

**344. Felix Ehrlich: Über das natürliche Isomere des Leucins.**[II. Mitteilung<sup>1)</sup>.]

(Eingegangen am 26. April 1907.)

**Konstitution und Synthese des Isoleucins  
( $\alpha$ -Amino- $\beta$ -methyl- $\beta$ -äthyl-propionsäure).**

Vor 3 Jahren machte ich an dieser Stelle<sup>2)</sup> Mitteilung über die Auffindung eines neuen primären Eiweißspaltungsproduktes, des dem Leucin isomeren *d*-Isoleucins, das ich zuerst aus den Abfällen der Zuckerindustrie, den Strontianenzuckerungslaugen, isolieren konnte, und dessen Nachweis mir dann im Blutfibrin und in einer Reihe anderer Eiweißstoffe gelang. Die weiteren Untersuchungen auf diesem Gebiete haben meine damaligen Beobachtungen im wesentlichen bestätigt; besonders auch in der Richtung, daß es in der Natur nur zwei isomere Aminocaprinsäuren, nämlich das Leucin und das Isoleucin, gibt, und daß alle früheren Angaben über sonstige natürlich vorkommende Isomere des Leucins aus der Literatur zu streichen sind. Zusammen mit Tyrosin und Valin<sup>3)</sup> bilden die beiden Leucine in wechselnden Mengenverhältnissen, offenbar durch gemeinsame peptidartige Bindung verknüpft, einen besonderen wesentlichen Bestandteil der meisten Proteine, aus denen sie sich bei enzymatischen Eingriffen, wie z. B. der tryptischen Verdauung<sup>4)</sup> und der Autolyse, leichter als viele andere Bausteine des Eiweißes abzuspalten scheinen.

Während sich nun nach dem früher mitgeteilten Verfahren die Darstellung von reinem Isoleucin aus Melasserückständen verschiedener Herkunft stets leicht ausführen ließ, haben sich die Hoffnungen, Substanzen von gleicher Reinheit auch aus anderen Eiweißstoffen gewinnen zu können, bisher nicht vollkommen verwirklicht. Als Grund hierfür ergab sich, daß die Melasseschlempen und damit sehr wahrscheinlich auch das Eiweiß der Rübe neben Isoleucin Valin nicht enthalten, daß aber diese Aminosäure, die ein in Methylalkohol genau so leicht lösliches Kupfersalz bildet<sup>5)</sup> wie das Isoleucin, in allen anderen bisher

<sup>1)</sup> Kurze vorläufige Mitteilungen über einige Ergebnisse dieser Arbeit erfolgten bereits in der Sitzung der Gesellschaft am 27. März 1905 und auf dem Meraner Naturforscherkongreß 1905 September, ferner in einer Publikation »Über die Entstehung des Fuselöls« in der Ztschr. d. Vereins der Deutsch. Zuckerindustrie **55**, 552—554 [1905].

<sup>2)</sup> Diese Berichte **37**, 1809 [1904].

<sup>3)</sup> E. Fischer, diese Berichte **39**, 2320 [1906].

<sup>4)</sup> E. Fischer und Bergell, diese Berichte **36**, 2593 [1903].

<sup>5)</sup> E. Schulze und Winterstein, Ztschr. für physiolog. Chem. **45**, 38 [1905].

untersuchten Eiweißstoffen in größeren oder geringeren Mengen vorhanden ist und infolge ihrer Tendenz, mit dem Isoleucin Mischkrystalle zu bilden, stets die völlige Reindarstellung des Isoleucins hindert. Auch das in der ersten Mitteilung beschriebene Isoleucin aus Blutfibrin verdankt seine in Salzsäure um 2<sup>o</sup> niedrigere Drehung nicht, wie dort angenommen, der Gegenwart von Leucin, das sich vielmehr stets quantitativ vom Isoleucin über die Kupfersalze abtrennen ließ, sondern, wie eingehende Untersuchungen gezeigt haben, einer geringen Beimengung von Valin, die infolge der geringen Unterschiede in der Elementarzusammensetzung der beiden Aminosäuren oft aus der Analyse kaum zu ersehen ist, aber sich in den für die optische Drehung erhaltenen Werten meist deutlich zu erkennen gibt. Während bei Anwesenheit einer geringen Menge Valin, wie z. B. im Blutfibrin, durch wiederholtes Umkrystallisieren immerhin noch ein annähernd reines Isoleucin aus Eiweiß zu gewinnen ist, versagt die bei der Verarbeitung von Melasserückständen bewährte gefundene Methode zur Reindarstellung des Isoleucins vollkommen, wenn ungefähr gleiche Mengen Valin vorhanden sind oder wenn etwa diese Aminosäure gegenüber dem Isoleucin überwiegt. So ließen sich aus Casein, Ovalbumin, Horn, Schwamm, Hefeeiweiß und anderen Proteinen über die methylalkohollöslichen Kupfersalze nur Gemische aus ungefähr gleichen Teilen von Isoleucin und Valin isolieren, die auch durch noch so häufig durchgeführte fraktionierte Krystallisation der Aminosäuren selbst und ihrer Salze oder Derivate nicht zu trennen waren. Dabei blieb es gleichgültig, ob das Roh-Leucin, das als Ausgangsmaterial diente, durch direktes Eindampfen der von der Säure befreiten hydrolysierten Lösungen oder aus den betreffenden Fraktionen nach der Fischerschen Estermethode gewonnen war, stets wurden ungefähr gleich zusammengesetzte Mischkrystalle von Isoleucin und Valin erhalten. Ähnliche Erfahrungen sind unterdes auch von anderer Seite an verschiedenen Eiweißstoffen gemacht worden<sup>1)</sup>. Nach vielen vergeblichen Versuchen gelang schließlich die ungefähre Abtrennung von Isoleucin aus valinreichen Eiweißstoffen in der Weise, daß die zuerst erhaltenen Gemische von Isoleucin und Valin zunächst mit Barytwasser unter Druck erhitzt, dann wie üblich wieder in die Kupfersalze verwandelt und diese mit kaltem Methylalkohol geschüttelt oder mit Äthylalkohol ausgekocht wurden, wobei das Kupfersalz des

<sup>1)</sup> E. Schulze und Winterstein, Ztschr. für physiolog. Chem. **45**, 38 [1905]; Winterstein und Pantanelli, Ztschr. für physiolog. Chem. **45**, 61 [1905]; Adensamer und Hoernes, Monatsh. für Chem. **26**, 1217 [1905]; Weitzenböck, Monatsh. für Chem. **27**, 831 [1906] Vergl. auch E. Fischer, diese Berichte **39**, 592—594 [1906].

zum Teil umgelagerten Isoleucins langsam in Lösung geht, während die Kupferverbindung des racemischen Valins, die von Methylalkohol in nur sehr geringem Maße, von Äthylalkohol gar nicht aufgenommen wird, fast vollständig ungelöst zurückbleibt<sup>1)</sup>. Da indes bei dieser Methode der Isolierung das Isoleucin stets bestimmte, weiter unten beschriebene Veränderungen erleidet und in nur geringer Ausbeute erhalten wird, so ist man zur Gewinnung seiner ursprünglichen Form vorläufig einzig und allein auf die Strontianenzuckerungslaugen angewiesen, im Falle sich nicht noch leicht zugängliche Eiweißstoffe finden, die sehr wenig oder gar kein Valin enthalten<sup>2)</sup>.

Auch bei der Verarbeitung der Melasseschlempen ergaben sich eine Reihe unvorhergesehener Schwierigkeiten, die eine wesentliche Verzögerung der nachstehend mitgeteilten Untersuchungen zur Folge hatten. Die Ausbeute an Isoleucin, die anfangs  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$  % der eingedampften Abfalllaugen betragen hatte, schwankte nämlich weiterhin sehr unregelmäßig. Es lag das einmal daran, daß der Stickstoffgehalt der Rübe in den einzelnen Jahren und Gegenden ein sehr verschiedener ist, und daß im Zusammenhang damit auch die Menge der Stoffe in den Melasseschlempen wechselt, welche die Leucine am Auskristallisieren zu verhindern vermögen. Dazu kommt, daß die Melasseenzuckerungsfabriken im Laufe der letzten Jahre zu einer wesentlichen Änderung ihres Betriebes übergegangen sind, indem sie nicht mehr wie früher ihre stark eingedampften Abfalllaugen vor der Weiterverarbeitung längere Zeit in Bassins lagern lassen, wodurch die Abscheidung der Leucine wesentlich begünstigt war, sondern die Schlempen weniger stark konzentrieren und dann direkt in die Retorten zur Verkokung auf Schlempekohle überführen. Man ist daher jetzt meist genötigt, die aus der Fabrik<sup>3)</sup> bezogenen dünnen Abfalllaugen, aus denen gewöhnlich nur anorganische Salze sich abgeschieden haben, im Laboratorium weiter einzuengen und lange Zeit an einem kühlen Ort aufzubewahren, um größere Mengen der früher beschriebenen leucinhaltenen Niederschläge zu gewinnen. Nicht günstiger als dieses mühevollen und zeitraubenden Verfahren gestaltet sich für die Verarbeitung der Schlempen auf Leucine die Fischersche Estermethode, deren Ausführung wieder infolge des enormen Salzgehaltes der Laugen und

---

1) Über diese gemeinsam mit Hrn. cand. chem. Wendel ausgeführten Untersuchungen werde ich an anderer Stelle eingehend berichten.

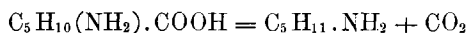
2) Ein hierfür geeigneter Eiweißstoff liegt vielleicht im Gluten vor, das nach den Untersuchungen von Abderhalden und Malengreau (Ztschr. für physiolog. Chem. 48, 513 [1906]) kein Valin enthält.

3) Verarbeitet wurden Abfalllaugen der Strontianenzuckerungsanstalten Dessau, Groß-Mochbern und Rositz.

ihres relativ geringen Gehalts an Isoleucin große Schwierigkeiten entgegenstehen. Es dauerte daher geraume Zeit, ehe es gelang, für die im folgenden beschriebenen Untersuchungen über die Konstitution des Isoleucins genügende Mengen reiner Substanz zu erhalten.

Für die Konstitutionsermittlung des Isoleucins kam von vornherein ein sehr wesentliches Moment in Betracht, nämlich sein stetes Zusammenvorkommen mit dem Leucin und seine merkwürdige Fähigkeit, mit dieser Aminosäure Mischkrystalle zu bilden, die vollständig den Eindruck einer chemischen Verbindung machen. In derartig ausgeprägter Form ist diese Eigenschaft bisher nur an einem anderen Zwillingspaar natürlich vorkommender strukturisomerer Substanzen beobachtet worden, dem Isoämylalkohol und dem optisch-aktiven *d*-Amylalkohol, die ebenfalls stets gemeinsam auftreten und deren Trennung, da sie in allen ihren Derivaten eine ununterbrochene Reihe von Mischkrystallen bilden, ähnlich erst nach mühevollen Untersuchungen gelungen ist<sup>1)</sup>. In der Tat ließ sich nun zeigen, daß die so auffallend übereinstimmenden Eigenschaften dieser beiden Verbindungspare keine zufälligen sind, sondern daß zwischen den beiden Leucinen und Amylalkoholen sehr nahe chemische Beziehungen bestehen und eine weitgehende Analogie, die besonders für die Frage der Entstehung des Fuselöls bedeutungsvoll geworden ist<sup>2)</sup>.

Schwanert<sup>3)</sup> hat zuerst beobachtet, daß bei der trocknen Destillation des gewöhnlichen Leucins Isoämylamin,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ , entsteht. Erhitzt man reines *d*-Isoleucin vorsichtig auf  $200^\circ$ , so spaltet sich Kohlendioxyd ab und es bildet sich ebenfalls nach der Gleichung



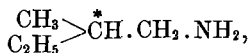
ein Ämylamin, das aber zum Unterschied von dem Isoämylamin aus Leucin optisch-aktiv ist. Durch Destillation über Natrium gereinigt, siedet es unter 762 mm Druck bei  $94-96^\circ$  und zeigt eine spez. Drehung von  $[\alpha]_D^{22} = -2.56^\circ$ , während sein bei  $174-175^\circ$  schmelzendes, salzsaures Salz auch in konzentrierten Lösungen optisch-inaktiv ist. Die aus dem Hydrochlorid isolierte Base besitzt indes wieder dieselbe

<sup>1)</sup> Pasteur, Compt. rend. **41**, 296 [1855]; Ann. de Chim. **96**, 255 [1855]. — Le Bel, Compt. rend. **77**, 1021 [1873]; Bull. Soc. Chim. [2] **21**, 542 [1874]; **25**, 545 [1876]. — W. Marckwald, diese Berichte **34**, 479, 485 [1901]; **35**, 1595 [1902].

<sup>2)</sup> F. Ehrlich, Ztschr. d. Vereins der Deutsch. Zuckerindustrie **55**, 539 [1905]; Bericht der Verhandl. des Meraner Naturforscherkongresses 1905, II, 107; Biochem. Ztschr. **2**, 52 [1906]; diese Berichte **39**, 4072 [1906]; **40**, 1027 [1907].

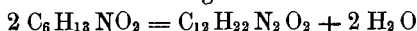
<sup>3)</sup> Ann. d. Chem. **102**, 225.

Drehung. Durch diese Eigenschaften und die Analysen näher charakterisiert, erweist sich das Amylamin aus Isoleucin identisch mit dem *d*-Amylamin von der Formel



das zuerst W. Marckwald<sup>1)</sup> aus dem *d*-Amylalkohol über das Bromid und die Phtalimid-Reaktion rein dargestellt hat. Eine Differenz mit dieser Verbindung besteht allein in der Größe der optischen Drehung, die Marckwald zu  $[\alpha]_D^{25} = -5.86^\circ$  beobachtete. Doch läßt sich der niedrigere Drehungswert des *d*-Amylamins aus Isoleucin leicht durch eine partielle Racemisierung infolge der hohen Abspaltungstemperatur erklären.

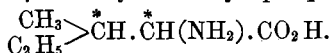
Neben dem Amylamin bildet sich bei der trocknen Destillation des Isoleucins noch ein zweiter in alkoholischer Lösung schwach rechtsdrehender Körper, der in Nadeln krystallisiert, bei  $280^\circ$  schmilzt und gegen  $320^\circ$  unzersetzt siedet. Seine Analyse und Molekulargewichtsbestimmung sprechen dafür, daß hier offenbar ein Diketopiperazinderivat vorliegt, das aus 2 Mol. Isoleucin unter Austritt von 2 Mol. Wasser nach der Gleichung



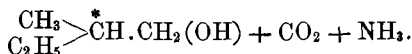
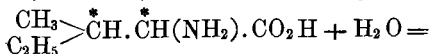
entstanden ist, und das in allen seinen Eigenschaften seinem Isomeren, dem Leucinimid, ungemein ähnelt. Es sei daher Isoleucinimid genannt.

Schon der Verlauf dieser Reaktionen ließ im Verein mit dem früher mitgeteilten Befunde, daß die Phenylisocyanat-Verbindung des Isoleucins ein Hydantoinderivat liefert, den sicheren Schluß zu, daß das Isoleucin eine  $\alpha$ -Aminosäure mit zwei asymmetrischen Kohlenstoffatomen darstellt und identisch ist mit einer der 4 möglichen optisch-aktiven Modifikationen der

$\alpha$ -Amino- $\beta$ -methyl- $\beta$ -äthyl-propionsäure,



Ein weiterer Beweis für diese Konstitution wurde damit erbracht, daß Isoleucin durch Vergärung mit Zucker und Hefe in *d*-Amylalkohol übergeführt werden konnte, ein Vorgang, der, wie schon früher<sup>2)</sup> erwähnt, nur im Sinne folgender Gleichung verlaufen kann:



<sup>1)</sup> Diese Berichte 37, 1047 [1904].

<sup>2)</sup> F. Ehrlich, diese Berichte 40, 1027 [1907].

Eine Reindarstellung des optisch-aktiven Amylalkohols nach diesem Verfahren gelang zwar bisher noch nicht, da die zur Verfügung stehende Quantität Isoleucin zu gering war, und die Abtrennung minimaler Mengen Amylalkohol von viel Äthylalkohol große Schwierigkeiten bietet. Immerhin ließ sich nach der Vergärung von Isoleucin zum Unterschied von Leucin stets deutlich linksdrehender, bei 128° siedender Amylalkohol nachweisen, der durch die Oxydation zur rechtsdrehenden Valeriansäure, der Methyl-äthyl-essigsäure,

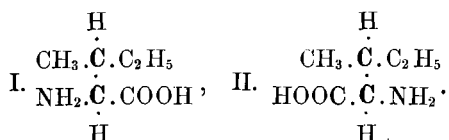
$\begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{C}_2\text{H}_5 \end{array} \text{>}^* \text{CH} \cdot \text{CO}_2\text{H}$ , näher zu charakterisieren war. Ich hoffe, späterhin die Reingewinnung des *d*-Amylalkohols, von größeren Mengen seiner natürlichen Muttersubstanz, des *d*-Isoleucins, ausgehend, auf dem Wege der Gärung durchführen zu können.

Schließlich gelang dann der vollständige Konstitutionsbeweis des Isoleucins durch seine Synthese<sup>1)</sup> vom *d*-Amylalkohol selbst aus, der zunächst durch Oxydation in den rechtsdrehenden *d*-Valeraldehyd verwandelt wurde. Lagert man an diesen Aldehyd Blausäure und Ammoniak an und verseift dann das zunächst entstandene Valeroamidonitril, so erhält man eine leicht in Wasser lösliche Aminosäure von der Bruttozusammensetzung, dem Aussehen und den Eigenschaften des Leucins, die sich indes von dieser Substanz sehr wesentlich durch die leichte Löslichkeit ihres Kupfersalzes in Methylalkohol unterscheidet. Die Verbindung schmilzt unregelmäßig zwischen 267° und 276°. Ihre optische Bestimmung zeigt, daß kein einheitliches Produkt vorliegt, da je nach der Art des Umkrystallisierens stärker und schwächer links- und auch rechtsdrehende Fraktionen erhalten wurden. Die eingehende Untersuchung ergab, daß das synthetische Produkt aus dem optisch-aktiven Valeraldehyd zu ungefähr gleichen Teilen aus zwei stereoisomeren  $\alpha$ -Amino-methyl-äthyl-propionsäuren besteht, nämlich dem *d*-Isoleucin und einem durch sterische Umlagerung daraus entstandenen Körper, dem ich den Namen Allo-Isoleucin geben möchte.

Ein fast gleich zusammengesetztes Gemisch dieser beiden Substanzen erhält man beim Behandeln des natürlichen *d*-Isoleucins mit Barytwasser unter Druck. Hierbei verschwindet die ursprüngliche Rechtsdrehung der Aminosäure allmählich, und nach ungefähr 20-stün-

<sup>1)</sup> Unterdes haben Bouveault und Locquin (Compt. rend. **141**, 115; Bull. Soc. Chim. Paris [3] **35**, 965) eine neue Synthese des Isoleucins, ausgehend vom sek. Butyljodid, durchgeführt. Nach einer freundlichen privaten Mitteilung des Hrn. R. Locquin ist diesen Forschern neuerdings auch die Spaltung des zuerst erhaltenen inaktiven Isoleucins und die Gewinnung zweier optisch-aktiver Komponenten gelungen.

digem Erhitzen ist eine schwache Linksdrehung der wäßrigen Lösung des Isoleucins eingetreten, die dann auch bei noch so langem Erwärmen der alkalischen Flüssigkeit im Autoklaven dauernd konstant bleibt. Wie die weitere Untersuchung gezeigt hat, verläuft die Umlagerung des *d*-Isoleucins nicht vollständig, sondern es stellt sich, nachdem ungefähr die Hälfte umgelagert ist, ein Gleichgewicht mit dem neu entstandenen Körper her, der nicht der optische Antipode des *d*-Isoleucins sein kann, sondern ein neues Isomeres des Isoleucins, das Allo-Isoleucin, darstellt, das sich durch sterische Umlagerung der an einem der beiden asymmetrischen Kohlenstoffatome des Isoleucins befindlichen Gruppen gebildet hat. Das Isoleucin bietet hier also ähnliche Verhältnisse, wie sie zuerst E. Fischer bei der Umlagerung der Säuren der Zuckerreihe mittels Chinolin und Pyridin und später analog Lobry de Bruyn und van Ekenstein bei der Einwirkung von Alkali auf Glucose und Mannose beobachtet haben. In Übereinstimmung mit den früheren Erfahrungen an Aminosäuren und besonders auf Grund der neueren Forschungen E. Fischers<sup>1)</sup> über die Waldensche Umkehrung kann man als sicher annehmen, daß durch die Behandlung mit Barytwasser der Übergang des *d*-Isoleucins in das Allo-Isoleucin in der Weise erfolgt, daß an dem mit dem Carboxyl unmittelbar verbundenen asymmetrischen  $\alpha$ -Kohlenstoffatome eine Verschiebung der Gruppen stattfindet, während dabei das zweite asymmetrische ( $\beta$ -)Kohlenstoffatom in der Anordnung seiner Radikale völlig intakt bleibt. Die Konfiguration des Isoleucins und des Allo-Isoleucins würde sich dann vielleicht durch je eine der beiden folgenden Projektionsformeln wiedergeben lassen:



Die vollständige Zerlegung des Gemisches der beiden Körper, sowohl aus dem natürlichen wie aus dem synthetischen Produkt durch fraktionierte Krystallisation gelang bisher nicht und dürfte auf diese Weise auch kaum ausführbar sein, da beide Isomere sehr leicht Mischkrystalle bilden. Indes war es mir auf einem anderen Wege möglich, nachzuweisen, daß bei der Synthese aus *d*-Valeraldehyd wirklich *d*-Isoleucin entstanden ist, wenn es auch in dieser Form vorläufig nicht isoliert werden konnte, und ferner glückte es, die Reindarstellung des Allo-Isoleucins aus dem natürlichen *d*-Isoleucin und

<sup>1)</sup> Diese Berichte 40, 489 [1907].

dem künstlich gewonnenen Gemisch beider Aminosäuren und damit die Totalsynthese dieses Körpers durchzuführen.

Vergärt man nämlich ein Gemisch von Isoleucin und Allo-Isoleucin bei Gegenwart von Zucker mit Hefe, so entzieht die Hefe nur dem *d*-Isoleucin den Stickstoff und führt es dabei in *d*-Amylalkohol über, während das Allo-Isoleucin fast unangegriffen nach der Gärung zurückbleibt. Auf diese Weise gewinnt man aus dem vom *d*-Valeraldehyd aus erhaltenen synthetischen Produkt einen Körper, der im Schmelzpunkt, in seiner Löslichkeit, seiner optischen Drehung ebenso wie in seinen sonstigen Eigenschaften genau übereinstimmt mit der aus dem natürlichen Isoleucin durch Behandlung mit Barytwasser und nachfolgende Vergärung dargestellten Aminosäure. Das reine Allo-Isoleucin sieht dem natürlichen Isoleucin äußerlich und in seiner Kristallform ungemein ähnlich. Die Löslichkeit beider Körper und ihrer Salze, besonders auch der Kupfersalze in Methyl- und Äthylalkohol, ist fast genau die gleiche. Dagegen ist ihr optisches Drehungsvermögen ein wesentlich verschiedenes. Während das *d*-Isoleucin in wäßriger und salzsaurer Lösung rechts dreht, zeigt das Allo-Isoleucin in beiden Lösungen Linksdrehung, und zwar besitzt merkwürdigerweise das Allo-Isoleucin in Salzsäure genau dieselbe Drehungsgröße, nämlich  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -36.95^{\circ}$ , wie das *d*-Isoleucin nach der entgegengesetzten Richtung, dreht aber in wäßriger Lösung ungefähr  $5^{\circ}$  höher wie dieses, nämlich  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -14.4^{\circ}$ . Sehr markant ist der Unterschied beider Isomeren im Geschmack. Wie schon früher mitgeteilt, schmeckt *d*-Isoleucin deutlich bitter. Dagegen besitzt Allo-Isoleucin einen süßen Geschmack. Es zeigen sich hier also infolge einer sterischen Umlagerung am  $\alpha$ -Kohlenstoffatom der Aminosäure ähnliche Geschmacksveränderungen, wie sie schon E. Fischer und Warburg<sup>1)</sup> am *d*- und *l*-Leucin, sowie E. Fischer<sup>2)</sup> am *d*- und *l*-Valin beobachtet haben.

Der bei den Vergärungen stets in der Menge ungefähr entsprechend der verschwundenen Aminosäure nachgewiesene *d*-Amylalkohol deutete darauf hin, daß bei der Synthese neben Allo-Isoleucin eine gleiche Quantität *d*-Isoleucin entstanden ist, dessen Isolierung indes bisher noch nicht gelang. Ich hoffe, die Totalsynthese der natürlich vorkommenden Modifikation des Isoleucins durch ihre Abtrennung von der synthetisch nebenher gebildeten Allo-Form nach der Fischerschen Methode über die Benzoyl- oder Formylverbindungen und ihre Alkaloid-

<sup>1)</sup> Diese Berichte 38, 4005 [1905].    <sup>2)</sup> Diese Berichte 39, 2320 [1906].



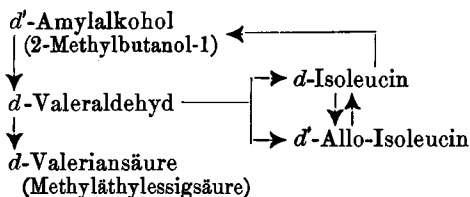
salze erreichen zu können. Durch die vollständige Synthese wird sich dann auch die Frage entscheiden lassen, ob das aus den Melasse-rückständen isolierte, bisher als reinstes beschriebene Isoleucin wirklich in seiner ursprünglichen, natürlich vorkommenden Form vorliegt. Bisher habe ich zwar stets aus Strontianmelasseschlempen der verschiedensten Herkunft Isoleucin von genau gleicher Drehung und genau übereinstimmenden Eigenschaften in allen seinen Derivaten gewinnen können. Man wird indes angesichts der oben neu mitgeteilten Tatsachen, solange nicht die Totalsynthese des *d*-Isoleucins erfolgt ist, immerhin die Möglichkeit nicht aus dem Auge lassen dürfen, daß die alkalischen Zuckersäfte im Verlaufe des Fabrikbetriebes vielleicht eine minimale partielle Umlagerung des *d*-Isoleucins in Allo-Isoleucin bewirkt haben, wodurch notwendig eine Verminderung der ursprünglichen Drehung der natürlichen Aminosäure eintreten müßte.

Was die Nomenklaturfrage anbetrifft, so möchte ich auch jetzt nach Erkenntnis der Konstitution den zuerst gegebenen Namen »Isoleucin« für die  $\alpha$ -Amino-methyläthylpropionsäure zum Unterschied vom Leucin, der  $\alpha$ -Amino-isobutylessigsäure, fernerhin beibehalten, einmal der Kürze wegen und dann, weil sich diese Bezeichnung, besonders auch in der physiologischen Chemie, bereits allgemein eingebürgert hat. Für das natürlich vorkommende, in wäßriger Lösung rechtsdrehende Isoleucin wäre dann der früher von mir vorgeschlagene genauere Name *d*-Isoleucin in Analogie zu dem natürlichen, in Wasser linksdrehenden *l*-Leucin ebenfalls weiter zu führen. Da das *d*-Isoleucin als die Muttersubstanz einer Reihe natürlicher und synthetischer, optisch-aktiver Verbindungen aufgefaßt werden kann, so wird man diesen zweckmäßig, um ihren sterischen Zusammenhang genauer zum Ausdruck zu bringen, den Buchstaben *d*- vorsetzen. Diese Bezeichnung würde auch sehr gut in den Rahmen des bisherigen Systems passen, da W. Marckwald<sup>1)</sup> den natürlich vorkommenden linksdrehenden Amylalkohol bereits *d*-Amylalkohol wegen seiner Beziehungen zur *d*-Valeriansäure genannt hat. Ähnlich möchte ich dann den durch sterische Umlagerung am  $\alpha$ -Kohlenstoffatom aus dem *d*-Isoleucin erhaltenen Körper, der sich ebenfalls bei der Synthese aus dem *d*-Amylalkohol bildet, genauer mit dem Namen *d*-Allo-Isoleucin bezeichnen, wofür man auch, um hervorzuheben, daß die Aminosäure im Gegensatz zu ihrer Konfiguration Linksdrehung besitzt, nach dem neueren Vorschlag E. Fischers<sup>2)</sup> den deutlicheren Ausdruck *d'*-Allo-Isoleucin wählen kann. Demnach würde sich für die Darstellung des

<sup>1)</sup> Diese Berichte **35**, 1599 [1902].

<sup>2)</sup> Diese Berichte **40**, 102 [1907].

Zusammenhangs der sich aus dem *d*-Isoleucin bzw. *d*-Amylalkohol ableitenden Verbindungen folgendes Schema ergeben:



Schließlich sei noch besonders betont, daß das Isoleucin die erste bisher mit Sicherheit bekannt gewordene natürliche Aminosäure mit zwei asymmetrischen Kohlenstoffatomen ist, von denen das eine durch Verzweigung der Kohlenstoffkette gebildet wird. Diese eigentümliche Konfiguration verbürgt im Gegensatz zu allen bis jetzt untersuchten Aminosäuren aus Eiweiß, die ihre molekulare Asymmetrie stets dem Ersatz eines Wasserstoffatoms durch die Amido- oder Hydroxylgruppe verdanken, eine gewisse Beständigkeit der optischen Aktivität des Isoleucins in allen seinen Derivaten ebenso wie in seinen Abbauprodukten. Ich habe daher schon gelegentlich der ersten Aufklärung seiner Konstitution nachdrücklich darauf hingewiesen, daß außer dem *d*-Amylalkohol sicher noch viele andere optisch-aktive Verbindungen in der Natur vom *d*-Isoleucin herzuleiten sind<sup>1)</sup>. So enthalten jedenfalls alle Substanzen, von denen man bisher annimmt, daß sie aus dem Leucin stammen, auch die entsprechenden, durch gleichzeitigen Abbau des Isoleucins entstandenen optisch-aktiven Körper, wenn auch hierüber noch wenig Beobachtungsmaterial vorliegt. Hierzu kann man u. a. manche bei verschiedenen Gärungsvorgängen auftretende Verbindungen rechnen, wie den Valeraldehyd und die Valeriansäure, die höchstwahrscheinlich aus dem Leucin und dem Isoleucin hervorgehen<sup>2)</sup> und daher auch wohl immer vom *d*-Valeraldehyd und der *d*-Valeriansäure begleitet sind. Aus ähnlichen Gründen ist sicher auch dem Amylamin der Fäulnis, dessen Entstehung durch Kohlensäureabspaltung aus dem Leucin schon A. Müller<sup>3)</sup> in Betracht zog, stets aktives Amylamin beigemischt. Für die Gärungs-Caprone Säure hat man bisher fast allgemein eine normale Struktur angenommen. Doch findet man bereits für die Caprone Säure des Fuselöls aus Runkelrübenmelasse die Angabe, daß sie mit der Isobutyllessigsäure identisch ist<sup>4)</sup>, und eine

1) F. Ehrlich, Vortrag auf der 77. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte in Meran, 26. Sept. 1905. Autoreferat Chemiker-Ztg. 1905, 1044.

2) F. Ehrlich, diese Berichte 40, 1046 [1907].

3) Jahresber. f. Chem. 1857, 403.

4) Müller, Jahresber. f. Chem. 1852, 499.

gleiche Konstitution schreibt man den aus Kuh-<sup>1)</sup> und Cocosbutter<sup>2)</sup>, sowie aus manchen Blüten<sup>3)</sup> und Früchten<sup>4)</sup> isolierten Capronsäuren zu. Vielleicht entstehen alle diese Säuren nicht, wie man bisher meist vermutete, aus dem Zucker, sondern ähnlich, wie es für das Fuselöl bewiesen ist, aus Aminosäuren durch einen bestimmten Desamidierungsprozeß. Dann wäre die in der Natur vorkommende Capronsäure nicht die normale, sondern ein aus Leucin und Isoleucin herkommendes Gemisch von inaktiver Dimethylbuttersäure und aktiver Methyläthylpropionsäure, was sehr wahrscheinlich ist, da man schon längst das Auftreten von Fettsäuren bei bakterieller Eiweißzersetzung beobachtet und dabei z. B. neben Capronsäure Leucin gefunden hat<sup>5)</sup>, und da neuerdings C. Neuberg<sup>6)</sup> aus Fettsäuren, die nach dem Verfahren von Salkowski aus gefaultem Casein und Leim hergestellt waren, rechtsdrehende Capronsäure abscheiden konnte, an deren Herkunft aus dem Isoleucin kaum ein Zweifel mehr möglich ist.

### Experimenteller Teil.

#### *d*-Amylamin aus *d*-Isoleucin.

12 g reines *d*-Isoleucin aus Strontianmelasseschlempe vom Drehungsvermögen  $[\alpha]_D^{20} = +36.8^\circ$  in 20-prozentiger Salzsäure wurden in einem Fraktionierkölbchen vorsichtig mit kleiner Flamme direkt erhitzt, so daß nur geringe Sublimation eintrat. Bei ungefähr  $140^\circ$  begann unter Kohlensäureentwicklung die Abspaltung eines farblosen Öls von eigentümlich basischem Geruch, dessen Hauptmenge gelblich gefärbt zwischen  $200\text{--}220^\circ$  überging. Das in einer Menge von 8 g erhaltene Destillat wurde nach Zusatz von Natronlauge mit Wasserdampf destilliert. Die wäßrige Lösung des Amins gab, mit Salzsäure angesäuert und zur Trockne verdampft, einen krystallinischen Rückstand, der sich glatt in kaltem, absolutem Alkohol löste. Aus dem salzsauren Salz wurde die Base mit Kalihydrat frei gemacht, abgehoben, erst kalt, später siedend mit Ätzkali entwässert und durch zweimalige Destillation über Natrium gereinigt.

Das in Form eines farblosen, scharf ammoniakalisch riechenden Öls gewonnene aktive Amylamin sott unter 762 mm Druck bei  $94\text{--}96^\circ$ .

1) Chevreul, *Recherches des corps gras* **1823**, 134.

2) Fehling, *Ann. d. Chem.* **53**, 406.

3) Chautard, *Compt. rend.* **58**, 639.

4) Béchamp, *Ann. d. Chem.* **130**, 364. Vergl. auch Beilstein, 3. Aufl., 1. Bd. S. 432.

5) O. Emmerling, diese *Berichte* **30**, 1863 [1897].

6) *Biochem. Ztschr.* **1**, 368 [1906].

Reinausbeute 5 g. Sein spezifisches Gewicht betrug  $d^{17.5} = 0.7542$ . Im 2-dm-Rohr drehte die Base, sofort nach der Destillation beobachtet, bei  $22^\circ$  im Natriumlicht  $0.96^\circ$  nach links. Folglich  $[\alpha]_D^{22} = -2.56^\circ$ . Da Marckwald<sup>1)</sup> für das aus *d*-Amylalkohol gewonnene, bei  $95.5-96^\circ$  siedende *d*-Amylamin ein spezifisches Gewicht von  $d_4^{25} = 0.7505$  und eine spezifische Drehung von  $[\alpha]_D^{25} = -5.86^\circ$  fand, enthält also das aus *d*-Isoleucin abgespaltene aktive Amylamin ca. 56 % des Racemkörpers beigemischt.

Zur Analyse gelangte das durch zweimalige Fraktionierung gereinigte Amylamin direkt.

0.1587 g Sbst.: 0.3975 g CO<sub>2</sub>, 0.2157 g H<sub>2</sub>O. — 0.1687 g Sbst.: 24.4 ccm N ( $23^\circ$ , 762 mm).

C<sub>5</sub>H<sub>13</sub>N. Ber. C 68.96, H 14.94, N 16.09.

Gef. » 68.32, » 15.21, » 16.47.

Das reine Amylamin aus Isoleucin gibt mit Nebblers Reagens eine weiße, emulsionsartige Fällung, die bei längerem Stehen und Reiben in glänzende, farblose Kryställchen übergeht.

Das Platinchlorid-Doppelsalz krystallisiert in goldgelben, rhombisch geformten Blättchen, die, ohne zu schmelzen, bei  $240^\circ$  sich unter Schwärzung zersetzen.

0.3463 g Sbst.: 0.1151 g Pt.

(C<sub>5</sub>H<sub>13</sub>N)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>PtCl<sub>6</sub>. Ber. Pt 33.39. Gef. Pt 33.24.

Das schwefelsaure *d*-Amylamin aus *d*-Isoleucin durch genaue Neutralisation der Base mit verdünnter Schwefelsäure gegen Methylorange und Eindampfen der Lösung erhalten, krystallisiert in glänzenden, farblosen Blättchen, die in Wasser leicht, in Alkohol schwerer löslich und an der Luft beständig sind. Im offenen Rohr erhitzt, beginnt das Salz bei  $260^\circ$  sich zu bräunen und zersetzt sich, ohne zu schmelzen, gegen  $295^\circ$ .

0.1982 g Sbst.: 0.1715 g BaSO<sub>4</sub>.

(C<sub>5</sub>H<sub>13</sub>N)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Ber. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 36.03. Gef. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 36.41.

Das salzsaure *d*-Amylamin aus *d*-Isoleucin beim Verdampfen der salzsauren Lösung der Base als weiße Krystallmasse erhalten, erwies sich als äußerst hygroskopisch. Bei  $100^\circ$  getrocknet, schmolz es bei  $174-175^\circ$  (nach Marckwald bei  $176^\circ$ ). Eine 50-prozentige Lösung des Salzes zeigte, im 0.5-dm-Rohr beobachtet, keine Spur eines Drehungsvermögens. Die daraus in üblicher Weise isolierte Base drehte dagegen im 0.5-dm-Rohr wieder  $\alpha_D^{20} = -0.95^\circ$ , wie das ähnlich auch Marckwald beobachtet hat.

1) Diese Berichte **37**, 1048 [1904].

## Iso-leucinimid.

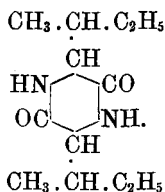
(Iso-3.6-Diisobutyl-2.5-diketopiperazin.)

Bei der trocknen Destillation des *d*-Isoleucins hinterblieb nach der Abspaltung des Amylamins stets eine gelb- bis dunkelbraun gefärbte Flüssigkeit, die scheinbar unzersetzt gegen 320° siedete und beim Abkühlen zu einer strahligen Krystallmasse erstarrte. Diese ließ sich durch Auswaschen mit Äther von den färbenden Verunreinigungen befreien. Bei der oben beschriebenen Destillation wurden so aus 12 g Isoleucin 2.3 g fast rein weiße, spezifisch sehr leichte Krystallflocken erhalten.

Die Substanz krystallisiert aus Alkohol in feinen, farblosen Nadelchen, die aus der Lösung in kugelförmigen Aggregaten anschießen und beim Trocknen sich filzähnlich zusammenballen. Im offenen oder geschlossenen Röhrchen erhitzt, sintert der Körper von 275° an und schmilzt bei 280—281°, wobei er sich gelbbraun färbt.

Die alkoholische Lösung der Substanz dreht schwach rechts.

Ihre Analysen und Molekulargewichtsbestimmung deuten auf die Zusammensetzung eines dem Leucinimid isomeren Isoleucinimids von der Formel



Da das Isoleucinimid vier asymmetrische Kohlenstoffatome besitzt, so ist besonders angesichts der hohen Abspaltungstemperatur aus dem Isoleucin anzunehmen, daß die hier beschriebene Verbindung ein Gemisch verschiedener Stereoisomeren des Isoleucinimids darstellt.

Zur Analyse wurde die zweimal aus Alkohol umkrystallisierte Substanz benutzt.

0.1646 g Sbst.: 0.1440 g H<sub>2</sub>O, 0.3850 g CO<sub>2</sub>. — 0.1727 g Sbst.: 18.4 ccm N (21°, 761 mm).

C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 63.72, H 9.73, N 12.39.

Gef. » 63.80, » 9.79, » 12.23.

Molekulargewichtsbestimmung nach der Landsbergerschen Siedemethode. 0.2160 g Sbst., in 8.78 g Alkohol gelöst: Siedepunktserhöhung 0.130°

(C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NO)<sub>2</sub>. Ber. 226. Gef. 212.

Das Isoleucinimid ist in Wasser, Äther, Schwefelkohlenstoff und Ligroin fast unlöslich. Es löst sich leicht in Eisessig, Methyl-, Äthyl- und Amylalkohol und zunehmend schwerer in Benzol, Toluol, Aceton

und Essigester. Von Chloroform wird es sehr leicht aufgenommen. Von kalter, konzentrierter Schwefelsäure wird die Substanz schnell gelöst und ist daraus durch Wasser wieder unverändert fällbar. Auch durch kurzes Kochen mit konzentrierter Salpeter- oder Salzsäure wird die schwer benetzbare Verbindung nicht angegriffen.

Kocht man dagegen Isoleucinimid längere Zeit mit Salzsäure, so geht die Substanz allmählich in Lösung und krystallisiert schließlich beim Erkalten derselben nicht mehr aus. Nach Entfernung der überschüssigen Salzsäure durch Verdampfen und der gebundenen mit Bleioxyd und Fällung des gelösten Bleis mit Schwefelwasserstoff wurde beim Verdampfen der Lösung eine in Wasser leicht lösliche Aminosäure erhalten, die aus Alkohol in Nadelchen krystallisiert. Die bisher nur in geringen Mengen gewonnene, nicht weiter untersuchte Verbindung schmilzt im geschlossenen Rohr bei 256—257° und bildet ein in kaltem Methylalkohol sehr leicht lösliches, undeutlich krystallisierendes Kupfersalz. Sie stellt wahrscheinlich ein Gemisch dem Leucylleucin isomerer Isoleucylisoleucine dar.

#### *d*-Amylalkohol aus *d*-Isoleucin.

6 g reines *d*-Isoleucin wurden zusammen mit 300 g Rohrzucker in 2½ l Wasser heiß gelöst und in die abgekühlte Lösung 200 g frische, obergärige Reinzucht-Preßhefe eingetragen. Die Gärung setzte sehr heftig ein und war, wie der negative Ausfall der Naphtholreaktion zeigte, bereits in einem Tage vollständig beendet. Die von der Hefe abfiltrierte Lösung zeigte beim Aufkochen starken Amylgeruch. Es wurden daraus ungefähr 1½ l Flüssigkeit abdestilliert. Aus dem Destillat ließ sich mit Pottasche schwach gelbgefärbter Alkohol abscheiden, der zur möglichst vollständigen Entwässerung längere Zeit mit überschüssigem, wasserfreiem Kaliumcarbonat behandelt wurde. Auf diese Weise waren 132.2 g schwach links drehender Alkohol zu gewinnen von  $\alpha_D^{20} = -0.17^\circ$  ( $l = 2$ ). Dieser Alkohol wurde zunächst unter Anwendung des von E. Marckwald konstruierten Siedeaufsatzes vorsichtig auf ein kleines Volumen konzentriert. Die dabei in einer Menge von 13.4 g zurückbleibende alkoholische, gelbliche, trübe Flüssigkeit klärte sich nach einigem Stehen und zeigte dann im 2-dm-Rohr eine Drehung von  $\alpha_D^{22} = -1.58^\circ$ . Aus dieser Drehung berechnete sich unter Zugrundelegung der von W. Marckwald<sup>1)</sup> für reinen *d*-Amylalkohol gefundenen Werte  $\alpha_D = -9.62^\circ$  ( $l = 2$ ) der Gehalt der alkoholischen Lösung an aktivem Amylalkohol auf 2.2 g.

<sup>1)</sup> Diese Berichte **34**, 490 [1901].

Die alkoholische Flüssigkeit (13.4 g) wurde nochmals mit trockenem Kaliumcarbonat behandelt und nunmehr aus einem kleinen Fraktionierkölbchen ohne Siedeaufsatz langsam destilliert. Die Hauptmenge ging zwischen 78—90° über. Zwischen 90° und 128° wurde eine besondere Fraktion aufgefangen, deren letzte Tropfen scharf den Siedepunkt des *d*-Amylalkohols bei 128° unter 760 mm Barometerstand zeigten. Die Menge der Fraktion 90—128° betrug 2.6 g. Sie stellte eine farblose Flüssigkeit vom typischen Geruch des aktiven Amylalkohols dar, die im 25-mm-Rohr  $\alpha_D^{20} = -0.55^\circ$  drehte, demnach also aus ungefähr 45-prozentigem *d*-Amylalkohol bestand. Das gesammelte Destillat von 78—128° wog 12.6 g und zeigte im 2-dm-Rohr  $\alpha_D = -1.22^\circ$ , so daß also aus der Drehung berechnet insgesamt 1.6 g *d*-Amylalkohol überdestilliert waren.

Da eine weitere Reinigung der geringen Substanzmenge durch Fraktionierung nicht ausführbar war, wurde ein kleiner Teil des möglichst vom Äthylalkohol befreiten aktiven Amylalkohols durch Oxydation in die *d*-Methyläthyllessigsäure übergeführt und das Silbersalz dieser Säure dargestellt und analysiert.

Zu diesem Zweck wurde ungefähr 1 g der Flüssigkeit, deren Siedepunkt nahe an 128° lag, zunächst einige Zeit mit einer Lösung von 3 g Natriumbichromat und 4 g Schwefelsäure in 50 ccm Wasser geschüttelt und darauf das Ganze 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die so erhaltene, grün gefärbte Lösung wurde dann mit Wasserdampf destilliert, das saure Destillat mit Natronlauge alkalisch gemacht, kurze Zeit gekocht, angesäuert und mit Äther extrahiert. Der Ätherextrakt (ca. 25 ccm) zeigte deutliche Rechtsdrehung, entsprechend der Drehungsrichtung der *d*-Methyläthyllessigsäure<sup>1)</sup>. Der Drehungswinkel betrug  $\alpha_D = +0.45^\circ$  für  $l = 2$ . Beim Verdunsten des Äthers hinterblieb eine saure Flüssigkeit vom charakteristischen Geruch der Valeriansäure. Die Analyse des daraus in üblicher Weise hergestellten und im Vakuum über Schwefelsäure getrockneten Silbersalzes gab auf Valeriansäure stimmende Zahlen.

0.3994 g Sbst.: 0.2057 g Ag.

$C_5H_9O_2Ag$ . Ber. Ag 51.67. Gef. Ag 51.50.

Schließlich wurde noch versucht, das übrigbleibende Gemisch von aktivem Amylalkohol und Äthylalkohol mittels der Phenylcarbaminsäureester zu trennen, nachdem ein Vorversuch ergeben hatte, daß Phenylcarbaminsäure-*d*-amylester sich leichter in Ligroin löst als der entsprechende Äthylester. Es wurde indes bei Behandlung des Gemisches mit der ungefähr berechneten Menge Phenylisocyanat und

<sup>1)</sup> W. Marckwald, diese Berichte **32**, 1089 [1899]; **37**, 1045 [1904].

schneller Extraktion der entstandenen Krystallmasse mit Ligroin nur ein gelblicher Sirup erhalten, der auch bei starker Abkühlung und selbst nach dem Impfen bisher nicht krystallisierte. Bemerkenswert ist aber, daß der Sirup in Chloroform gelöst deutliche Rechtsdrehung zeigte. Sein spezifisches Drehungsvermögen betrug  $[\alpha]_D = + 2.2^\circ$  ( $a = 11$ ), während Marckwald<sup>1)</sup> für reinen, bei  $30^\circ$  schmelzenden Phenylcarbaminsäure-*d*-amylester in 15-prozentiger Chloroformlösung  $[\alpha]_D = + 6.6^\circ$  beobachtete.

Durch einen Parallelversuch war im übrigen festgestellt worden, daß beim Vergären von 10 g *rac.*-Leucin mit 300 g Zucker und 200 g Hefe in der oben angegebenen Weise nur Amylalkohol zu gewinnen ist, der sich optisch vollkommen inaktiv zeigt<sup>2)</sup>.

#### *d*-Allo-Isoleucin aus *d*-Isoleucin.

5 g reines *d*-Isoleucin wurden in  $\frac{1}{2}$  l heiß gesättigter Barytlösung eingetragen und die Flüssigkeit 20 Stunden im Autoklaven auf  $180^\circ$  erhitzt. Nach Ausfällen des Baryts mit Schwefelsäure und Eindampfen der neutralen, schwach linksdrehenden Flüssigkeit hinterblieb ein fast rein weißer Rückstand, der beim Umkrystallisieren aus Alkohol unter Zusatz von Wasser die Aminosäure äußerlich unverändert zurücklieferte. Während indes *d*-Isoleucin im geschlossenen Rohr bei  $280^\circ$  schmilzt, zeigte die wiedergewonnene Substanz den niedrigeren Schmelzpunkt von  $270$ — $271^\circ$  und drehte im Gegensatz zur ursprünglichen Aminosäure in wäßriger Lösung sehr schwach links<sup>3)</sup>, nämlich in 4-prozentiger Lösung  $\alpha_D = - 0.10^\circ$  ( $l = 2$ ). Ihre Löslichkeit in Wasser von  $20^\circ$  betrug 1 : 24.96.

ca. 4 g dieser Substanz wurden nochmals mit 20 g Barythydrat in 500 ccm Wasser 17 Stunden im Autoklaven auf  $160$ — $180^\circ$  erhitzt. Die nach Entfernung des Baryts aus der ebenfalls schwach linksdrehenden Lösung wieder isolierte Aminosäure zeigte genau die gleichen Eigenschaften wie oben beschrieben. Aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert, besaß sie den Schmp.  $271^\circ$ , der sich auch bei noch-

<sup>1)</sup> Diese Berichte **37**, 1049 [1904].

<sup>2)</sup> s. auch F. Fhrlich, diese Berichte **40**, 1027 [1907].

<sup>3)</sup> Bei den ersten, mit geringen Substanzmengen angestellten Versuchen waren nur optisch-inaktive Körper erhalten worden. Da die Konstitution des Isoleucins damals noch nicht bekannt war, wurde angenommen, daß man das Isoleucin ähnlich wie andere Aminosäuren durch Erhitzen mit Barytwasser racemisieren kann. Nach der jetzt gewonnenen Kenntnis seiner Konstitution und den obigen Versuchen ist die irrtümliche Mitteilung in meiner ersten Arbeit (diese Berichte **37**, 1827 [1904]), daß sich auf diesem Wege *d*-Isoleucin in *rac.*-Isoleucin überführen läßt, entsprechend zu berichtigen.



maligem Umlösen nicht änderte. Bei 20° löste sich 1 Teil derselben in 24.69 Teilen Wasser. Die einmal umkrystallisierte Substanz drehte ebenso wie vorher in 4.05-prozentiger, wäßriger Lösung im 2-dm-Rohr 0.10° nach links, woraus sich  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -1.23^{\circ}$  berechnet. In salzsaurer Lösung zeigte sie Rechtsdrehung und zwar betrug das spezifische Drehungsvermögen  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +4.41^{\circ}$  ( $p = 4.66$ ) in 20-prozentiger Salzsäure.

Die weitere Untersuchung ergab, daß ein Gemisch zweier Substanzen von verschiedener Drehung vorlag. Aus dem Filtrat der einmal gereinigten Aminosäure wurde z. B. eine Fraktion von gleichem Aussehen erhalten, die in salzsaurer Lösung ziemlich stark nach links drehte, nämlich  $[\alpha]_{\text{D}}^{16} = -13.0^{\circ}$  ( $c = 4.0$ ). Aus dem Filtrat dieser Fraktion ließ sich dagegen wieder eine Substanz von geringerer Drehung abscheiden, nämlich  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -8.5^{\circ}$  in 20-prozentiger Salzsäure. Doch gelang es trotz mehrfach durchgeführter fraktionierter Krystallisation nicht, Körper mit übereinstimmendem Drehungsvermögen zu isolieren.

Erst die Vergärung des Gemisches der Aminosäuren zeigte zu ihrer Trennung einen Weg, der es ermöglicht, das umgelagerte Isoleucin zu gewinnen und dabei gleichzeitig auch die selbst bei längerer Behandlung mit Baryt noch unveränderte Quantität *d*-Isoleucin durch Umwandlung in *d*-Amylalkohol nachzuweisen.

Nach vielfach angestellten Vorversuchen hat sich folgende Methode zur Reindarstellung des *d*-Allo-Isoleucins als die beste bewährt:

5 g reines *d*-Isoleucin wurden in  $\frac{1}{2}$  l Wasser gelöst und die Lösung nach Zusatz von 20 g krystallisiertem Barythydrat 20 Stunden im Autoklaven auf 180° erhitzt. Nach genauer Ausfällung des Baryts mit Schwefelsäure wird das klare, farblose Filtrat eingedampft. Die in einer Menge von 4.9 g wiedergewonnenen, fast rein weißen Krystallblättchen wurden ohne weitere Reinigung zusammen mit 200 g Zucker in 2 l Wasser gelöst und mit 100 g frischer, obergäriger Reinzucht-Preßhefe vergoren. Nach 2-tägiger Gärung ließ sich kein Zucker mehr in der Flüssigkeit nachweisen. Die Hefe wurde dann sofort abfiltriert, aus dem Filtrat der Alkohol abdestilliert, die zurückbleibende Lösung auf ein geringes Volumen eingekocht, heiß mit Tierkohle behandelt und schließlich auf dem Wasserbad vorsichtig bis zur beginnenden Krystallisation eingengt. Der längere Zeit kühl aufbewahrte, krystallinisch erstarrte Sirup gab nach scharfem Absaugen und Abpressen des Rückstands auf Ton ein nur wenig gefärbtes Krystallmehl, aus dem durch zweimaliges Umkrystallisieren aus heißem Alkohol unter tropfenweisem Zusatz von Wasser 1.8 g reines *d*-Allo-Isoleucin zu gewinnen war. Zur Analyse wurde die Substanz bei 110° getrocknet.

0.1321 g Sbst.: 0.2666 g CO<sub>2</sub>, 0.1168 g H<sub>2</sub>O. — 0.1380 g Sbst.: 12.9 ccm N (22°, 764 mm).

C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>. Ber. C 54.96, H 9.92, N 10.69.

Gef. » 55.05, » 9.90, » 10.72.

Das *d*-Allo-Isoleucin unterscheidet sich äußerlich nicht im geringsten vom *d*-Isoleucin. Ähnlich wie dieses krystallisiert es in prächtig glänzenden, farblosen, dünnen Blättchen, die unter dem Mikroskop als unregelmäßig an einem oder beiden Enden keilförmig zugespitzte oder schiefwinklig abgeschnittene Stäbchen und Platten erscheinen. Die Substanz schmilzt, im geschlossenen Röhrchen schnell erhitzt, bei 280—281° unter Schäumen, also genau so wie *d*-Isoleucin.

Zur Bestimmung der Löslichkeit des *d*-Allo-Isoleucins in Wasser wurde die feingepulverte Aminosäure im Ostwaldschen Thermostaten 24 Stunden mit Wasser bei 20° geschüttelt. 9.7615 g Lösung enthielten 0.2855 g Substanz. 1 Teil *d*-Allo-Isoleucin löst sich also in 34.2 Teilen Wasser von 20°. Seine Löslichkeit ist demnach nur wenig geringer als die des *d*-Isoleucins, von dem 1 Teil zur Lösung 25.84 Teile Wasser von 15.5° erfordert.

Allen übrigen Lösungsmitteln gegenüber verhält sich das *d*-Allo-Isoleucin genau so wie das *d*-Isoleucin. Das Gleiche gilt auch für sein Kupfersalz, das ebenso leicht von Methylalkohol und seinen Homologen aufgenommen wird und auch im übrigen dieselben Eigenschaften zeigt wie das *d*-Isoleucin-Kupfer.

Wesentliche Unterschiede beider Aminosäuren bestehen nur im optischen Drehungsvermögen. Während *d*-Isoleucin in wäßriger, salzsaurer und alkalischer Lösung rechts dreht, zeigt *d*-Allo-Isoleucin in allen diesen Flüssigkeiten Linksdrehung.

0.2855 g *d*-Allo-Isoleucin in Wasser gelöst. 9.7615 g Lösung. Prozentgehalt 2.92. Drehung im 2-dm-Rohr bei 20° im Natriumlicht —0.83°.

$$[\alpha]_D^{20} = -14.21^\circ \text{ (} d\text{-Isoleucin } [\alpha]_D^{20} = +9.74^\circ \text{)}.$$

0.4892 g *d*-Allo-Isoleucin in 20-prozentiger Salzsäure gelöst. 10.7097 g Lösung. Prozentgehalt 4.57. Spez. Gew. 1.094. Drehung im 2-dm-Rohr bei 20° im Natriumlicht —3.68°.

$$[\alpha]_D^{20} = -36.80^\circ \text{ (} d\text{-Isoleucin } [\alpha]_D^{20} = +36.80^\circ \text{)}.$$

Beinerkenswert ist der Unterschied der beiden Stereoisomeren im Geschmack. Während *d*-Isoleucin einen bitteren Geschmack besitzt, schmeckt *d*-Allo-Isoleucin deutlich süß.

Es wurde noch der bei der Vergärung erhaltene abdestillierte Spiritus auf aktiven Amylalkohol untersucht. Eine Fuselölbestimmung nach Röse ergab 1.53 % Fuselöl. Der Chloroformauszug zeigte schwache Linksdrehung. Da 95.4 g Äthylalkohol bei der Vergärung entstanden waren, hatten sich also gleichzeitig 1.46 g *d*-Amylalkohol gebildet. Daraus berechnet müssen ungefähr noch 2.2 g *d*-Isoleucin nach Behandlung der Aminosäure mit Barytwasser unverändert geblieben sein.

Aus dem übrigen, von der Vergärung herrührenden Destillat ließ sich außerdem ebenso, wie früher beschrieben, mit Kaliumcarbonat deutlich linksdrehender Alkohol abscheiden. Auf ungefähr 10 ccm konzentriert, drehte die alkoholische Flüssigkeit  $\alpha_D = -0.74^\circ$  für  $l = 2$ .

### Synthese des Isoleucins.

#### *d*-Valeraldehyd.

Als Ausgangsmaterial für die Synthese diente ein von Kahlbaum bezogener optisch-aktiver Amylalkohol, der im 2-dm-Rohr einen Drehungswinkel von  $\alpha_D = -8.94^\circ$  zeigte, demnach also zu ca. 93 % aus *d*-Amylalkohol bestand. Dieser Alkohol wurde zunächst zum entsprechenden Aldehyd, dem *d*-Valeraldehyd, oxydiert.

Der Methyläthylacetaldehyd (2-Methylbutanal-1) von der Formel  $\text{C}_2\text{H}_5 \text{>}^* \text{CH} \cdot \text{CHO}$  ist rein bisher nur in der Racemform bekannt. Alle sonst beschriebenen optisch aktiven Valeraldehyde waren, wie aus der Drehung zu folgern ist, lediglich Gemische von viel inaktivem Dimethylpropionaldehyd neben wenig *d*-Methyläthylacetaldehyd, die man erhält, wenn man den gewöhnlichen, 10—20 % *d*-Amylalkohol einschließenden, inaktiven Isoamylalkohol der Oxydation unterwirft<sup>1)</sup>. Auch der nach dem folgenden Verfahren dargestellte, stark rechtsdrehende Valeraldehyd kann im günstigsten Falle nur aus 93-prozentigem *d*-Valeraldehyd bestanden haben. Sein geringer Gehalt an inaktivem Isovaleraldehyd war indes auf die Synthese des Isoleucins ohne Einfluß, da späterhin eine Abtrennung der Isoleucine von dem nebenher gebildeten Leucin über die methylalkohollöslichen Kupfersalze vorgenommen wurde.

Nachstehende Darstellungsmethode ergab bisher die günstigsten Ausbeuten an optisch-aktivem Valeraldehyd.

In einem mit Tropftrichter und absteigendem Kühler verbundenen geräumigen Kochkolben wurden 100 g Kahlbaumscher optisch-aktiver Amylalkohol bis zum beginnenden Sieden erhitzt. In die siedende Flüssigkeit ließ

<sup>1)</sup> Hierunter fällt auch der von Bémont (Compt. rend. **133**, 1222 [1901]) beschriebene aktive Valeraldehyd, den Etard und Vila (Compt. rend. **134**, 111 [1902]) später für die Synthese eines isomeren Leucins benutzten. Bémont war von Amylalkohol mit dem Drehungsvermögen  $[\alpha]_D = -0.9 - 1.5^\circ$  ausgegangen und hatte bei dessen Oxydation Valeraldehyd von der minimalen Drehung  $[\alpha]_D = +0.3^\circ$  erhalten. Das aus diesem Aldehyd von Etard und Vila gewonnene »isomere Leucin« kann also, wie auch aus seiner Beschreibung hervorgeht, nur ein durch Spuren Isoleucin verunreinigtes gewöhnliches Leucin gewesen sein. Vergl. auch W. Marckwald, diese Berichte **35**, 1595 [1902].

man vorsichtig eine abgekühlte Lösung von 57 g Natriumbichromat und 80 g konzentrierter Schwefelsäure in 300 ccm Wasser langsam innerhalb  $\frac{3}{4}$  Stunden eintropfen und hielt dabei das Reaktionsgemisch andauernd in gelindem Kochen. Nach beendeter Eintragung wurde das Sieden noch ungefähr  $\frac{1}{2}$  Stunde fortgesetzt, wobei sich häufig auf der Oberfläche der grüngefärbten Flüssigkeit eine dunkelgrüne, ätherlösliche, organische Chromverbindung abschied, die beim Abkühlen lackartig erstarrte. Das von Beginn der Reaktion an übergehende Destillat, bestehend aus Valeraldehyd, Ester, Acetal und unverändertem Amylalkohol wurde direkt in konzentrierter Natriumbisulfitlösung unter häufigem Schütteln der Vorlage aufgefangen. Durch Abheben und Ausäthern der wäßrigen Flüssigkeit ließen sich jedesmal daraus 70—75 g in Bisulfit unlöslicher Anteil wiedergewinnen, der späterhin nochmals für die Oxydation zur Verwendung kam. Die rechtsdrehende Bisulfitlösung wurde zunächst zur Verdampfung des Äthers auf dem Wasserbade erwärmt, wieder abgekühlt und, da die Bisulfitverbindung des Aldehyds sich in Wasser sehr leicht löslich erwies, direkt nach Zusatz von überschüssigem Natriumbicarbonat und Wasser so lange destilliert, bis der frei gewordene Valeraldehyd vollständig übergetrieben war. Der abgehobene und mit Chlorcalcium oder Natriumsulfat getrocknete Aldehyd wurde durch zweimalige fraktionierte Destillation, am besten im Kohlensäurestrom, gereinigt. Er ging zwischen 90—92° unter 760 mm Druck in Form einer wasserklaren, stark lichtbrechenden Flüssigkeit über, die konzentriert einen erstickenden Reiz auf die Schleimhäute ausübt, in Verdünnung dagegen einen angenehmen, an Mandeln und Heliotrop erinnernden Geruch besitzt. Die Ausbeute an reinem, optisch-aktivem Aldehyd betrug durchschnittlich 15 g; sie ließ sich bei zweimal wiederholter Oxydation der in Bisulfit unlöslich zurückbleibenden Flüssigkeit auf ungefähr 25% der Menge des angewandten Amylalkohols steigern.

Der frisch destillierte Valeraldehyd zeigte, im 0.5-dm-Rohr beobachtet, einen Drehungswinkel von  $\alpha_D^{20} = +8.84^\circ$ . Seine Dichte wurde zu  $d^{20} = 0.8068$  ermittelt; als spezifisches Drehungsvermögen ergibt sich also  $[\alpha]_D^{20} = +21.91^\circ$ . Daraus würde sich nach der Mischungsregel für den reinen *d*-Valeraldehyd eine spezifische Drehung von  $[\alpha]_D^{20} = +23.56^\circ$  berechnen, da als Ausgangsmaterial 93-prozentiger aktiver Amylalkohol verwendet war. Doch verläuft die Oxydation des Amylalkohols derartig kompliziert, daß es sehr fraglich erscheint, ob in dem entstandenen Valeraldehyd wirklich dasselbe Mischungsverhältnis der aktiven und inaktiven Verbindung vorliegt, zumal eine wesentliche Verschiebung darin auch schon bei einfacheren Reaktionen stattfinden kann<sup>1)</sup>. Über die genaue Größe der spezifischen Drehung des *d*-Valeraldehyds wird also erst die Oxydation des reinen *d*-Amylalkohols entscheiden müssen.

<sup>1)</sup> W. Marckwald, diese Berichte **37**, 1051 [1904].

Scharf getrocknet und unter vollständigem Luftabschluß aufbewahrt, ist der optisch-aktive Valeraldehyd lange Zeit haltbar. An der Luft geht er indes sehr bald unter Abnahme der Drehung in die *d*-Valeriansäure über. Charakteristisch für die Schnelligkeit dieser Umwandlung ist folgender Versuch:

Frisch bereiteter und getrockneter Valeraldehyd von  $\alpha_D = + 8.26^\circ$  ( $l = 0.5$ ) wurde in einem gut verschlossenen Scheidetrichter aufbewahrt. Nach 8 Tagen betrug die Drehung  $\alpha_D = + 8.10^\circ$  ( $l = 0.5$ ). Darauf wurde der Aldehyd in ein kleines Becherglas übergefüllt, das nur mit einem Uhrglas bedeckt bei Zimmertemperatur stehen blieb. Die Drehung nahm schnell ab, und zwar betrug sie im 0.5-dm-Rohr

$$\text{nach 3 Tagen } \alpha_D = + 5.68^\circ,$$

$$\text{nach 8 Tagen } \alpha_D = + 5.57^\circ.$$

Die restierende Flüssigkeit roch auch nicht spurenweise nach Valeraldehyd, sondern zeigte den stark sauren typischen Geruch der Valeriansäure. Sie war in Bisulfitlösung unlöslich, wurde dagegen von verdünnter Sodalösung leicht unter Kohlensäureentwicklung aufgenommen.

Es sei noch bemerkt, daß auch der für die Leucin-Synthese häufig benutzte »Valeraldehyd« des Handels stets deutliche Mengen *d*-Valeraldehyd enthält, was leicht erklärlich ist, da zu seiner Darstellung meist von der gewöhnlichen, aus Fuselöl erhaltenen, nicht weiter getrennten Mischung von Iso- und *d*-Amylalkohol ausgegangen wird. So zeigten zwei zu verschiedenen Zeiten von Kahlbaum bezogene Proben »Valeraldehyd« im 1-dcm-Rohr  $\alpha_D = + 2.82^\circ$  und  $+ 3.37^\circ$ , woraus sich unter Annahme der Drehung  $\alpha_D = + 17.68^\circ$  ( $l = 1$ ) für 93-prozentigen aktiven Aldehyd ein Gehalt von 14.8 resp. 17.7 % *d*-Valeraldehyd berechnen würde. Doch rührt ein Teil dieser Rechtsdrehung wahrscheinlich von *d*-Valeriansäure her, da auch der frisch bezogene Valeraldehyd (Kahlbaum) stets deutlich sauer reagiert und sich nicht vollständig in Bisulfit löst, so daß der wirkliche Gehalt dieser Präparate an optisch-aktiven Substanzen möglicherweise noch höher zu schätzen ist.

#### Synthese eines Gemisches von *d*-Isoleucin und *d*-Allo-Isoleucin.

15 g frisch bereiteter optisch-aktiver Valeraldehyd von  $\alpha_D^{20} = + 8.84$  ( $l = 0.5$ ) wurden in 200 ccm Äther gelöst in einem Schütteltrichter mit 12 g feingepulvertem Cyankalium und darauf tropfenweise unter häufigem Umschütteln und Kühlung mit 15 ccm Salzsäure vom spez

Gew. 1.19 versetzt<sup>1)</sup>. Die nach einigem Stehen vom Salzlückstand dekantierte, klare, ätherische Lösung hinterließ beim Verdunsten des Äthers im Vakuum ungefähr 22 g eines gelblichen, eigentümlich aromatisch riechenden Öls, das, mit 30 ccm von 10-prozentigem alkoholischem Ammoniak vermischt, drei Tage bei gewöhnlicher Temperatur stehen blieb. Darauf wurde die gelbgefärbte alkoholische Lösung unter Kühlung mit 100 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt, 24 Stunden sich selbst überlassen und nunmehr nach weiterem Zusatz von 200 ccm verdünnter Salzsäure auf dem Wasserbade zur Vertreibung der Hauptmenge des Alkohols erwärmt. Die nach 2 Stunden am Rückflußkühler erhitzte und dann wiederholt unter Zusatz von Wasser eingekochte salzsaure Flüssigkeit ergab nach Behandlung mit Tierkohle und vollständiger Verdampfung im Vakuum einen gelblichen Krystall-

<sup>1)</sup> Ein ähnliches, der alten Tiemannschen Vorschrift nachgebildetes Verfahren hat sich auch für die Gewinnung von *rac*-Leucin bewährt. Man erspart dabei die Darstellung wasserfreier Blausäure und erhält in guter Ausbeute nur schwach gefärbte Rohprodukte, die schon durch einmalige Krystallisation vollständig zu reinigen sind. Es wurden z. B. 100 g Valeraldehyd (Kahlbaum) in 1 l Äther gelöst mit 80 g feingepulvertem Cyankalium versetzt und in die Mischung unter Schütteln und Kühlung 96 ccm konzentrierte Salzsäure eingetropft. Nach 24-stündigem Stehen wurde die Ätherlösung abgegossen, im Vakuum bei 20° verdampft und das zurückbleibende Öl mit 220 ccm einer 10-prozentigen alkoholischen Lösung von Ammoniak versetzt. Diese Mischung blieb 4—5 Tage sich selbst überlassen oder wurde nach 1—2 Tagen 1—2 Stunden im Autoklaven auf 80—90° erhitzt. Die Verseifung geschah in der Weise, daß man zunächst in die meist nur schwach gelbe Reaktionsflüssigkeit 300 ccm konzentrierte Salzsäure unter Köhlen eintrug und nach einigem Stehen noch dasselbe Volumen verdünnte Salzsäure hinzufügte. Dann wurde die Mischung zur Vertreibung des Alkohols auf dem Wasserbade erwärmt, darauf zweimal unter Zusatz von Wasser auf direkter Flamme bis auf ein kleines Volumen eingekocht, heiß mit Tierkohle behandelt, filtriert, das klare Filtrat im Vakuum konzentriert und nach nochmaliger Aufnahme mit Wasser vollständig eingedampft. Die Lösung des zurückbleibenden Krystallbreis in wenig Wasser gab, vorsichtig mit Ammoniak versetzt, eine Abscheidung gelblich gefärbter Krystallblättchen, deren Menge trocken ca. 75 g betrug. Durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle ließen sich daraus bei vollständiger Aufarbeitung der Lösungen durchschnittlich 65 g *rac*-Leucin gewinnen.

Bei diesen Synthesen des *rac*-Leucins entsteht nun entsprechend dem Gehalt des Ausgangsmaterials an *d*-Valeraldehyd auch stets Isoleucin, das bekanntlich in Wasser zum Unterschied von *rac*-Leucin sehr leicht löslich ist und daher bei der Fällung mit Ammoniak meist nicht mit dem Leucin gewonnen wird, sondern gewöhnlich in den salmiakhaltigen Mutterlaugen verbleibt. Zu seiner Isolierung verfährt man am besten so, daß man nach

rückstand, der mehrmals mit kaltem absolutem Alkohol ausgezogen wurde. Der alkoholische Extrakt lieferte nach Vertreibung des Alkohols, Wiederaufnahme mit Wasser, Entfernung des Chlors durch Kochen mit Bleioxyd und des überschüssigen Bleis mit Schwefelwasserstoff beim Eintrocknen ungefähr 12 g fast rein weißes Rohprodukt der Leucine. Diese wurden in wäßriger Lösung mit überschüssigem Kupfercarbonat gekocht und die trocknen Kupfersalze erschöpfend mit Methylalkohol ausgelaugt. Aus dem Rückstand ließ sich noch ein Teil methylalkohollösliches Kupfersalz gewinnen, wenn derselbe mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die frei werdenden Aminosäuren wieder in die Kupfersalze verwandelt und diese trocken von neuem mit Methylalkohol behandelt wurden<sup>1)</sup>. Die nach zweimaliger Entmischung gesammelten Auszüge lieferten 10 g methylalkohollösliches Kupfersalz von der Zusammensetzung und den Eigenschaften des Isoleucin-Kupfers. Eine Probe des Salzes wurde aus Wasser umkristallisiert und nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure analysiert.

der vollständigen Abscheidung des *rac.*-Leucins aus der ursprünglichen Lösung das salmiakhaltige Filtrat mit überschüssiger Salzsäure versetzt und zur Trockne verdampft. Der trockne Rückstand wird mit einer Mischung von Alkohol und Äther ausgezogen und die Lösung im Vakuum verdampft. Die restierenden salzsauren Salze werden mit Wasser aufgenommen; die Lösung wird zur Entfernung des Chlors mit Bleicarbonat gekocht, das überschüssige Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt, das Filtrat eingedampft und der Rückstand aus verdünntem Alkohol umkristallisiert. Es wurden so in einem Falle aus 100 g Valeraldehyd (Kahlbaum) 3,5 g Aminosäure von allen Eigenschaften des oben beschriebenen Gemisches von *d*-Isoleucin und *d*-Allo-Isoleucin erhalten. Eine kalt gesättigte, wäßrige Lösung der Substanz drehte  $\alpha_D = -0.15^\circ$  ( $l = 2$ ), ihre spezifische Drehung in 20-prozentiger Salzsäure betrug  $[\alpha]_D^{20} = -4.5^\circ$ .

Da unter Umständen nach Fällung der Hauptmenge des Leucins mit Ammoniak beim Eindampfen der Mutterlauge auch ein Teil der nebenher entstandenen Isoleucine mitgerissen werden kann, so wird man zweckmäßig für die Reindarstellung des *rac.*-Leucins die sich später abscheidenden Präparate jedesmal auf einen etwaigen Gehalt an Isomeren untersuchen, indem man prüft, ob dieselben eine Drehung zeigen und methylalkohollösliche Kupfersalze einschließen.

<sup>1)</sup> Eine derartige Entmischung von Leucin und Isoleucin habe ich schon früher am Roh-Leucin aus Melasseschlempe durchgeführt (diese Berichte **37** 1809 [1904]). Man kann durch 3—4-malige Wiederholung der Operation an dem Roh-Leucin von Eiweißstoffen nicht nur fast das gesamte Isoleucin und Valin, sondern auch das Leucin in seiner reinen optisch-aktiven Form gewinnen was bisher auf anderem Wege nicht möglich war.

0.2265 g Sbst.: 0.0553 g CuO.

$C_{12}H_{24}N_2O_4$  Cu. Ber. Cu 19.65. Gef. Cu 19.50.

Die aus dem Kupfersalz in einer Menge von 7.5 g isolierte Aminosäure erwies sich in allen ihren Eigenschaften als ein Gemisch von *d*-Isoleucin und *d*-Allo-Isoleucin. Zur Analyse wurde die Substanz aus heißem Alkohol unter tropfenweisem Zusatz von Wasser umkrystallisiert und bei 110° getrocknet.

0.1602 g Sbst.: 0.3222 g CO<sub>2</sub>, 0.1440 g H<sub>2</sub>O. — 0.1617 g Sbst.: 14.8 ccm N (17°, 770 mm).

$C_6H_{13}NO_2$ . Ber. C 54.96, H 9.92, N 10.69.

Gef. » 54.86, » 10.06, » 10.82.

Die erste Fraktion des Körpers schmolz im geschlossenen Röhrchen bei 271°, die folgenden unregelmäßig bei 267—270°. Die einmal umkrystallisierte Substanz zeigte eine Löslichkeit in Wasser bei 20° von 1:21.03. Sie drehte in wäßriger und salzsaurer Lösung schwach nach links, und zwar betrug in 20-prozentiger Salzsäure  $[\alpha]_D^{20} = -10.66^\circ$  und in Wasser  $[\alpha]_D^{20} = -5.89^\circ$ . Bei nochmaligem Umlösen aus verdünntem Alkohol wurde eine Verbindung von gleichen physikalischen Konstanten erhalten: Schmp. 271°, Löslichkeit in Wasser von 20° 1:23.22, in 20-prozentiger Salzsäure  $[\alpha]_D^{20} = -10.42^\circ$ , in Wasser  $[\alpha]_D^{20} = -5.57^\circ$ .

Dagegen ließen sich aus den Mutterlaugen der ursprünglichen, einmal umkrystallisierten Substanz sukzessive niedriger und schließlich nach rechts drehende Fraktionen isolieren. So zeigte in 20-prozentiger Salzsäure die 2. Fraktion (Schmp. 267°)  $[\alpha]_D^{20} = -6.77^\circ$ , die 3. Fraktion  $[\alpha]_D^{20} = +1.77^\circ$  (Schmp. 269—270°).

Die Reingewinnung des *d*-Allo-Isoleucins und die Überführung des *d*-Isoleucins in *d*-Amylalkohol gelang endlich aus dem synthetischen Gemisch genau nach demselben Verfahren wie bei dem umgelagerten natürlichen *d*-Isoleucin.

#### Synthetisches *d*-Allo-Isoleucin.

5 g des synthetischen Isoleucins wurden zusammen mit 200 g Zucker in 2 l Leitungswasser gelöst und mit 100 g frischer, obergäriger Reinzucht-Preßhefe vergoren. Nach 2 Tagen war die Gärung beendet. Aus der von der Hefe abfiltrierten und zum Sirup eingedampften Lösung schieden sich nach einigem Stehen feinkörnige Krystalle ab, die nach dem Absaugen und Abpressen auf Ton bei zweimaligem Umkrystallisieren ungefähr 1.5 g reines *d*-Allo-Isoleucin lieferten. Die Substanz krystallisierte in glänzenden, dünnen Blättchen und



Stäbchen, die an beiden Enden unregelmäßig zugespitzt waren. Schmp. 280° unter Schäumen im zugeschmolzenen Röhrchen.

Der synthetisch gewonnene Körper zeigte sich in allen chemischen und physikalischen Eigenschaften mit dem oben beschriebenen, aus natürlichem *d*-Isoleucin erhaltenen identisch.

Für die Analyse wurde die Substanz bei 110° getrocknet.

0.2041 g Sbst.: 18.6 ccm N (17°, 774 mm).

$C_6H_{13}NO_2$ . Ber. N 10.69. Gef. N 10.83.

Drehung in wäßriger Lösung. 0.3053 g Sbst. in Wasser gelöst. Gewicht der Lösung 12.7704 g. Prozentgehalt 2.39. Drehung im 2-dm-Rohr bei 20° im Natriumlicht 0.69° nach links.

$$[\alpha]_D^{20} = -14.44^\circ.$$

Drehung in salzsaurer Lösung. 0.4224 g Sbst. in 20-prozentiger Salzsäure gelöst. Gewicht der Lösung 8.9954 g. Prozentgehalt 4.70. Spez. Gew. 1.094. Drehung im 2-dm-Rohr bei 20° im Natriumlicht 3.80° nach links.

$$[\alpha]_D^{20} = -36.95^\circ.$$

Der bei der Vergärung entstandene Alkohol wurde aus dem Destillat mit Pottasche abgetrennt und getrocknet. Bei der Fraktionierung der Hauptmenge des Äthylalkohols hinterblieb eine alkoholische Flüssigkeit (21 g), die deutlich links drehte. Ihr Drehungswinkel betrug  $\alpha_D = -0.65^\circ$  ( $l = 2$ ).

Die beobachtete Linksdrehung läßt auf einen wesentlichen Gehalt des Spiritus an *d*-Amylalkohol schließen. Daraus folgt, daß bei der Synthese aus *d*-Valeraldehyd sich neben *d*-Allo-Isoleucin auch beträchtliche Mengen *d*-Isoleucin gebildet haben.

Berlin N., Institut für Zuckerindustrie.

### 345. J. Popovici: Über *o*-(2.2)-Dinitro-benzoin.

[Aus dem Chem. Institut der Universität Bukarest.]

(Eingegangen am 6. Mai 1907.)

Die Umlagerung des Benzaldehyds zu Benzoin mittels Cyankalium erfolgt nach den Angaben von Zincke<sup>1)</sup> sehr leicht; die des substituierten *o*-Nitrobenzaldehyds läßt sich aber nach allen Versuchen nur unter Bedingungen bewirken, die viel von der Konzentration der Lösung, vom Erwärmen und von der Quantität des angewandten Cyankaliums abhängen.

Ähnliche Beobachtungen sind von Magnus Bösl<sup>2)</sup> bei der Darstellung des Cuminoins und Anisoins gemacht worden.

<sup>1)</sup> Ann. d. Chem. 198, 150.

<sup>2)</sup> Diese Berichte 14, 323 [1881].