

473. Emil Fischer: Synthese von Polypeptiden. XV.

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

(Eingegangen am 11. August 1906.)

Um die Leistungsfähigkeit der früher geschilderten Methoden weiter zu prüfen, habe ich mich bemüht, einerseits die Kette der Aminosäuren zu verlängern, um zu möglichst grossen Systemen zu gelangen und andererseits den Aufbau der optisch-activen Polypeptide mit verschiedenen Aminosäuren zu vervollkommen. Was den ersten Punkt betrifft, so ist es gelungen, die Synthese bis zu einem Dodekapeptid fortzuführen, welches aus einem Leucin- und 11 Glykocoll-Resten besteht. Obschon derartige Combinationen mit langen Glykocollketten in der Natur aller Wahrscheinlichkeit nach nicht vorhanden sind, habe ich doch geglaubt, die Versuche zunächst auf diese einfacheren Fälle zu beschränken, weil hier die Bildung von Stereoisomeren ausgeschlossen ist und weil die Beschaffung des Ausgangsmaterials am leichtesten ist.

Das früher beschriebene Heptapeptid war auf folgende Weise gewonnen¹⁾:

Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid wurde in wässrig-alkalischer Lösung mit Diglycyl-glycin combinirt und der so erhaltene Bromkörper durch wässriges Ammoniak in das Peptid verwandelt. Ersetzt man bei diesem Verfahren das angewandte Tripeptid durch Triglycyl-glycin bezw. Pentaglycyl-glycin, so resultiren ein Octapeptid, $C_4H_9 \cdot CH(NH_2) \cdot CO \cdot [NHCH_2CO]_5 \cdot NHCH_2COOH$, und ein Decapeptid, $C_4H_9 \cdot CH(NH_2) \cdot CO \cdot [NHCH_2CO]_8 \cdot NHCH_2COOH$.

Um endlich das noch um zwei Glieder reichere Dodekapeptid, $C_4H_9 \cdot CH(NH_2) \cdot CO \cdot [NHCH_2CO]_{10} \cdot NHCH_2COOH$, zu gewinnen, wurde das Bromisocapronyl-tetraglycyl-glycylchlorid mit Pentaglycyl-glycin gekuppelt.

Nach dem Gange der Synthese halte ich es für sehr wahrscheinlich, dass auch bei diesen complicirten Producten die Aminosäuren mit gerade fortlaufender Kette der Stickstoff- und Kohlenstoff-Atome verbunden sind, hoffe dafür aber später noch einen directeren Beweis liefern zu können.

Für die praktische Ausführung obiger Reactionen waren allerdings kleine Aenderungen der früheren Vorschriften nöthig. So gelingt die Chlorirung der hochmolekularen Bromkörper nur dann, wenn sie in besonderer Weise dazu vorbereitet sind. Umkrystallisiren aus Alkohol ist hier nicht mehr möglich, weil sie zu schwer löslich

¹⁾ Diese Berichte 39, 461 [1906].

sind. Man erhält sie aber in einem für die Chlorirung geeigneten Zustand durch Lösen in verdünnter Natronlauge, Ausfällen mit Salzsäure bei niederer Temperatur und vorsichtiges Trocknen im Vacuum über Phosphorpentoxyd. Die Chlorirung lässt sich dann durch Schüteln der fein gepulverten Substanz mit Acetylchlorid und Phosphor-pentachlorid recht gut durchführen. Ich habe mich überzeugt, dass diese Art der Chlorirung auch noch bei höheren Gliedern der Reihe, z. B. bei Bromisocapronyl-pentaglycyl glycin und Bromisocapronyl-hexaglycyl-glycin möglich ist.

Für die Umwandlung der hochmolekularen Bromkörper in die entsprechenden Peptide ist wässriges Ammoniak nur wenig geeignet. Recht gute Resultate wurden aber bei Anwendung von flüssigem Ammoniak erzielt. Die drei neuen Polypeptide sind zwar nicht mehr krystallisirt und enthalten auch nach dem Trocknen bei 100° noch ein Molekül Wasser, dessen Austreibung Schwierigkeiten bereitet. Da ferner die analytischen Differenzen bei diesen hochmolekularen Substanzen gering sind, so könnte man über ihre wirkliche Zusammensetzung im Zweifel sein, wenn sie auf anderem Wege gewonnen wären. Glücklicherweise bietet aber der Lauf der Synthese eine Controlle für die Formel in der Analyse der Bromkörper, deren Bromgehalt mit dem Molekulargewicht ziemlich stark variirt, und die wegen ihrer geringen Löslichkeit in Wasser so leicht zu reinigen sind, dass die Analysen recht befriedigende Werthe gegeben haben. Die neuen Polypeptide sind in Wasser recht schwer löslich und bilden auch in Wasser schwer lösliche salzsaure Salze. Sie nähern sich in dieser Beziehung schon auffallend den natürlichen Proteinen.

Von besonderer Wichtigkeit sind selbstverständlich die optisch activen Polypeptide, vorzüglich diejenigen, welche nur die natürlichen Aminosäuren enthalten. Für ihre Gewinnung geht man am bequemsten von den optisch activen Aminosäuren aus. Die Methoden, die zur Verkuppelung der Letzteren dienen können, sind früher beschrieben¹⁾. Da die praktische Ausführung der Polypeptid Synthese, zumal wenn es sich um die Herstellung längerer Ketten handelt, am bequemsten mit Hilfe der Halogenfettsäuren ausgeführt wird, so habe ich mich bemüht, diese in optisch activer Form zu gewinnen.

Den besten Weg hierfür bietet die zuerst von Walden bei der Asparaginsäure beobachtete Bildung von optisch activer Halogenbernsteinsäure; denn dieser Process lässt sich, wie ich schon gemeinsam mit O. Warburg²⁾ beim Alanin gezeigt habe, mit sehr gutem Erfolge auf die einfachen Aminosäuren übertragen. Wird die so erhaltene Bromfettsäure mit Ammoniak behandelt, so entsteht, ähnlich

¹⁾ Diese Berichte 39, 564 [1906].

²⁾ Ann. d. Chem. 340, 168 [1905].

der von Walden¹⁾ studirten Umwandlung von *l* Aepfelsäure in *d* Aepfelsäure, der optische Antipode der ursprünglichen Aminosäure, und genau dasselbe findet statt bei der Synthese von Polypeptiden. Geht man z. B., wie wir es früher gethan haben, vom *d* Alanin aus, verwandelt dieses in die Brompropionsäure, combinirt deren Chlorid mit Glykocoll und behandelt dasselbe mit Ammoniak, so resultirt *l*-Alanyl-glycin.

Durch diese »Walden'sche Umkehrung«, wie ich den Process in Zukunft allgemein nennen will, ist es nun möglich, beide Bestandtheile einer racemischen Aminosäure für den Aufbau von Polypeptiden, die nur natürliche Aminosäuren enthalten sollen, zu verwerthen. Als Beispiele wähle ich die Synthese des *l*-Leucyl-*l*-leucins, die folgendermaassen ausgeführt wurde. Racemisches Leucin wurde mit Hilfe der Formylverbindung in die beiden optischen Antipoden gespalten, dann aus dem *d*-Leucin die Bromisocapronsäure dargestellt, diese mit *l*-Leucin combinirt und das Bromproduct durch Ammoniak in das Dipeptid verwandelt; welches jetzt ausschliesslich aus zwei Resten von natürlichem *l*-Leucin bestand.

Auf diese Weise ist es möglich gewesen, eine Reihe von Polypeptiden mit dem Rest des *l*-Leucins zu gewinnen. Im Nachfolgenden sind beschrieben:

- l*-Leucyl-glycin,
- l*-Leucyl-*d*-alanin,
- l*-Leucyl-*l*-leucin

nebst den zugehörigen Anhydriden.

Bemerkenswerth ist, dass das Anhydrid des *l*-Leucyl-glycins sich als identisch erwiesen hat mit einem Product aus Elastin, das kürzlich von Abderhalden und mir beschrieben worden ist²⁾.

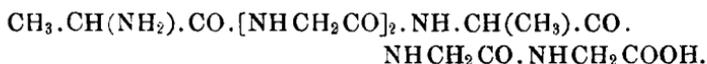
Wie vorauszusehen war, lassen sich die activen Halogenfettsäuren auch zum Aufbau höherer Peptide verwenden, wie folgende Beispiele zeigen mögen:

Actives α -Bromisocapronylchlorid (aus *d*-Leucin) wurde mit Diglycyl-glycin combinirt und daraus durch Ammoniak *l* Leucyl-diglycyl-glycin gewonnen. Da das als Zwischenproduct hierbei entstehende active Bromisocapronyl-diglycyl-glycin sich noch in der üblichen Weise chloriren lässt, ohne eine erhebliche Racemisirung zu erfahren, so wird man unzweifelhaft mit diesem Ausgangsmaterial auch die zuvor erwähnten hochmolekularen Polypeptide in optisch-activer Form erhalten können.

¹⁾ Diese Berichte 30, 2795, 3146 [1897].

²⁾ Diese Berichte 39, 2318 [1906].

Ferner wurde *l*-Brompropionsäure mit Glycyl-glycin gekuppelt und aus dem Bromproduct durch Ammoniak das *l*-Alanyl-glycyl-glycin bereitet. Der Methylester dieses Tripeptids kann dann genau in derselben Weise wie Diglycyl-glycinmethylester¹⁾ durch Erhitzen auf 100° condensirt werden. Unter Abspaltung von Methylalkohol bildet sich dabei der Methylester des *l*-Alanyl-diglycyl-*l*-alanyl-glycylglycins, und durch Verseifung entsteht daraus das Hexapeptid selbst, dem ich folgende Structurformel zuschreiben möchte:



Allerdings muss ich zufügen, dass der entscheidende Beweis dafür noch fehlt. Aber es ist doch auch hier recht wahrscheinlich, dass bei der Vereinigung der beiden Tripeptide die basische Amidogruppe die Kuppelung bewirkt.

Der Versuch beweist jedenfalls, dass die Bildung von Hexapeptiden aus den Estern der Tripeptide eine allgemeinere Reaction ist. Ich habe versucht, das Verfahren auch auf die Ester der Tetrapeptide, speciell auf die Biuretbase von Curtius und auf den entsprechenden, schön krystallisirten Methylester des Triglycyl-glycins zu übertragen, aber bisher keinen Erfolg gehabt, da beide Ester bei 100° sich nicht verändern und bei höherer Temperatur complicirte Zersetzungen eintreten.

Darstellung der hochmolekularen Chloride.

Wie schon erwähnt, gelingt die Chlorirung des Carboxyls bei den complicirteren Bromproducten nur dann, wenn sie in passender Weise vorbereitet werden. Umkrystallisiren aus Alkohol, das bei den einfacheren Körpern die für die Chlorirung geeignete Form gab, genügt hier nicht mehr und ist auch wegen der geringen Löslichkeit in Alkohol schwer auszuführen. Ungleich bessere Resultate wurden erhalten durch vorsichtige Ausfällung der Bromproducte aus der kalten alkalischen Lösung und Trocknen bei niedriger Temperatur.

α -Bromisocapronyl-tetraglycyl-glycylchlorid, $\text{C}_4\text{H}_9\text{CHBr}.\text{CO}.\text{(NHCH}_2\text{CO)}_4.\text{NHCH}_2\text{CO}.\text{Cl}.$

Um die obige allgemeine Bemerkung zahlenmässig zu belegen, will ich hier auch die missglückten Versuche anführen. Sie wurden mit einem α -Bromisocapronyl-tetraglycyl-glycin ausgeführt, das aus Wasser umkrystallisirt, erst im Vacuum und dann bei 100° getrocknet und schliesslich äusserst fein gepulvert war. Bei verschiedenen Chlo-

¹⁾ Diese Berichte 39, 471 [1906].

rirungen mit Acetylchlorid und Phosphorpentachlorid unter den früher benutzten Mengenverhältnissen wurde im günstigsten Falle ein Product mit 0.9 pCt. Chlor erhalten und selbst bei Anwendung von 3—4 Molekülen Phosphorpentachlorid stieg der Chlorgehalt im Maximum auf 1.7 pCt. Das letzte Resultat wurde erhalten mit einem aus Alkohol umkrystallisirten Präparat, wobei bemerkt sein mag, dass zum Umlösen ungefähr die 1600-fache Menge kochenden, absoluten Alkohols nöthig war.

Man sieht, dass unter diesen Bedingungen das isolirte Product nur ungefähr 25 pCt. des gesuchten Chlorids enthielt. Im Gegensatz dazu giebt die nachfolgende Methode ein ungefähr 90-procentiges Präparat. 5 g α -Bromisocapronyl-tetraglycyl-glycin, das aus Wasser umkrystallisirt und gepulvert war, wurden mit 750 ccm Alkohol und 125 ccm Wasser übergossen und dazu 10.5 ccm *n*-Natronlauge (1 Mol.) zugegeben. Nachdem durch kräftiges Schütteln klare Lösung erfolgt war, wurde mit 11 ccm *n* Salzsäure in der Kälte versetzt, worauf die Säure sehr langsam als feines, weisses Pulver ausfiel. Zur Vervollständigung der Abscheidung blieb die Flüssigkeit 12 Stunden im Eisschrank stehen, dann wurde der Niederschlag filtrirt, mit Alkohol und Aether gewaschen und 1 Stunde im Vacuum über Phosphorpenoxyd getrocknet. Die Ausbeute betrug 4.75 g. Die Substanz brauchte jetzt nur noch fein gepulvert und durch ein Haarsieb getrieben zu werden, um für die Chlorirung fertig zu sein.

3 g des so vorbereiteten Materials werden in einer gut schliessenden Stöpsel-Flasche mit 30 ccm frisch destillirtem Acetylchlorid übergossen, in Eiswasser abgekühlt und nun unter kräftigem Schütteln 3.9 g frisches, rasch gepulvertes Phosphorpentachlorid (3 Mol.) in 3—4 Portionen zugegeben. Das Phosphorpentachlorid verschwindet dann zum Theil, während an dem α -Bromisocapronyl-tetraglycyl-glycin keine sichtbare Veränderung stattfindet. Zur Vollendung der Reaction wird zum Schluss 2 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur auf der Maschine geschüttelt, wobei sich die Flüssigkeit gelb färbt und das feste Phosphorpentachlorid völlig verschwindet. Zum Schluss filtrirt man in dem früher beschriebenen Apparate¹⁾ das ungelöste α -Bromisocapronyl-tetraglycyl-glycylchlorid, wäscht es mit Acetylchlorid und später mit trockenem Petroläther und trocknet 1—2 Stunden im Vacuum über Phosphorpenoxyd; die Ausbeute betrug ungefähr 80 pCt. der Theorie. Die Analyse wurde auf die Bestimmung des durch Wasser leicht abspaltbaren Chlors beschränkt. Für den Zweck wurde das Chlorid mit etwa der 500-fachen Menge Wasser und einigen Glasperlen in einer Stöpsel-Flasche $\frac{1}{2}$ Stunde auf der Maschine geschüttelt, wobei wegen der schweren Benetzbarkeit der Substanz durch Wasser ein kleiner Zusatz von Alkohol rathsam ist. Nachdem klare Lösung erfolgt war, wurde das Chlor titrimetrisch ermittelt:

¹⁾ Diese Berichte 38, 616 [1905].

0.1100 g Sbst.: 1.95 ccm $\frac{1}{10}$ AgNO₃.

C₁₆H₂₅O₆N₅BrCl (498.9). Ber. Cl 7.1. Gef. Cl 6.3.

Aus den Zahlen folgt, dass ungefähr 90 pCt. der Substanz aus dem gesuchten Chlorid bestanden. Allerdings muss ich zufügen, dass das Präparat eine sehr kleine Menge von Phosphor enthielt, was aber für seine Verwendung zu Synthesen ohne Belang war.

α-Bromisocapronyl-pentaglycyl-glycylchlorid,
C₄H₉.CHBr.CO.(NHCH₂CO)₅.NHCH₂COCl.

Bei dem α-Bromisocapronyl-pentaglycyl-glycin ist eine ähnliche Vorbereitung für die Chlorirung nothwendig, da die aus Wasser umkrystallisirte Substanz sehr schlechte Resultate giebt.

5 g pulverisirte Säure wurden mit 20 ccm Wasser übergossen und nach Zusatz von 10 ccm *n*-Natronlauge (etwas mehr als 1 Mol.) durch Schütteln gelöst. Die Lösung wurde in Eis abgekühlt, bis die Abscheidung des Natriumsalzes anfangt, und dann mit 10.5 ccm *n*-Salzsäure versetzt. Dabei fiel das α-Bromisocapronyl-pentaglycyl-glycin sofort als feiner Niederschlag aus, der centrifugirt, filtrirt, mit Wasser sorgfältig gewaschen, dann im Vacuum über Phosphorpentoxyd 12 Stunden getrocknet, fein zerrieben und durch ein Haarsieb getrieben wurde. Die Ausbeute betrug ungefähr 4 g. Zur Chlorirung wurde 1 g mit 10 ccm Acetylchlorid übergossen, in Eis gekühlt, dann in 2 Portionen mit 1.5 g Phosphorpentachlorid (4 Mol.) versetzt und zum Schluss 4 Stunden auf der Maschine bei gewöhnlicher Temperatur geschüttelt. Auch hier war die Flüssigkeit schwach gelb gefärbt. Die Ausbeute an Chlorid, das farblos war, aber ebenfalls etwas Phosphor enthielt, betrug 70 pCt. der Theorie.

Das Präparat war weniger rein als im vorhergehenden Falle, denn es enthielt nur 65 pCt. der berechneten Menge Chlor. Ich werde aber später versuchen, die Darstellung noch zu verbessern.

0.2464 g Sbst.: 2.8 ccm $\frac{1}{10}$ -AgNO₃.

C₁₈H₂₈O₇N₆BrCl (555.9). Ber. Cl 6.3. Gef. Cl 4.1.

α-Bromisocapronyl-hexaglycyl-glycylchlorid,
C₄H₉.CHBr.CO.(NHCH₂CO)₆.NHCH₂COCl.

Die Vorbereitung des α-Bromisocapronyl-hexaglycyl-glycins und die Chlorirung geschahen genau in derselben Weise wie im vorhergehenden Falle. Die Menge des Phosphorpentachlorids betrug auch hier 4 Moleküle, d. h. 1.26 g auf 1 g Substanz. Das erhaltene Chlorid war ganz schwach gelb gefärbt und enthielt ebenfalls Spuren von Phosphor. Die Ausbeute betrug 72 pCt. der Theorie, und das Präparat enthielt 83 pCt. der berechneten Menge Chlor.

0.1829 g Sbst.: 2.5 ccm $\frac{1}{10}$ -AgNO₃.

C₂₀H₃₁O₈N₇BrCl (612.99). Ber. Cl 5.8. Gef. Cl 4.85.

α -Bromisocapronyl hexaglycyl-glycin,
 $C_4H_9 \cdot CHBr \cdot CO \cdot (NHCH_2CO) \cdot NHCH_2COOH$.

Die Verbindung entsteht durch Küppelung von Triglycyl-glycin mit α Bromisocapronyl diglycyl-glycylchlorid, wobei es vortheilhaft ist, das erstere im Ueberschuss anzuwenden.

In einer cylindrischen Stöpselflasche von 250 ccm Inhalt werden 6 g Triglycyl-glycin ($1\frac{1}{2}$ Mol.) mit 30 ccm Wasser und 25 ccm *n*-Natronlauge gelöst, unter 0° abgekühlt und unter kräftigem Schütteln in etwa 5 Portionen 6 g frisch bereitetes α -Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid im Laufe von einer halben Stunde eingetragen. Da die Flüssigkeit ausserordentlich stark schäumt, so ist es nothwendig, ungefähr 20 Glasperlen von etwa 5 mm Durchmesser von Anfang an zuzugeben, die nicht allein die Gasblasen zertheilen, sondern auch das Zusammenballen des Chlorids verhindern. Trotzdem muss man im Laufe der Operation mit etwa 30 ccm Wasser verdünnen und, sobald $\frac{2}{3}$ des Chlorids eingetragen sind, auch noch 10 ccm *n*-Natronlauge zufügen. Die Temperatur wird während der ganzen Operation durch Abkühlen in einer Kältemischung unter 0° gehalten. Die Hauptreaction ist nach etwa einer Stunde vorüber und das Chlorid grösstentheils verschwunden. Zum Schluss wird noch $\frac{1}{2}$ Stunde ohne Abkühlung auf der Maschine geschüttelt, bis nichts mehr von dem Chlorid zu bemerken ist. Dann versetzt man die wiederum abgekühlte Flüssigkeit mit ungefähr 15 ccm $\frac{5}{11}$ -*n*. Salzsäure. Ein Ueberschuss an Salzsäure ist nöthig, um das unverbrauchte Triglycyl-glycin in Lösung zu halten. Das Kuppelungsproduct fällt beim Ansäuern als dicker, amorpher, Niederschlag aus, der nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Stehen in Eiswasser zuerst centrifugirt und dann auf der Pumpe abfiltrirt wird. Unterlässt man das Centrifugiren, so wird die Filtration durch das starke Schäumen der Flüssigkeit sehr erschwert. Man wäscht mit kaltem Wasser und bringt den Niederschlag auf porösen Thon. Die Ausbeute an diesem Product betrug durchschnittlich 7 g oder 75 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte α -Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid.

Das Umlösen der in Wasser und Alkohol sehr schwer löslichen Substanz hat einige Schwierigkeiten gemacht. Man kann sie zwar mit verdünnter Natronlauge aufnehmen, aber die Flüssigkeit ist dann wegen des starken Schäumens schlecht zu filtriren. Am besten gelangt man auf folgende Weise zum Ziel: Die 7 g Rohproduct werden fein gepulvert und mit 18 ccm Wasser von $40-50^\circ$ übergossen, dann wird wegen der schweren Benetzbarkeit der Substanz etwas Alkohol hinzugefügt und nun die Säure durch tropfenweisen Zusatz von wässrigem Ammoniak unter tüchtigem Schütteln in Lösung gebracht. Die ganz schwach gelb gefärbte Lösung wird rasch auf der Nutsche filtrirt und sofort mit verdünnter Salzsäure übersättigt; dabei fällt das α -Bromisocapronyl-hexaglycyl-glycin sofort als farbloses, lockeres Pulver aus, das nach einstündigem Stehen in Eiswasser abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und im Vacuum über Phosphorpentoxyd getrocknet

wird. Die Ausbeute an diesem reinen Präparat betrug 6 g. Für die Analyse wurde 2 Stunden im Vacuum bei 100° getrocknet.

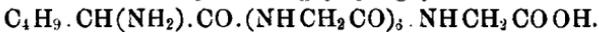
0.2138 g Sbst.: 0.3147 g CO₂, 0.1063 g H₂O. — 0.1377 g Sbst.: 19.8 ccm N (19°, 750 mm). — 0.1812 g Sbst.: 0.0574 g AgBr.

C₂₀H₃₂O₉N₇Br (594.5). Ber. C 40.37, H 5.43, N 16.53, Br 13.45.
Gef. » 40.15, » 5.56, » 16.37, » 13.48.

Die Substanz hat keinen scharfen Schmelzpunkt; sie färbt sich beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 245° (corr.) gelb, später bräunlich und schmilzt gegen 256—259° (corr.) unter starker Zersetzung und Schwarzfärbung. Sie giebt wie alle diese complicirteren Acylpolypeptide vom Bromisocapronyl-tetraglycyl-glycin an eine starke Biuretfarbe.

Sie ist nicht deutlich krystallisirt; unter dem Mikroskop erkennt man kleine, gleichmässige Kugeln, die nichts Charakteristisches bieten. Die schon erwähnte, sehr geringe Löslichkeit in Wasser erleichtert die Isolirung der Substanz und ihre Trennung von dem bei der Kuppelung regenerirten α-Bromisocapronyl-diglycyl-glycin.

Leucyl-hexaglycyl-glycin,



Für die Umwandlung der Bromkörper in die entsprechenden Peptide wurde in allen früheren Fällen wässriges Ammoniak benutzt; dieses lässt sich auch im vorliegenden Falle noch anwenden, aber die Ausbeute ist wenig befriedigend. Bessere Resultate werden, wie in der Einleitung schon erwähnt ist, mit flüssigem Ammoniak erzielt, jedoch will ich hier auch die Versuche mit wässrigem Ammoniak beschreiben, weil bei ihnen zuerst das Octapeptid gewonnen wurde.

Da das α-Bromisocapronyl-hexaglycyl-glycin in dem gewöhnlichen concentrirten Ammoniak recht schwer löslich ist, so bringt man zunächst 3 g der fein gepulverten Substanz mit 75 ccm Ammoniak von 12.5 pCt. durch gelindes Erwärmen in Lösung, kühlt ab, sättigt bei gewöhnlicher Temperatur mit gasförmigem Ammoniak und lässt im gut verschlossenen Gefäss erst 2 Tage bei 25° und dann 2 Tage bei 37° stehen. In der Flüssigkeit hat sich jetzt ein kleiner Niederschlag gebildet, der aber bei Zusatz von Wasser verschwindet. Da die Abspaltung des Broms nach dieser Behandlung noch nicht ganz vollständig war, so wurde zum Schluss noch 1/2 Stde. auf dem Wasserbade erwärmt, dann die Flüssigkeit im Vacuum über Phosphorpentoxyd verdunstet und der amorphe Rückstand zur Entfernung des Bromammoniums mehrmals mit Alkohol ausgekocht. Der Rückstand betrug nur 0.4 g und war das gesuchte Octapeptid. Die Mutterlauge wurde im Vacuum verdunstet und der Rückstand wieder zuerst mehrmals mit Alkohol ausgekocht. Dabei blieben 1.2 g ungelöst, die aber noch ziemlich viel Brom enthielten. Sie wurden deshalb mit der 10-fachen Menge Alkohol übergossen, erwärmt und durch vorsichtigen Zusatz von wässrigem Ammoniak in Lösung gebracht, dann die

Flüssigkeit auf dem Wasserbade zur Vertreibung des Ammoniaks erwärmt, wobei sich noch 0.6 g Octapeptid als flockiger Niederschlag ausschied. Die Gesamtausbeute betrug also 1 g oder 40 pCt. der Theorie.

Zur Analyse wurde das Product 4 Stdn. im Vacuum bei 100° getrocknet. Die Zahlen stimmen am besten auf Octapeptid mit einem Molekül Wasser.

0.1463 g Sbst.: 0.2355 g CO₂, 0.0844 g H₂O. — 0.1863 g Sbst.: 33.0 ccm N (13°, 755 mm).

C₂₀H₃₄O₉N₈ (530.59). Ber. C 45.23, H 6.46, N 21.17.

C₂₀H₃₄O₉N₈ + 1 H₂O. » » 43.75, » 6.60, » 20.50.

Gef. » 43.90, » 6.50, » 20.80.

Bei 120° im Vacuum verlor die Substanz noch an Gewicht, da sie aber dabei eine leichte Gelbfärbung annahm, so wurde die Analyse nicht wiederholt.

Viel glatter erfolgt die Bildung des Octapeptids bei Anwendung von flüssigem Ammoniak.

Man condensirt zu die-em Zwecke in einem Einschmelzrohr 30—40 ccm Ammoniak und trägt allmählich 3 g fein gepulverten Bromkörper ein, der bald mit schwach gelber Farbe in Lösung geht. Man schliesst das Rohr und lässt es 5 Tage im Thermostaten bei 25° stehen. Anfänglich beobachtet man hierbei eine auffallende Farbenercheinung. Die in der Kälte gelbe Lösung färbt sich mit steigender Temperatur tiefblau, wird aber nach etwa 1 Stunde farblos und bleibt so bis zum Ende der Operation. Die Abspaltung des Broms ist dann vollständig. Beim Verdunsten des Ammoniaks hinterbleibt ein fast farbloser Rückstand, der zur Entfernung des Bromammoniums gepulvert und 2 Mal mit je 30 ccm absolutem Alkohol tüchtig ausgekocht wird. Die Ausbeute an bromfreiem Octapeptid betrug 2.4 g oder 90 pCt. der Theorie. Es bildet ein fast farbloses, amorphes Pulver, das in kaltem Wasser ziemlich schwer löslich ist. Zur Reinigung wurde es in der 15-fachen Menge heissem Wasser gelöst, wobei eine starke Rothfärbung eintrat. Beim Abkühlen auf 0° fiel ungefähr die Hälfte als farblose Masse aus, die aus mikroskopisch kleinen, gleichmässigen Kügelchen bestand. Die Mutterlauge gab beim Eindampfen ein ähnliches Product.

Beide Präparate wurden getrennt analysirt, nachdem sie 4 Stdn. im Vacuum bei 100° bis zum constanten Gewicht getrocknet waren. Auch hier führte die Analyse zu der Formel:



0.2038 g Sbst.: 0.3282 g CO₂, 0.1165 g H₂O. — 0.2476 g Sbst.: 36 ccm $\frac{1}{10}$ -H₂SO₄. — 0.1698 g Sbst.: 0.2738 g CO₂, 0.0971 g H₂O.

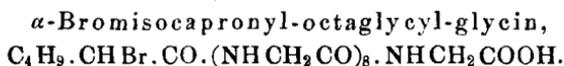
C₂₀H₃₄O₉N₈ + H₂O. Ber. C 43.75, H 6.6, N 20.5.

Gef. » 43.92, 43.98, » 6.4, 6.4, » 20.4.

Um die Einheitlichkeit des Products zu prüfen, habe ich noch folgenden Versuch angestellt. 0.75 g wurden mit 30 ccm Wasser bei gewöhnlicher Temperatur 5 Stdn. geschüttelt, dann vom Ungelösten ab-

filtrirt und die Mutterlauge im Exsiccator über Phosphorpentoxyd verdunstet. Der hier bleibende Rückstand betrug 0.4 g und gab nach dem Trocknen bei 100° dieselben analytischen Zahlen wie oben.

Das Octapeptid hat keinen Schmelzpunkt. Im Capillarrohr rasch erhitzt, beginnt es gegen 200° gelb zu werden, färbt sich später braun und zersetzt sich vollständig unter Schwarzfärbung gegen 280—290°. In stark verdünnter, kalter Salzsäure ist es recht schwer löslich. Beim Erwärmen löst es sich in reichlicher Menge, und beim Abkühlen scheidet sich wieder ein körniges Pulver aus, das in heissem Alkohol sehr wenig löslich ist und auch nach sorgfältigem Waschen mit Alkohol viel Chlor enthält, mithin offenbar ein schwer lösliches Hydrochlorat ist. Aehnlich verhält sich das Octapeptid gegen Salpetersäure und Schwefelsäure. In verdünntem Alkali ist das Peptid leicht, in Ammoniak erheblich schwerer löslich. Die alkalische Lösung giebt sehr stark die Biuretprobe.



Die Kuppelung des α -Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorids mit Pentaglycyl-glycin geschah genau in derselben Weise wie beim vorhergehenden Beispiel, nur mit veränderten Mengenverhältnissen; denn das theure Hexapeptid wurde nicht im Ueberschuss angewandt.

5 g Pentaglycyl-glycin (1 Mol.) wurden in 18 ccm Wasser und 14.5 ccm *n*-Natronlauge gelöst, in einer Kältemischung gekühlt und dazu 6 g α -Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid ($1\frac{1}{8}$ Mol.) in 8 Portionen unter starkem Schütteln im Laufe von $1\frac{1}{2}$ Stdn. zugegeben. Nachdem die Hälfte des Chlorids eingetragen war, wurden noch 45 ccm Wasser und 7.5 ccm *n*-Natronlauge zugefügt. Derselbe Zusatz von Wasser und Natronlauge geschah nochmals, als $\frac{3}{4}$ des Chlorids verbraucht waren. Zum Schluss wurde noch 1 Stde. auf der Maschine bei gewöhnlicher Temperatur geschüttelt, dann abgekühlt und mit 10 ccm 5-fachnorm. Salzsäure übersättigt. Um den dicken Niederschlag absaugen zu können, ist es wieder nöthig, zu centrifugiren. Da er schwer auszuwaschen ist, so presst man ihn zum Schlusse zwischen Papier und trocknet dann über Phosphorpentoxyd. Die Ausbeute betrug 7 g oder 70 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte Pentaglycyl-glycin.

Da die Substanz sowohl in heissem Wasser wie in Alkohol sehr schwer löslich ist, so wird sie zur Reinigung am besten in das Natriumsalz verwandelt und daraus durch Säure regenerirt. Man übergießt zu dem Zweck die 7 g fein gepulvertes Rohproduct mit 350 ccm Wasser von 70—80° und etwas Alkohol, um die Benetzbarkeit zu erhöhen, fügt dann eine Lösung von Natriumcarbonat zu, bis der Bromkörper gelöst ist, und filtrirt rasch auf der Nutsche. Im Filtrat findet meist in Folge der Abkühlung eine Abscheidung des schwer löslichen Natriumsalzes statt. Ohne dies zu beachten, versetzt man direct mit einem Ueberschuss von verdünnter Salzsäure, wobei der Bromkörper als

lockeres, farbloses Pulver ausfällt, das nach 1-stündigem Stehen in Eiswasser abgesaugt wird. Das Filtriren und Auswaschen mit kaltem Wasser bietet keine Schwierigkeiten, dagegen ist der Verlust bei dieser Reinigung nicht unbeträchtlich; denn die Ausbeute betrug nur 5 g.

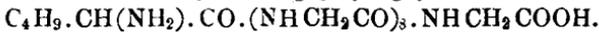
Zur Bereitung des Decapeptids ist dieses Präparat rein genug, dagegen wurde es für die Analyse nochmals derselben Reinigung unterworfen und zum Schluss einige Stunden im Vacuum bei 80° bis zum constanten Gewicht getrocknet.

0.1812 g Sbst.: 0.2680 g CO₂, 0.0913 g H₂O. — 0.1864 g Sbst.: 29.4 ccm N (18°, 750 mm). — 0.1994 g Sbst.: 0.0544 g AgBr.

C₂₄H₃₈O₁₁N₉Br (708.6). Ber. C 40.64, H 5.4, N 17.83, Br 11.3.
Gef. » 40.34, » 5.6, » 18.02, » 11.6.

Die Substanz färbt sich im Capillarrohr zwischen 244—255° (corr.) gelb, später braun und zersetzt sich schliesslich ohne deutlichen Schmelzpunkt unter Schwarzfärbung gegen 288° (corr.).

Leucyl-octaglycyl-glycin



Die Behandlung des Bromkörpers mit wässrigem Ammoniak liefert hier noch schlechtere Resultate als bei dem Octapeptid, im günstigsten Falle nur 25 pCt. der Theorie, dagegen giebt die Wirkung des flüssigen Ammoniaks eine recht befriedigende Ausbeute.

2 g des durch einmaliges Umlösen mit Natriumcarbonat gereinigten Bromkörpers werden allmählich in 25–30 ccm flüssiges Ammoniak, das sich in einem Einschmelzrohr befindet, eingetragen, dann das Rohr geschlossen und 4 Tage bei 25° geschüttelt. Das ist nöthig, weil keine Lösung stattfindet und ohne mechanische Bewegung die Umsetzung zu langsam erfolgt. Auch ist es nicht rathsam, den Bromkörper zuerst in das Rohr einzufüllen und dann das Ammoniak darüber zu condensiren, weil er unter diesen Umständen zu einem dicken Klumpen zusammenbackt, der sich nicht mehr fein vertheilen lässt. Wird die Operation richtig ausgeführt, so ist die Umsetzung nach der angegebenen Zeit vollendet. Man lässt das Ammoniak dann verdunsten und kocht den kaum gefärbten, amorphen Rückstand 2 Mal mit je 30 ccm absolutem Alkohol aus, wodurch das Bromammonium ganz entfernt wird. Die Menge des ungelösten Decapeptids betrug durchschnittlich 1.5 g oder 82 pCt. der Theorie. Da das Peptid in Wasser recht schwer löslich ist, so wurden die 1.5 g mit 50 ccm Wasser übergossen, durch Zusatz von 4.6 ccm *n*-Natronlauge unter gelindem Erwärmen gelöst, die Flüssigkeit abgesaugt und das Filtrat mit Essigsäure angesäuert; dabei fiel das Peptid als farbloses, sehr lockeres Pulver aus, das nach 1-stündigem Stehen in Eiswasser filtrirt, mit kaltem Wasser gewaschen und im Vacuum über Phosphorpentoxyd getrocknet wurde. Die Ausbeute war 1.2 g.

Das bei 100° im Vacuum 4 Stunden bis zum constanten Gewicht getrocknete Präparat enthielt nach der Analyse ebenfalls 1 Mol. Wasser.

I. 0.1787 g Sbst.: 0.2823 g CO₂, 0.0985 g H₂O. — 0.1886 g Sbst. 34.2 ccm N (19°, 752 mm).

II. 0.1513 g Sbst.: 0.2387 g CO₂, 0.0865 g H₂O. — 0.1890 g Sbst.: 28.25 ccm $\frac{1}{10}$ -H₂SO₄ (nach Kjeldahl).

C₂₄H₄₀O₁₁N₁₀ (644.7). Ber. C 44.67, H 6.25, N 21.78.

C₂₄H₄₀O₁₁N₁₀ + 1 H₂O. » » 43.46, » 6.39, » 21.10.

I. Gef. » 43.09, » 6.16, » 20.70.

II. » » 43.02, » 6.39, » 20.99.

Leider bietet die Bestimmung des Wassers auch hier erhebliche Schwierigkeiten. Beim Trocknen im Vacuum bei 135° tritt allerdings langsam ein Gewichtsverlust ein, aber er betrug nach 2 $\frac{1}{2}$ Stunden erst 1 pCt., während für 1 Mol. Wasser 2.7 pCt. berechnet sind.

Die getrocknete Substanz ist ziemlich stark hygroskopisch; sie hat keinen Schmelzpunkt; im Capillarrohr färbt sie sich von 255° (corr.) an gelb, später braun und wird gegen 290° (corr.) ganz schwarz.

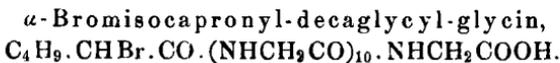
Gegen Salzsäure verhält sie sich ähnlich wie das Octapeptid; sie ist nämlich in der verdünnten Säure in der Kälte recht schwer löslich, und aus der warmen Lösung fällt beim Erkalten ein chlorhaltiges Product aus, das offenbar salzsaures Salz ist. In kalter rauchender Salzsäure (spec. Gew. 1.19) ist sie leicht löslich, bei Zusatz von Wasser fällt aber auch ein chlorhaltiges Product als körniges, weisses Pulver aus, das makroskopisch krystallisiert aussieht, während man bei mikroskopischer Betrachtung keine deutlichen Krystalle erkennen kann. Die alkalische Lösung des Decapeptids giebt stark die Biuretprobe. Von Ammoniak wird das Peptid wenig gelöst.

Die Eigenschaften des Decapeptids sind nicht derart, dass sie eine Garantie für seine Einheitlichkeit bieten, ebenso wenig kann man das von dem Resultat der Analyse erwarten, weil die Differenzen in der Zusammensetzung bei diesen hochmolekularen Stoffen gering sind. Bei der Bildung der Peptide aus den entsprechenden Halogenkörpern bildet sich in der Regel als Nebenproduct in kleiner Menge eine ungesättigte Verbindung, die im vorliegenden Falle ein Isohexenoyl-octaglycyl-glycin sein würde. In der That zeigt das Präparat in Natriumcarbonat gelöst in der Kälte eine schwache Reduction des Permanganats, was die einfacheren Polypeptide im reinen Zustand nicht thun. Ich schliesse daraus, dass dem Decapeptid eine kleine Menge ungesättigter Substanz beigemischt war; dass diese aber nicht gross sein kann, beweist das Resultat der Hydrolyse, wobei reichliche Mengen von Leucin erhalten wurden.

Hydrolyse des Decapeptids.

0.75 g einmal umgelöstes Decapeptid wurden mit 5 g Salzsäure (spec. Gew. 1.19) 8 Stunden bei 100° erhitzt. Die anfangs nur ganz

schwach gefärbte Lösung war zum Schluss dunkelbraun und schied beim Eindampfen auf dem Wasserbade eine dunkle, amorphe Masse, allerdings in sehr geringer Menge, ab. Die Erscheinung erinnert an die Bildung der dunklen, amorphen Producte, die stets bei der Hydrolyse der natürlichen Proteine durch Mineralsäuren erhalten werden. Ich vermthe, dass im vorliegenden Falle die ungesättigte Verbindung das Material ist, aus der diese schwarze Masse entsteht. Der braun gefärbte Rückstand, der die Hydrochlorate der Aminosäuren enthielt, wurde mit 5 ccm kaltem Wasser ausgelaugt und der geringe dunkle Rückstand abfiltrirt, dann die Flüssigkeit noch mit Wasser stärker verdünnt, durch Kochen mit Thierkohle entfärbt und das klare Filtrat auf dem Wasserbade verdampft. Der Rückstand bestand grösstentheils aus salzsaurem Glykocoll. Um dieses zu entfernen, habe ich ihn mit 10 ccm absolutem Alkohol übergossen und in der üblichen Weise verestert. Nachdem das Esterchlorhydrat krystallisirt war, wurde die Mutterlauge verdampft und der Rückstand nochmals verestert. Die Gesamtausbeute an Esterchlorhydrat war nahezu theoretisch. In der Mutterlauge blieb salzsaure Leucinester, der nach dem Abdampfen des Alkohols durch Erhitzen mit verdünnter Salzsäure verseift wurde. Nach dem Verdampfen der Lösung wurde das Leucin in der üblichen Weise durch Ammoniak und abermaliges Verdampfen abgeschieden. Seine Menge betrug 0.091 g, was 60 pCt. der Theorie entspricht. Die Mutterlauge, die noch etwas Leucin enthielt, wurde nicht weiter verarbeitet. Das Präparat zeigte nach dem Umkrystallisiren aus Wasser unter Zusatz von etwas Thierkohle nicht allein den Schmelzpunkt, sondern auch die anderen äusseren Eigenschaften des racemischen Leucins.



Die Kuppelung von Pentaglycyl-glycin mit α -Bromisocapronyl-tetraglycyl-glycylchlorid geschah ebenso wie in dem vorhergehenden Beispiele, aber unter Anwendung von äquimolekularen Mengen.

In einer Stöpselflasche von 250 ccm werden 1.5 g Pentaglycyl-glycin mit 10 ccm Wasser und 4.2 ccm *n* Natronlauge gelöst, dann Glasperlen zugegeben, in einer Kältemischung gekühlt und nun in 5 Portionen im Laufe von 1 $\frac{1}{2}$ Stunden 2.2 g α -Bromisocapronyl tetraglycyl-glycylchlorid unter kräftigem Schütteln und fortdauernder Kühlung zugegeben. Die Flüssigkeit schäumt sehr stark. Nachdem $\frac{2}{3}$ des Chlorids eingetragen sind, werden noch 10 ccm Wasser und 4 ccm *n*-Natronlauge zugefügt und zum Schluss die Mischung 1 Stunde auf der Maschine ohne Kühlung geschüttelt. Dann ist, soweit man in der stark schäumenden Flüssigkeit es erkennen kann, alles Chlorid in Lösung gegangen. Die Flüssigkeit wird jetzt wieder abgekühlt, mit 7 ccm *n*-Salzsäure übersättigt, und der hierdurch entstehende dicke Niederschlag nach

$\frac{1}{2}$ -stündigem Stehen in Eiswasser abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen, schliesslich zwischen Papier gepresst und im Vacuum getrocknet. Die Ausbeute betrug 3.5 g, was ungefähr der Theorie entspricht. Das Product ist aber keineswegs einheitlich, sondern enthält neben dem α -Bromisocapronyl-decaglycyl-glycin noch beträchtliche Mengen α -Bromisocapronyl-tetraglycyl-glycin, das bei der Reaction regenerirt wird und wegen seiner geringen Löslichkeit in Wasser ebenfalls ausfällt. Behufs Entfernung des letzteren ist es nöthig, das Rohproduct verschiedene Male aus sehr verdünnter alkalischer Lösung durch Säure zu fällen. Zu dem Zwecke werden die 3.5 g Rohproduct mit 250 ccm Wasser, dem einige Tropfen Alkohol zugesetzt sind, und 8 ccm *n*-Natronlauge (2 Mol.) bei 50–60° rasch gelöst, ebenfalls möglichst rasch auf der Nutsche filtrirt und dann noch warm mit 9 ccm *n*-Salzsäure wieder ausgefällt. Dass die alkalische Lösung nicht längere Zeit bei höherer Temperatur gehalten werden darf, ist bei der Empfindlichkeit dieser Bromkörper selbstverständlich. Man kühlt die saure Flüssigkeit rasch auf gewöhnliche Temperatur ab, filtrirt den Niederschlag und wäscht mit kaltem Wasser. Die im Vacuum getrocknete Masse betrug jetzt 3.2 g. Zur Gewinnung eines reinen Productes musste die gleiche Operation mit denselben absoluten Mengen von Wasser, Natronlauge und Salzsäure noch zwei Mal wiederholt werden, wobei die Ausbeute an Bromisocapronyl-decaglycyl-glycin auf 2.2 g oder 60 pCt. der Theorie zurückging.

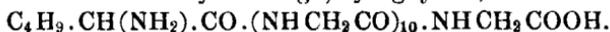
Für die Analyse wurde dieses Präparat 4 Stunden im Vacuum bei 80° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

0.1750 g Sbst.: 0.2608 g CO₂, 0.0886 g H₂O. — 0.2733 g Sbst.: 35.5 ccm $\frac{1}{10}$ -H₂SO₄ (nach Kjeldahl). — 0.2697 g Sbst.: 0.0633 g AgBr.

C₂₈H₄₄O₁₃N₁₁Br(822.7). Ber. C 40.84, H 5.39, N 18.77, Br 9.72.
Gef. » 40.64, » 5.66, » 18.23, » 9.99.

Im Capillarrohr rasch erhitzt, beginnt die Substanz gegen 230° (corr.) gelb zu werden, färbt sich bei höherer Temperatur braun und schliesslich gegen 293° (corr.) fast schwarz, ohne deutlichen Schmelzpunkt zu zeigen. In Alkohol ist sie, ebenso wie in Wasser, äusserst schwer löslich. Die alkalische Lösung giebt stark die Biuretprobe.

Leucyl-decaglycyl-glycin,



2 g α -Bromisocapronyl-decaglycyl-glycin wurden in ca. 30 ccm flüssiges Ammoniak, das sich in einem Einschmelzrohr befand, langsam bei niedriger Temperatur in kleinen Portionen innerhalb einiger Minuten eingetragen, dann das Rohr verschlossen und 8 Tage bei 25° geschüttelt, da die Abspaltung des Halogens hier recht langsam erfolgt. Lösung fand während der Operation nicht statt. Nach dem Verdunsten des Ammoniaks war der Rückstand eine amorphe, schwach gelb gefärbte Masse, die zur Entfernung des Bromammoniums mit 100 ccm Alkohol sorgfältig ausgekocht, filtrirt und zuerst mit Alkohol, dann mit Aether gewaschen wurde. Die Ausbeute betrug 85 pCt. der Theorie. Das Präparat war frei von Brom.

Es wurde direct für die Stickstoffbestimmung verwendet, nachdem es 2 Stunden im Vacuum bei 80° bis zum constanten Gewicht getrocknet war.

0.2120 g Sbst.: 33.05 ccm $\frac{1}{10}$ H₂SO₄.

C₂₈H₄₆O₁₃N₁₂(758.8). Ber. N 22.2.

C₂₈H₄₆O₁₃N₁₂ + 1 H₂O. » » 21.7. Gef. N 21.9.

Das Umlösen macht hier ziemlich grosse Schwierigkeiten; in Wasser ist das Präparat sehr schwer löslich, und die alkalische Lösung schäumt so stark, dass man sie kaum filtriren kann. Es wurden deshalb 0.3 g fein gepulverte Substanz mit 25 ccm Wasser von 70–80° übergossen und gerade so viel wässriges Ammoniak hinzugefügt, bis beim starken Schütteln Lösung eintrat; dann wurde kurz aufgeköcht, rasch auf 50° abgekühlt und mit Essigsäure übersättigt. Dabei fiel das Peptid als gallertartiger Niederschlag aus, der auch nach dem Aufkochen der Flüssigkeit so voluminös blieb, dass er sich nicht centrifugiren liess und recht schwer zu filtriren war.

Nach dem Waschen mit Alkohol und Aether betrug sein Gewicht 0.25 g. Er wurde für die Analyse ebenfalls bei 80° im Vacuum getrocknet. Die Zahlen stimmen ebenfalls am besten auf Dodekapeptid mit 1 Mol. Wasser.

0.1431 g Sbst.: 0.2254 g CO₂, 0.0816 g H₂O.

C₂₈H₄₆O₁₃N₁₂(758.8). Ber. C 44.28, H 6.12.

C₂₈H₄₆O₁₃N₁₂ + 1 H₂O. » » 43.25, » 6.23.

Gef. » 42.96, » 6.38.

Im trocknen Zustand ist das Dodekapeptid eine lockere, fast farblose Masse ohne Schmelzpunkt. Die alkalische Lösung giebt sehr stark die Biuretprobe. Gegen Salzsäure verhält es sich ebenso wie das Decapeptid, d. h. es löst sich leicht in kalter rauchender Salzsäure, und beim Verdünnen mit Wasser fällt ein chlorhaltiges Product, offenbar das Hydrochlorat, aus.

Versetzt man die Lösung des Dodekapeptids in warmem, sehr verdünntem Ammoniak mit einer gesättigten Lösung von Ammoniumsulfat, so entsteht sofort ein starker Niederschlag, der sich erst in überschüssigem Ammoniak beim starken Verdünnen mit Wasser wieder auflöst.

In diesen Eigenschaften zeigt mithin das Dodekapeptid schon eine auffallende Aehnlichkeit mit den natürlichen Proteinen.

Optisch-actives α -Bromisocapronyl-diglycyl-glycin,

C₄H₉.CHBr.CO.(NHCH₂CO)₂.NH.CH₂.COOH.

10 g Diglycyl-glycin (1 $\frac{1}{2}$ Mol.) werden in 55 ccm *n*-Natronlauge gelöst, in einer Kältemischung abgekühlt und dazu in 5 Portionen 10 g actives α -Bromisocapronylchlorid aus *d*-Leucin, dessen Bereitung unten beschrieben

ist, abwechselnd mit 80 ccm *n*-Natronlauge unter kräftigem Schütteln und guter Kühlung im Laufe von etwa $\frac{1}{2}$ Stunde eingetragen. Der Geruch des Chlorids verschwindet dabei völlig. Zum Schluss übersättigt man mit 16 ccm 5-fachnorm. Salzsäure. Das hierbei ausfallende Kuppelungs-Product ist anfangs ölig, erstarrt aber beim Stehen in Eiswasser bald krystallinisch. Es wird nach 2-stündigem Stehen bei 0° filtrirt, mit kaltem Wasser gewaschen, im Vacuum über Phosphorpentoxyd getrocknet und dann zur Entfernung der anhaftenden Bromisocaprinsäure mit Petroläther gewaschen. Die Ausbeute betrug 15 g oder 90 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte Chlorid.

Das Rohproduct enthält zweifellos etwas vom optischen Antipoden, da schon das angewandte Chlorid in sterischer Beziehung nicht ganz rein ist. Ob diese Verunreinigung beim Umkrystallisiren völlig entfernt wird, ist schwer zu sagen. Unter diesem Vorbehalt müssen die nachfolgenden Resultate beurtheilt werden.

Zum Umlösen wurde das Rohproduct mit der 8-fachen Menge fast kochenden Wassers übergossen, durch Schütteln rasch gelöst und die Flüssigkeit durch Einstellen in Eiswasser sofort wieder abgekühlt und zur Krystallisation gebracht. Dabei ging die Ausbeute auf 10.5 g oder 70 pCt. der Theorie zurück. Zur Analyse wurde dieses Product 24 Stunden im Vacuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1977 g Sbst.: 0.2856 g CO₂, 0.0968 g H₂O. — 0.1533 g Sbst.: 0.0790 g AgBr.

C₁₂H₂₀O₅N₃Br (366). Ber. C 39.32, H 5.50, Br 21.86.
Gef. » 39.40, » 5.48, » 21.93.

Im Capillarrohr rasch erhitzt, beginnt die Substanz bei 163° (corr.) zu sintern und schmilzt bei 68–169° (corr.) zu einer gelben Flüssigkeit.

In den Löslichkeitsverhältnissen gleicht sie dem früher beschriebenen Racemkörper. Im warmen Wasser ist sie leicht löslich und krystallisirt beim langsamen Abkühlen in kugeligen Aggregaten, die aus mikroskopisch feinen, verfilzten Nadeln bestehen. Aehnlich krystallisirt sie aus warmem Alkohol, worin sie noch leichter löslich ist; auch von Aceton wird sie leicht aufgenommen, dagegen ist sie in Essigester recht schwer löslich.

Für die optische Bestimmung diente eine Lösung in Wasser und der berechneten Menge Natronlauge. Die Ablesung muss aber möglichst rasch nach der Auflösung geschehen, da beim längeren Stehen der Flüssigkeit eine Veränderung eintritt.

0.3452 g Sbst., gelöst in 2.5 ccm Wasser und 1.1 ccm *n* Natronlauge. Gewicht der Gesamtlösung 4.0384 g; spec. Gew. 1.0389, Drehung bei 20° im 1 dm-Rohr bei Natriumlicht 2.84° nach rechts. Mithin:

$$[\alpha]_D^{20} = + 31.98^\circ (\pm 0.25^\circ).$$

Die Ablesung geschah 10 Minuten nach der Auflösung. Nach 2-stündigem Liegen des Rohres bei 20° war die Drehung schon auf 2.04° zurückgegangen und die Flüssigkeit gelb geworden.

0.3532 g eines anderen Präparates wurden in 2 ccm Wasser und 1.05 ccm *n*-Natronlauge gelöst, Gesamtgewicht der Flüssigkeit: 3.5215 g; spec. Gew. 1.0464; Drehung bei 20° und Natriumlicht in 1 dcm-Rohr 3.32° nach rechts, mithin:

$$[\alpha]_D^{20} = + 31.63^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

Die Ablesung geschah hier erst 20 Minuten nach der Auflösung. Man sieht, dass die beiden Beobachtungen innerhalb der Grenze der Versuchsfehler fast übereinstimmen.

l-Leucyl-diglycyl-glycin,



Analog der Darstellung des racemischen Tetrapeptids löst man 3 g des umkrystallisirten activen α -Bromisocapronyl-diglycyl-glycins in 15 ccm wässrigem Ammoniak von 25 pCt. und lässt 4 Tage bei 25° stehen. Die Lösung wird dann unter stark vermindertem Druck eingedampft. Wenn sie anfängt stark zu schäumen, fügt man das gleiche Volumen Alkohol hinzu, worauf sie sich ruhig unter vermindertem Druck verkochen lässt. Der Rückstand ist zunächst amorph und löst sich vollkommen in heissem absolutem Alkohol. Verdampft man aber jetzt die alkoholische Flüssigkeit auf dem Wasserbade, so beginnt bald die Krystallisation des Tetrapeptids, das als dicker, farbloser Brei ausfällt. Es wird heiss filtrirt und die Mutterlauge weiter eingedampft, eventuell nach erneutem Zusatz von absolutem Alkohol. Die Ausbeute an bromfreiem Tetrapeptid betrug 1.5 g oder 60 pCt. der Theorie.

Zur völligen Reinigung wird es in der 5-fachen Menge warmen Wassers gelöst, mit wenig Thierkohle aufgeköcht und das warme Filtrat mit dem 3—4-fachen Volumen heissem Alkohol versetzt. Beim raschen Abkühlen fällt das Tetrapeptid in mikroskopisch feinen Nadelchen aus, während es beim langsamen Erkalten ziemlich grosse, vielfach sternförmig angeordnete, glänzende Krystalle bildet, die meist einen prismatischen Typus haben. Der Verlust beim Umkrystallisiren ist nicht gross, er beträgt etwa 20 pCt., und diesen Theil gewinnt man durch Verdampfen der alkoholisch-wässrigen Mutterlauge grösstentheils zurück. Zur Analyse war das Präparat bei 100° getrocknet, wobei eine Gewichtsabnahme von einigen Procenten stattfand.

0.1899 g Sbst.: 0.3314 g CO₂, 0.1266 g H₂O. — 0.1845 g Sbst.: 29.8 ccm N (19°, 760 mm).

C₁₂H₂₂O₅N₄ (302). Ber. C 47.63, H 7.32, N 18.6.

Gef. » 47.60, » 7.46, » 18.6.

Die Substanz hat keinen scharfen Schmelzpunkt. Im Capillarrohr rasch erhitzt, färbt sie sich gegen 220° (corr.) gelb und schmilzt gegen 230—232° (corr.) unter partieller Zersetzung zu einer roth-

braunen Flüssigkeit. In Wasser ist sie schon in der Kälte leicht löslich, in absolutem Alkohol dagegen so gut wie unlöslich. Sie schmeckt ganz schwach bitter.

Die alkalische Lösung giebt schöne Biuret-Färbung. Die wässrige Lösung dreht stark nach rechts.

Eine Lösung vom Gesamtgewicht 3.7578 g und dem spec. Gewicht 1.026, welche 0.3586 g Substanz enthielt, drehte bei 20° im 1 dem Rohr Natriumlicht 4.49° nach rechts, mithin:

$$[\alpha]_D^{20} = +45.85^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

Nachdem dieselbe Substanz nochmals aus Wasser mit Alkohol gefällt war, drehte eine Lösung vom Gesamtgewicht 7.0453 g und spec. Gewicht 1.0249, welche 0.6508 g Peptid enthielt, bei 20° im 2 dem-Rohr 8.51° nach rechts, mithin:

$$[\alpha]_D^{20} = 45.10^{\circ} (\pm 0.1^{\circ}).$$

Die Abnahme der Drehung ist zwar gering, aber sie deutet doch darauf hin, dass die Substanz etwas Racemkörper enthielt, der sich beim Umlösen anhäuft. Wie gross seine Menge ist, lässt sich nach den vorliegenden Beobachtungen nicht beurtheilen.

d- α -Bromisocapronyl-glycin,



Für seine Bereitung dient ebenfalls das Chlorid der *d*- α -Bromisocapronsäure (aus *d*-Leucin). Um dieses werthvolle Material möglichst auszunutzen, ist es zweckmässig, das Glykocoll im Ueberschuss anzuwenden. Dem entspricht folgende Vorschrift:

Zu 4.8 g Glykocoll (1.5 Mol), die in 64 ccm *n*-Natronlauge (1.5 Mol.) gelöst sind, werden unter Kühlung mit einer Kältemischung und fortwährendem Schütteln abwechselnd und allmählich im Laufe von etwa $\frac{3}{4}$ Stunden 9.1 g (1 Mol.) *d*- α -Bromisocapronylchlorid und 52 ccm *n*-Natronlauge (1.2 Mol.) zugegeben. Nachdem der Geruch des Chlorids ganz verschwunden ist, wird die klare Lösung mit 15 ccm 5-fachnorm. Salzsäure übersättigt und das ausgeschiedene Oel wiederholt ausgeäthert. Einen kleinen Theil des Bromkörpers kann man noch aus der Mutterlauge gewinnen, indem man sie unter sehr geringem Druck eindampft und nochmals ausäthert. Die vereinigten ätherischen Auszüge werden stark concentrirt und mit Petroläther versetzt. Dabei fällt das Kuppelungsproduct zuerst ölig aus, krystallisirt aber beim längeren Stehen und starker Abkühlung vollständig. Die Ausbeute betrug nach dem Waschen mit Petroläther und Trocknen im Vacuum-Exsiccator 9.3 g oder 87 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte Chlorid. Zur Reinigung wird das Product in die 12-fache Menge kochendes Wasser eingetragen, wobei es sich klar löst. Beim Abkühlen fällt es zuerst wieder ölig aus, krystallisirt aber beim Impfen ziemlich rasch und bildet dann in der Regel 4-seitige Blättchen, bei denen meist eine Ecke abgeschnitten ist. Zur Analyse wurde im Vacuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1676 g Sbst.: 0.2327 g CO₂, 0.0835 g H₂O. — 0.1860 g Sbst.: 9 ccm N (12°, 755 mm). — 0.2003 g Sbst.: 0.1500 g AgBr.

C₈H₁₄O₃NBr (252). Ber C 38.10, H 5.56, N 5.56, Br 31.75.
Gef. » 37.87, » 5.54, » 5.71, » 31.87.

Im Capillarrohr wird die Substanz gegen 82° weich und schmilzt bei 84—85° (corr. 85—86°); in Alkohol ist sie leicht löslich und krystallisirt daraus beim Verdunsten in grossen, meist sternförmig gruppirten Spiessen. Auch in Aceton, Essigester und Aether löst sie sich leicht. Die Löslichkeit nimmt aber dann successive ab für Chloroform, Benzol und Petroläther. Für die optische Untersuchung diente eine alkoholische Lösung.

0.3602 g Sbst., gelöst in absolutem Alkohol. Gesamtgewicht der Lösung 3.9113 g. $d^{20} = 0.8260$. Drehung im 1 dcm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 4.70° nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = + 61.8^{\circ} (\pm 0.2^{\circ})$.

Nach nochmaligem Umkrystallisiren wurde folgendes Resultat erhalten:

0.6005 g Sbst., gelöst in absolutem Alkohol. Gesamtgewicht der Lösung 6.5458 g. $d^{20} = 0.8261$. Drehung im 1 dcm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 4.70° ($\pm 0.02^{\circ}$) nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = + 62.0^{\circ} (\pm 0.2^{\circ})$.

l-Leucyl-glycin,



Die Amidirung des Bromkörpers gelingt am besten mit wässrigem Ammoniak. 10 g wurden in 50 ccm Ammoniak von 25 pCt. gelöst und 6 Tage bei 25° aufbewahrt. Die Abspaltung des Broms war dann beendet. Die Lösung wurde nun unter geringem Druck verdampft, der Rückstand mit Alkohol aufgenommen, verdampft und dieses Abdampfen mit Alkohol auf dem Wasserbade noch mehrmals wiederholt. Dadurch gelingt es häufig, aber nicht immer, einen Theil des Leucyl-glycins in die krystallinische, in Alkohol unlösliche Form überzuführen.

Ein erheblicher Rest bleibt aber mit dem Bromammonium im Alkohol gelöst. Um ihn zu gewinnen, verdampft man den Alkohol, fügt einen Ueberschuss von Barythydrat hinzu, verjagt das Ammoniak unter sehr geringem Druck, fällt dann mit Silbersulfat das Brom und schliesslich in der üblichen Weise quantitativ das Silber und die Schwefelsäure bezw. den Baryt. In der letzten Mutterlauge bleibt das Dipeptid neben anderen Producten und lässt sich nach dem Verdampfen des Wassers durch Behandlung mit Alkohol isoliren.

Diese Entfernung des Bromammoniums wird von vornherein angewandt, wenn es nicht gelingt, aus dem Rohproduct durch Behandlung mit Alkohol krystallisirtes Leucyl-glycin zu isoliren. Die Ausbeute an Dipeptid schwankte zwischen 50 und 62 pCt. der Theorie.

Sie ist also erheblich schlechter als beim Racemkörper. Das hängt wohl mit der Schwierigkeit zusammen, das Dipeptid aus dem ursprünglichen, in Alkohol leicht löslichen und nicht krystallisirenden Zustand in die schwer lösliche Form umzuwandeln.

Zur völligen Reinigung wurde das Dipeptid in ungefähr der 5-fachen Menge Wasser gelöst und durch Alkohol wieder gefällt. Es krystallisirt unter diesen Bedingungen in feinen Nadelchen.

Für die Analyse wurde es 2 Stunden bei 100° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet.

0.1798 g Sbst.: 0.3380 g CO₂, 0.1397 g H₂O. — 0.1679 g. Sbst.: 21.6 ccm N (19°, 761 mm).

C₈H₁₆O₃N₂ (188). Ber. C 51.06, H 8.51, N 14.89.

Gef. » 51.27, » 8.69, » 14.86.

Es hat keinen constanten Schmelzpunkt. Beim raschen Erhitzen sintert es gegen 235°, färbt sich gleichzeitig schwach gelb und schmilzt gegen 242° (corr. 248°), wobei es jedenfalls zum Theil in Anhydrid übergeht.

Von dem racemischen Leucyl-glycin unterscheidet es sich durch die viel grössere Löslichkeit in Wasser. Es schmeckt schwach bitter. Es bildet ein in Wasser ziemlich leicht lösliches, tiefblaues Kupfersalz, das beim Verdunsten der wässrigen Lösung krystallisirt. Für die optische Bestimmung diente die wässrige Lösung. Die drei untersuchten Proben entsprechen verschiedenen Krystallisationen.

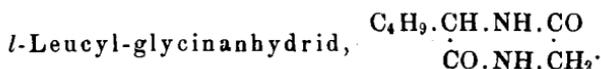
0.3208 g Sbst., gelöst in Wasser. Gesamtgewicht der Lösung 3.6012 g. $d^{20} = 1.0209$. Drehung im 1 dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 7.41° ($\pm 0.02^\circ$) nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = + 81.5^\circ (\pm 0.2^\circ)$.

0.3160 g Sbst., gelöst in Wasser. Gesamtgewicht der Lösung 3.6647 g. $d^{20} = 1.0136$. Drehung im 1 dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 7.45° ($\pm 0.02^\circ$) nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = + 85.24^\circ (\pm 0.2^\circ)$.

0.3103 g Sbst., gelöst in Wasser. Gesamtgewicht der Lösung 3.6182 g. $d^{20} = 1.017$. Drehung im 1 dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 7.50° ($\pm 0.02^\circ$) nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = + 85.99^\circ (\pm 0.02^\circ)$.

Wie man sieht, schwanken die Werthe nicht unerheblich, und es ist möglich, dass dem activen Dipeptid eine kleine und wechselnde Menge Racemkörper beigemischt ist; denn die ursprünglich angewandte Bromisocaprönsäure war optisch nicht ganz rein, und zudem ist auch bei der Synthese, und zwar sowohl bei der Kuppelung, wie bei der Amidirung, Gelegenheit zu einer partiellen Racemisirung gegeben. Diese Bemerkung gilt ganz allgemein; ich werde sie deshalb später nicht mehr wiederholen und mich damit begnügen, die Resultate der optischen Untersuchung anzugeben. Um in jedem einzelnen Falle die Krystallisation aus verschiedenen Lösungsmitteln soweit fortzusetzen, bis das optische Drehungsvermögen sich nicht mehr ändert, würde

mehr Material nöthig sein, als mir in den meisten Fällen zur Verfügung stand.



Soll Racemisirung vermieden werden, so darf die Verwandlung der Dipeptide in Anhydrid nicht durch Schmelzung, sondern nur mit Hilfe des Esters bewerkstelligt werden.

Im vorliegenden Falle suspendirt man 1 g Dipeptid in 10 ccm trockenem Methylalkohol, sättigt unter mässiger Kühlung mit gasförmiger Salzsäure, verdampft dann den Alkohol unter vermindertem Druck, wiederholt die Veresterung in der gleichen Weise und verdampft wieder bei 15–20 mm Druck. Der syrupartige Rückstand enthält den salzsauren Methylester des Dipeptids. Man löst ihn in wenig Methylalkohol und giesst diese Flüssigkeit allmählich in 10 ccm absoluten und bei 0° mit Ammoniak gesättigten Methylalkohol, wobei die erst auftretende Trübung zum Schluss wieder verschwindet. In dieser Flüssigkeit beginnt nach 1–2 Stunden die Abscheidung einer durchsichtigen, gallertartigen Masse, welche nach 24 Stunden die ganze Flüssigkeit erfüllt.

Man filtrirt, soweit es möglich ist, auf der Pumpe und verdampft die Mutterlauge auf dem Wasserbade, wodurch noch eine kleinere Menge desselben Products gewonnen wird. Die amorphe Masse ist das Anhydrid, dessen Reinigung einige Schwierigkeiten macht. Es wurde zuerst mit eiskaltem Wasser durch Verreiben ausgelaugt, um den grössten Theil des Chlorammoniums zu entfernen, dann in 15 ccm heissem Wasser gelöst und die filtrirte Flüssigkeit bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Nach mehreren Stunden hatte sich das Anhydrid theilweise wieder als sehr lockere Masse ausgeschieden, in der man unter dem Mikroskop äusserst feine, verfilzte Nadeln erkennen konnte. Sie wurde filtrirt, mit eiskaltem Wasser gewaschen und dann nochmals, um die letzten Reste Chlorammonium zu entfernen, in der gleichen Art aus 4.5 ccm Wasser umgelöst. Die Ausbeute an vollständig krystallisirtem und chlorfreiem Anhydrid betrug dann allerdings nur 0.32 g. Aus der Mutterlauge liess sich eine erheblich grössere Menge, wenn auch in weniger reinem Zustand, isoliren. Zur Analyse wurde das vollkommen krystallisirte Präparat bei 100° getrocknet.

0.1193 g Sbst.: 0.2468 g CO₂, 0.0896 g H₂O. — 0.1296 g Sbst: 18.8 ccm N (19°, 748 mm).

C₈H₁₄O₂N₂ (170). Ber. C 56.47, H 8.27, N 16.47.

Gef. » 56.42, » 8.40, » 16.47.

Im Capillarrohre erhitzt, beginnt das Anhydrid gegen 245° zu sintern und sich schwach zu färben und schmilzt vollständig bei

248—249° (corr. 255—255°). Die wässrige Lösung schmeckt stark bitter, reagiert neutral und löst beim kurzen Kochen kein Kupferoxyd. Von dem Racemkörper unterscheidet es sich durch den höheren Schmelzpunkt, die viel grössere Löslichkeit in Wasser und die viel geringere Neigung zur Krystallisation.

Für die optische Untersuchung diente eine wässrige Lösung, ob- schon diese nur 2-procentig angewandt werden konnte. Viel leichter löslich ist die Substanz in Eisessig, aber eine solche 10-procentige Lösung zeigte die sehr geringe Drehung von 0.05° nach rechts.

0.0961 g Subst., gelöst in Wasser. Gesamtgewicht der Lösung 5.2878 g. $d^{20} = 1.0019$. Drehung im 1 dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 0.60° ($\pm 0.02^{\circ}$) nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = + 32.95^{\circ}$ ($\pm 1.0^{\circ}$).

0.1122 g Subst., gelöst in Wasser. Gesamtgewicht der Lösung 6.6391 g. $d^{20} = 1.0002$. Drehung im 2 dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 1.07° ($\pm 0.02^{\circ}$) nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = + 31.66^{\circ}$ ($\pm 0.5^{\circ}$).

Wie schon erwähnt, hat sich das Anhydrid als identisch erwiesen mit einem Körper, welcher aus den hydrolytischen Zersetzungs- producten des Elastins¹⁾ gewonnen wurde. Ein kleiner Unterschied zeigte sich nur in der spezifischen Drehung, die bei dem syntheti- schen Präparat etwas grösser war (31.7° gegen 29.2°). Das hängt wahr- scheinlich zusammen mit dem kleinen Gehalt an Racemkörper, dessen Entstehung bei der Hydrolyse des Elastins leicht erklärlich ist.

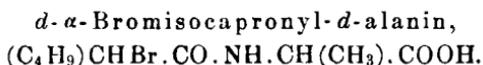
Racemisirung des *l*-Leucyl-glycins bzw. seines Anhydrids

Da die racemischen Formen der Polypeptide vielfach besser kry- stallisiren als die optisch-activen, so wäre es für die Untersuchung der Spaltproducte der Proteine sehr vortheilhaft, eine bequeme Me- thode zur Racemisirung der activen Polypeptide zu besitzen. Es ist mir bisher nur gelungen, eine solche für die Dipeptide aufzufinden. Sie besteht im Erhitzen mit Chinolin, wobei die Dipeptide gleichzeitig in Anhydride übergehen. Ich will vorläufig das Verfahren nur für das *l* Leucyl-glycin beschreiben.

Erhitzt man das Dipeptid mit der zehnfachen Menge Chinolin auf etwa 200°, so löst es sich bald, aber die Racemisirung geht hier sehr unvollstän- dig von statten. Hält man dagegen die Flüssigkeit 1—2 Stunden im Sieden, so färbt sie sich wenig, zumal wenn man die Luft abschliesst. Nach dem Erkalten kann man durch Zusatz von Aether das Leucyl-glycinanhydrid leicht abscheiden. Die Ausbeute beträgt 80—85 pCt. der Theorie, und das Product besteht fast ganz aus dem Racemkörper, wovon man sich schon durch die leichte Krystallisation aus Wasser oder auch durch die optische Untersuchung

¹⁾ Fischer und Abderhalden, diese Berichte 39, 2318 [1906]

überzeugen kann. Nach längerem Erhitzen würde auch wohl der letzte Rest des activen Körpers verschwinden.



Die Kuppelung geschah genau so wie in dem vorhergehenden Falle. Es genügt deshalb, die Mengenverhältnisse anzugeben. 2.5 g *d*-Alanin (1.2 Mol.), gelöst in 28 ccm *n*-Natronlauge, 5 g *d*- α -Bromisocapronylchlorid (1 Mol.), 35 ccm *n*-Natronlauge (1.5 Mol.). Beim Ansäuern mit 7.5 ccm 5-fachnorm. Salzsäure fiel ein Oel aus, das mehrfach ausgeäthert und dann aus der ätherischen Lösung durch Petroläther wieder gefällt wurde.

Um es zu krystallisiren, löst man in Chloroform, fügt Petroläther bis zur Trübung zu und lässt unter häufigem Reiben in einer Kältemischung stehen. Ist man einmal im Besitz von Krystallen, so gelingt es auch leicht, das aus Aether gefällte Oel völlig zum Erstarren zu bringen. Die Ausbeute betrug 80 pCt. der Theorie. Zur völligen Reinigung wurde das Product in die 27-fache Menge siedenden Wassers eingetragen, wobei es sich sogleich löste. Beim Abkühlen auf 0° fällt es daraus in feinen, langen Nadeln aus. Den in der Mutterlauge bleibenden erheblichen Theil (ca. 25 pCt.) gewinnt man am besten durch Eindampfen unter sehr geringem Druck.

Für die Analyse wurde im Vacuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1946 g Subst.: 0.1368 g AgBr. — 0.1577 g Subst.: 7.2 ccm N (22°, 759 mm).

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_3\text{NBr}$ (266). Ber. Br 30.05, N 5.28.

Gef. » 29.92, » 5.19.

Im Capillarrohr wird die Substanz gegen 96° weich und schmilzt bei 101—103° (corr.). Sie ist in Alkohol, Aceton, Essigester, Chloroform und Aether leicht löslich, viel schwerer in Benzol und sehr wenig in Petroläther.

Für die optische Untersuchung diente eine alkoholische Lösung.

0.3048 g Subst., gelöst in absolutem Alkohol. Gesamtgewicht der Lösung 3.0986 g. $d^{20} = 0.8283$. Drehung im 1 dcm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 1.87° ($\pm 0.02^\circ$) nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = +23.0^\circ$ ($\pm 0.2^\circ$).

Nach nochmaligem Umkrystallisiren wurde folgendes Resultat erhalten:

0.2968 g Subst., gelöst in absolutem Alkohol. Gesamtgewicht der Lösung 3.2031 g. $d^{20} = 0.8254$. Drehung im 1 dcm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 1.78° ($\pm 0.02^\circ$) nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = +23.3^\circ$ ($\pm 0.2^\circ$).

l-Leucyl-*d*-alanin,
 $(C_4H_9)CH(NH_2).CO.NH.CH(CH_3).COOH.$

Aehnlich wie bei der Darstellung des Racemkörpers¹⁾ wurden auch hier durch Amidirung des Bromkörpers ausser dem Dipeptid sein Anhydrid und ferner eine ungesättigte Verbindung, höchstwahrscheinlich ein Derivat der Isohexensäure, erhalten. Dagegen war die Ausbeute in Folge der rationelleren Isolirung der Producte viel besser als dort.

12 g *d*- α -Bromisocapronyl-*d*-alanin wurden mit 60 ccm Ammoniak von 25 pCt. 5 Tage bei 25° stehen gelassen, dann die Flüssigkeit unter vermindertem Druck verdampft und der Rückstand mehrmals mit Alkohol in einer Schale auf dem Wasserbade eingedampft. Beim Aufnehmen mit kaltem Wasser blieb schliesslich 1 g eines Productes zurück, das identisch mit dem sogleich zu beschreibenden Anhydrid des *l*-Leucyl-*d*-alanins war. Um aus der Mutterlauge das Dipeptid isoliren zu können, war es nöthig, das Bromammonium auf dieselbe Weise zu entfernen, wie es bei der Bereitung des *l*-Leucyl-glycins geschah (s. oben). Beim Eindampfen der wässrigen Lösung blieb jetzt ein amorpher Körper zurück, der wiederholt mit warmem Aether ausgelaugt wurde. Hierbei ging ein öliges Product in den Aether, das in Natriumcarbonatlösung Permanganat stark reducirte und dessen Menge 0.8 g betrug. Gleichzeitig wurde der in Aether unlösliche Theil feinpulvrig. Seine Menge betrug 7.8 g; er bestand grösstentheils aus Dipeptid, das durch Auskochen mit wenig Alkohol von etwas Anhydrid befreit wurde. Zur völligen Reinigung des zurückbleibenden Dipeptids diente Umlösen aus heissem Alkohol. Zu dem Zweck wurden 3 g in 700 ccm kochendem Alkohol aufgelöst und die Flüssigkeit auf ca. 150 ccm concentrirt. Beim längeren Stehen in einer Kältemischung schied sich dann das Peptid in mikroskopischen, schmalen, rechtwinkligen Platten ab, die nach 24 Stunden filtrirt wurden. Die Mutterlauge gab bei weiterer Concentration eine zweite und dritte Krystallisation.

Für die Analyse wurde das Präparat 1 $\frac{1}{4}$ Stunde bei 100° getrocknet.

0.1504 g Sbst.: 0.2940 g CO₂, 0.1223 g H₂O. — 0.1554 g Sbst.: 19.1 ccm N (25°, 761 mm).

C₉H₁₅O₃N₂ (202.2). Ber. C 53.41, H 8.97, N 13.89
 Gef. » 53.31, » 9.10, » 13.84.

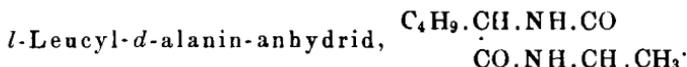
Das Peptid schmilzt gegen 250° (corr. 257°) zu einer gelben Flüssigkeit, nachdem es kurz vorher weich geworden ist. Es schmeckt bitter. In Wasser ist es sehr leicht, in absolutem Alkohol aber schon recht schwer löslich. Etwas leichter löst es sich in Methylalkohol und scheidet sich daraus beim Verdunsten in federartigen Aggregaten aus. Das Kupfersalz ist in Wasser ziemlich leicht löslich und krystallisirt daraus in sehr schmalen, blauen Prismen. Die Lösung des

¹⁾ Fischer und Warburg, Ann. d. Chem. 310, 160 [1905].

Dipeptids in *n* Natronlauge oder *n*-Salzsäure dreht schwach nach links, dagegen die wässrige Lösung nach rechts. Für die 10-procentige, wässrige Lösung beträgt die spezifische Drehung ungefähr $+10^\circ$; erheblich stärker ist die Drehung in methylalkoholischer Lösung.

0.3006 g Sbst., gelöst in Methylalkohol. Gesamtgewicht der Lösung 6.2521 g. $d^{20} = 0.8044$. Drehung im 2 dem-Rohr bei 20° und Natriumlicht $1.82^\circ (\pm 0.02^\circ)$ nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = +23.5^\circ (\pm 0.1^\circ)$.

0.2928 g Sbst., gelöst in Methylalkohol. Gesamtgewicht der Lösung 6.0886 g. $d^{20} = 0.8085$. Drehung im 2 dem-Rohr bei 20° und Natriumlicht $1.78^\circ (\pm 0.02^\circ)$ nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = 22.9^\circ (\pm 0.1^\circ)$.



Dass das Anhydrid als Nebenproduct bei der Darstellung des Dipeptids entsteht, ist oben erwähnt. Sehr langsam bildet sich das Anhydrid auch schon beim Erwärmen des Dipeptids auf 100° . Das ist der Grund, warum dieses für die Analyse nur $1\frac{1}{4}$ Stunde getrocknet wurde.

Am glattesten geht die Bildung des Anhydrids vor sich, wenn man den Umweg über den Ester einschlägt. Die Veresterung des Dipeptids durch Methylalkohol und Salzsäure, sowie die Behandlung des Hydrochlorats mit methylalkoholischem Ammoniak geschahen genau so, wie es oben bei dem *l*-Leucylglycin beschrieben wurde.

Das Anhydrid scheidet sich aus der ammoniakalischen Lösung als dicker Krystallbrei ab, der nach 12 Stunden filtrirt wurde. Beim Verdampfen der methylalkoholischen Mutterlauge wurde eine zweite Portion gewonnen. Zur Entfernung des Chlorammoniums wurde das Präparat mit eiskaltem Wasser sorgfältig ausgelaugt und der Rückstand aus der 30-fachen Menge heissem Alkohol umgelöst. Das Anhydrid krystallisirt daraus in langen Nadeln, die für die Analyse bei 100° getrocknet wurden.

0.1461 g Sbst.: 0.3139 g CO_2 , 0.1191 g H_2O . — 0.1549 g Sbst.: 20.9 ccm N (23° , 761 mm).

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_2\text{N}_2$ (184.2). Ber. C 58.63, H 8.75, N 15.25.

Gef. » 58.60, » 9.12, » 15.31.

Die Substanz schmilzt bei 251° (corr. 258°). Sie ist in Wasser selbst in der Wärme ziemlich schwer löslich. Auch in kaltem Alkohol, Aceton und Essigester löst sie sich ziemlich schwer, erheblich leichter wird sie von Eisessig aufgenommen. Sie schmeckt bitter. Für die optische Untersuchung diente die Lösung in Eisessig.

0.3753 g Sbst. gelöst in trockenem Eisessig. Gesamtgewicht der Lösung 4.1206 g. $d^{20} = 1.0619$. Drehung im 1 dem-Rohr bei 20° und Natriumlicht $2.82^\circ (\pm 0.02^\circ)$ nach links. Mithin $[\alpha]_D^{20} = -29.2^\circ (\pm 0.2^\circ)$.

0.3122 g Sbst. gelöst in Eisessig. Gesamtgewicht der Lösung 3.9999 g. $d^{20} = 1.0576$. Drehung im 1 dcm-Rohr bei 20° und Natriumlicht $2.38^{\circ} (\pm 0.02^{\circ})$ nach links. Mithin $[\alpha]_D^{20} = -28.8^{\circ} (\pm 0.2^{\circ})$.

d- α -Bromisocapronyl-*l*-leucin,
 $C_4H_9.CHBr.CO.NH.CH(C_4H_9).COOH$.

Bei der Kuppelung, die in der üblichen Weise ausgeführt wurde, kamen folgende Mengenverhältnisse zur Anwendung.

10 g *l*-Leucin (1 Mol.), 77 ccm *n*-Natronlauge (1 Mol.), dazu 16.5 g *d* Bromisocapronylchlorid (1 Mol.) und 115 ccm *n*-Natronlauge (1.5 Mol.). Angesäuert wurde zum Schluss mit 24 ccm 5-fach *n* Salzsäure und das gefällte Bromproduct mit Aether ausgeschüttelt. Aus der eingeeengten ätherischen Lösung fiel bei Zusatz von Petroläther die Substanz sofort krystallinisch aus. Die wässrige Mutterlauge gab nach dem Eindampfen unter stark vermindertem Druck beim Ausäthern eine kleine Menge desselben Körpers. Die Gesamtausbeute betrug ungefähr 80 pCt. der Theorie. Zur Reinigung wurden 10 g des Rohproducts in ungefähr 130 ccm Aether gelöst und die auf etwa $\frac{1}{5}$ ihres Volumens eingedampfte Flüssigkeit in einer Kältemischung abgekühlt; dabei fiel der grössere Theil krystallinisch aus.

Für die Analyse war das Präparat im Vacuum-Exsiccator getrocknet.

0.1714 g Sbst.: 0.1057 g AgBr.

$C_{12}H_{22}O_3NBr$ (308.2). Ber. Br 25.95. Gef. Br 26.24.

Für die optische Bestimmung diente die Lösung in Essigester, und von den drei verwendeten Präparaten war das erste nur einmal, das zweite zweimal und das dritte nochmals in der beschriebenen Weise aus Aether krystallisirt.

0.6576 g Sbst. gelöst in Essigester. Gesamtgewicht der Lösung 6.5869 g. $d^{20} = 0.9235$. Drehung im 2 dcm-Rohr bei 20° und Natriumlicht $2.95^{\circ} (\pm 0.02^{\circ})$ nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = +16.0^{\circ} (\pm 0.1^{\circ})$.

0.3871 g Sbst. gelöst in Essigester. Gesamtgewicht der Lösung 3.8666 g. $d^{20} = 0.9229$. Drehung im 1 dcm-Rohr bei 20° und Natriumlicht $1.50^{\circ} (\pm 0.02^{\circ})$ nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = +16.2^{\circ} (\pm 0.2^{\circ})$.

0.6677 g Sbst. gelöst in Essigester. Gesamtgewicht der Lösung 6.6694 g. $d^{20} = 0.9229$. Drehung im 2 dcm-Rohr bei 20° und Natriumlicht $3.04^{\circ} (\pm 0.02^{\circ})$ nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = +16.45^{\circ} (\pm 0.1^{\circ})$.

Die Verbindung schmilzt bei 149° (corr.), nachdem sie einige Grade vorher gesintert ist. Sie löst sich leicht in Alkohol, Aceton, Chloroform und Aether, schwer in Wasser und Petroläther. Aus der ätherischen Lösung scheidet sie sich beim starken Abkühlen in mikroskopischen Doppelpyramiden ab.

l-Leucyl-*l*-leucin, $C_4H_9.CH(NH_2).CO.NH.CH(C_4H_9).COOH$.

Eine Lösung von 10 g Bromkörper in 50 ccm Ammoniak von 25 pCt. wird 6 Tage bei 25° aufbewahrt, dann die Flüssigkeit bei geringem Druck

verdampft und der Rückstand mit 90 ccm warmem Wasser aufgenommen. Beim Abkühlen auf 0° scheidet sich ein Theil des Dipeptids in feinen Nadelchen ab. Die eingeeengte Mutterlauge giebt eine neue Krystallisation, schliesslich wird zur Trockne verdampft und das Bromammonium mit warmem absolutem Alkohol ausgelaugt, wobei wiederum Dipeptid zurückbleibt. Die Gesamtausbeute betrug 65 pCt. der Theorie. Zur Reinigung wird entweder aus wenig warmem Wasser oder aus heissem Alkohol, wovon ungefähr 170 Theile nöthig sind, umgelöst.

Aus Wasser und aus Alkohol wird es in langen, zugespitzten, meist zu Rosetten vereinigten Blättchen gewonnen. Die Krystalle enthalten Wasser, welches sich leider nicht vollständig austreiben lässt, ohne dass ein Theil der Substanz in Anhydrid übergeht. Die Anhydridbildung erfolgt nämlich hier schon bei verhältnissmässig niedriger Temperatur. Ein Präparat, das 5 Stunden im Vacuum bei 100° über Phosphorpentoxyd getrocknet war, enthielt schon 4 pCt. Anhydrid¹⁾; infolgedessen war es auch nicht möglich, ganz scharfe analytische Zahlen zu erhalten. Ich verzichte darauf, hier die Ergebnisse der vielen Analysen anzuführen, die nach der Art der Trocknung ziemlich stark variiren und auf einen Wassergehalt von 2 bis 1/2 Mol. hindeuten. Das Peptid schmilzt nach zweimaligem Umkrystallisiren gegen 263° (corr. 270°), wahrscheinlich unter Bildung von Anhydrid.

Für die optische Untersuchung dienten Präparate, die aus Alkohol krystallisirt und im Vacuum bei gewöhnlicher Temperatur über Phosphorpentoxyd getrocknet waren. Um ihren wahren Gehalt an Dipeptid festzustellen, wurde eine Probe davon 2 Stunden über Phosphorpentoxyd bei 100° getrocknet, wobei die Anhydridbildung noch minimal ist, dann analysirt und aus den Werthen der Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmung der Gehalt an wasserfreiem Dipeptid berechnet. Trotz dieser indirecten Methode sind recht gut übereinstimmende Resultate erzielt worden.

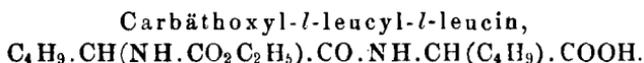
0.3274 g wasserhaltige Sbst. = 0.3137 g Trocken-Sbst. gelöst in *n*-Natronlauge. Gesamtgewicht der Lösung 3.7144 g. $d_{20}^{20} = 1.0455$. Drehung im 1 dcm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 1.18° ($\pm 0.02^\circ$) nach links. Mithin $[\alpha]_D^{20} = -13.36^\circ (\pm 0.25^\circ)$.

0.1628 g wasserhaltige Sbst. = 0.1512 g Trocken-Sbst. gelöst in *n*-Natronlauge. Gesamtgewicht der Lösung 3.4877 g. Drehung im 1 dcm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 0.61° ($\pm 0.02^\circ$) nach links. Mithin $[\alpha]_D^{20} = -13.43^\circ (\pm 0.4^\circ)$.

¹⁾ Das früher beschriebene inactive Leucyl-leucin (diese Berichte 35, 1104 [1902]) gab nach dem Trocknen bei 100° zwar ziemlich gut stimmende analytische Zahlen. Ich habe mich aber nachträglich überzeugt, dass es auch schon eine kleine Menge Anhydrid enthielt, welches sehr leicht zu erkennen ist, weil es beim Auflösen in verdünnter Salzsäure zurückbleibt.

Die Lösung in reinem Wasser dreht ebenfalls nach rechts, und zwar ist die spezifische Drehung ungefähr $+7^\circ$. Die Bestimmung ist aber nicht ganz genau. Sehr viel geringer ist die Drehung der salzsauren Lösung.

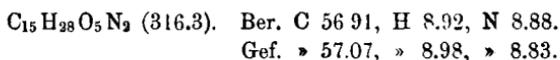
Das salzsaure Salz des Dipeptids ist in Wasser sehr leicht löslich, krystallisirt aber. In Wasser verhältnissmässig schwer löslich ist das blaue Kupfersalz; es krystallisirt in feinen Nadeln. Zur Charakterisirung des Dipeptids kann die schön krystallisirende Carbäthoxyl-Verbindung dienen.



1 g Dipeptid wurde in 4.1 ccm *n*-Natronlauge (1 Mol.) gelöst, in einer Kältemischung gekühlt und dann unter kräftigem Schütteln 0.5 g Chlorkohlensäureäthylester (1.1 Mol.) allmählich zugesetzt. Als während dieser Operation ein Krystallbrei ausfiel, fügte man noch 0.25 g trocknes Natriumcarbonat hinzu und setzte das Schütteln fort, bis nach einer halben Stunde fast klare Lösung eingetreten war. Bei Zusatz von 5 ccm *n*-Salzsäure fiel die Carbäthoxyl Verbindung zunächst als weisse, klebrige Masse aus, die aber beim Abkühlen und Reiben bald krystallinisch erstarrte. Die Ausbeute betrug 1.1 g oder 85 pCt. der Theorie.

Zur Reinigung wurde in Essigester gelöst und mit Petroläther gefällt. Die Substanz schied sich dabei in kleinen, schiefwinkligen Plättchen ab, die meist sternförmig vereinigt waren. Nochmals in der gleichen Weise umgelöst, schmolz sie bei $147-148^\circ$ (corr. $149-150^\circ$), nachdem kurz zuvor Sintern stattgefunden hatte. Für die Analyse wurde bei 100° getrocknet.

0.1773 g Sbst.: 0.3710 g CO_2 , 0.1423 g H_2O . — 0.1924 g Sbst.: 14.7 ccm N (18° , 759 mm).



Die Substanz ist selbst in heissem Wasser ziemlich schwer löslich, dagegen wird sie von Alkohol, Aceton und Essigester leicht aufgenommen. Aus Aether, worin sie ziemlich schwer löslich ist, krystallisirt sie ebenfalls in schiefen Plättchen.

l-Leucin-anhydrid (*l*-Leucin-imid).

Diese active Form des als Racemkörper seit 57 Jahren bekannten Leucinimids lässt sich sehr leicht aus dem Methylester des activen Dipeptids in der gewöhnlichen Weise gewinnen.

Man suspendirt 1 g *l*-Leucyl-*l*-leucin in 10 ccm trockenem Methylalkohol und leitet bei mässiger Kühlung gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung ein; dabei findet klare Lösung statt. Um die Veresterung zu vervollständigen,

habe ich nach etwa 15 Minuten die Flüssigkeit unter 15–20 mm Druck bei gewöhnlicher Temperatur verdampft, die Veresterung in derselben Weise wiederholt und auf die gleiche Weise verdampft. Der anfangs ölige Rückstand erstarrt nach einiger Zeit krystallinisch. Die Krystalle sind das Hydrochlorat des Dipeptidesters; es löst sich in warmem Benzol und krystallisiert bei Zusatz von Aether in hübschen kleinen Prismen. Zur Umwandlung in das Anhydrid löst man das Salz in wenig Methylalkohol und giesst diese Lösung allmählich in 10 ccm stark abgekühlten Methylalkohol, der bei 0° mit Ammoniak gesättigt ist. Lässt man diese klare Lösung bei gewöhnlicher Temperatur stehen, so beginnt schon nach einer halben Stunde die Krystallisation des Anhydrids, das später die Flüssigkeit als dicker Brei erfüllt. Es wird nach 12 Stunden filtrirt und mit eiskaltem Wasser zur Entfernung des Chlorammoniums gewaschen. Die Ausbeute betrug 0.8 g oder 87 pCt. der Theorie.

Es wird aus der 15-fachen Menge kochendem Alkohol umkrystallisiert und so in langen Nadeln erhalten.

Für die Analyse wurde bei 100° getrocknet.

0.1707 g Subst.: 0.3988 g CO₂, 0.1520 g H₂O. — 0.1317 g Subst.: 14.3 ccm N (18°, 765 mm).

C₁₂H₂₂O₂N₂ (226.3). Ber C 63.71, H 9.73, N 12.39.

Gef. » 63.72, » 9.96, » 12.65.

Es schmilzt etwas höher als das bisher allein bekannte inactive Product, nämlich bei 270–271° (corr. 277°).

Aus heissem Wasser, worin es schwer löslich ist, krystallisiert es beim Erkalten in mikroskopischen Nadeln oder dünnen Prismen, die häufig büschelartig verwachsen sind. In derselben Form kommt es aus Methylalkohol, worin es erheblich leichter löslich ist; besonders leicht löslich ist es in Eisessig, sogar in der Kälte, deshalb wurde diese Lösung für die optische Untersuchung verwendet.

0.2938 g Subst., gelöst in trockenem Eisessig. Gesamtgewicht der Lösung 3.7233 g, $d^{20} = 1.0524$. Drehung im 1 dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 3.53° ($\pm 0.02^\circ$) nach links. Mithin $[\alpha]_D^{20} = -42.5^\circ$ ($\pm 0.25^\circ$).

0.3256 g Subst., gelöst in Eisessig. Gesamtgewicht der Lösung 4.0241 g, $d^{20} = 1.0523$. Drehung im 1 dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 3.65° ($\pm 0.02^\circ$) nach links. Mithin $[\alpha]_D^{20} = -42.87^\circ$ ($\pm 0.25^\circ$). Nach 4 Stunden war die Drehung unverändert.

l-Brompropionyl-glycyl-glycin.

Das für die Synthese erforderliche *l*-Brompropionylchlorid war nach der früheren Vorschrift¹⁾ bereitet. Die Kuppelung mit dem Glycyl-glycin verläuft ähnlich wie beim Racemkörper²⁾. An Stelle

¹⁾ E. Fischer und O. Warburg, Ann. d. Chem. 340, 371; Fischer und Raske, Sitzungsber. der Berliner Akademie 1906, 378.

²⁾ Diese Berichte 3^r, 2986 [1903].

des Glycyl-glycins verwendet man am bequemsten Glycinanhydrid und verföhrt folgendermaassen:

20 g Glycinanhydrid (ungefähr 1.5 Mol.) werden in 88 ccm 2-fachnorm. Natronlauge bei gewöhnlicher Temperatur gelöst, nach 10 Minuten langem Stehen in einer Kältemischung stark gekühlt und nun abwechselnd in 5 Portionen 22 g *l*-Brompropionylchlorid und 70 ccm 2-fachnorm. Natronlauge unter starkem Schütteln im Laufe von etwa $\frac{1}{2}$ Stunde eingetragen. Das Chlorid verschwindet sehr rasch. Zum Schluss wird mit 45 ccm 5-fachnorm. Salzsäure übersättigt. Beim längeren Stehen in Eis scheidet sich dann das Kuppelungsproduct zum grössten Theil krystallinisch aus. Aus der Mutterlauge gewinnt man nach dem Eindampfen bei 15—20 mm Druck eine zweite Krystallisation. Die Gesamtausbeute an Rohproduct beträgt 30.5 g oder fast 90 g der Theorie, berechnet auf das Chlorid. Einmaliges Umkrystallisiren aus der 2 $\frac{1}{2}$ -fachen Menge heissen Wassers, wobei ungefähr 15 pCt. in der Mutterlauge bleiben, genügt zur völligen Reinigung.

Für die Analyse wurde bei 100° getrocknet.

0.2140 g Sbst.: 0.1518 g AgBr.

$C_7H_{11}O_4N_2Br$ (Mol. 267). Ber. Br 30.0. Gef. Br 30.2.

Die Substanz schmilzt bei 169° (corr. 172°). Sie krystallisirt aus Wasser in farblosen, häufig zu Drusen verwachsenen Prismen. In Alkohol und Aceton ist sie ziemlich schwer, in Aether noch schwerer löslich.



Eine Lösung von 27 g des Bromkörpers in 135 ccm wässrigem Ammoniak von 25 pCt. blieb 5 Tage bei 25° stehen, wurde dann bei 15—20 mm Druck verdampft, der Rückstand in 100 ccm warmem Wasser gelöst und 1.5 L absoluter Alkohol zugegeben. Beim mehrstündigen Stehen der Flüssigkeit in Eiswasser fielen 15.2 g krystallwasserhaltiges Tripeptid aus, und die Mutterlauge ergab noch 3.5 g, sodass die Gesamtausbeute 80 pCt. der Theorie betrug. Zur Reinigung genügt einmaliges Lösen in der 5-fachen Menge warmem Wasser und Zufügen des 5-fachen Volumens Alkohol.

Beim Abkühlen fällt der allergrösste Theil des Tripeptids in farblosen, manchmal centimeterlangen Nadeln aus, die 1 Mol. Krystallwasser enthalten.

1.1023 g lufttrockne Sbst. verloren bei 100° 0.0880 g H₂O.

$C_7H_{13}O_4N_3 + 1H_2O$ (Mol. 221). Ber. H₂O 8.1. Gef. H₂O 8.0.

0.1985 g bei 100° getrocknete Sbst.: 0.3027 g CO₂, 0.1163 g H₂O. —
0.1591 g bei 100° getrocknete Sbst.: 28.0 ccm N (18°, 761 mm).

$C_7H_{13}O_4N_3$ (Mol. 203). Ber. C 41.4, H 6.4, N 20.7.

Gef. » 41.6, » 6.6, » 20.4.

Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr beginnt das Tripeptid gegen 205° gelb zu werden und schmilzt gegen 240° (corr. 245°) unter

Zersetzung. Beim Verdunsten der wässrigen Lösung wird es in grossen, durchsichtigen und messbaren Krystallen erhalten, über die ich Hrn. Dr. F. von Wolff folgende Angaben verdanke:

»Krystallsystem:

Monoklin-hemimorph.

Formen: $c \perp oP (001)$, $a = \infty P \overline{\infty} (100)$, $m = \infty P (110)$.

Habitus: gestreckt nach b und taflig nach $oP (001)$.

Auf $\infty P \overline{\infty} (010)$ beträgt die Schiefe der Auslöschung $c : v = ca. 15^\circ$, gelegen im spitzen Winkel β .

Die Ebene der optischen Axen liegt normal zu $\infty P \overline{\infty} (010)$. I. Mittellinie = positiv, steht schief auf $oP (001)$ und zeigt horizontale Dispersion, $b = a = II$. Mittellinie. Der Axenwinkel ist gross.

Mit Wasser erhält man auf $oP (001)$ unsymmetrische Aetzfiguren, die die Hemimorphie nach der b -Axe anzeigen.

Der Krystall zeigt in der Richtung der b -Axe entgegengesetztes pyroelektrisches Verhalten.

In Alkohol ist es sehr schwer löslich. Es giebt keine Biuret-färbung. Der Geschmack ist sehr schwach und nicht charakteristisch. Fügt man zu der ziemlich concentrirten, wässrigen Lösung des Tripeptides vorsichtig eine concentrirte Lösung von Phosphorwolframsäure, so entsteht eine dickölige Fällung, die sich beim Erwärmen leicht löst, in der Kälte wieder herauskommt und bei 0° zähe wird. Wenn genügend Phosphorwolframsäure angewandt ist, so wird der Niederschlag nach einiger Zeit körnig fest. Beim langsamen Abkühlen der warmen Lösung scheidet sich das Phosphorwolframat in sehr dünnen Blättchen ab, die unter dem Mikroskop 4–6-seitig, aber schief ausgebildet erscheinen. In warmem Wasser ist es leicht löslich und krystallisirt beim Abkühlen ziemlich langsam. Es gleicht in der Löslichkeit dem Phosphorwolframat des Glykocolls und Alanins.

Für die optische Untersuchung diente die wässrige Lösung eines mehrfach umkrystallisirten Tripeptids.

Eine Lösung vom Gesamtgewicht 9.4791 g, die 0.9855 g wasserfreies Tripeptid enthielt und deren Dichte $d^{20} = 1.039$ war, drehte im 2 dem-Rohr bei 20° Na-Licht $6.26^\circ (\pm 0.02^\circ)$ nach links. Mithin $[\alpha]_D^{20} - 29.0^\circ (\pm 0.1^\circ)$.

Eine Lösung vom Gesamtgewicht 10.2490 g, die 1.0123 g bei 100° getrocknetes Tripeptid enthielt und deren Dichte $d^{20} = 1.035$ war, drehte im 2 dem-Rohr bei 20° Na-Licht $6.0^\circ (\pm 0.02^\circ)$ nach links. Mithin $[\alpha]_D^{20} - 29.4^\circ (\pm 0.1^\circ)$.

Weiteres Umkrystallisiren des Präparats war ohne Einfluss auf das Drehungsvermögen.

l-Alanyl-glycyl-glycinmethylester.

Die Veresterung wird in der üblichen Weise mit 10 Volumtheilen Methylalkohol und gasförmiger Salzsäure ausgeführt und nach dem

Verdampfen der Lösung unter geringem Druck wiederholt. Beim abermaligen Verdampfen unter 15—20 mm Druck bleibt das Hydrochlorat krystallinisch zurück. Es wird in ungefähr der 5-fachen Menge warmem Methylalkohol gelöst und Aether bis zur Trübung zugesetzt; beim Erkalten krystallisiert dann das Hydrochlorat in Nadelchen, die meist zu Büscheln vereinigt sind. Fügt man genug Aether zu, so ist der Verlust beim Umkrystallisieren sehr gering. Für die Analyse wurde das Salz im Vacuum über Natronkalk getrocknet.

0.1912 g Sbst. verbr. 7.5 ccm $^{1}_{10-n}$. AgNO₃.

C₈H₁₅O₄N₃.HCl (Mol. 253.5). Ber. Cl 14.0. Gef. Cl 13.9

Das Hydrochlorat ist in Wasser sehr leicht und dann successive schwerer löslich in Methylalkohol, Aethylalkohol und Aether; beim raschen Erhitzen schmilzt es gegen 175° (corr. 178°) unter Gasentwicklung.

Zur Umwandlung in den freien Ester löst man das salzsaure Salz in der 4—5 fachen Menge warmem Methylalkohol, kühlte in Eiswasser rasch ab und fügt sofort die für das Chlor berechnete Menge von Natrium in methylalkoholischer Lösung hinzu; dann wird die Flüssigkeit bei 15—20 mm Druck verdampft und der Rückstand mit ungefähr der 5-fachen Menge Essigester ausgekocht. Wird die vom Kochsalz filtrirte Flüssigkeit abgekühlt und vorsichtig mit Aether versetzt, so scheidet sich der freie Methyl ester in farblosen, glänzenden Blättchen ab. Die Ausbeute schwankte zwischen 80 und 90 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte Hydrochlorat. Zur Analyse wurde im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1811 g Sbst.: 0.2925 g CO₂, 0.1146 g H₂O. — 0.2178 g Sbst.: 30.0 ccm $^{1}_{10-n}$. H₂SO₄ (Kjeldahl).

C₈H₁₅O₄N₃ (Mol. 217). Ber. C 44.2, H 7.0, N 19.4.

Gef. » 44.1, » 7.1, » 19.3.

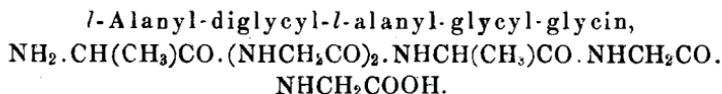
Der Ester hat keinen scharfen Schmelzpunkt. Er verflüssigt sich zwischen 90° und 95°, aber die Schmelze trübt sich dann bald, wahrscheinlich in Folge der eingetretenen Condensation. Er löst sich leicht in Wasser mit alkalischer Reaction, auch noch leicht in Alkohol, schwerer in kaltem Essigester, noch schwerer in Aether und fast garnicht in Petroläther; er giebt keine deutliche Biuret färbung.

Verwandlung des Tripeptidesters in Hexapeptidester.

Wird der *l*-Alanil-glycyl-glycinmethylester auf 100° erwärmt, so trübt sich die anfänglich entstehende klare Schmelze bald und erstarrt im Laufe von 2—3 Stunden vollständig. Hierbei bemerkt man sehr deutlich den Geruch nach Methylalkohol. Der Vorgang entspricht genau der früher beschriebenen Veränderung des Diglycyl-glycin-

methylesters¹⁾. Der grössere Theil geht auch hier unter Abspaltung von Methylalkohol in den Ester eines Hexapeptids über. Nebenher bildet sich ein in Wasser schwerer lösliches, amorphes Product, das wahrscheinlich eine complicirtere Zusammensetzung hat, aber bisher nicht genügend untersucht werden konnte. Die Verarbeitung der völlig erstarrten Schmelze geschah auf folgende Weise:

Die Masse wurde erst zerkleinert und dann zur Entfernung von unverändertem Tripeptidester mit der 6–8-fachen Menge absolutem Alkohol ausgekocht, filtrirt und mit Alkohol und Aether gewaschen. Die Ausbeute an diesem Product betrug ungefähr 75 pCt. des angewandten Tripeptidesters. Es wurde mit der 6-fachen Menge lauwarmem Wasser sorgfältig durchgerührt, wobei der grössere Theil in Lösung ging, dann 1 Stunde bei 0° aufbewahrt und abgesaugt. Der Rückstand ist das amorphe, complicirte Product; seine Menge beträgt ungefähr 10 pCt. des ursprünglichen Esters. Die wässrige Lösung enthält den Hexapeptidester, der durch Alkohol und Aether als schwach rosa gefärbtes, aber nicht deutlich krystallisirtes Pulver gefällt wird, das sich bald absetzt und gut zu filtriren ist. Es ist nicht gelungen, ihn zu krystallisiren und völlig zu reinigen. In Folge dessen haben auch die Analysen keine scharfen Resultate gegeben, da der Kohlenstoff immer 0.8–1 pCt. unter der berechneten Menge blieb. Das Product ist in Wasser leicht löslich mit alkalischer Reaction und giebt zum Unterschiede von dem Tripeptidester eine sehr starke Biuretfärbung. In Alkohol ist es recht schwer und in Aether so gut wie unlöslich. Im Capillarrohr beginnt es gegen 175° zu sintern und schmilzt gegen 185° unter Zersetzung. Die Ausbeute an umgelöstem Product betrug ungefähr 45 pCt. des angewandten Tripeptidesters.



Zur Verseifung des Hexapeptidesters werden 2 g mit 5.4 ccm *n*-Natronlauge geschüttelt, wodurch bald klare Lösung eintritt, dann eine halbe Stunde bei 0° aufbewahrt, mit 0.63 ccm 9-fachnormaler Essigsäure übersättigt und das Hexapeptid durch Zusatz von Alkohol aus der wässrigen Lösung gefällt. Es wird nach einigem Stehen bei 0° abgesaugt, mit Alkohol und Aether gewaschen und im Vacuum getrocknet. Die Ausbeute beträgt ungefähr 1.7 g. Zur Reinigung wird diese Menge in ungefähr 9 ccm Wasser warm gelöst und bis zur

¹⁾ Diese Berichte 39, 471 [1906].

Trübung mit Alkohol versetzt. Beim Abkühlen fällt dann das Hexapeptid als weisses, körniges Pulver aus, das aber unter dem Mikroskop keine deutliche Krystallform zeigt. Für die Analyse wurde nochmals in derselben Weise umgelöst und dann das Präparat bei 120° im Vacuum über Phosphorpenoxyd getrocknet, wobei eine ziemlich erhebliche Gewichtsabnahme eintrat.

0.1792 g Sbst: 0.2867 g CO₂, 0.1033 g H₂O. — 0.2056 g Sbst. verbrauchten 31.88 ccm $\frac{1}{10}$ -n. H₂SO₄ (Kjeldahl).

C₁₄H₂₄O₇N₆ (Mol. 388). Ber. C 43.3, H 6.2, N 21.7.

Gef. » 43.6, » 6.4, » 21.8.

Das Hexapeptid hat keinen Schmelzpunkt. Es zersetzt sich unter Aufschäumen gegen 207°. In Wasser ist es noch leicht, in Alkohol aber äusserst schwer löslich. Die Verbindungen mit Salz- und Salpeter-Säure sind ebenfalls in Wasser spielend leicht löslich und bleiben beim Verdunsten als durchsichtige, amorphe Masse zurück. Phosphorwolframsäure erzeugt in der wässrigen Lösung des Peptids nur bei grösserer Concentration einen Niederschlag. Versetzt man aber vorher die Lösung mit Schwefelsäure, so wird das Phosphorwolframat auch bei ziemlich starker Verdünnung als amorphe, harzartige Masse gefällt, die in der Hitze leicht löslich ist.

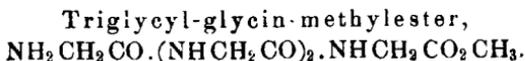
Für die optische Untersuchung des Hexapeptids diente die wässrige Lösung eines mehrfach umgelösten Präparates.

Eine Lösung vom Gesamtgewicht 4.3913 g, die 0.3212 g Sbst. enthielt und deren Dichte $d^{20} = 1.02$ betrug, drehte bei 21° Natriumlicht im dem-Rohr 0.96° (± 0.020) nach rechts:

$$\text{Mithin } [\alpha]_D^{21} + 12.90 (\pm 0.30).$$

Eine Lösung vom Gesamtgewicht 3.8845 g, die 0.3045 g Sbst. enthielt und deren Dichte $d^{20} = 1.024$ betrug, drehte bei 22° Natriumlicht im dem-Rohr 1.06° (± 0.020) nach rechts:

$$\text{Mithin } [\alpha]_D^{22} + 13.20 (\pm 0.20).$$



Diese, der Biuretbasis entsprechende Verbindung wird leicht durch Veresterung des Tetrapeptids gewonnen. Nur muss die Operation mit einiger Vorsicht ausgeführt werden, um eine gute Ausbeute zu erhalten. Gepulvertes Triglycyl-glycin wird mit der 10-fachen Menge trockenem Methylalkohol übergossen, in Eiswasser gekühlt und gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung eingeleitet. Man lässt dann etwa $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen, worauf die Krystallisation des Hydrochlorats beginnt. Kühlt man stark in einer Kältemischung, so fällt fast die ganze Menge des salzsauren Esters krystallinisch aus.

Er wird abgesaugt und mit wenig ganz kaltem Methylalkohol gewaschen. Die Ausbeute beträgt 75–80 pCt. der Theorie. Das Salz bildet mikroskopische Blättchen, die beim raschen Erhitzen gegen 198–200° (corr.) unter Schäumen schmelzen.

Für die Analyse wurde im Vacuum über Natronkalk getrocknet.

0.1576 g Subst. verbrauchten 5.1 ccm $\frac{1}{10}$ -n. AgNO_3 .

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_5\text{N}_4 \cdot \text{HCl}$ (296.5). Ber. Cl 11.9. Gef. Cl 11.5.

Für die Darstellung des freien Esters löst man das Hydrochlorat in der 15-fachen Gewichtsmenge warmem Methylalkohol, kühlt rasch in Eiswasser ab und fügt sofort die für das Chlor berechnete Menge Natrium in methylalkoholischer Lösung zu. Hierbei fällt der freie Ester, zumal wenn die Lösung recht kalt ist, zum grössten Theil krystallinisch aus. Er wird nach einiger Zeit abgesaugt und aus heissem Methylalkohol umkrystallisirt. Die Ausbeute beträgt ungefähr 90 pCt., berechnet auf das Hydrochlorat. Für die Analyse wurde im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1662 g Subst.: 0.2510 g CO_2 , 0.0961 g H_2O . — 0.1743 g Subst.: 32.5 ccm N (22°, 761 mm).

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_5\text{N}_4$ (Mol. 260). Ber. C 41.5, H 6.2, N 21.5.

Gef. » 41.2, » 6.5, » 21.3.

Der Ester krystallisirt aus Methylalkohol in mikroskopisch kleinen, glänzenden Nadelchen oder sehr dünnen, garbenförmig vereinigten Prismen. Im Capillarrohr erhitzt, fängt er gegen 200° an sich gelb zu färben und zersetzt sich bis 240° sehr stark unter Schwarzfärbung. Er ist in Wasser leicht löslich mit alkalischer Reaction und giebt eine starke Biuretfärbung. In heissem Methylalkohol löst er sich ziemlich leicht, schwerer in Aethylalkohol und fast garnicht in Aether.

Verhalten des Esters beim Erhitzen. Im Gegensatz zu dem Diglycyl-glycin-methylester, der sich beim Erhitzen so leicht condensirt, kann diese Verbindung stundenlang auf 100° erhitzt werden, ohne eine sichtbare Veränderung zu erfahren; insbesondere bildet sich kein in Wasser schwer lösliches Product. Aehnlich verhält sich der Triglycyl-glycin-äthylester (Biuretbasis), der in reinem Zustand auch bei 100° nicht verändert wird. Zum Beweis dafür führe ich folgenden Versuch an. Eine Probe der Substanz, die durch Veresterung des Triglycyl-glycins mit Aethylalkohol gewonnen und im Vacuum über Phosphorpentoxyd getrocknet war, verlor bei 78° im Vacuum nur 0.5 pCt.; dann blieb das Gewicht constant, auch als das Erhitzen 4 Stunden bei 100° und noch weitere 4 Stunden bei 109° fortgesetzt wurde. Auch hier war kein in Wasser schwer lösliches Product entstanden.

Dieselben Resultate gab eine nach Curtius dargestellte, aber sorgfältig gereinigte Biuretbase. Hr. Curtius hat andere Resultate mit einer Biuretbase, der noch Glycinester anhaftete, erhalten, insofern als ein in Wasser unlösliches Product entstanden war, das er für Octaglycinanhydrid ansah¹⁾. Nach meinen Beobachtungen scheint es, dass dieser Körper garnicht aus der Biuretbase, sondern aus deren Beimengungen entstanden ist, und dass man also über sein Molekulargewicht und seine Structur vorläufig nichts sagen kann.

Für die vorstehenden Versuche waren grössere Mengen der beiden activen Leucine, des activen Bromisocapronylchlorids, des Glycinanhydrids und des Diglycyl-glycins nothwendig. Ihre Darstellung ist deshalb in folgender Weise verbessert und vereinfacht worden, und ich benutze die Gelegenheit, auch einige andere Beobachtungen, die sich auf diese Producte beziehen, mitzutheilen.

Active Formyl-leucine.

1.6 kg racemisches Leucin wurden in 8 Portionen nach dem früher beschriebenen Verfahren formylirt²⁾ Ausbeute 1350 g umkrystallisiertes Formyl-*dl*-leucin und zurückgewonnen 235 g Leucin. Die Spaltung des Formyl-leucins mit Brucin geschah stets in Mengen von 50 g, wobei die Quantität des Alkohols von 4 auf 3 L verringert und das Abdampfen der Mutterlauge grösstentheils auf dem Wasserbad^e in Schalen vorgenommen wurde. Das angewandte Brucin wurde wegen seines hohen Preises immer wiedergewonnen und von neuem benutzt.

Die Ausbeute an den beiden activen Formyl-leucinen in umkrystallisiertem Zustand war etwas grösser als früher: sie betrug 80 pCt. der Theorie. Alle drei Formen des Formyl-leucins wurden aus wässriger Lösung in ziemlich grossen und gut ausgebildeten Krystallen erhalten, über deren Beschaffenheit ich Hrn. Dr. F. von Wolff folgende Angaben verdanke.

»Die drei Formyl-leucine krystallisiren rhombisch, und zwar das Formyl-*dl*-leucin und Formyl-*l*-leucin rhombisch sphenoidisch, das Formyl-*dl*-leucin rhombisch-holoëdrisch. Die drei Verbindungen zeigen innerhalb der Beobachtungsfehlergrenzen die gleichen Winkeldimensionen.

Das Axenverhältniss ist $a:b:c = 0.95091:1:0.92520$, berechnet an der Rechtsverbindung aus

$$\begin{aligned} m:m &= (110):(1\bar{1}0) = 92^{\circ} 53' \\ c:c &= (001).(011) = 137^{\circ} 14' 30''. \end{aligned}$$

¹⁾ Diese Berichte 37, 1300 [1904]. ²⁾ Diese Berichte 38, 3997 [1905].

1. Formyl-*d*-leucin.

Krystalle meist säulenförmig nach $\overset{!}{c}$ und tafelig nach $\infty P(110)$. Gewöhnlich ist nur $m = \infty P(110)$ und $c = OP(001)$ entwickelt, zuweilen untergeordnet $e = P\check{\infty}(011)$ und $b = \infty P\check{\infty}(010)$, ganz selten das rechte Sphenoid $p = r\frac{P}{2}(111)$. $c:p = (001):(111) = 126^{\circ}38'$, berechnet $126^{\circ}40'44''$. Aetzfiguren auf ∞P rechts 110 haben die unsymmetrische Form eines Rechtecks mit Abschrägung nach rechts unten, auf ∞P links $\bar{1}10$ die gleichen Figuren mit Abschrägung nach links oben. Das gerade Ende der Aetzfiguren ist dem Sphenoid zugekehrt.

2. Formyl-*l*-leucin.

Krystalle säulenförmig und nadelig nach $\overset{!}{c}$, auch alle Flächen im Gleichgewicht ausgebildet, gewöhnlich mit $m = \infty P(110)$, $b = \infty P\check{\infty}(010)$, auch $a = \infty P\check{\infty}(100)$ und $c = OP(001)$; meist untergeordnet $e = P\check{\infty}(011)$. Die Aetzfiguren auf den Prismenflächen sind die Spiegelbilder der rechten Verbindung.

3. Formyl-*dl*-leucin.

Krystalle säulenförmig nach $\overset{!}{c}$ mit $m = \infty P(110)$ und $e = P\check{\infty}(011)$, $c = OP(001)$ untergeordnet. Die Aetzfiguren auf den Prismenflächen sind Rechtecke ohne Abschrägungen, entsprechen also der Symmetrie der rhombisch-holoëdrischen Abtheilung.

Alle drei Körper zeigen folgende optische Orientirung. Axenebene ist $\frac{||}{||} OP(001)$. Die optischen Axen stehen fast normal auf den Prismenflächen. Der Axenwinkel ist gross. Weitere Untersuchungen über die optischen Verhältnisse, insbesondere über die Drehung in den Krystallen, behalte ich mir vor.*

Eine ausführliche Mittheilung darüber wird Hr. von Wolff an anderer Stelle geben.

Darstellung der *d*- α -Brom-isocaprinsäure.

Die ersten Versuche wurden mit reinem *d*-Leucin ausgeführt; bequemer ist es aber, direct den Formylkörper anzuwenden und die Isolirung der Aminosäure folgendermaassen zu umgehen:

10 g Formyl-*d*-leucin werden mit 45 ccm 20-procentiger Bromwasserstoffsäure 1 Stunde am Rückflusskühler gekocht, wobei völlige Hydrolyse eintritt. Man verdampft dann die Flüssigkeit bei 15–20 mm Druck bis zur Trockne, löst den Rückstand in 25 ccm 20-procentiger Bromwasserstoffsäure, fügt 15 g Brom zu, kühlt unter 0° und leitet unter fortwährender weiterer Kühlung 3 Stunden einen ziemlich starken Strom von Stickoxyd ein, dann fügt man nochmals 6 g Brom zu und setzt das Einleiten des Stickoxyds noch 2 Stunden fort. Hierbei scheidet sich die Bromisocaprinsäure ölig ab.

Zum Schluss wird 10–15 Minuten lang ein kräftiger Luftstrom durch die Flüssigkeit getrieben, um den grössten Theil des unveränderten Broms zu

verflüchtigen, dann wird etwa die 5-fache Menge Aether zugefügt, der Rest des Broms durch schweflige Säure reducirt, die ätherische Lösung abgehoben, mit Wasser sorgfältig gewaschen, mit Chlorcalcium getrocknet, schliesslich der Aether verdampft und die Bromisocaprönsäure unter sehr geringem Druck destillirt. Bei 0.3 mm ging der allergrösste Theil zwischen 90° und 92° über, und es blieb ein kleiner, dunkelbrauner Rückstand.

Die Säure ist meist ganz farblos, seltener hat sie einen kleinen Stich in's Grüne. Die Ausbeute beträgt ungefähr 75 pCt. der Theorie. Die specifische Drehung des Präparates schwankte bei verschiedenen Darstellungen zwischen + 42.4° und 44.7°, während die reinste active Bromisocaprönsäure, welche Hr. Carl im diesigen Institut durch Krystallisation des Brucinsalzes erhalten hat, ein Drehungsvermögen von 49.4° zeigte.

Demnach würde das Präparat nur 5—7 pCt. des optischen Antipoden enthalten.

d- α -Bromisocaprönyl-chlorid.

Die Verwandlung der Säure in das Chlorid geschah ebenso wie beim Racemkörper durch Phosphorpentachlorid, nur wurde wegen der Gefahr der Racemisirung jede Temperaturerhöhung vermieden.

25 g frisches und ganz rasch zerkleinertes Phosphorpentachlorid (1.2 Mol.) werden in einem Gefäss mit Glasstopfen durch eine Kältemischung sorgfältig abgekühlt und dazu 20 g *d*-Bromisocaprönsäure zugegeben. Es findet sofort eine lebhafte Entwicklung von Salzsäure statt. Später ist es nöthig, die Masse $\frac{1}{4}$ Stde. zu schütteln, zuletzt bei gewöhnlicher Temperatur, um eine völlige Umsetzung herbeizuführen; dann kühlt man wieder stark, um den Ueberschuss des Phosphorpentachlorids in fester Form abzuscheiden, fügt jetzt das gleiche Volumen über Natrium getrockneten Aether hinzu, filtrirt von dem Phosphorpentachlorid in einen Fractionskolben, verdunstet den Aether unter 15—20 mm Druck und schliesslich das Phosphoroxychlorid unter 0.5 mm Druck bei gewöhnlicher Temperatur. Das zurückbleibende Bromisocaprönylchlorid wird schliesslich unter sehr geringem Druck destillirt. Bei 0.5 mm ging es bei 40—42° über. Die Ausbeute an reinem Chlorid betrug 80—85 pCt. der Theorie.

Darstellung von Glycinanhydrid.

Anstatt den Glykocoll ester zu isoliren und dann in concentrirter wässriger Lösung der Condensation zu überlassen, kann man auch das Glykocoll esterchlorhydrat in wässriger Lösung mit ungefähr der berechneten Menge Natronlauge zerlegen, weil unter diesen Bedingungen ebenfalls eine ziemlich glatte Verwandlung des Esters in Anhydrid erfolgt.

560 g werden in einem dickwandigen Becherglase mit 280 ccm Wasser übergossen, das Gemisch in einer Kältemischung gut gekühlt und unter kräftigem Turbiniren 320 ccm 11.5-fachnormale Natronlauge im Laufe von eini-

gen Stunden zugetropft, sodass die Temperatur der Flüssigkeit nicht über -5° steigt. Hierbei geht das Esterchlorhydrat allmählich ganz in Lösung, während etwas Chlornatrium ausfällt. Die Menge der Natronlauge soll etwas geringer sein als zur Bindung der Salzsäure in dem Chlorhydrat nöthig ist. Nachdem die Lauge ganz eingetragen ist, lässt man die Flüssigkeit bei gewöhnlicher Temperatur stehen. Schon nach einigen Stunden beginnt dann die Abscheidung des Anhydrids, und in der Regel ist nach 24 Stunden die Reaction beendet. Man kühlt nun stark ab, filtrirt auf der Pumpe, presst und entfernt das Kochsalz durch Waschen mit möglichst wenig eiskaltem Wasser. Das Rohproduct wird ein Mal aus der 6-fachen Menge heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle umkrystallisirt. Die Ausbeute beträgt 90–100 g, ist also ebenso gut wie bei dem früher beschriebenen, umständlicheren Verfahren.

Das reine Glycinanhydrid darf gar keine Biuret färbung mehr zeigen; ist diese noch vorhanden, so muss es von neuem aus Wasser umkrystallisirt werden.

Verbesserte Darstellung des Chloracetyl-glycyl-glycins¹⁾.

198 g fein gepulvertes Glycinanhydrid werden in 540 ccm 2-fachnormaler Natronlauge durch Schütteln bei gewöhnlicher Temperatur gelöst, die klare Flüssigkeit 15 Minuten aufbewahrt, dann in einer Kältemischung stark gekühlt und dazu unter starkem Schütteln und dauernder Kühlung abwechselnd in 12 Portionen 120 g Chloracetylchlorid ($1\frac{1}{8}$ Mol.) und 260 ccm 5-fachnormaler Natronlauge innerhalb $\frac{3}{4}$ Stdn. gegeben. Schliesslich wird mit 270 ccm 5-fachnormaler Salzsäure übersättigt und nach Einimpfen einiger Kryställchen von Chloracetyl-glycyl-glycin einige Stunden bei 0° aufbewahrt. Dabei fallen etwa 110 g des Products aus. Die Mutterlauge giebt nach dem Einengen unter 15–20 mm Druck noch 20 g. Die Gesamtausbeute entspricht 70 pCt. der Theorie. Die 180 g Rohproduct wurden aus 520 ccm heissem Wasser umgelöst. Erhalten 110 g reines Product und 15 g aus der Mutterlauge.

Bei der Ausführung obiger Versuche bin ich von drei Assistenten unterstützt worden. Hr. Dr. Ferdinand Reuter hat die hochmolekularen Polypeptide, einschliesslich das *l*-Leucyl-diglycyl-glycin, bearbeitet. Die Derivate des *l*-Leucins sind von Hrn. Dr. Hans Tappen, und das *l*-Alanyl-glycyl-glycin nebst dem zugehörigen Hexapeptid ist von Hrn. Dr. Walther Axhausen untersucht worden. Ich sage diesen drei Herren für die werthvolle Hülfe auch hier meinen besten Dank.

¹⁾ Diese Berichte 37, 2500 [1904].