

Auch hier erhielt ich aus ganz schwach salzsaurer Lösung einen gelbroten, krystallinischen Niederschlag, der nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol in farblosen, rechtwinkligen Täfelchen vom Schmp. 235° gewonnen wurde. Der Körper ist identisch mit dem Produkt der Formel  $C_{26}H_{24}N_4O$  aus Äthoxykaffein. Die Identität wurde durch Bestimmung des Schmelzpunktes einer Mischprobe sichergestellt: zum Überfluß wurde die Substanz noch analysiert.

0.2200 g Sbst.; 26.0 ccm N (13°, 736 mm).

$C_{26}H_{24}N_4O$ . Ber. N 13.75. Gef. N 13.66.

Die Ausbeute an diesem Produkt betrug etwas über 2.5 g.

Das Filtrat von der Fällung dieses Körpers machte ich mit Soda alkalisch und schüttelte mit Chloroform aus. Die Chloroformauszüge hinterließen beim Verdunsten einen zähen, harzigen Rückstand, aus dem durch Alkohol eine geringe Menge (ca. 0.15 g) eines gelbgefärbten Produktes erhalten werden konnte. Die Substanz ist noch nicht rein, sondern stellt ein nur schwer trennbares Gemisch des Körpers  $C_{26}H_{24}N_4O$  mit einem gelbgefärbten Körper dar, der durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Alkohol in gelben Nadeln vom Schmp. 150° erhalten wurde. Vermutlich ist er in reiner Form identisch mit dem Produkt der Formel  $C_{20}H_{22}N_4$  aus Äthoxykaffein, mit dem er auch die Empfindlichkeit gegen Säuredämpfe teilt. In konzentrierter Schwefelsäure löst er sich allerdings mit schwach roter Farbe auf; diese Färbung könnte aber leicht durch Spuren des Körpers  $C_{26}H_{24}N_4O$  verursacht sein.

Weitere Substanzen habe ich bisher beim Methoxykaffein nicht isolieren können, insbesondere konnte ich den Körper der Formel  $C_{12}H_{13}N_3O_2$  nicht auffinden.

### 239. Emil Fischer: Synthese von Polypeptiden. XVII.

[Aus dem chemischen Institut der Universität Berlin.]

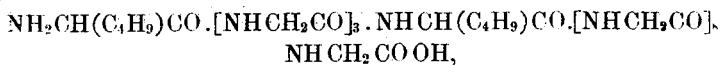
(Eingegangen am 2. April 1907.)

Entsprechend dem früher aufgestellten Programm<sup>1)</sup> habe ich den Aufbau der Polypeptide zu möglichst langen Ketten fortgesetzt, um solche Produkte mit den natürlichen Proteinen vergleichen zu können. Hierfür sind die gemischten Formen mit optisch-aktiven Aminosäuren am meisten geeignet. Bei ihnen gestaltet sich auch die Synthese einfacher, weil die Entstehung von Stereoisomeren, die bei der Anwendung racemischer Stücke möglich sind, wegfällt. Aus praktischen Gründen habe ich wie früher die Kombination von Glykokoll mit

<sup>1)</sup> Diese Berichte 39, 2893 [1906].

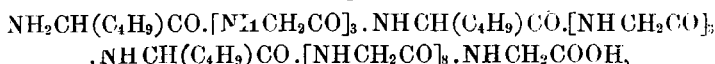
Leucin, aber diesmal mit aktivem *l*-Leucin. gewählt, und es ist mir gelungen, die Synthese bis zu einem Octadecapeptid<sup>1)</sup> fortzusetzen, das aus 15 Glykokoll- und 3 *l*-Leucinresten besteht, mithin das höchste, bisher bekannte Polypeptid<sup>2)</sup> noch um 6 Glieder übertrifft.

Als Ausgangsmaterial dafür diente einerseits Pentaglycylglycin<sup>3)</sup> und andererseits *d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-diglycylglycin<sup>4)</sup>,  $\text{BrCH}(\text{C}_4\text{H}_9)\text{CO}.\text{[NHCH}_2\text{CO]}_2.\text{NHCH}_2\text{COOH}$ . Genau so wie der Racemkörper<sup>5)</sup> läßt letzteres sich leicht chlorieren und mit dem Hexapeptid verkuppeln. Aus der Bromverbindung entsteht dann durch flüssiges Ammoniak das *l*-Leucyl-octaglycylglycin,  $\text{NH}_2\text{CH}(\text{C}_4\text{H}_9)\text{CO}.\text{[NHCH}_2\text{CO]}_8.\text{NHCH}_2\text{COOH}$ . Dieses Peptid kann in derselben Art durch Kupplung mit *d*-Bromisocapronyl-diglycylglycin und nachfolgende Amidierung in das Tetradecapeptid.



*l*-Leucyl-triglycyl-*l*-leucyl-octaglycylglycin

verwandelt werden, und durch abermalige Wiederholung der gleichen Reaktion entsteht das Octadecapeptid,



*l*-Leucyl-triglycyl-*l*-leucyl-triglycyl-*l*-leucyl-octaglycylglycin.

Die praktische Ausführung der Synthese wurde einerseits erleichtert durch die geringe Löslichkeit der Bromverbindungen in

<sup>1)</sup> Richtig gebildet müßte das Wort Oktokaidekapeptid lauten. In den Lehrbüchern findet sich aber für den Kohlenwasserstoff  $\text{C}_{18}\text{H}_{38}$  der abgekürzte Namen Oktadekan bzw. Octadecan. Ich halte Octodecan und Octodecapeptid für richtiger, während Octapeptid ganz korrekt von *oktaxis* abgeleitet ist. Da aber der scheinbare Widerspruch zwischen Octapeptid und Octodecapeptid sicherlich zu Mißverständnissen führen würde, so will ich trotz des sprachlichen Fehlers der Schreibweise Octadecapeptid den Vorzug geben. E. Fischer.

Zur Ergänzung der vorstehenden Bemerkung teile ich mit, daß der Ausschluß für die Rechtschreibung der Fachausdrücke, aus dessen Arbeiten das Jansensche Buch (vergl. diese Berichte **39**, 4448 [1906]) hervorgegangen ist, sich für die auf die lateinische Herkunft gegründete Schreibweise Octan und Decan deshalb entschieden hat, weil die Bezeichnungen »Nonan« und »Undecan« sich leider an Stelle der korrekten Namen »Ennean« und »Hendekan« eingebürgert haben (vergl. Meyer-Jacobson, 2. Aufl., Bd. I, Tl. I, S. 151 Anm. 3).

P. Jacobson.

<sup>2)</sup> Diese Berichte **39**, 2893 [1906].

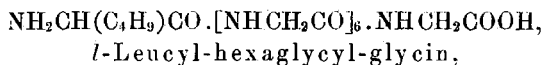
<sup>3)</sup> Diese Berichte **39**, 472 [1906]

<sup>4)</sup> Diese Berichte **39**, 2907 [1906].

<sup>5)</sup> Diese Berichte **39**, 456 [1906].

Wasser andererseits aber sehr erschwert durch das starke Schäumen der alkalischen Lösungen, die bei der Kupplung in Anwendung kommen. Dieses Hindernis ließ sich durch Benutzung großer Gefäße und Schütteln mit Glasperlen so gründlich beseitigen, daß die Ausbeuten bei der Kupplung durchgehends recht befriedigend wurden. Größere Mühe hat es gemacht, die Bromverbindungen rein zu erhalten. So lange nämlich bei der Kupplung eine erhebliche Menge des hochmolekularen Polypeptids unverändert bleibt, fällt es beim Ansäuern mit dem Bromkörper zusammen heraus und läßt sich dann von ihm schwer trennen. Aus diesem Grunde habe ich schließlich das Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid in so großem Überschuß (3—4-fache Menge der Theorie) angewandt, daß der allergrößte Teil des Polypeptids verbraucht wird. Dabei entstehen allerdings erhebliche Mengen von Bromisocapronyl-diglycyl-glycin, aber dieses ist in Wasser verhältnismäßig leicht löslich und kann deshalb von den hochmolekularen, in Wasser fast unlöslichen Bromkörpern leicht getrennt werden.

Zum Vergleich mit den hochmolekularen Produkten wurde hoch das Octapeptid,



aus *l*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-diglycyl-glycin und Triglycyl-glycin dargestellt.

Die vier neuen Polypeptide bilden farblose, aber nicht deutlich krystallisierte Pulver. Die drei niederen unterscheiden sich in angenehmer Weise von den früher beschriebenen inaktiven Produkten dadurch, daß sie kein Wasser enthalten und deshalb bei der Elementaranalyse viel befriedigendere Zahlen geben. Beim Octadecapeptid deutet allerdings das Resultat der Analyse auf einen geringen Gehalt von schwer entfernbarem Wasser hin. Die Formel der Verbindungen wird übrigens viel besser gewährleistet durch die recht befriedigenden Analysen der entsprechenden Bromkörper.

Die zuvor aufgestellten Strukturformeln gelten selbstverständlich nur unter der Voraussetzung, daß die Kupplung stets bei der Aminogruppe des Polypeptids erfolgt. Ich halte das für recht wahrscheinlich, muß aber ausdrücklich betonen, daß der endgültige Beweis dafür noch fehlt.

Die Löslichkeit in Wasser ist am größten bei dem Octapeptid, wo 14—15 Teile in der Hitze genügen. Sie ist am geringsten bei dem Decapeptid und steigt dann wieder für die beiden letzten Produkte, wo ungefähr 100 Teile kochendes Wasser genügen. Allerdings erhält man auch mit dieser Menge keine ganz klaren Lösungen, denn so oft man die Substanzen in trockenem Zustand abgeschieden hat, ist

immer ein ganz kleiner Teil auch in heißem Wasser schwerer löslich. Am auffallendsten ist die Erscheinung bei dem Tetradecapeptid.

Alle diese hochmolekularen Polypeptide bilden mit den Mineralsäuren schwer lösliche Salze und selbst mit verdünntem Alkali müssen die drei letzten gelinde erwärmt werden, bevor klare Lösungen entstehen. Die warmen, klar filtrierten, wäßrigen Lösungen von Tetradecapeptid und Octadecapeptid werden in der Kälte opaleszierend, ohne wägbare Mengen der Substanz abzuscheiden. Ziemlich rasch erfolgt indessen die Ausscheidung auf Zusatz einer konzentrierten Lösung von Ammoniumsulfat.

Von Phosphorwolframsäure werden alle vier aus schwefelsaurer Lösung sofort gefällt; ebenso verhält sich Tanninlösung gegen die kalte wäßrige oder schwefelsaure Lösung des Tetradeca- und Octadecapeptids. Selbstverständlich geben sie alle sehr stark die Biuret-färbung.

Durch diese Eigenschaften nähern sich die Produkte einigen natürlichen Proteinen, und wäre man ihnen zuerst in der Natur begegnet, so würde man wohl kein Bedenken getragen haben, sie als Proteine anzusprechen. Daß ihnen die Farbenreaktionen von Millon, Adamkiewicz, ferner die Xanthoprotein- und die Schwefelreaktion fehlen, ist selbstverständlich, da sie kein Tyrosin, Tryptophan und Cystin enthalten.

Das Octadecapeptid übertrifft mit dem Molekulargewicht 1213 die meisten Fette, von denen z. B. das Tristearin nur 891 hat. Es zählt deshalb zu den kompliziertesten Systemen, die man bisher durch Synthese darstellen konnte, ohne den Einblick in die Konstitution zu verlieren. Denkt man sich an Stelle der vielen Glykokollreste andere Aminosäuren, wie Phenylalanin, Tyrosin, Cystin, Glutaminsäure usw., so würde man schon auf das 2—3-fache Molekulargewicht kommen, mithin zu Werten, wie sie für einige natürliche Proteine angenommen werden. Für andere natürliche Produkte lauten allerdings die Schätzungen viel höher, auf 12000—15000. Aber nach meiner Meinung beruhen diese Zahlen auf sehr unsicheren Voraussetzungen, da uns jede Garantie dafür fehlt, daß die natürlichen Proteine einheitliche Substanzen sind.

Nach den bisherigen Erfahrungen zweifle ich nicht daran, daß die Synthese mit den gleichen Methoden noch über das Octadecapeptid hinaus fortgesetzt werden kann. Ich muß aber vorläufig auf derartige Versuche, die nicht allein sehr mühsam, sondern auch recht kostspielig sind, verzichten und werde mich mehr bemühen, Kombinationen mit einer größeren Anzahl verschiedener Aminosäuren, womöglich solche, bei denen keine gleichartigen Stücke in der Kette neben-

einander stehen, aufzubauen. Denn ich glaube, daß diese ganz gemischten Formen von der Natur bevorzugt werden.

Am Schluß dieser Mitteilung ist noch das *d*-Alanyl-*l*-leucin beschrieben, welches die Reihe der schon bekannten Dipeptide des *l*-Leucins vervollständigen soll, und dessen Darstellung nach den üblichen Methoden keine Schwierigkeiten darbietet.

*d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-hexaglycyl-glycin.

Zu einer Lösung von 5 g Triglycyl-glycin ( $1\frac{1}{2}$  Mol.) in 20 ccm Wasser und 20.4 ccm *n*. Natronlauge ( $1\frac{1}{2}$  Mol.) fügt man unter starker Kühlung und fortgesetztem Schütteln in 8 Portionen 5 g *d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid (1 Mol.) und allmählich noch 40 ccm Wasser und 13 ccm *n*. Natronlauge. Wegen des starken Schäumens ist der Zusatz von Glasperlen nötig. Das Eintragen des Chlorids beansprucht etwa  $\frac{3}{4}$  Stunden. Die Masse wird noch 2 Stunden unter Eiskühlung auf der Maschine geschüttelt, wobei sie zu einem so steifen Brei gesteht, daß schließlich kein Schütteln mehr möglich ist. Nun wird mit 14 ccm  $\frac{3}{1}$ -*n*. Salzsäure angesäuert, der ausgeschiedene Bromkörper filtriert und auf Ton getrocknet. Nach dem Trocknen über Schwefelsäure im Vakuum-Exsiccator betrug die Ausbeute 6.2 g oder 80 % der Theorie.

Zur Reinigung löst man 6 g Rohprodukt in 70 ccm kaltem Wasser und der eben genügenden Menge Natriumcarbonatlösung, entfernt den unbedeutenden Rückstand durch Zentrifugieren und Filtrieren und fällt den Bromkörper wieder durch Salzsäure. Die Ausbeute beträgt ungefähr 5 g.

Zur Analyse wurde nochmals in gleicher Weise umgelöst und bei 100° getrocknet.

0.1898 g Sbst.: 0.2797 g CO<sub>2</sub>, 0.0954 g H<sub>2</sub>O. — 0.1923 g Sbst.: 27.8 ccm N (22°, 754 mm). — 0.1648 g Sbst.: 0.0521 g AgBr.

C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>9</sub>N<sub>7</sub>Br (594.5). Ber. C 40.37, H 5.43, N 16.53, Br 13.45.

Gef. » 40.19, » 5.62, » 16.33, » 13.45.

Zur optischen Bestimmung diente eine Lösung in *n*. Natronlauge.

0.3250 g Sbst., Gesamtgewicht der Lösung 4.0908 g,  $d^{20}_D = 1.0639$ . Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 0.30° nach rechts.  $[\alpha]^{20}_D = +3.55^\circ$ .

Nach 18 Stunden drehte die Lösung fast gar nicht mehr.

Der Bromkörper gibt starke Biuretfärbung. Er ist so gut wie unlöslich in absolutem Äthylalkohol, Äther, Chloroform, kaltem Wasser, Essigäther, Aceton. Auch in heißem Wasser ist er schwer löslich. Im Capillarrohr färbt er sich bei ca. 240° (246° korr.) gelb bis braun und zersetzt sich bei höherer Temperatur ohne Schmelzung.

*l*-Leucyl-hexaglycyl-glycin,  
 $\text{NH}_2\text{CH}(\text{C}_4\text{H}_9)\text{CO} \cdot [\text{NHCH}_2\text{CO}]_6 \cdot \text{NHCH}_2\text{COOH}$ .

Bringt man 3 g *d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-hexaglycyl-glycin mit circa 20 ccm flüssigem Ammoniak im geschlossenen Rohr zusammen. so löst es sich mit Hinterlassung einiger bräunlicher Flocken. Die Flüssigkeit ist anfangs gelblich gefärbt, wird aber nach etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde beim Erwärmen des Ammoniaks auf Zimmertemperatur tiefblau, um nach einiger Zeit sich wieder zu entfärben. Die Abspaltung des Broms ist nach 4-tägigem Stehen bei 25° beendet. Nach dem Verdunsten des Ammoniaks wird der Rückstand zur Entfernung des Bromammoniums zweimal mit je 30 ccm Alkohol ausgekocht. Der mit Alkohol und Äther gewaschene Rückstand wog 2.5 g. Die Ausbeute an rohem Peptid betrug also 95 % der Theorie.

Zur Reinigung wird es in der 14-fachen Menge heißem Wasser gelöst, wobei zuweilen, aber nicht immer, eine rötliche Färbung auftritt. Nach dem Erkalten fällt der größere Teil wieder aus, ist aber nicht deutlich krystallisiert. Der Rest wird aus der Mutterlauge mit Alkohol gefällt.

Für die Analyse wurde das Präparat nochmals in gleicher Weise umgelöst und bei 100° im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1511 g Sbst.: 0.2520 g CO<sub>2</sub>, 0.0850 g H<sub>2</sub>O. — 0.1610 g Sbst.: 29.0 ccm N (18°, 770 mm).

C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>9</sub>N<sub>8</sub> (530.59). Ber. C 45.23, H 6.46, N 21.17.

Gef. » 45.48, » 6.29, » 21.13.

Für die optische Bestimmung wurden 0.2181 g Substanz in der äquimolekularen Menge *n*. Natronlauge und Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 3.4586 g,  $d^{20}_D = 1.05$ . Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 0.42° ( $\pm 0.02^\circ$ ) nach rechts. Mithin  $[\alpha]^{20}_D = + 6.34^\circ$  ( $\pm 0.4^\circ$ ).

Das Octapeptid hat keinen Schmelzpunkt. Es wird beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 200° gelb, gegen 250° braun und zersetzt sich gegen 300° völlig.

Die Salze mit den drei Mineralsäuren sind in kaltem Wasser schwer löslich. Das Nitrat fällt aus der warmen Lösung des Octapeptids in sehr verdünnter Salpetersäure beim Erkalten als körniges Pulver aus. Es besteht aus mikroskopisch kleinen, kugeligen Gebilden, in denen man keine deutliche krystallinische Struktur erkennen kann. Das Sulfat und Chlorhydrat verhalten sich ähnlich.

In verdünntem Alkali löst sich das Octapeptid leicht, in Ammoniak erst beim Erwärmen. Die Biuret-färbung ist sehr stark. Beim Kochen der wäßrigen Lösung mit Kupferoxyd entsteht ein sehr schwer lösliches Kupfersalz. In Folge dessen ist auch die Färbung der Lösung

nur schwach blau. Die Molekulargewichtsbestimmung nach der Siedepunktmethode hat schwankende und ganz unwahrscheinliche Werte gegeben. Darüber soll später im Zusammenhang mit dem Verhalten der einfachen Polypeptide berichtet werden.

*d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-octaglycyl-glycin.

4.8 g (1 Mol.) Pentaglycyl-glycin werden in 40 ccm Wasser und 14 ccm (1 Mol.) *n*. Natronlauge gelöst, in einer großen Schüttelflasche (Inhalt 200 ccm) stark gekühlt und dazu im Verlaufe von etwa  $\frac{3}{4}$  Stunden 5 g *d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid (1 Mol.) und 14 ccm *n*. Natronlauge in ca. 8 Portionen hinzugefügt. Während der ganzen Operation wird unter Anwendung von 20 Glasperlen von 0.6 cm Durchmesser kräftig geschüttelt und die Temperatur immer auf ungefähr 0° gehalten. Schließlich ist die Flasche vollständig von Schaum erfüllt und das feste Chlorid verschwunden. Beim Zufügen von 6 ccm verdünnter Salzsäure (5-fach normal) gesteht die ganze Masse zu einem dicken, weißen Brei. Nach längerem Zentrifugieren läßt sich der größere Teil der Mutterlauge durch Abnutschen leidlich entfernen, während der Rest durch Auftragen auf Ton beseitigt wird. Nachdem dann das Kupplungsprodukt im Vakuum über Phosphor-pentoxyd vollständig getrocknet ist, wird es im Achatmörser möglichst fein gepulvert. Die Ausbeute an Rohprodukt beträgt 6—6.5 g oder 65—70 % der Theorie.

Zur Reinigung wird das möglichst fein zerriebene Rohprodukt mit der 50-fachen Menge heißem Wasser übergossen, durch Zufügen von etwa  $1\frac{1}{2}$  Mol. Normalsodalösung und kräftiges Schütteln in Lösung gebracht, von einer geringen Menge ungelöster, grauer flockiger Substanz schnell abfiltriert und das fast völlig farblose Filtrat ungeachtet einer etwa schon eingetretenen Trübung mit etwas mehr als der äquivalenten Menge Normalsalzsäure angesäuert.

Dabei scheidet sich der Bromkörper sofort als weißer feiner Niederschlag ab, der sich sehr langsam absetzt und unter dem Mikroskop als ein äußerst feines, aber nicht deutlich krystallinisches, lockeres Pulver erscheint. Nach 1—2-stündigem Stehen in Eis wird er abgesaugt, mit kaltem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion gewaschen, gut abgepreßt und im Vakuum über Phosphor-pentoxyd getrocknet. Fein gepulvert erscheint die Substanz als eine lockere, weiße Masse, die manchmal einen Stich ins Gelbe zeigt.

Zur Analyse wurde sie nochmals in derselben Weise umgelöst, erst im Vakuumexsiccator, schließlich im Vakuum bei 80° über Phosphor-pentoxyd getrocknet.

0.2075 g Sbst.: 0.0549 g AgBr. — 0.1922 g Sbst.: 29.2 ccm N (17°, 769 mm).

$C_{24}H_{38}O_{11}N_9Br$  (708.6). Ber. Br 11.28, N 17.83.  
Gef. » 11.26, » 17.88.

Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr färbt sich die Substanz gegen 250° (korr.) braun und zersetzt sich gegen 300° (korr.) völlig unter Aufschäumen.

*l*-Leucyl-octaglycyl-glycin,  
 $NH_2CH(C_4H_9)CO.[NHCH_2CO]_8.NHCH_2COOH.$

1.7 g des oben beschriebenen Bromkörpers werden in 20—25 ccm flüssiges Ammoniak eingetragen und im verschlossenen Rohr, da der größte Teil ungelöst bleibt, 5 Tage bei ungefähr 25° geschüttelt. Nach dem Verdunsten des Ammoniaks wird der feste, etwas grau gefärbte Rückstand fein zerrieben, mit 25 ccm Alkohol ausgekocht, abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und im Dampfschrank getrocknet. Die Rohausbeute beträgt 1.4 g oder 90 % der Theorie. Einmaliges Umlösen genügt zur völligen Reinigung. Zu dem Zwecke wird das Produkt mit 50 Teilen siedendem Wasser und 1½ Mol. Normalsodalösung geschüttelt, wobei fast klare Lösung eintritt, schnell filtriert und mit Essigsäure schwach angesäuert. Das Decapeptid fällt sofort als weißer leichter Niederschlag aus, der nach 1½-stündigem Stehen in Eis abgesaugt und mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen wird. Der Verlust beim Umlösen ist gering.

Zur Analyse wurde im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 100° mehrere Stunden bis zum konstanten Gewicht getrocknet.

0.1790 g Sbst.: 0.2841 g CO<sub>2</sub>, 0.1011 g H<sub>2</sub>O. — 0.1649 g Sbst.: 25.63 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (nach Kjeldahl).

$C_{24}H_{40}O_{11}N_{10}$  (644.7). Ber. C 44.67, H 6.25, N 21.78.  
Gef. » 44.30, » 6.32, » 21.82.

Die Substanz hat keinen Schmelzpunkt. Sie färbt sich gegen 260° braun und wird gegen 300° langsam ganz schwarz. Sie löst sich sehr schwer in Wasser, aber ziemlich leicht in sehr verdünnter Natronlauge, Soda und Ammoniak beim Erwärmen und wird aus diesen Lösungen durch Essigsäure körnig gefällt. In verdünnter Salzsäure ist sie in der Kälte recht schwer löslich. In konzentrierter Salzsäure löst sie sich leicht, und durch Wasser wird daraus das Hydrochlorid gefällt. Sie gibt starke rote Biuretfärbung.

Im Gegensatz zu dem früher beschriebenen inaktiven Decapeptid entfärbte sie in kalter Natriumcarbonatlösung Permanganat gar nicht, war also offenbar reiner als jenes.



*d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-triglycyl-*l*-leucyl-octaglycyl-glycin.

1 g aktives Decapeptid (1 Mol.) wird in 50 ccm Wasser und 1.6 ccm *n*-Natronlauge unter Erwärmen gelöst, dann stark gekühlt und unter kräftigem Schütteln mit Glasperlen abwechselnd in 5—6 Portionen 2.2 g ( $3\frac{1}{2}$  Mol.) *d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid und 10 ccm *n*-Natronlauge eingetragen. Unter starkem Schäumen geht das feste Chlorid allmählich in Lösung. Nach dem Ansäuern mit 4 ccm 5-fachnormaler Salzsäure wird nach Verlauf einer halben Stunde etwa 20 Minuten stark zentrifugiert, dann abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

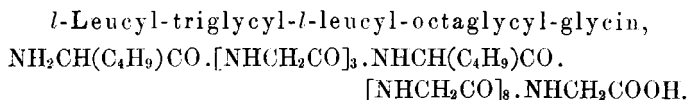
Die Ausbeute beträgt 1.35 g oder 88 % der Theorie. Aus der Mutterlauge scheidet sich beim Einengen im Vakuum das aus dem überschüssigen Chlorid regenerierte Bromisocapronyl-diglycyl-glycin fast vollständig ab. Das Kupplungsprodukt wird mit 135 ccm heißem Wasser und 2.1 ccm Normalsodalösung ( $1\frac{1}{2}$  Mol.) geschüttelt, und nach dem Abfiltrieren einer sehr geringen Menge ungelöster grauer flockiger Substanz wird die völlig farblose und klare Lösung nach dem Erkalten mit 3 ccm Normalsalzsäure angesäuert, wobei ein körniger und verhältnismäßig sich gut absetzender, weißer Niederschlag entsteht, dessen Menge 1 g beträgt.

Zur Analyse war im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 100° zur Konstanz getrocknet.

0.1686 g Sbst.: 0.2680 g CO<sub>2</sub>, 0.0909 g H<sub>2</sub>O. — 0.1586 g Sbst.: 20.95 ccm  $\frac{1}{10}$ -*n*-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Kjeldahl). — 0.1246 g Sbst.: 0.0230 g AgBr.

C<sub>96</sub>H<sub>58</sub>O<sub>15</sub>N<sub>13</sub>Br (992.9). Ber. C 43.51, H 5.89, N 18.38, Br 8.05.  
Gef. » 43.35, » 6.03, » 18.50, » 7.86.

Die Substanz färbt sich beim raschen Erhitzen gegen 255° braun und zersetzt sich gegen 305° unter Aufschäumen.



1.2 g Bromkörper werden in ungefähr 25 ccm flüssiges Ammoniak eingetragen, wobei fast völlige Lösung eintritt. Bei gewöhnlicher Temperatur scheidet sich schon nach kurzer Zeit ein weißer Niederschlag ab, der bereits nach 12 Stunden das Rohr breiartig erfüllt. Um die Umsetzung vollständig zu machen, wird 4—5 Tage bei ungefähr 25° geschüttelt. Nach dem Abdunsten des Ammoniaks wird der etwas grau gefärbte Rückstand fein gepulvert und mit 40 ccm Alkohol ausgekocht.

Die Ausbeute beträgt etwa 1 g oder 90 % der Theorie.

Zur Reinigung wird das Rohprodukt mit 100 Teilen Wasser ausgekocht, wobei nur eine ganz geringe Menge ungelöst bleibt, und das Filtrat unter Zusatz von Alkohol auf dem Wasserbade abgedampft. Die Lösung trübt sich bald, und wenn sie unter öfterem Erneuern des Alkohols genügend weit eingeeengt ist, scheidet sich plötzlich das Tetradecapeptid als weiße, körnige, schnell absitzende Masse aus, die nach einigem Stehen in Eis abgesaugt und mit Alkohol und Äther gewaschen wird. Nach dem Trocknen im Vakuumexsiccator beträgt die Menge 0.8—0.9 g.

Die trockne Substanz löst sich in heißem Wasser nicht mehr völlig klar, und die filtrierte klare Lösung zeigt bei längerem Stehen in der Kälte schwache Opalescenz. Auf Zusatz von gesättigter Ammoniumsulfatlösung scheidet sich sehr bald ein flockiger Niederschlag ab. Von Tannin wird die kalte wäßrige Lösung sofort gefällt, der Niederschlag löst sich in der Wärme.

In sehr verdünnten Alkalien löst sie sich schon in ganz gelinder Wärme klar, in warmen verdünnten Mineralsäuren ist sie ebenfalls ziemlich leicht löslich, und bei genügender Konzentration erfolgt in der Kälte die Abscheidung des Salzes. Besonders schön ist das Nitrat, das bei längerem Stehen aus der schwach erwärmten, klaren, salpetersauren Lösung grobkörnig, scheinbar krystallinisch ausfällt. Doch ist unter dem Mikroskop keine deutliche krystallinische Struktur erkennbar.

Die alkalische Lösung gibt mit Kupfersulfat eine starke kirschrote Biuret färbung. Die schwefelsaure Lösung gibt noch in sehr großer Verdünnung mit Phosphorwolframsäure eine reichliche Fällung, die sich beim Kochen in erheblicher Menge löst und in der Kälte wieder abscheidet.

Die heiße wäßrige Lösung färbt sich beim 5 Minuten langen Kochen mit gefällttem Kupferoxyd schwach aber doch deutlich blau.

Zur Analyse wurde bei 100° im Vakuum über Phosphorpentoxyd bis zur Konstanz getrocknet.

0.1954 g Sbst.: 0.3319 g CO<sub>2</sub>, 0.1100 g H<sub>2</sub>O. — 0,1619 g Sbst.: 28.7 ccm N (14°, 760 mm).

C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>O<sub>15</sub>N<sub>14</sub> (929.1). Ber. C 46.50, H 6.51, N 21.16.

Gef. » 46,33, » 6.30, » 20.89.

Die Substanz beginnt gegen 235° braun zu werden und zersetzt sich bei höherer Temperatur völlig, ohne zu schmelzen.

*d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-triglycyl-*l*-leucyl-triglycyl-*l*-leucyl-octaglycyl-glycin.

1 g Tetradecapeptid (1 Mol.) wird in 50 ccm Wasser und der berechneten Menge (1.2 ccm) Normalnatronlauge gelöst, stark gekühlt

und unter kräftigem Schütteln in mehreren Portionen und abwechselnd 1.5 g *d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-diglycyl-glycylchlorid ( $3\frac{1}{2}$  Mol.) und 7 ccm Normalnatronlauge zugefügt. Dann wird mit 5 ccm 5-fachnormaler Salzsäure angesäuert, der flockige Niederschlag nach 1-stündigem Stehen bei 0° abgesaugt, gewaschen und im Vakuum über Phosphor-pentoxyd getrocknet. Ausbeute etwa 1.1 g oder mehr als 80 % der Theorie.

Aus der Mutterlauge läßt sich, wie bei der letzten Kupplung beschrieben ist, das aus dem überschüssigen Chlorid regenerierte Bromisocapronyl-diglycyl-glycin gewinnen.

Der neue Bromkörper wird zur Reinigung in der 20-fachen Menge heißem Wasser und der für 1.5 Mol. berechneten Menge Normalsoda gelöst und die von einem geringfügigen Rückstand abfiltrierte Flüssigkeit mit einem kleinen Überschuß von Normalsalzsäure übersättigt. Nach kurzer Zeit scheidet sich ein körniger Niederschlag ab, der nach 1-stündigem Stehen in Eis abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und im Vakuumexsiccator getrocknet wird.

Die Ausbeute geht dabei auf ca. 70 % der Theorie herunter.

Zur Analyse wurde im Vakuum bei 100° bis zum konstanten Gewicht getrocknet.

0.1530 g Sbst.: 0.2533 g CO<sub>2</sub>, 0.0810 g H<sub>2</sub>O. — 0.1505 g Sbst.: 19.6 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. — 0.2526 g Sbst.: 0.0383 g AgBr.

C<sub>48</sub>H<sub>78</sub>O<sub>19</sub>N<sub>17</sub>Br (1277.3). Ber. C 45.10, H 6.15, N 18.69, Br 6.26.

Gef. » 45.15, » 5.92, » 18.30, » 6.45.

Die Substanz beginnt gegen 240° sich zu bräunen und zersetzt sich gegen 310° (korr.) unter lebhaftem Aufschäumen.

*l*-Leucyl-triglycyl-*l*-leucyl-triglycyl-*l*-leucyl-  
octaglycyl-glycin,

NH<sub>2</sub>CH(C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)CO.[NHCH<sub>2</sub>CO]<sub>3</sub>.NHCH(C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)CO.

[NHCH<sub>2</sub>CO]<sub>3</sub>.NHCH(C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)CO.[NHCH<sub>2</sub>CO]<sub>3</sub>.NHCH<sub>2</sub>COOH.

1.2 g Bromkörper werden in ca. 20 ccm flüssiges Ammoniak eingetragen, wobei eine klare, schwach gelblich gefärbte Lösung entsteht. Sehr bald beginnt die Abscheidung eines weißen Niederschlages, der nach 5-tägigem Schütteln bei 25° das Rohr als dicker Brei erfüllt. Die Umsetzung ist dann nahezu quantitativ. Nach dem Verdunsten des Ammoniaks wird der fein gepulverte, fast weiße Rückstand mit 40 ccm Alkohol ausgekocht, abgesaugt, gewaschen und bei 100° getrocknet. Das Produkt wird in derselben Weise umgelöst, wie bei dem Tetradecapeptid beschrieben ist. Die Ausbeute an völlig bromfreiem Polypeptid beträgt 0.8 g oder ungefähr 70 % der Theorie.

Zur Analyse wurde das Octadecapeptid einmal bei 100°, das andere Mal bei 113° im Vakuum über Phosphorpentoxyd mehrere Stunden getrocknet.

Trotzdem sind die gefundenen Zahlen für Kohlenstoff ungefähr 1 % und für Stickstoff 0.4 % zu niedrig. Das deutet noch auf einen Gehalt an Wasser hin, da die Substanz ganz frei von Asche und Brom war. Leider war die völlige Austreibung des Wassers durch stärkeres Erhitzen nicht möglich, da Gelbfärbung beginnende Zersetzung anzeigte.

0.1766 g Sbst.: 0.3000 g CO<sub>2</sub>, 0.1055 g H<sub>2</sub>O. — 0.1481 g Sbst.: 0.2530 g CO<sub>2</sub>, 0.0863 g H<sub>2</sub>O. — 0.1491 g Sbst.: 21.7 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Kjeldahl).

C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>O<sub>19</sub>N<sub>18</sub> (1213.3). Ber. C 47.50, H 6.65, N 20.84.  
Gef. » 46.33, 46.59, » 6.68, 6.52, » 20.43.

Die Substanz ist dem Tetradecapeptid sehr ähnlich. In 100 Teilen kochendem Wasser löst sie sich zum allergrößten Teil auf; um aber den kleinen Rest völlig zu lösen, ist dann verhältnismäßig recht viel Wasser nötig. Die klar filtrierte, heiße Lösung in der 100-fachen Menge Wasser wird beim Erkalten etwas trübe. Trotz der großen Verdünnung schäumt sie und gibt nach Zusatz einer starken Ammonsulfatlösung langsam einen Niederschlag. Nach dem Zusatz von Schwefelsäure gibt sie mit Phosphorwolframsäure einen sehr starken amorphen Niederschlag, der sich in der Hitze in reichlicher Menge löst und beim Erkalten wieder abscheidet. Ebenso verhält sich sowohl die wäßrige, wie die schwefelsaure Lösung gegen Tanninlösung. Die heiße, wäßrige Lösung färbt sich ferner beim Kochen mit gefällttem Kupferoxyd ganz schwach blau.

In konzentrierten Säuren, z. B. in Salpetersäure vom spez. Gew. 1.4, ist das Octadecapeptid recht leicht löslich. Auf Zusatz von Wasser scheidet diese Lösung, wenn sie nicht zu verdünnt ist, ziemlich rasch einen Niederschlag des Nitrats aus. In sehr verdünnter Salz- oder Salpetersäure scheint sich das Octadecapeptid in der Hitze etwas leichter zu lösen als in Wasser. Aber auch hier beobachtet man, daß ein kleiner Rest schwerer in Lösung geht.

Die sauren Lösungen scheiden in der Kälte langsam erhebliche Mengen der Salze ab. Die wäßrige Lösung des Polypeptids wird weder von Quecksilberchlorid noch von einer sauren Quecksilberoxydulnitratlösung gefällt. Das Peptid gibt, wie leicht begreiflich, weder Xanthoprotein- noch Millonsche Reaktion.

#### *d*-Brompropionyl-*l*-leucin.

5 g *l*-Leucin ( $[\alpha]_D^{20} = +16^\circ$  in salzsaurer Lösung) wurden in 39 ccm „-Natronlauge (1 Mol.) gelöst und unter Schütteln und starkem Kühlen abwechselnd in 4 Portionen 6.5 g *d*-Brompropionylchlorid (1 Mol.), das

aus *d*-Brompropionsäure<sup>1)</sup> vom Drehungswinkel  $\alpha = +46^\circ$  bereitet war, und 40 ccm *n*-Natronlauge (etwas mehr als 1 Mol.) zugefügt. Das Chlorid verschwand sehr schnell. Unter guter Kühlung wurde dann mit 8 ccm <sup>5</sup>/<sub>1</sub>-*n*. Salzsäure übersättigt. Der Bromkörper fiel zuerst ölig aus, erstarrte aber nach einigen Stunden in der Kälte krystallinisch. Er wurde filtriert und erst mit Wasser, später mit Petroläther gewaschen. Die Ausbeute betrug 8 g. Aus der Mutterlauge ließen sich durch Eindampfen im Vakuum noch 0.7 g erhalten, so daß die Gesamtausbeute auf 8.7 g oder 87 % der Theorie stieg. Zur Reinigung wurde in Äther gelöst, von einem geringen Rückstand abfiltriert, die eingeeengte ätherische Lösung mit Petroläther gefällt und dieses Produkt aus der 25-fachen Menge heißem Wasser umkrystallisiert.

Zur Analyse und zur optischen Bestimmung wurde im Vakuum-exsiccator über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.2031 g Sbst.: 8.9 ccm N (15°, 770 mm). — 0.1781 g Sbst.: 0.1250 g Ag Br.

$C_9H_{16}O_3NBr$  (266). Ber. N 5.28, Br 30.05.

Gef. » 5.21, » 29.87.

Für die Lösung in Alkohol oder Essigäther ist  $[\alpha]_D^{20} = +2.0^\circ$ . In *n*-Natronlauge ist die Drehung stärker.

0.3054 g Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 3.8692 g.  $d^{20} = 1.0642$ . Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 0.48° ( $\pm 0.02^\circ$ ) nach links. Mithin  $[\alpha]_D^{20} = -5.72^\circ$  ( $\pm 0.25^\circ$ ).

0.3237 g Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 4.2002 g.  $d^{20} = 1.062$ . Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 0.48° ( $\pm 0.02$ ) nach links. Mithin  $[\alpha]_D^{20} = -5.87^\circ$  ( $\pm 0.25^\circ$ ).

Die Substanz schmilzt bei 50—51° (korr.), nachdem sie einige Grade vorher weich geworden ist. Sie ist leicht löslich in Alkohol, Äther, warmem Benzol und Essigäther, aber fast unlöslich in Petroläther.

Aus Wasser krystallisiert sie in schmalen Spießeln, die meist zu Büscheln verwachsen sind.

#### *d*-Alanin-*l*-leucin.

Eine Lösung von 8 g *d*- $\alpha$ -Brompropionyl-*l*-leucin in der 5-fachen Menge wäßrigen Ammoniaks (25 %) blieb 6 Tage bei 24° stehen. Dann wurde nach dem Verdampfen des Ammoniaks unter geringem Druck der feste, weiße Rückstand mit Alkohol wiederholt ausgekocht und so 3.7 g bromfreies Produkt isoliert. Aus der Mutterlauge wurde das Bromammonium durch Bariumhydroxyd und Silbersulfat in der

<sup>1)</sup> E. Fischer und K. Raske, diese Berichte **39**, 3995 [1906].

früher öfter geschilderten Weise<sup>1)</sup> entfernt und dadurch noch eine zweite Menge Dipeptid erhalten, die nach einmaligem Fällen aus wäßriger Lösung durch Alkohol 1.2 g wog. Die Ausbeute betrug also im ganzen 4.9 g oder 82 % der Theorie.

Zur Reinigung wurde entweder in wenig Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt oder aus 240 Gewichtsteilen siedendem Alkohol umkrystallisiert.

Die Krystalle enthalten einige Prozent Wasser, das ziemlich schwer zu entfernen ist. Zur Analyse und zur optischen Bestimmung wurde deshalb bei 110° im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1346 g Sbst.: 0.2629 g CO<sub>2</sub>, 0.1083 g H<sub>2</sub>O. — 0.1130 g Sbst.: 13.4 ccn N (18°, 765 mm).

C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> (202.2). Ber. C 53.41, H 8.97, N 13.89.

Gef. » 53.27, » 9.00, » 13.82.

0.3311 g Substanz in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 3.7750 g.  $d^{20}_D = 1.0201$ . Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 1.54° ( $\pm 0.02^\circ$ ) nach links. Mithin  $[\alpha]^{20}_D = -17.21^\circ (\pm 0.2^\circ)$ .

0.3296 g Substanz in Wasser. Gesamtgewicht der Lösung 3.6407 g.  $d^{20}_D = 1.0194$ . Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 1.55° ( $\pm 0.02^\circ$ ) nach links. Mithin  $[\alpha]^{20}_D = -16.79^\circ (\pm 0.2^\circ)$ .

Das Dipeptid schmilzt beim raschen Erhitzen gegen 250—251° (255—256° korr.) unter Braunfärbung zu einer klaren Flüssigkeit.

Es ist spielend leicht löslich in Wasser, schwer löslich in Alkohol, in der Hitze leichter als in der Kälte, fast unlöslich in Äther, Benzol, Chloroform, Aceton. Aus absolutem Alkohol krystallisiert es in schmalen, vierseitigen Blättchen von linsenförmiger Gestalt. Aus wäßriger Lösung mit Alkohol gefällt, bildet es sehr feine, schmale, zugespitzte Blättchen. Der Geschmack ist schwach bitter.

Bei obigen Versuchen bin ich von den HHrn. Dr. Walter Axhausen und Dr. Hans Tappen unterstützt worden. Der erste hat die drei hochmolekularen Polypeptide und der zweite das Octapeptid und Alanyl-leucin bearbeitet. Ich sage ihnen für die wertvolle Hilfe auch an dieser Stelle meinen besten Dank.

<sup>1)</sup> Vergl. diese Berichte **39**, 2911 [1906].