

Über die hier kurz skizzierten Ergebnisse und über weitere, ebenfalls noch nicht abgeschlossene Versuche mit Oxykodein und seinen Derivaten werden wir bald ausführliche Mitteilungen machen.

Wir dürfen deshalb wohl die Bitte an die Fachgenossen wiederholen, uns die ungestörte Bearbeitung dieser erst seit kurzem entdeckten, für die Morphinforschung wichtigen Substanzen zu überlassen.

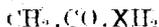
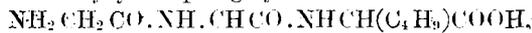
284. Emil Fischer und Ernst Koenigs: Synthese von Polypeptiden. XVIII. Derivate der Asparaginsäure.

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin].

(Eingegangen am 3. April 1907.)

Vor zwei Jahren¹⁾ haben wir einige dipeptidartige Verbindungen des Asparagins und der Asparaginsäure mit dem Glykokoll und Leucin beschrieben, die mittels der Halogenfettsäurechloride dargestellt waren. Da das hierbei verwendete α -Bromisocapronylchlorid inaktiv, das Asparagin und die Asparaginsäure aber aktiv waren, so mußten bei der Synthese 2 Stereoisomere resultieren, deren Trennung durch Krystallisation uns in einem Falle und zwar beim α -Bromisocapronyl-asparagin gelungen war. Wir haben zunächst diese Beobachtung weiter verfolgt und größere Mengen der beiden Bromprodukte benutzt, um die beiden entsprechenden Leucylasparagine, die wir früher nur als Gemische hatten, zu bereiten. Durch Hydrolyse eines der Dipeptide konnte dann festgestellt werden, welche Form des aktiven Leucins sie enthielten, und daraus war ein Rückschluß auf die Konfiguration der entsprechenden α -Bromisocapronyl-asparagine möglich.

In der Absicht Tripeptide mit dem Radikal des Asparagins zu gewinnen, haben wir zunächst das Chloracetyl-asparagin durch Behandeln mit Acetylchlorid und Phosphorpentachlorid in das entsprechende Säurechlorid, $\text{ClCH}_2\text{CO.NH.CH(COCl)}$, $\text{CH}_2\text{CO.NH}_2$ verwandelt, das verhältnismäßig beständig ist und sich leicht isolieren läßt. Durch Kombination mit *l*-Leucinester und nachfolgende Verseifung entsteht daraus Chloracetyl-*l*-asparaginyll-*l*-leucin, welches endlich durch Amidierung in das Glycyl-*l*-asparaginyll-*l*-leucin,



verwandelt wird.

¹⁾ Diese Berichte **37**, 4585, [1904].

Dieses Tripeptid verdient ein besonderes Interesse, weil es neben den verschiedenen Peptidbindungen noch die Gruppe CO.NH_2 enthält, die sicherlich auch in manchen natürlichen Proteinen enthalten ist, und die bei der totalen Hydrolyse Ammoniak liefert.

Der Versuch, das Bromisocapronylasparagin zu ähnlichen Synthesen zu benützen, scheiterte, weil merkwürdigerweise schon beim Schütteln mit Acetylchlorid Bromwasserstoff abgespalten wird und ein Produkt von der Formel $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2$ entsteht, dessen Struktur bisher nicht festgestellt werden konnte.

Eine andere Versuchsreihe betrifft die Verwandlung der Asparaginsäureester in Diketopiperazinderivate. Bei Anwendung des Diäthylesters entsteht, wie wir früher mitteilten, nur in recht bescheidener Ausbeute der 2.5-Diketopiperazin-3.6-diessigsäurediäthylester. Viel bessere Resultate lieferte der bisher unbekannt Dimethylester der Asparaginsäure. Er verwandelt sich schon beim mehrtägigen Erhitzen auf 100° zum Teil in das Diketopiperazinderivat, und die Ausbeute steigt hier bis auf 30% der Theorie. Durch vorsichtige Verseifung gelang es, aus dem Methylester die 2.5-Diketopiperazin-3.6-diessigsäure,

$\text{HOOC.CH}_2.\text{CH.CO.NH}$
 $\text{NH.CO.CH.CH}_2.\text{COOH}$, in reichlicher Menge und reinem Zustand zu gewinnen. Wird endlich dieses Produkt bei gewöhnlicher Temperatur mit einem mäßigen Überschuß von Baryt- wasser behandelt, so entsteht eine neue Säure, die ein Molekül Wasser mehr enthält, und es liegt der Gedanke nahe, daß sie ein durch Aufspaltung des Piperazinringes entstandene Asparagyl-asparaginsäure, $\text{COOH.CH}_2.\text{CH}(\text{NH}_2).\text{CO.NH.CH}(\text{COOH}).\text{CH}_2.\text{COOH}$, ist. Wenn diese Ansicht zutrifft, so würde die Verbindung das erste Dipeptid einer Aminodicarbonsäure sein.

Isomere α -Bromisocapronyl-*l*-asparagine.

Für die Kupplung des Asparagins mit dem inaktiven α -Brom-isocapronylchlorid sind wir der früher gegebenen Vorschrift¹⁾ gefolgt, wobei auf 10 g Asparagin 14.3 g α -Bromisocapronylchlorid und im ganzen 134 ccm Normalnatronlauge in Anwendung kamen. Zur Trennung der beiden Isomeren haben wir dann die fraktionierte Fällung der alkalischen Lösung benutzt. Fügt man zu dieser sofort nach der Kupplung bei gewöhnlicher Temperatur zunächst nur 25 ccm Normalsalzsäure, so fällt das schwerer lösliche Derivat der *l*- α -Bromisocapronsäure aus, für das wir in Zukunft den Namen *l*- α -Bromisocapronyl-*l*-asparagin gebrauchen werden. Die Flüssigkeit

¹⁾ Diese Berichte **37**, 4590 [1904].

wird etwa 15 Minuten in Eiswasser gekühlt und filtriert. Fügt man zu der Mutterlauge nochmals 17 ccm Normalsalzsäure, so krystallisiert im Laufe von einigen Stunden bei 0° ein Gemisch der beiden Isomeren; wird die abermals filtrierte Flüssigkeit wiederum mit 25 ccm Normalsalzsäure versetzt, so scheidet sich bei längerem Stehen bei 0° *d*- α -Bromisocapronyl-*l*-asparagin in ziemlich reinem Zustand aus. Die erste und die dritte Krystallisation können durch einmaliges Umlösen aus warmem Wasser genügend rein für die Darstellung der Dipeptide gewonnen werden. Die Ausbeute schwankte bei verschiedenen Darstellungen und betrug im Durchschnitt für jedes der beiden gereinigten Isomeren 4 g. Die zweite Krystallisation, deren Menge gleichfalls 3–4 g beträgt, kann natürlich in ähnlicher Weise, d. h. durch fraktionierte Fällung der alkalischen Lösung, zur Gewinnung der beiden Isomeren verarbeitet werden.

l- α -Bromisocapronyl-*l*-asparagin.

Diese Verbindung haben wir früher nur annähernd rein gehabt, denn die spezifische Drehung wurde neuerdings etwas höher gefunden. Zu ihrer Bestimmung diente eine alkalische Lösung vom Gesamtgewicht von 4.2410 g, die 0.2497 g Substanz und 0.8246 g *n*-Natronlauge enthielt. Drehung im dcm-Rohr bei 20° für Natriumlicht 1.81° nach links. Spez. Gewicht 1.03. Mithin $[\alpha]_D^{50} = -29.9^\circ$.

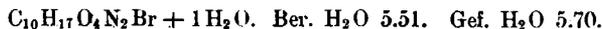
Dieses Präparat wurde nochmals aus heißem Wasser umkrystallisiert und gab dann folgendes Resultat: Gesamtgewicht der Lösung 3.6676 g. Sie enthielt 0.2092 g Substanz und 0.7400 g *n*-Natronlauge. Drehung im dcm-Rohr bei 20° für Natriumlicht 1.77° nach links. Spez. Gewicht 1.03. Mithin $[\alpha]_D^{20} = -30.1^\circ$.

Auch ist die frühere ungefähre Angabe über die Löslichkeit in kaltem Wasser (1:75) zu berichtigen. Nach neueren Beobachtungen verlangt die Substanz bei 25° zwischen 200–300 Teile kaltes Wasser.

d- α -Bromisocapronyl-*l*-asparagin..

Zur Reinigung wurde das zuvor erwähnte Produkt (dritte Krystallisation) mehrmals aus warmem Wasser umgelöst. Im lufttrocknen Zustande enthalten die Krystalle 1 Mol. Wasser, das beim einstündigen Erhitzen auf 75° im Vakuum völlig entweicht.

0.1860 g lufttrockner Substanz verloren in 1 Stunde bei 75° im Vakuum 0.0106 g.



Die getrocknete Substanz gab folgende Zahlen:

0.1600 g Sbst.: 0.2292 g CO₂, 0.0801 g H₂O. — 0.2061 g Sbst.: 13.0 ccm *V*_{15°n}. Ammoniak. — 0.1832 g Sbst.: 0.1111 g AgBr.

$C_{10}H_{17}O_4N_2Br$ (309). Ber. C 38.83, H 5.50, N 9.06, Br 25.89.

Gef. » 39.03, » 5.56, » 8.83, » 25.81.

Die trockne Substanz schmolz gegen 146—148° (korr.) unter Gasentwicklung. Aus heißem Wasser krystallisiert sie in langen, schmalen, manchmal sternförmig verwachsenen Prismen. Aus nicht zu verdünnter alkalischer Lösung fällt sie beim Ansäuern in sehr feinen Nadelchen aus, die sich beim Stehen mit der Flüssigkeit bald in dickere Prismen wandeln. In Wasser ist sie viel leichter löslich als das Isomere, denn in der Siedehitze genügen schon 2—3 Teile, und bei 25° sind ungefähr 100—150 Teile Wasser nötig.

Für die optische Bestimmung diente die alkalische Lösung, die das Gesamtgewicht 4.4106 g hatte, 0.8902 g *n*-Natronlauge und 0.2506 g trockne Substanz enthielt und mithin 5.68-prozentig war. $d = 1.03$. Drehung im dcm-Rohr bei 20° für Natriumlicht 0.92° nach rechts. Mithin beträgt

$$[\alpha]_D^{20} = +15.7^\circ (\pm 0.4^\circ).$$

Dieser Wert ist der gleiche wie der von uns früher gefundene, aber als provisorisch bezeichnete. Die gute Übereinstimmung spricht dafür, daß wir das Produkt in ziemlich reinem Zustand gehabt haben, obschon es bekanntlich recht schwierig ist, bei der Trennung von Isomeren durch Krystallisation das leichter lösliche Produkt vollständig zu reinigen.

Selbstverständlich wird man die beiden isomeren α -Bromisocapronyl-*l*-asparagine rascher in reinem Zustand bei Anwendung der optisch-aktiven α -Bromisocapronylchloride gewinnen. Da deren Bereitung aber mühsam und kostspielig ist, so halten wir das oben beschriebene Verfahren für die Praxis am meisten geeignet.

d-Leucyl-*l*-asparagin.

Es entsteht aus *l*- α -Bromisocapronyl-*l*-asparagin; man löst 10 g des letzteren in 50 ccm wäßrigem Ammoniak von 25 % und läßt etwa 8 Tage stehen, bis das Brom zum allergrößten Teile abgespalten ist. Man verdampft dann die Lösung unter stark vermindertem Druck oder im Vakuumexsiccator; der Rückstand wird in Alkohol gelöst, die Lösung auf dem Wasserbade verdampft und das Abdampfen mit Alkohol 2—3 Mal wiederholt, um das Ammoniak möglichst zu entfernen. Zum Schluß laugt man den Rückstand mit etwa 50 ccm kaltem Alkohol aus, filtriert von etwas ungelöstem Bromammonium und fügt zur Flüssigkeit etwa 15 ccm Wasser. Nach einiger Zeit beginnt die Krystallisation des wasserhaltigen Dipeptids, die durch späteren Zusatz von etwa 20 ccm Alkohol und Abkühlen auf 0° vervollständigt wird. Die Krystalle werden abgesaugt und mit 90-prozentigem Al-

kohol gewaschen. Die Ausbeute beträgt etwa 2.5 g, und das Präparat ist nahezu rein. Aus der Mutterlauge läßt sich durch Zusatz von Äther noch ungefähr 0.5 g abscheiden. Die Gesamtausbeute (3 g) entspricht ungefähr $\frac{1}{2}$ der Theorie; wodurch die großen Verluste bedingt sind, haben wir nicht festgestellt. Zur Analyse wurde die Verbindung aus wenig warmem Wasser umkrystallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Die Substanz enthält dann 2 Mol. Krystallwasser, die bei 100° im Vakuum entweichen.

0.6103 g Sbst. verloren 0.0767 g oder 12.57 %; berechnet für $C_{10}H_{15}O_4 N_3 + 2H_2O$: 12.81 pCt.

Die so getrocknete Substanz gab folgende Zahlen:

0.1842 g Sbst.: 26.4 ccm N (21°, 776 mm). — 0.1722 g Sbst.: 0.3076 g CO_2 , 0.1208 g H_2O .

$C_{10}H_{19}O_4 N_3$ (245). Ber. C 48.98, H 7.75, N 17.14.

Gef. » 48.71, » 7.79, » 16.83.

Für die optische Bestimmung diente eine wäßrige Lösung vom Gesamtgewicht 3.5099 g, die 0.2001 g wasserhaltiges oder 0.1745 g wasserfreies Dipeptid enthielt. Spez. Gewicht 1.01. Drehung bei 20° für Natriumlicht im dcm-Rohr 2.70° nach links. Mithin beträgt auf wasserfreies Dipeptid berechnet

$$[\alpha]_D^{20} = -53.8^\circ (\pm 0.4^\circ).$$

Eine zweite Bestimmung gab ein ähnliches Resultat. 0.1884 g trockne Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 3.9429 g. Spez. Gewicht 1.01. Drehung bei 20° und Natriumlicht im dcm-Rohr 2.58° nach links. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -53.5^\circ (\pm 0.4^\circ).$$

Im Capillarrohr rasch erhitzt, schmilzt das Dipeptid gegen 230° (korr.) unter Zersetzung. Aus wenig warmem Wasser scheidet es sich in der Kälte in kleinen farblosen Krystallen ab, die unter dem Mikroskop wie Kombinationen von Prisma und Doma, zuweilen auch wie sechsseitige Tafeln, erscheinen. In absolutem Alkohol ist das reine krystallisierte Präparat sehr schwer löslich.

l-Leucyl-*l*-asparagin.

Die Darstellung dieses dem α - α -Bromisocapronyl-*l*-asparagin entsprechenden Dipeptids war im wesentlichen die gleiche wie bei dem Isomeren. Nachdem durch mehrmaliges Abdampfen mit Alkohol das Wasser der ursprünglichen ammoniakalischen Lösung zum größten Teil entfernt ist, löst man die Masse in wenig heißem 96-prozentigem Alkohol und fällt in der Kälte mit absolutem Alkohol. Der amorphe hygroskopische Niederschlag wird in wenig warmem Wasser gelöst. Schon beim Erkalten beginnt in der Regel die Krystallisation und schreitet beim Eindunsten der Flüssigkeit im Exsiccator fort

Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser betrug die Ausbeute 3 g, also ebenso viel wie bei dem Isomeren.

Das so erhaltene Produkt gab bei der Analyse gut stimmende Werte.

0.2808 g lufttrockne Sbst. verloren im Vakuum bei 80° 0.0193 g H₂O.

C₁₀H₁₉O₄N₃ + 1H₂O. Ber. H₂O 6.84. Gef. H₂O 6.87.

0.1790 g getrocknete Sbst.: 0.3195 g CO₂, 0.1267 g H₂O. — 0.1773 g Sbst.: 25.6 ccm N (17°, 770 mm).

C₁₀H₁₉O₄N₃ (245). Ber. C 48.98, H 7.75, N 17.14.

Gef. » 48.73, » 7.85, » 17.07.

Trotzdem war das Präparat noch nicht ganz rein, sondern enthielt ein in Wasser schwerer lösliches Produkt, wahrscheinlich das Anhydrid. Dieses ließ sich entfernen durch mehrmaliges Lösen in wenig heißem Wasser und Fällen mit heißem Alkohol, wobei ungefähr ein Drittel verloren ging. Die so erhaltenen feinen Nadeln oder Prismen gaben nach dem völligen Trocknen im Vakuum über Pentoxyd folgende Zahlen.

0.1603 g Sbst.: 0.2880 g CO₂, 0.1127 g H₂O.

C₁₀H₁₉O₄N₃. Ber. C 48.98, H 7.75.

Gef. » 49.00, » 7.82.

Die Substanz schmolz gegen 228° (korr.).

Für die optische Bestimmung diente eine wäßrige Lösung vom Gesamtgewicht 3.6661, die 0.1996 g Sbst. enthielt. Spez. Gewicht 1.01. Drehung im 1 dm-Rohr bei 20° für Natriumlicht 0.98° nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{20} = +17.8^\circ$, während das obige unreine Präparat trotz der gut stimmenden Analyse den Wert $[\alpha]_D^{20} = +10.5^\circ$ gab.

Auch das reine Leucylasparagin krystallisiert aus der wäßrigen Lösung mit 1 Mol. Wasser.

Das Dipeptid gibt mit Alkali und Kupfersalz eine blauviolette Färbung.

Hydrolyse des *l*-Leucyl-*l*-asparagins.

Sie kann durch mehrstündiges Kochen mit der 5-fachen Menge 10-prozentiger Salzsäure am Rückflußkühler ausgeführt werden. Man verdampft die salzsaure Lösung, nimmt den Rückstand in wenig Wasser auf, übersättigt mit Ammoniak und verjagt das überschüssige Ammoniak durch kurzes Kochen. Nach dem Erkalten ist dann der größte Teil des Leucins abgeschieden. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser wurde für die Analyse im Vakuumexsiccator getrocknet.

0.1347 g Sbst.: 0.3719 g CO₂, 0.1654 g H₂O.

C₆H₁₃NO₂. Ber. C 54.96, H 9.92.

Gef. » 54.91, » 9.94.

In salzsaurer Lösung drehte das Produkt stark nach rechts und war mithin *l*-Leucin.

Einwirkung von Acetylchlorid auf α -Bromisocapronyl-*l*-asparagin.

Wie schon in der Einleitung erwähnt, verliert das α -Bromisocapronyl-*l*-asparagin beim Schütteln mit Acetylchlorid das Halogen als Bromwasserstoff und verwandelt sich in einen Körper von der Formel $C_{10}H_{16}O_4N_2$. Wie es scheint, liefern die beiden Stereoisomeren bei dieser Reaktion dasselbe Produkt, denn sein Schmelzpunkt war in beiden Fällen der gleiche. Die Versuche in größerem Maßstabe wurden deshalb mit einem Gemisch der beiden stereoisomeren Bromkörper ausgeführt. Für die Umwandlung genügt es, 5 g des feingepulverten und getrockneten α -Bromisocapronyl-*l*-asparagins mit 50 ccm Acetylchlorid 14 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur zu schütteln; in der Flüssigkeit ist dann das neue Produkt als farbloses Pulver suspendiert. Es wird unter Ausschluß von Feuchtigkeit am besten in dem früher¹⁾ beschriebenen Apparat filtriert und zuerst mit Acetylchlorid, später mit Petroläther gewaschen. Die Ausbeute beträgt ungefähr die Hälfte des angewandten Bromisocapronylasparagins. Zur völligen Reinigung löst man das Produkt in Aceton unter gelindem Erwärmen und fällt mit Wasser, wobei ein kristallinischer Niederschlag entsteht. Zur Analyse wurde im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1855 g Sbst.: 0.3596 g CO_2 , 0.1203 g H_2O . — 0.1854 g Sbst.: 19.2 ccm N (18°, 766 mm). — 0.1363 g Sbst.: 0.2620 g CO_2 , 0.0865 g H_2O . — 0.1663 g Sbst.: 17.3 ccm N über KOH (18°, 758 mm).

$C_{10}H_{16}O_4N_2$ (228). Ber. C 52.63, H 7.02, N 12.28.

Gef. » 52.87, 52.40, » 7.21, 7.05, » 12.07, 12.08.

Die Substanz schmilzt bei etwa 128—130° (korr.) unter Aufschäumen und Gelbfärbung; sie löst sich leicht in verdünntem, kaltem Alkali und wird durch Säuren wieder gefällt. Weder die 12-prozentige Lösung in sehr verdünnter Natronlauge noch die 4-prozentige Lösung in Aceton zeigte eine deutliche Drehung. Die Substanz scheint also optisch inaktiv zu sein. In kaltem Wasser ist sie schwer löslich, in der Hitze löst sie sich in reichlicher Menge, scheint aber dabei zersetzt zu werden, da sie beim Erkalten nicht mehr auskristallisiert. Beim Kochen mit Alkali wird Ammoniak frei.

Eine komplizierte Zersetzung tritt ein beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure.

Als 7 g der Substanz mit 50 ccm 15-prozentiger Schwefelsäure bis zum Sieden erwärmt wurden, trat bald eine reichliche Kohlensäureentwicklung ein, und bevor noch das ursprüngliche Produkt in Lösung gegangen war, schied sich ein Öl ab, das nach $\frac{1}{4}$ -stündigem Kochen ausgeäthert und bei 12—15 mm Druck fraktioniert wurde. Es waren mindestens 3 Substanzen vorhanden, eine niedrig

¹⁾ Diese Berichte 38, 605 [1905].

siedende vom Geruch der Fettsäuren, die Permanganat stark reduzierte, eine höher siedende Fettsäure, wahrscheinlich Isocaproensäure, und ein hochsiedendes, stickstoffhaltiges Produkt, das in der Kälte krystallisiert. Der Vorgang zeigt, daß man es in der ursprünglichen Substanz mit einem eigenartigen Typus zu tun hat, der zweifellos eine nähere Untersuchung verdient.

Chloracetyl-*l*-asparaginylochlorid,



In 40 ccm frisch destilliertes Acetylchlorid, das sich in einer Stöpselflasche befindet und durch eine Kältemischung gekühlt ist, trägt man zuerst 4 g trocknes und feingepulvertes Chloracetyl-*l*-asparagin und dann 4.5 g frisches und zerkleinertes Phosphorpentachlorid ein. Die Flasche wird nun in Eis verpackt und 12 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Wenn die Kühlung genügend war, so sind die Flüssigkeit und das darin suspendierte Chlorid kaum gefärbt. Man filtriert unter Ausschluß von Feuchtigkeit im bekannten Apparat, wäscht zunächst zweimal mit Acetylchlorid, später mehrmals mit trockenem Petroläther und trocknet im Vakuum über Phosphorperoxyd. Die Ausbeute beträgt 3.5—4 g. Das Produkt wurde direkt analysiert.

0.2798 g Sbst., mit CaO geglüht: 0.3500 g AgCl. — 0.1745 g Sbst.: 0.2056 g CO₂, 0.0581 g H₂O.

C₆H₈N₂O₃Cl₂ (227). Ber. C 31.74, H 3.52, Cl 31.29.

Gef. » 32.13, » 3.70, » 30.90.

Um das in der Gruppe COCl befindliche Chlor zu bestimmen, haben wir die abgewogene Substanz in überschüssige $\frac{1}{10}$ -n. Silberlösung eingetragen und nach starkem Umrühren das überschüssige Silbersalz mit Rhodanammium titriert.

0.1982 g Sbst.: 8.6 ccm $\frac{1}{10}$ -n. Salzsäure.

Ber. Cl 15.6. Gef. Cl 15.4.

In kaltem Wasser löst sich das Chlorid und verwandelt sich rasch in Chloracetyl-*l*-asparagin, welches bei genügender Konzentration auskrystallisiert. In Alkohol löst es sich unter Erwärmung. Alle diese Eigenschaften sprechen für die oben angegebene Strukturformel.

Chloracetyl-*l*-asparaginylo-*l*-leucinester.

Die Kupplung des vorstehenden Chlorids haben wir sowohl mit inaktivem, wie mit *l*-Leucinester ausgeführt. Wir wollen nur die letztere Operation beschreiben, weil sie zu einem einheitlichen Produkt führt, während im anderen Falle ein Gemisch von zwei Isomeren resultiert.

9 g Chloracetyl-*l*-asparaginylochlo-rid werden unter guter Kühlung und Schütteln in eine Mischung von 18 g *l*-Leucinester und 180 g trockenem, reinem Äther langsam eingetragen. Dabei geht der größte Teil des Chlorids in Lösung. Um den Rest zur Reaktion zu bringen, haben wir 4 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur auf der Maschine geschüttelt. Dabei scheidet sich in reichlicher Menge ein krystallinischer Niederschlag ab, der neben salzsaurem Leucinester den allergrößten Teil des Chloracetyl-*l*-asparaginy-*l*-leucinesters enthält. Er wird abgesaugt und durch Waschen mit Äther und durch Abpressen von der Mutterlauge befreit. Behandelt man ihn mit etwa der fünffachen Menge kaltem Wasser, dem einige Tropfen Salzsäure zugesetzt sind, so geht der salzsaure Leucinester in Lösung, während das neue Produkt als farblose Masse zurückbleibt. Sie wird abgesaugt, mit wenig kaltem Wasser gewaschen und im Vakuumexsiccator getrocknet. Die Ausbeute betrug etwa 4.5 g, mithin 32 % der Theorie. Wodurch der große Verlust bedingt ist, können wir nicht sagen; auch ist es uns nicht gelungen, durch Verarbeiten der ätherischen Mutterlauge die Ausbeute wesentlich zu verbessern. Zur Analyse wurde das Produkt einmal aus warmem Wasser umkrystallisiert und im Vakuum bei 80° getrocknet.

0.1762 g Sbst.: 0.3122 g CO₂, 0.1108 g H₂O.

C₁₄H₂₄O₅N₃Cl (350). Ber. C 47.84, H 6.91.

Gef. » 48.32, » 6.99.

Um die Formel ganz sicher zu stellen, führen wir hier noch eine Analyse an von einem anderen Präparat, das aus racemischem Leucinester ganz in derselben Weise dargestellt war, aber wie eben bemerkt, jedenfalls ein Gemisch von 2 Isomeren ist.

0.1724 g Sbst.: 0.3024 g CO₂, 0.1070 g H₂O. — 0.1734 g Sbst.: 17.9 ccm N (21°, 762 mm).

C₁₄H₂₄O₅N₃Cl (350). Ber. C 48.00, H 6.86, N 12.00.

Gef. » 47.84, » 6.91, » 11.87.

Der Chloracetyl-*l*-asparaginy-*l*-leucinester schmilzt bei 166—167° (korr.). Er ist in kaltem Wasser ziemlich schwer, in heißem Wasser erheblich leichter löslich. Auch in Alkohol löst er sich ziemlich leicht. Dagegen ist er in Äther recht schwer löslich. Er krystallisiert aus heißem Wasser in mikroskopisch feinen Nadeln, die meist zu warzenartigen Klumpen verwachsen sind. Er schmeckt sehr bitter. In alkoholischer Lösung dreht er das polarisierte Licht ziemlich stark nach links.

Chloracetyl-*l*-asparaginy-*l*-leucin.

Die Verseifung des Esters durch Alkali muß vorsichtig ausgeführt werden, falls man eine Veränderung der ebenfalls empfindlichen Gruppe CONH₂ vermeiden will.

Man löst 3 g des Esters (Rohprodukt) in 50 ccm heißem Wasser, kühlt rasch auf etwa 30° ab und fügt, bevor die Krystallisation beginnt, 8.6 ccm *n*-Natronlauge zu. Dann wird sofort durch Einwerfen von Eisstückchen auf 20° abgekühlt; auch hierbei soll keine Krystallisation des Esters stattfinden. Nach 1½-stündigem Stehen bei 20° ist die Verseifung zu Ende. Man fügt nun 9 ccm *n*-Salzsäure zu, verdampft die Flüssigkeit unter 10—15 mm Druck etwa auf die Hälfte und läßt im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure verdunsten; nach einiger Zeit beginnt die Krystallisation. Ist man einmal im Besitze von Krystallen, so kann man das Eindampfen unter stark vermindertem Druck nach Einimpfen von Krystallen viel weiter fortsetzen und die Krystallisation rascher erreichen. Die Ausbeute beträgt 80—85 % der Theorie. Für die Analyse wurde nochmals aus heißem Wasser umkrystallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.2017 g Sbst.: 0.3323 g CO₂, 0.1169 g H₂O. — 0.1908 g Sbst.: 22.1 ccm N (19°, 743 mm).

C₁₂H₂₀O₅N₃Cl (322). Ber. C 44.72, H 6.21, N 13.05.

Gef. » 44.90, » 6.44, » 13.09.

Beim langsamen Verdunsten der wäßrigen Lösung bildet die Substanz häufig zentimeterlange und meist büschelförmig angeordnete zugespitzte Prismen. Sie schmilzt nicht ganz scharf nach vorherigem Sintern gegen 167° (korr.) und färbt sich dabei rot. Sie schmeckt nicht bitter und kann so leicht von ihrem Ester unterschieden werden.

Glycyl-*l*-asparaginyll-*l*-leuciu,

NH₂.CH₂.CO.NH.CH.CO.NHCH(C₁H₉)COOH.

CH₂.CO.NH₂

Die Amidierung der vorhergehenden Chlorverbindung läßt sich zwar mit wäßrigem Ammoniak ausführen, aber die Ausbeute wird viel besser mit flüssigem Ammoniak.

Bringt man 2 g Chloracetyl-*l*-asparaginyll-*l*-leucin mit etwa 10 ccm flüssigem Ammoniak im verschlossenen Rohr zusammen, so findet bei gewöhnlicher Temperatur klare Lösung statt. Man läßt 4 Tage stehen und verdunstet nun das überschüssige Ammoniak. Der Rückstand ist eine lockere, amorphe Masse. Sie löst sich in wenig Wasser, und nach kurzer Zeit beginnt die Abscheidung des Tripeptids in Form einer körnigen, krystallinischen Masse. Die Gesamtausbeute betrug 1.2 g oder 63 % der Theorie. Einmaliges Umkrystallisieren aus wenig heißem Wasser genügt zur Reinigung. Die Substanz enthält Krystallwasser, welches bei 80° im Vakuum völlig entweicht. Bei verschiedenen Präparaten schwankte die Menge des Wassers je nach der Art der Vorbereitung zwischen 1 und 2 Mol.

Die bei 80° im Vakuum getrocknete Substanz gab folgende Zahlen:
 0.1671 g Sbst.: 0.2922 g CO₂, 0.1126 g H₂O. — 0.1149 g Sbst.: 17.6 ccm
 N (17°, 757 mm).

C₁₂H₂₂O₅N₄ (302). Ber. C 47.68, H 7.28, N 18.01.
 Gef. » 47.69, » 7.48, » 17.85.

Das Tripeptid ist in kaltem Wasser ziemlich schwer löslich und läßt sich deshalb aus heißem Wasser leicht umkrystallisieren. Es scheidet sich daraus in mikroskopischen, feinen Nadeln oder Spießen ab, die meist zu warzenförmigen Aggregaten vereinigt sind, so daß die Masse Ähnlichkeit mit einem Schimmelpilzrasen hat.

In Alkali und Mineralsäuren ist es leicht löslich. Es besitzt nur schwachen und wenig charakteristischen Geschmack. Die alkalische Lösung gibt mit Kupfersalz eine blauviolette Färbung.

Wegen der geringen Löslichkeit in kaltem Wasser diente für die optische Bestimmung: eine Lösung in *n*-Salzsäure vom Gesamtgewicht 4.2138 g, die 0.2034 g trockner Substanz enthielt. Spez. Gewicht 1.03. Drehung für Natriumlicht bei 20° im dem-Rohr 2.33° nach links.

Mithin $[\alpha]_D^{20} = -46.8^\circ$.

Zu einer zweiten Bestimmung diente ebenfalls eine Lösung in *n*-Salzsäure vom Gesamtgewicht 3.8032, die 0.1977 g Substanz enthielt. Drehung für Natriumlicht bei 20° im dem-Rohr 2.48° nach links. Spez. Gewicht 1.03.

Mithin $[\alpha]_D^{20} = -46.3^\circ$.

l-Asparaginsäure-dimethylester.

Ähnlich dem Äthylester¹⁾ ist er am billigsten aus dem Asparagin darzustellen. Man suspendiert 20 g getrocknetes und fein gepulvertes Asparagin in 100 cem trockenem Methylalkohol, leitet gasförmige Salzsäure in kräftigem Strome bis zur Sättigung ein und kocht dann am Rückflußkühler. Wenn nach etwa einstündigem Kochen die Menge des ausgeschiedenen Chlorammoniums ziemlich groß geworden ist, filtriert man und kocht weitere 2 Stunden. Für die Ausbeute ist es vorteilhaft, jetzt die Flüssigkeit unter stark vermindertem Druck zu verdampfen, den Rückstand wieder in 100 cem Methylalkohol zu lösen, mit Salzsäure zu sättigen und noch eine Stunde zu kochen.

Die Isolierung des Esters geschieht in der üblichen Weise durch Verdampfen unter geringem Druck, Lösen des Rückstandes in sehr wenig kaltem Wasser, Zersetzung des Hydrochlorids durch Kaliumcarbonat bei möglichst niedriger Temperatur und Extraktion mit Äther. Der Ester ist eine farblose, dem Äthylester sehr ähnliche Flüssigkeit.

¹⁾ Diese Berichte 37, 4601 [1904].

und kocht unter 15 mm Druck bei 119—120°. Ausbeute etwa 16.5 g oder 70 % der Theorie.

0.1719 g Sbst.: 0.2838 g CO₂, 0.1052 g H₂O.

C₆H₁₁O₄N (161). Ber. C 44.72, H 6.83.

Gef. » 45.03, » 6.80.

2.5-Diketopiperazin-3.6-diessigsäuredimethylester.

Erhitzt man den Asparaginsäuredimethylester im geschlossenen Gefäß 3 Tage auf 100°, so resultiert ein Gemisch von Krystallen und einem hellbraunen Sirup. Letzterer läßt sich durch Auslaugen zuerst mit wenig Alkohol und dann mit ganz verdünnter, wäßriger Salzsäure leicht entfernen. Die zurückbleibende Krystallmasse ist wenig gefärbt und besteht aus fast reinem 2.5-Diketopiperazin-3.6-diessigsäuredimethylester. Zur Analyse wurde einmal aus heißem Wasser umkrystallisiert und im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1671 g Sbst.: 0.2843 g CO₂, 0.0838 g H₂O. — 0.1815 g Sbst.: 17.0 ccm N (23°, 764 mm).

C₁₀H₁₄O₆N₂ (258). Ber. C 46.51, H 5.43, N 10.85.

Gef. » 46.41, » 5.57, » 10.68.

Im Capillarrohr rasch erhitzt, schmilzt die Substanz gegen 248° (korr.) unter Braunfärbung. Sie ist in kaltem Wasser schwer, in heißem Wasser erheblich leichter löslich und fällt daraus beim Erkalten in mikroskopischen, häufig büschelförmig angeordneten Krystallen, die bald wie Nadeln, bald wie flache Spieße oder lange dünne Prismen aussehen.

2.5-Diketopiperazin-3.6-diessigsäure.

Die Verseifung des Diäthylesters haben wir früher mit kaltem Barytwasser ausgeführt, und aus der Analyse eines Silbersalzes auf die Bildung der Diketopiperazindiessigsäure geschlossen. Aber die Isolierung der freien Säure war uns damals aus Materialmangel nicht gelungen. Mit dem Methylester geht die Verseifung leichter von statten. Schüttelt man 2 g des gepulverten Esters bei gewöhnlicher Temperatur mit 15.5 ccm *n*-Natronlauge (2 Mol.), so geht er bald in Lösung, wobei zuerst das Alkalisalz des Halbesters entsteht; zur Beendigung der Reaktion läßt man 12—15 Stdn. bei gewöhnlicher Temperatur stehen, fügt jetzt die der Natronlauge äquivalente Menge Salzsäure zu und verdampft die Lösung bei stark vermindertem Druck auf ein Volumen von etwa 4—5 ccm. Dabei scheidet sich der größte Teil der neuen Säure krystallinisch ab und wird nach einigem Stehen der Lösung bei 0° filtriert. Die Ausbeute beträgt 1.2—1.4 g oder 67—78 % der Theorie. Der Verlust ist wahrscheinlich dadurch bedingt, daß

nebenher wechselnde Mengen von leicht löslicher Asparagyl-asparaginsäure entstehen. Zur völligen Reinigung wird das Produkt in heißem Wasser gelöst und die Lösung nach Zusatz einiger Tropfen Salzsäure abgekühlt. Es scheidet sich dann in mikroskopisch kleinen schiefen Tafeln oder kurzen schiefen Prismen aus.

Für die Analyse wurde bei 80° im Vakuum getrocknet.

0.1682 g Sbst.: 0.2582 g CO₂, 0.0641 g H₂O. — 0.1813 g Sbst.: 18.6 ccm N (14°, 768 mm).

C₈H₁₀N₂O₆ (230). Ber. C 41.74, H 4.35, N 12.18.
Gef. » 41.86, » 4.23, » 12.25.

Die Säure hat keinen Schmelzpunkt. Beim Erhitzen im Capillarrohr zersetzt sie sich gegen 300° unter Aufschäumen, nachdem sie schon vorher sich gebräunt hat. In kaltem Wasser ist sie recht schwer und auch in heißem keineswegs leicht löslich.

Asparagyl-asparaginsäure (?).

1 g Diketopiperazindiessigsäure wird in 26 ccm 1/2 Normal-Barytwasser gelöst und 15 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann fällt man den Baryt in der Kälte genau mit Schwefelsäure, trennt den Niederschlag von der Flüssigkeit durch Zentrifugieren und verdampft die Mutterlauge unter 15—20 mm Druck bis auf einige Kubikzentimeter. Hierbei scheidet sich etwas (0.1—0.2 g) unveränderte Diketopiperazindiessigsäure aus; die abermals filtrierte Lösung wird, wenn nötig, im Vakuumexsiccator bis auf etwa 2 ccm konzentriert und dann mit einem Überschuß von absolutem Alkohol versetzt. Hierbei fällt die Asparagylasparaginsäure als farbloser Sirup aus. Wird dieser nach dem Abgießen der Mutterlauge wieder in wenig Wasser gelöst und von neuem mit Alkohol gefällt, so wird der Sirup in der Regel nach kurzer Zeit fest und verwandelt sich in ein lockeres, weißes Pulver. Wegen der Gefahr einer teilweisen Veresterung ist es ratsam, die Säure nicht zu lange in Berührung mit dem Alkohol zu lassen.

Für die Analyse wurde die Substanz bei 80° im Vakuum über Phosphorperoxyd getrocknet.

0.1787 g Sbst.: 0.2549 g CO₂, 0.0843 g H₂O. — 0.1691 g Sbst.: 15.8 ccm N (18°, 755 mm).

C₈H₁₂O₇N₂ (248). Ber. C 38.71, H 4.82, N 11.29.
Gef. » 38.91, » 5.24, » 10.81.

Bisher haben wir die Verbindung nicht deutlich krystallisiert erhalten; sie bildet ein farbloses Pulver von saurem Geschmack, das sich sowohl von der Asparaginsäure als auch von der Diketopiperazindiessigsäure, durch die große Löslichkeit in kaltem Wasser unterscheidet. In kaltem absolutem Alkohol ist sie fast unlöslich. Sie hat

keinen Schmelzpunkt, sondern zersetzt sich beim Erhitzen im Capillarrohr gegen 120° unter starkem Aufschäumen. Beim langen Aufbewahren scheint sie sich zu verändern, denn sie wird in kaltem Wasser schwerer löslich.

Über die Struktur der Verbindung haben wir uns bereits in der Einleitung geäußert. Sie ist abgeleitet aus der Formel des Piperazinkörpers. Wir halten es aber für sehr wünschenswert, daß sie durch eine gründlichere Untersuchung der Säure geprüft wird.

285. J. Gutt: Ein Beitrag zur Kenntnis der hexahydroaromatischen Amine.

[Aus dem Laboratorium für organische und analytische Chemie der Kaiserl. Universität Moskau.]

(Eingegangen am 25. April 1907.)

Gelegentlich einiger von Hrn. Prof. N. Zelinsky¹⁾ über das russische Erdöl angestellten Untersuchungen, an denen unter anderen auch ich das Vergnügen hatte, teilnehmen zu dürfen, fehlte es uns an einem Anhaltspunkte, um die Lage verschiedener substituierender Gruppen in dem aus Naphtha-Benzin isolierten vermutlichen Methylcyclohexan ermitteln zu können. Zu diesem Zwecke unternahm ich das nähere Studium der fünf theoretisch möglichen isomeren Amine des Methylcyclohexans, die, wie sich später erwiesen hat, durch die Schmelzpunkte ihrer Benzoylverbindungen sehr wohl charakterisiert werden können. Zur Darstellung der Amine aus den entsprechenden um ein Kohlenstoffatom reicheren Carbonsäuren bediente ich mich der sehr brauchbaren Methode von Eliz. Jeffreys²⁾. Im folgenden lege ich die Resultate dieser kleinen synthetischen Arbeit nieder.

Methyl-1-cyclohexan-3-derivate (*m*-Verbindungen)

Als Ausgangsmaterial diente optisch-aktives β -Methylcyclohexanol mit folgenden Konstanten: Sdp. $91.5-92.5^{\circ}$ bei 35 mm Druck; $\alpha_D = -3.68^{\circ}$ ($l = 1$ dm);

$$\left. \begin{array}{l} n_{20} = 1.4555 \\ d_4^{20} = 0.9144 \end{array} \right\} \begin{array}{l} \text{Daraus Mol.-Ref.} = 33.86. \\ \text{Ber. für } C_7H_{13}.OH = 33.74. \end{array}$$

¹⁾ Journ. d. Russ. Phys.-chem. Ges. **30**, 340; **31**, 402; **34**, 434, 523, 846, 968; **35**, 399, 433, 1280; **36**, 13, 767; **37**, 961.

²⁾ Diese Berichte **30**, 898 [1897]. Diese Methode wurde von der Verfasserin zur Gewinnung der höheren aliphatischen Amine empfohlen und hat in unserem Laboratorium mit bestem Erfolge vielfache Anwendung in der Polymethylenreihe gefunden.