g H_2O . — 0.1850 g Sbst.: 37.0 ccm N (18° , 765 mm).

$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_7\text{N}_6$ (Mol. 360.4). Ber. C 39.96, H 5.59, N 23.38.
 Gef. » 40.00, » 5.55, » 23.35.

Das Pentaglycylglycin hat ebenso wenig, wie sein Methylester, einen Schmelzpunkt. Im Capillarrohr beginnt es gegen 256° (corr.) braun zu werden und zersetzt sich bei höherer Temperatur völlig ohne Schmelzung. Es ist in Alkohol unlöslich und in Wasser, selbst in der Hitze, sehr schwer löslich. Es übertrifft darin noch das ebenfalls in Wasser schon schwer lösliche Tetraglycylglycin. Angesichts dieser geringen Löslichkeit des nur aus Glycin zusammengesetzten Penta- und Hexa-Peptids verdient die grosse Löslichkeit des zuvor beschriebenen Leucyl-tetraglycyl-glycins und Leucyl pentaglycyl-glycins hervorgehoben zu werden. Soweit die bisherigen Erfahrungen reichen, scheinen die gemischten Polypeptide meistens in Wasser löslicher zu sein, als die einfachen Formen.

Aus der Lösung in verdünntem Ammoniak fällt Pentaglycylglycin beim Wegkochen des Ammoniaks als ziemlich schweres, körniges Pulver aus, das aber keine deutliche Krystallform zeigt. In verdünnten Alkalien ist es sehr leicht löslich, und diese Lösung giebt mit Kupfersalzen eine sehr starke Biuretfärbung.

In sehr verdünnten Mineralsäuren löst es sich besonders bei gelindem Erwärmen leicht. Von den hierbei entstehenden Salzen ist das Nitrat am schönsten, denn es krystallisirt beim Erkalten in hübschen, mikroskopisch kleinen Nadelchen, die aus gleichen Molekülen Peptid und Salpetersäure bestehen. Für seine Bereitung wurde 1 g Pentaglycylglycin in 5 ccm Wasser und 1.3 ccm Salpetersäure vom spec. Gewicht 1.17 warm gelöst. Beim Abkühlen begann bald die Krystallisation, und nach 1-stündigem Stehen bei 0° war die Abscheidung so vollkommen, dass die Ausbeute 1 g oder 85 pCt. der Theorie betrug. Es wurde abgesaugt, mit wenig eiskaltem Wasser gewaschen, dann zuerst im Vacuumexsiccator und zuletzt für die Analyse bei 100° im Vacuum getrocknet.

0.1648 g Sbst.: 0.2061 g CO₂, 0.0760 g H₂O.

C₁₂H₂₀O₇N₆.HNO₃. Ber. C 34.0, H 5.0.

Gef. » 34.1, » 5.2.

Ausserdem wurde die Salpetersäure nach der Methode von Busch mit »Nitron« bestimmt.

0.2489 g Sbst.: 0.2084 g Nitron-nitrat.

C₁₂H₂₀O₇N₆.HNO₃. Ber. HNO₃ 14.9. Gef. HNO₃ 14.1.

Im Capillarrohr schnell erhitzt, schmilzt das Salz gegen 240° (corr.) unter starker Gasentwicklung, nachdem es vorher schon gelb geworden ist.

Der oben erwähnte Körper, der bei der Darstellung des Pentaglycyl-glycinmethylester als Nebenproduct entsteht, ist wahrscheinlich ein höheres Condensationsproduct. Er löst sich theilweise in warmer,

sehr verdünnter Natronlauge, und diese Lösung giebt eine starke Biuret-färbung. Er löst sich viel leichter und vollkommener in kalter Salzsäure vom spec. Gewicht 1.19, und auf Zusatz von Wasser entsteht ein starker Niederschlag. Wird die salzsaure Lösung aber 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt, so ist die Fällung durch Wasser sehr gering. Nach dem Resultat der Analyse (Gef. C 41.3; H 5.7; N 23.1) könnte der Körper der Methylester eines Dodecaglycins sein; da aber seine Einheitlichkeit zweifelhaft ist, so lege ich darauf keinen besonderen Werth und behalte mir nähere Angaben über seine Zusammensetzung vor.

Bei der Ausführung dieser Versuche habe ich mich der ebenso eifrigen, wie geschickten Hülfe der HHrn. Dr. Ferdinand Reuter und Dr. Walter Axhausen erfreut, wofür ich ihnen besten Dank sage.

71. E. Wedekind:

Zur Kenntniss optisch-activer Ammoniumsalze.

(XXII. Mittheilung¹⁾ über das asymmetrische Stickstoffatom.)

[Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Tübingen.]

(Eingeg. am 24. Januar 1906; mitgeth. in d. Sitzung von Hrn. W. Marckwald.)

Vor kurzem haben Wedekind und Fröhlich zwei neue optisch-active Ammoniumsalze beschrieben²⁾, die ihr Drehungsvermögen der Gegenwart eines asymmetrischen Stickstoffatoms verdanken, nämlich das *d*- und *l*-Propyl-benzyl-phenyl-methyl-ammoniumjodid, sowie das *l*-Isobutyl-benzyl-phenyl-methyl-ammoniumjodid. Zwei Aufgaben, die im Rahmen des bearbeiteten Gebietes liegen und deren Beantwortung schon damals in Angriff genommen wurde, sind mittlerweile ganz oder theilweise entschieden worden: es handelte sich einerseits um die krystallographische Untersuchung der activen Salze und andererseits um den Nachweis eines Einflusses der Anionen auf die Neigung zur Antoracemisation der optisch-activen Kationen.

¹⁾ Frühere Mittheilungen s. diese Berichte 32, 511 ff., 517 ff., 1408 ff., 3561 ff. [1899]; 34, 3898 ff. [1901]; 35, 178 ff., 766 ff., 1075 ff., 3580 ff., 3907 ff. [1902]; 36, 1158 ff., 1163 ff., 3791 ff., 3796 ff. [1903]; 37, 2712 ff., 3894 ff. [1904]; 38, 436 ff., 1838 ff., 3438 ff., 3933 ff. [1905]; vergl. auch E. Wedekind, Ann. d. Chem. 318, 90 ff. [1901] und Zeitschr. für physikal. Chem. 45, 235 ff. [1903].

²⁾ Diese Berichte 38, 3438 ff. und 3933 ff. [1905].