

**368. Emil Abderhalden und Martin Kempe:
Synthese von Polypeptiden. XX¹⁾. Derivate des Tryptophans.**

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

(Eingegangen am 30. Mai 1907.)

Im Jahre 1901 ist es Hopkins und Cole²⁾ gelungen, unter den Abbauprodukten der Proteine eine Verbindung, das Tryptophan, in reinem Zustande darzustellen, der man schon lange auf der Spur war. Schon Tiedemann und Gmelin³⁾ geben an, daß Pankreassaft mit Chlorwasser Rotfärbung zeigt, und Claude Bernard⁴⁾ beschreibt dieselbe Reaktion bei der Untersuchung der Verdauungsprodukte des Caseins. Den Namen Tryptophan hat Neumeister⁵⁾ eingeführt, ohne daß es ihm und manchen anderen Forschern gelungen wäre, die Muttersubstanz dieser eigenartigen Farbenreaktion zu fassen. Die von Hopkins und Cole isolierte krystallisierte Substanz gibt nun alle diejenigen Reaktionen, die für die gesuchte Verbindung typisch sind. Sie hat die Zusammensetzung $C_{11}H_{12}N_2O_2$. Es ist bis jetzt noch nicht gelungen, die Konstitution des Tryptophans völlig aufzuklären. Hopkins und Cole⁶⁾ schlossen aus ihren Beobachtungen auf eine Skatolaminoessigsäure resp. eine Indolaminopropionsäure. Sie hatten gefunden, daß aus Tryptophan bei der Einwirkung von Fäulnisbakterien und ferner einer Reinkultur von *Bacterium coli* Indol, Skatol und die früher schon von E. und H. Salkowski⁷⁾ beschriebene Skatolcarbonsäure entstehen. Bei Anwendung von Rauschbrandbakterien erhielten die genannten Forscher bei Luftabschluß Indol und die von Nencki⁸⁾ aufgefundene Skatolessigsäure. Eine weitere Klärung

¹⁾ Die im hiesigen Institut ausgeführten Arbeiten über die synthetischen Polypeptide werden mit fortlaufenden Nummern bezeichnet, um ihre Zusammengehörigkeit auszudrücken. E. Fischer.

²⁾ F. G. Hopkins und S. W. Cole: A contribution to the chemistry of proteids. *Journ. of Physiol.* **27**, 418 [1901].

³⁾ Tiedemann und Gmelin: Die Verdauung nach Versuchen. Heidelberg und Leipzig (1826).

⁴⁾ Claude Bernard: Mémoire sur le pancréas. *Compt. rend. Suppl.* **1** [1855].

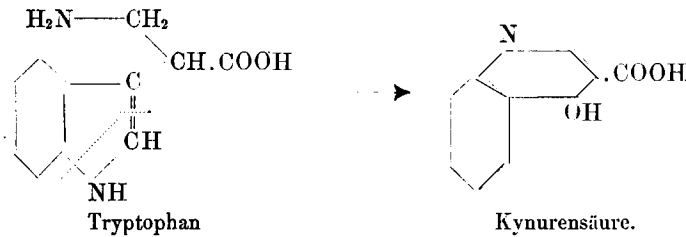
⁵⁾ R. Neumeister: Über die Reaktionen der Albumosen und Peptone, *Ztschr. für Biol.* **26**, 329 [1890].

⁶⁾ F. G. Hopkins und S. W. Cole: A contribution to the chemistry of proteids. II. *Journ. of Physiol.* **29**, 451 [1903].

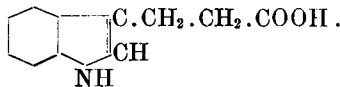
⁷⁾ E. Salkowski und H. Salkowski: Über die Skatol bildende Substanz. *Diese Berichte* **13**, 2217 [1880].

⁸⁾ M. Nencki: Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweißes durch anaerobe Spaltpilze. *Monatsh. für Chem.* **10**, 506 [1889].

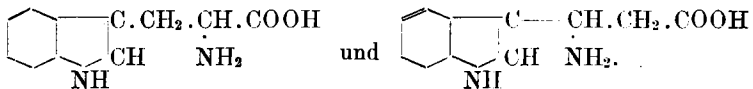
der Frage nach der Konstitution des Tryptophans verdanken wir den Untersuchungen Ellingers¹⁾. Zunächst stellte er fest, daß das Tryptophan zu einem schon von Liebig²⁾ beobachteten, normalen Stoffwechselprodukt des Hundes, nämlich der Kynurensäure, in Beziehung steht. Diese ist nach den Untersuchungen Camps³⁾ eine γ -Oxy- β -chinolincarbonsäure. Die genannte Beobachtung führte Ellinger zur Aufstellung folgender Formel für das Tryptophan:



In der Folge erwies sich jedoch die angenommene Konstitution für das Tryptophan, die, wie die beigegefügte Formel der Kynurensäure zeigt, die Entstehung dieser letzteren aus ersterem leicht erklärt hätte, als nicht haltbar. Ellinger⁴⁾ hat selbst ihre Richtigkeit in Frage gezogen, indem es ihm gelang, die Skatolessigsäure, einen Abkömmling des Tryptophans, synthetisch darzustellen, und dadurch deren Konstitution einwandfrei zu beweisen. Die Skatolessigsäure hat folgende Konstitution:



Für das Tryptophan verbleiben nach Ellinger nur noch die zwei folgenden Möglichkeiten:



Ein zwingender Beweis ist bis jetzt für keine dieser beiden Formeln erbracht worden. Es spricht jedoch sehr vieles für die erstere Formulierung, da bei dieser die Aminogruppe in α -Stellung zum Carb-

¹⁾ A. Ellinger: Über die Konstitution der Indolgruppe im Eiweiß und die Quelle der Kynurensäure. Diese Berichte **37**, 1801 [1904].

²⁾ Liebig: Über Kynurensäure. Ann. d. Chem. **86**, 125 [1853].

³⁾ R. Camps: Über Liebigs Kynurensäure und das Kynurin, Konstitution und Synthese beider. Ztschr. für physiol. Chem. **33**, 390 [1901].

⁴⁾ A. Ellinger: Über die Konstitution der Indolgruppe im Eiweiß, diese Berichte **37**, 1801 [1904] und **38**, 2884 [1905].

oxyl steht — eine Stellung, der wir bei allen bis jetzt unter den Spaltprodukten der Proteine aufgefundenen Aminosäuren begegnet sind.

Obgleich somit eine völlige Aufklärung der Konstitution des Tryptophans noch aussteht, erschien es uns bei der großen Verbreitung, die dieser Aminosäure zukommt, doch wichtig, einige Polypeptide darzustellen, in denen Tryptophan enthalten war. Wir hielten uns bei deren Gewinnung genau an die von Emil Fischer angegebenen bekannten Methoden. Erwähnt sei, daß wir zunächst Tryptophan mit *dl*-Alanin und *dl*-Leucin kombinierten — unter Anwendung des inaktiven Brompropionylbromids resp. des inaktiven Bromisocapronylchlorids. Die hierbei erhaltenen Produkte ließen sich zwar in ziemlich analysenreinem Zustande gewinnen, jedoch gelang es nicht, diese Dipeptide zur Krystallisation zu bringen. Wir führen diesen Mißerfolg auf den Umstand zurück, daß es uns nicht glückte, die beiden möglichen, offenbar in annähernd gleichen Mengen entstandenen isomeren Verbindungen von einander zu trennen. Da wir auf diesem Wege zu keinen scharf charakterisierten Produkten gelangten, gaben wir diese Versuche auf und verwendeten nun ausschließlich optisch einheitliche Verbindungen. Wir haben folgende Polypeptide dargestellt: *d*-Alanyl-*d*-tryptophan, *l*-Leucyl-*d*-tryptophan, *l*-Leucylglycyl-*d*-tryptophan und ferner Glycyl-*d*-tryptophan und Tryptophyl-glycin.

Bei ersterer Verbindung gingen wir von *l*-Alanin aus, das wir nach der von Ehrlich¹⁾ angegebenen Methode aus *dl*-Alanin durch Vergärung mit Hefe dargestellt hatten. Durch Einwirkung von Nitrosylbromid auf dieses gewannen wir *d*-Brompropionsäure²⁾, die wir nach erfolgter Chlorierung direkt mit dem Tryptophan kuppelten. Auf das so erhaltene *d*-Brompropionyl-*d*-tryptophan ließen wir wäßriges Ammoniak einwirken. Ganz analog gingen wir beim *l*-Leucyl-*d*-tryptophan von *d*-Leucin aus. Dieses gewannen wir aus *dl*-Leucin durch Darstellung der Formylverbindung³⁾ und deren Spaltung mit Hilfe von Brucin. Die Gewinnung der übrigen Polypeptide ergibt sich ohne weiteres aus dem experimentellen Teil. Erwähnt sei nur noch, daß zur Darstellung des Tryptophyl-glycins das Tryptophan

¹⁾ F. Ehrlich: Über eine Methode zur Spaltung racemischer Aminosäuren mittels Hefe. Biochem. Zeitschr. 1, 8—31 [1906].

²⁾ Vergl. E. Fischer: Synthese von Polypeptiden (XI). Ann. d. Chem. 340, 463 [1905] und: Zur Kenntnis der Waldenschen Umkehrung. Diese Berichte 40, 489 [1907].

³⁾ E. Fischer und O. Warburg: Spaltung des Leucins in die optisch-aktiven Komponenten mittels der Formylverbindung. Diese Berichte 38, 3997 [1905].

nach Emil Fischers Vorschrift chloriert¹⁾ und dann direkt mit Glykokoll gekuppelt wurde.

Alle dargestellten Polypeptide des Tryptophans geben die Reaktionen dieser Aminosäure mit Ausnahme der Violett-färbung mit Brom-resp. Chlorwasser. Diese Reaktion kommt nur dem freien Tryptophan zu. Sie fehlt auch den Proteinen. Sie wird bei den erwähnten Polypeptiden erst positiv, wenn diese vorher der Einwirkung von Pan-creassaft unterworfen werden, d. h. wenn Tryptophan frei geworden ist. Man kann diese Reaktion direkt dazu verwenden, um den Gang der Hydrolyse dieser Polypeptide unter der Einwirkung peptolytischer Fermente zu verfolgen. Wir werden über diese Untersuchungen an anderer Stelle ausführlich berichten.

Die wäßrigen, schwach schwefelsauren Lösungen aller angeführten Polypeptide geben mit einer wäßrigen Phosphorwolframsäurelösung 1:1 einen gelbbraun gefärbten, meist amorphen Niederschlag, der sich im Überschuß des Fällungsmittels löst. Die Lösung färbt sich hierbei braun. Mit Quecksilbersulfat fallen alle beschriebenen Polypeptide aus einer 5-prozentigen schwefelsauren Lösung aus. Von allen Polypeptiden gibt nur das Leucyl-glycyl-tryptophan Biurettreaktion. Mit einer konzentrierten Lösung von Ammoniumsulfat gibt keines der beschriebenen Polypeptide eine Fällung. Es gilt dies auch für das Tripeptid, das jedoch seiner schweren Löslichkeit in Wasser wegen nur in sehr verdünnter Lösung auf sein Verhalten gegen Ammoniumsulfat geprüft werden konnte. Bemerken wollen wir noch, daß diese dargestellten Polypeptide alle hartnäckig Wasser zurückhielten, das erst bei zum Teil verhältnismäßig hohen Temperaturen unter vermindertem Druck abgegeben wurde. Dieser Umstand erschwerte die Untersuchung nicht unerheblich.

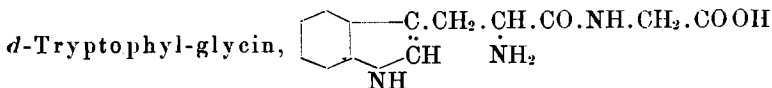
Das zu den nachfolgend beschriebenen Synthesen verwendete *d*-Tryptophan war im wesentlichen nach der von Hopkins und Cole angegebenen Methode dargestellt worden, und zwar aus Casein. Empfehlenswert erscheint es uns, die schließlich aus dem zerlegten Quecksilbersulfatniederschlag erhaltene Lösung des Tryptophans nicht nach der Vorschrift auf dem Wasserbade einzuengen, sondern unter vermindertem Druck bei etwa 40°. Man vermeidet so die Bildung von Verharzungsprodukten vollständig.

Das völlig reine Produkt zeigte, in Normal-Natronlauge gelöst, $[\alpha]_{20}^D = + 6.12^\circ$. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren wurde $[\alpha]_{20}^D = + 6.06^\circ$ erhalten. Dasselbe Präparat zeigte, in Normal-Salzsäure gelöst, $[\alpha]_{20}^D = + 1.31^\circ$.

¹⁾ Emil Fischer: Synthese von Polypeptiden. IX: Chloride der Aminosäuren und ihrer Acylderivate. Diese Berichte **38**, 605 [1905].

Wir haben von dem zu diesen Synthesen verwendeten Tryptophan noch einige charakteristische Derivate dargestellt und zwar das Kupfersalz, das Methylesterchlorhydrat, den freien Methylester, die Phenylisocyanatverbindung, das Natriumsalz des β -Naphthalinsulfoderivates und endlich das salzsaure *d*-Tryptophylchlorid. Diese Verbindungen sind an anderer Stelle ausführlich beschrieben¹⁾.

Experimenteller Teil.



5 g fein gepulvertes Tryptophan wurden nach der von E. Fischer angegebenen Methode in das Chlorid übergeführt. Dieses verwandten wir nach vorherigem Trocknen im Vakuum sofort zur Kupplung mit Glycinester, indem wir es allmählich unter kräftigem Schütteln und Kühlen in einer Kältemischung von etwa -10° zu einer Lösung von 5 ccm frisch dargestelltem Glycinester in 50 ccm trockenem Chloroform hinzufügten. Das Chlorid ging hierbei völlig in Lösung. Bald schieden sich reichliche Mengen von Glykokoll-esterchlorhydrat und ferner ein Verharzungsprodukt ab. Die Lösung färbte sich während der Reaktion dunkelbraun. Nach 12-stündigem Stehen bei -10° wurde filtriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Es hinterließ eine leimartige Masse, die nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Sie wurde nun samt den vorher abfiltrierten Massen in etwa 15 ccm Alkohol gelöst, die Lösung mit Tierkohle aufgeköcht, filtriert und wieder 12 Stunden bei -10° stehen gelassen. Es erfolgte bald Krystallisation von reinem Glykokoll-esterchlorhydrat. Von diesem wurde abfiltriert. Das Filtrat füllten wir mit Methylalkohol im Meßkolben auf 50 ccm auf und bestimmten in 1 ccm dieser Lösung das Chlor titrimetrisch. Es wurde so festgestellt, daß zur quantitativen Neutralisierung des Chlors in der übrig gebliebenen Lösung 0.43 g Natrium erforderlich waren. Um jedoch sicher einen Überschuß von Natrium zu vermeiden, wurden nur 0.42 g Natrium, in 50 ccm Methylalkohol gelöst, zur Gesamtlösung hinzugegeben. Das Gemisch wurde nun im Vakuum eingedampft, noch einmal Alkohol hinzugefügt und wieder eingedampft. Den zurückbleibenden braunen Sirup nahmen wir nunmehr mit Alkohol auf und filtrierten vom ausgeschiedenen Kochsalz ab. Um aus dieser Lösung des Dipeptidesters das Dipeptid selbst zu gewinnen, versetzten wir diese mit 20 ccm *n*-Natronlauge, schüttelten das Gemisch $1\frac{1}{2}$ Stunden auf der Maschine und neutralisierten nun die Natronlauge mit 20 ccm *n*-Schwefelsäure. Die Lösung enthielt jetzt zwar das freie Dipeptid, doch war dieses wegen der beigemengten Verharzungsprodukte nicht direkt zu isolieren. Wir wählten deshalb zu seiner Reindarstellung seine Eigenschaft, mit Quecksilber-

¹⁾ Vergl. Emil Abderhalden und Martin Kempe: Beitrag zur Kenntnis des Tryptophans und einiger seiner Derivate. Erscheint demnächst in der Zeitschr. für physiolog. Chem.

sulfat auszufallen. Wir versetzten die Lösung in der Kälte mit soviel verdünnter Schwefelsäure, daß sie 5 Volumprozent Säure enthielt, und fügten dann vorsichtig Quecksilbersulfatreagens hinzu. Es fiel zunächst ein geringer, stark dunkel gefärbter Niederschlag aus. Dieser wurde rasch abfiltriert und nicht weiter verarbeitet. Er enthielt offenbar die oben erwähnten Verharzungsprodukte. Dem Filtrat fügten wir noch etwa 60 ccm Quecksilbersulfatlösung hinzu. Dabei fiel eine reichliche Menge eines intensiv gelben Niederschlages aus, der in den äußeren Eigenschaften der Quecksilbersulfat-Doppelverbindung des Tryptophans vollkommen gleich. Er wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen, dann in mäßig warmem Wasser suspendiert und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Aus dem Filtrat der genannten Quecksilbersulfatfällung schied sich nach Zugabe von überschüssigem Quecksilbersulfatreagens noch eine weitere Menge Niederschlag aus. Sie wurde abfiltriert und zur Schwefelwasserstoffzersetzung hinzugegeben. Nach 30 Minuten wurde das Einleiten von Schwefelwasserstoff unterbrochen und die Suspension filtriert. Den Rückstand zerrieben wir in einer Reibschale, suspendierten ihn in Wasser und leiteten wiederum Schwefelwasserstoff ein. Diesen Prozeß wiederholten wir, um möglichst alles Quecksilbersalz zu zersetzen, noch einmal. Schließlich vereinigten wir alle Filtrate vom Quecksilbersulfid, vertrieben den Schwefelwasserstoff durch rasches Durchleiten von Kohlensäure und fällten dann die Schwefelsäure quantitativ mit Barythydrat. Die vom Bariumsulfat abfiltrierte Lösung wurde nun im Vakuum eingedampft. Das Dipeptid blieb als farblose, amorphe Masse zurück. Die Ausbeute betrug 3.2 g. Das komplizierte Isolierungsverfahren macht diese nicht sehr gute Ausbeute erklärlich. Da das Dipeptid nicht ganz halogenfrei war, wurde es in Wasser gelöst und mit Silbersulfat geschüttelt. Aus dem Filtrat wurde es nochmals über die Quecksilbersulfatdoppelverbindung auf die eben beschriebene Weise gereinigt.

Das so dargestellte Dipeptid war nunmehr ganz halogenfrei.

Das Tryptophyl-glycin löst sich sehr leicht in Wasser und verdünntem Alkohol, ziemlich leicht in heißem absolutem Äthyl- und Methylalkohol, schwer in Essigester, Aceton und Äther. Läßt man die alkoholische Lösung freiwillig verdunsten, so bleibt ein Sirup zurück, der nach einiger Zeit zu einer strahlig-krystallinischen Masse erstarrt. Aus der Lösung in gewöhnlichem Alkohol kann das Dipeptid durch Äther krystallinisch gefällt werden. Es bildet dann feine mikroskopische Nadeln. Das Dipeptid neigt sehr dazu, amorph auszufallen und dann beim Abfiltrieren schmierig zu werden. Es schmilzt bei 180° (korr.) und erstarrt nach dem Abkühlen wahrscheinlich unter Bildung des Anhydrids zu einer krystallinischen Masse. Sein Geschmack ist bitter.

Zur Analyse wurde die Verbindung bei 80° im Vakuum über Phosphor-pentoxyd getrocknet.

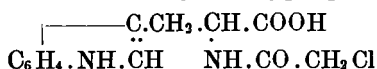
0.1439 g Sbst.: 0.3135 g CO₂, 0.0771 g H₂O. — 0.1503 g Sbst.: 20.8 ccm N (17°, 743 mm).

$C_{13}H_{15}N_3O_3$ (261.1). Ber. C 59.75, H 5.79, N 16.10.
Gef. » 59.42, » 5.99, » 15.93.

0.2063 g Sbst. wurden in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 4.6614 g. Spez. Gewicht 1.01. Drehung im 1-dcm-Rohr bei Natriumlicht und 20° 3.53° nach rechts, mithin

$$[\alpha]_D^{20} = + 78.7^\circ.$$

Chloracetyl-*d*-tryptophan,



5 g Tryptophan wurden in 25 ccm normaler Natronlauge gelöst und in der üblichen Weise mit 2.7 ccm Chloracetylchlorid unter Anwendung von 60 ccm Normal-Natronlauge gekuppelt. Beim Ansäuern mit 10 ccm 5-fachnormaler Salzsäure fiel der neue Körper teils als bald erstarrendes Öl, teils direkt krystallinisch aus. Das Öl wurde in Äther gelöst, die ätherische Lösung mit Natriumsulfat getrocknet und nach dem Filtrieren und Konzentrieren mit Petroläther gefällt. Der Chlorkörper bildete jetzt eine weiße, gleich fest werdende Masse. Die Gesamtausbeute betrug 6.0 g. Zur Reinigung wurde das Produkt aus heißem Wasser umkrystallisiert. Es bildet dann glänzende Blättchen, die den Schmp. 159° (korr.) besitzen. Die Verbindung ist in Alkohol, Essigäther, Aceton, heißem Wasser und Äther leicht löslich, schwer in Chloroform und Petroläther.

Zur Analyse wurde der Körper bei 100° getrocknet.

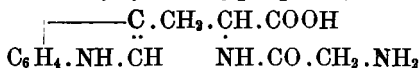
0.1786 g Sbst.: 0.3625 g CO_2 , 0.0787 g H_2O . — 0.1687 g Sbst.: 14.45 ccm N (16° , 754 mm).

$C_{13}H_{15}N_3O_3Cl$ (280.6). Ber. C 55.59, H 4.67, N 9.98.
Gef. » 55.35, » 4.93, » 10.04.

Zur optischen Bestimmung diente ein Präparat, das mehrmals umkrystallisiert war. Eine Lösung von 0.3349 g Sbst. in Alkohol, die das Gesamtgewicht von 4.8752 g und das spez. Gewicht 0.813 hatte, drehte im 1-dcm-Rohr 1.84° nach links bei 20° und Natriumlicht. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = - 32.9^\circ.$$

Glycyl-*d*-tryptophan,



6 g Chloracetyltryptophan wurden mit 150 ccm wäßrigem Ammoniak übergossen, und die Lösung im Brutraum aufbewahrt. Nach dreitägigem Stehen verdampften wir die Lösung im Vakuum. Hierbei schied sich das Dipeptid krystallinisch ab. Es wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Durch Eindampfen des Filtrats wurde noch

eine zweite Fraktion gewonnen. Die Gesamtausbeute betrug 5.0 g. Zur Reinigung wurde das Dipeptid aus heißem Wasser umkrystallisiert, wobei es sich in Blättchen ausschied, die aus gleichzeitig dreieckigen Tafeln bestanden.

Das Dipeptid schmilzt gegen 302° (korr.). In heißem Wasser löst es sich leicht, in kaltem nur mäßig, in Alkohol ist es so gut wie unlöslich. Sein Geschmack ist bitter.

Zur Analyse wurde das Dipeptid bei 140° im Vakuum über Phosphor-pentoxyd getrocknet.

0.1261 g Sbst.: 0.2756 g CO_2 , 0.0627 g H_2O . — 0.158 g Sbst.: 21.7 ccm N (16° , 744 mm).

$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$ (261.1). Ber. C 59.75, H 5.79, N 16.10.
Gef. » 59.61, » 5.56, » 15.87.

0.3711 g Sbst. wurden in normaler Salzsäure gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 3.9954 g; spez. Gew. 1.04. Drehung im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht und 20° 2.09° nach rechts. Mithin

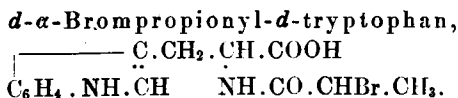
$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 21.61^{\circ}.$$

Nach nochmaligem Umkrystallisieren erhielten wir folgenden Wert: 0.3825 g wurden in normaler Salzsäure gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 3.9947 g; spez. Gew. 1.04. Drehung im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht und 20° 2.14° nach rechts, mithin

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 21.45^{\circ}.$$

Versuche, das *dl*-Alanyl-*d*-tryptophan und das *dl*-Leucyl-*d*-tryptophan darzustellen.

Wie eben erwähnt, haben wir zu unseren ersten Versuchen zur Darstellung von Alanyl- und Leucyl-tryptophan die entsprechenden inaktiven Halogenfettsäuren verwendet. Wir gewannen *dl*-Brompropionyl-*d*-tryptophan aus inaktivem Brompropionylbromid und *d*-Tryptophan und *dl*-Bromisocapronyl-*d*-tryptophan aus inaktivem Bromisocapronylchlorid und *d*-Tryptophan. Beide Körper waren zwar nicht krystallinisch zu erhalten, gaben aber einigermaßen stimmende Analysen. Sie wurden durch Behandeln mit wäßrigem Ammoniak in die entsprechenden Dipeptide übergeführt, die als amorphe Körper isoliert wurden. Versuche, krystallisierte Derivate dieser Verbindungen zu erhalten, mißlangen. Mit Kupferoxyd gekocht, gaben sie blaue Lösungen. Die Analysen zeigten stets einen zu hohen Wasserstoff- und zu niedrigen Kohlenstoffgehalt. Da später bei der Einführung von *d*-Alanin und *l*-Leucin bessere Resultate erzielt wurden, so soll von einer näheren Beschreibung dieser Dipeptide abgesehen werden. Erwähnt mag nur noch werden, daß sie sich durch Einwirkung von Pankreassaft wenigstens zum Teil in ihre Komponenten zerlegen ließen. Wir isolierten aus der Verdampfungsflüssigkeit bei Verwendung von *dl*-Alanyl-*d*-tryptophan sowohl Alanin als Tryptophan, und ebenso lieferte *dl*-Leucyl-*d*-tryptophan Leucin und Tryptophan.



Zur Darstellung dieser Verbindung verwendeten wir *d*-Brompropionylchlorid. Synthetisches *dl*-Alanin wurde nach dem Verfahren von Ehrlich mit Hefe partiell vergoren und das erhaltene *l*-Alanin nach den Angaben von E. Fischer und K. Raske¹⁾ in die *d*-Brompropionsäure übergeführt. Das dargestellte Präparat hatte eine Drehung von 45° nach rechts. Die Umwandlung in das Chlorid erfolgte nach der von E. Fischer und O. Warburg²⁾ angegebenen Weise.

4 g des so gewonnenen *d*-Brompropionylchlorids wurden mit 4.3 g in 20 ccm Normal-Natronlauge gelöstem Tryptophan in der üblichen Weise unter Zusatz von 30 ccm normaler Natronlauge gekuppelt. Beim Ansäuern mit 7 ccm 5-fachnormaler Salzsäure fiel der Bromkörper als farbloses Öl aus. Er wurde in Äther gelöst, die Lösung 2 Stunden mit Natriumsulfat getrocknet, dann stark konzentriert und mit Petroläther gefällt. Der Bromkörper fiel wieder als Öl aus, wurde aber beim Anreiben mit Petroläther allmählich fest. Er löste sich leicht in Alkohol, Aceton, Essigester, Äther, Chloroform und Benzol, ziemlich leicht in heißem Wasser. Aus letzterem schied die Verbindung sich beim Erkalten ölförmig ab. Krystallinisch war sie nicht zu erhalten. Um sie noch weiter zu reinigen, wurde sie in die Quecksilbersulfatdoppelverbindung übergeführt. Wir lösten sie zu diesem Zwecke in stark verdünntem Alkohol, dem 5 Volumenprozent Schwefelsäure zugesetzt waren, und fällten dann mit Quecksilbersulfatreagens. Die Verarbeitung des Niederschlages erfolgte in ganz analoger Weise, wie beim Tryptophylglycin. Aus 1 g Bromkörper wurden auf diese Weise 0.65 g wiedergewonnen.

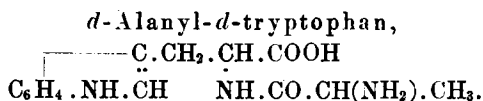
Der Schmelzpunkt des so gereinigten Bromkörpers ist nicht scharf. Gegen 65° wird er weich und schmilzt dann gegen 72°.

Zur Analyse wurde die Verbindung im Vakuum über Phosphor-pentoxyd getrocknet.

0.1438 g Sbst.: 0.2594 g CO₂, 0.0546 g H₂O. — 0.1617 g Sbst.: 11.3 ccm N (17°, 756 mm).

C₁₄H₁₅N₂O₃Br(339.1). Ber. C 49.54, H 4.46, N 8.26.

Gef. » 49.20, » 4.25, » 8.18.



5 g *d*-Brompropionyl-*d*-tryptophan wurden in 50 ccm wässrigem Ammoniak gelöst. Nach 3tägigem Stehen der Lösung im Brutraum dampften wir

¹⁾ E. Fischer und K. Raske, Beiträge zur Stereochemie der 2.5-Diketopiperazine. Diese Berichte **39**, 3981 [1906].

²⁾ E. Fischer, Synthese von Polypeptiden (XI.) Ann. d. Chem. **340**, 123 [1905].

sie im Vakuum völlig ein. Den Rückstand übergossen wir mit Alkohol und verdampften wieder zur Trockne. Diesen Prozeß wiederholten wir zur völligen Entfernung des Ammoniaks noch einmal. Es verblieb eine amorphe glasige Masse. Sie wurde in wenig verdünntem Alkohol gelöst, die Lösung mit 14 ccm 5-fachnormaler Schwefelsäure versetzt und dann mit Alkohol auf 50 ccm aufgefüllt. Unter Kühlung setzten wir nun einen Überschuß von Quecksilbersulfat hinzu, und filtrierten den entstandenen citronengelben Niederschlag nach 5 Minuten ab. Den Rückstand zersetzten wir nach vorherigem gründlichem Auswaschen mit Wasser mit Schwefelwasserstoff. Die weitere Verarbeitung war dieselbe, wie sie beim *d*-Tryptophyl-glycin beschrieben ist.

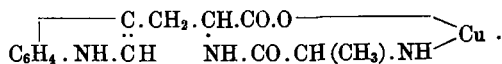
Da das Dipeptid noch schwache Halogenreaktion gab, wurde es mit wenig Silbersulfat geschüttelt und aus der filtrierten Lösung die Schwefelsäure quantitativ mit Barythydrat entfernt. Vom Bariumsulfat wurde abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Das Dipeptid blieb als Gallerte zurück. Sie wurde nach zweimaligem Eindampfen mit absolutem Alkohol fest. Die Ausbeute betrug 2.9 g. Da das erhaltene Produkt keine Neigung zur Krystallisation zeigte, so wurde es in das gut krystallisierende Kupfersalz übergeführt.

Das durch Zersetzung des umkrystallisierten Kupfersalzes mit Schwefelwasserstoff gewonnene Dipeptid ist in Wasser spielend löslich. In heißem Alkohol löst es sich mäßig, in kaltem schwer, in verdünntem recht leicht. Es hat keinen Schmelzpunkt. Bei 125° (korr.) bläht es sich stark auf und ist bei 150° (korr.) in eine schaumige Masse verwandelt. Es hat einen bitteren Geschmack.

Zur Analyse verwendeten wir das Kupfersalz, welches auf folgende Weise hergestellt wurde.

Das Dipeptid wurde in Wasser gelöst und mit aufgeschlämmtm Kupferoxyd gekocht, filtriert und das Filtrat mit viel Alkohol versetzt. Beim Abkühlen schied sich dann das Salz in glänzenden hellblauen Blättchen aus. Läßt man es aus einer konzentrierten wäßrigen Lösung krystallisieren, so scheidet es sich in kleinen violetten Prismen aus. In Wasser ist es recht leicht, in Alkohol schwer löslich.

Zur Analyse wurde das Kupfersalz noch einmal aus Wasser und Alkohol umkrystallisiert und bei 100° im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Die Zahlen führen zu der Formel des wasserfreien Salzes von folgender Struktur:



0.1861 Sbst.: 0.0441 g CuO. — 0.1380 g Sbst.: 0.0326 g CuO. — 0.1550 g Sbst.: 0.2823 g CO₂, 0.0595 g H₂O. — 0.1199 g Sbst.: 12.6 ccm N (18°, 755 mm).

C₁₄H₁₃N₃O₃Cu (336.7). Ber. C 49.90, H 4.49, N 12.48, Cu 18.89.

Gef. » 49.68, » 4.30, » 12.25 » 18.93, 18.88.

Das aus verdünntem Alkohol umkrystallisierte Salz enthält in lufttrockenem Zustande noch Krystallwasser. Dieses entweicht beim Erhitzen auf 100° im Vakuum. Seine Menge entspricht, auf obige Formel berechnet, 2½ Mol. Wasser.

0.5022 g Sbst. verloren bei 100° im Vakuum über Phosphorpentoxyd 0.0594 g H₂O.

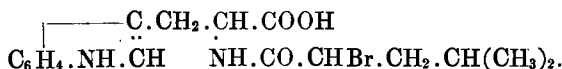
C₁₄H₁₅N₃O₃Cu + 2½H₂O (381.7). Ber. H₂O 11.80. Gef. H₂O 11.83.

Zur optischen Bestimmung wurde das aus dem umkrystallisierten Kupfersalz in Freiheit gesetzte Dipeptid benutzt.

0.2266 g Sbst. wurden in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 3.7117 g; spez. Gew. 1.01. Drehung im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht und 20° 1.15° nach rechts. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = +18.65^\circ.$$

d- α -Bromisocapronyl-*d*-tryptophan,



Zur Darstellung dieser Verbindung verwendeten wir nach dem von E. Fischer angegebenen Verfahren bereitetes *d*- α -Bromisocapronylchlorid. Synthetisches *dl*-Leucin wurde nach E. Fischer und O. Warburg¹⁾ in das Formyl-*dl*-Leucin verwandelt. Daraus gewannen wir durch Spaltung mit Brucin die aktiven Formylkörper. Das Formyl-*d*-Leucin führten wir dann nach E. Fischers Vorschrift in die *d*-Bromisocaprönsäure und diese mit Phosphorpentachlorid in das *d*-Bromisocapronylchlorid über. Die spezifische Drehung der verwendeten *d*-Bromisocaprönsäure war +45.1°.

5 g des so dargestellten Chlorids wurden mit einer Lösung von 4 g Tryptophan in 20 ccm Normal-Natronlauge unter Anwendung von weiteren 30 ccm normaler Natronlauge gekuppelt. Beim Ansäuern mit 10 ccm 5-fachnormaler Salzsäure schied sich der Bromkörper krystallinisch ab. Durch Ausäthern der salzsauren Lösung, Einengen des ätherischen Extractes und Fällen mit Petroläther ließ sich die Ausbeute noch etwas steigern. Das gewonnene Produkt lösten wir in wenig heißem Methylalkohol und zersetzten die durch Kochen mit Tierkohle entfärbte Lösung bis zur beginnenden Trübung mit heißem Wasser. Beim Abkühlen schied sich dann der Bromkörper in lockeren Nadeln aus. Die Ausbeute an Rohprodukt betrug 7.7 g.

Das Bromisocapronyl-*d*-tryptophan ist leicht löslich in Methyl- und Äthylalkohol, Äther, Essigester, Aceton, Chloroform, ziemlich leicht löslich in heißem Wasser, schwer löslich in kaltem Wasser und

¹⁾ E. Fischer und O. Warburg, Spaltung des Leucins in die optisch-aktiven Komponenten mittels der Formylverbindung. Diese Berichte 38, 3997 [1905].

Petroläther. Es schmilzt bei 118° (korr.). Zur Analyse wurde die Substanz über 100° im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1560 g Sbst.: 0.3056 g CO₂, 0.0772 g H₂O. — 0.1563 g Sbst.: 9.9 ccm N (17°, 742 mm).

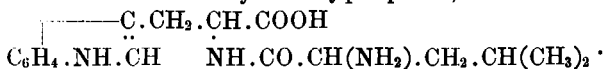
C₁₇H₂₁N₂O₃Br (381.2). Ber. C 53.52, H 5.55, N 7.35.

Gef. » 53.43, » 5.54, » 7.28.

0.3951 g Sbst. wurden in Alkohol gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 3.5314 g; spez. Gewicht 0.834. Drehung im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht und 20° 2.53° nach rechts, mithin

$$[\alpha]_D^{20} = + 27.1^\circ.$$

l-Leucyl-*d*-tryptophan,



4 g *d*-Bromisocapronyl-*d*-tryptophan wurden in 50 ccm wäßrigem Ammoniak gelöst, die Lösung bei 36° aufbewahrt und nach dreitägigem Stehen im Vakuum eingedampft. Dabei schied sich das Dipeptid in sehr kleinen Nadeln aus. Sie wurden abfiltriert und zur Entfernung des Bromammoniums mit wenig Wasser gewaschen. Die Ausbeute betrug 3.2 g. Zur Reinigung wurde das Dipeptid in Alkohol, dem ein paar Tropfen Wasser hinzugesetzt waren, gelöst, die Lösung mit Tierkohle aufgeköcht, filtriert, und das Filtrat mit dem etwa 6-fachen Volumen an absolutem Äther versetzt. Das Gemisch gestand dabei zu einer flockigen Masse. Sie bestand aus mikroskopisch feinen, haarförmigen, in einander verfilzten Nadeln. Beim Erhitzen sintert das Dipeptid bei 130° (korr.) und schmilzt bei 148° (korr.) unter Aufschäumen. Es löst sich leicht in heißem Wasser und feuchtem Alkohol, mäßig in kaltem Wasser und schwer in absolutem Alkohol. Es schmeckt erst bitter, hat dann aber einen süßlichen Nachgeschmack.

Die bei 100° im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknete Substanz enthält noch 1 Mol. Krystallwasser.

0.1900 g Sbst.: 0.4270 g CO₂, 0.1240 g H₂O. — 0.1260 g Sbst.: 14.0 ccm N (18°, 733 mm).

C₁₇H₂₃N₃O₃ + H₂O (335.2). Ber. C 60.86, H 7.51, N 12.54.

Gef. » 61.29, » 7.30, » 12.57.

Das Krystallwasser verlor die Substanz erst beim Trocknen im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 115—120°.

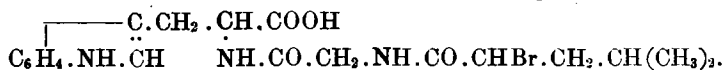
0.1342 g Sbst.: 0.3157 g CO₂, 0.0899 g H₂O.

C₁₇H₂₃N₃O₃ (317.2). Ber. C 64.31, H 7.31.

Gef. » 64.15, » 7.48.

0.2567 Substanz wurden in normaler Salzsäure gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 3.5865 g; spez. Gewicht 1.03. Drehung im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht und 20° 0.33° nach rechts. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = + 4.48^\circ.$$

d- α -Bromisocapronyl-glycyl-*d*-tryptophan,

4 g Glycyltryptophan wurden in 16 ccm Normalnatronlauge gelöst und mit 4 g *d*- α -Bromisocapronylchlorid, das wie oben beschrieben hergestellt war, unter Anwendung von 25 ccm Normalnatronlauge gekuppelt. Beim Ansäuern mit 8 ccm 5-fachnorm. Salzsäure fiel der Bromkörper als Öl aus. Dieses wurde in Äther gelöst und auch die salzsaure Lösung ausgeäthert. Die ätherischen Lösungen engten wir nach 12-stündigem Trocknen mit Natriumsulfat ein und versetzten mit Petroläther. Hierbei fiel wiederum ein Öl aus, das wir zunächst mit Petroläther verrieben und dann nach dem Abgießen des Petroläthers in Chloroform lösten. Diese durch Kochen mit Tierkohle entfärbte Lösung gossen wir dann langsam unter kräftigem Rühren in eine reichliche Menge Petroläther ein. Hierbei schied sich der Bromkörper flockig aus. Dentiche Krystalle waren nicht zu erkennen. Die Substanz wurde abgesaugt und mit Petroläther gewaschen. Die Ausbeute betrug 5.3 g.

Das *d*-Bromisocapronyl-glycyl-*d*-tryptophan löst sich leicht in Alkohol, Äther, Essigester, Aceton, Chloroform und heißem Wasser, schwer in Petroläther und kaltem Wasser. Beim Erhitzen sintert es bei 60° und schmilzt zwischen 90° und 98°.

Zur Analyse wurde im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

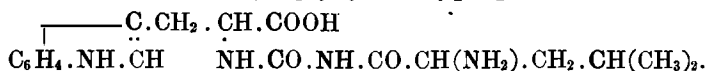
0.1793 g Sbst.: 0.3423 g CO₂, 0.0926 g H₂O. — 0.1711 g Sbst.: 14.4 ccm N (19°, 735 mm).

C₁₉H₂₄N₃O₄Br(438.2). Ber. C 52.03, H 5.52, N 9.59.

Gef. » 52.06, » 5.77, » 9.51.

0.4634 g Sbst. wurden in Alkohol gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 4.0435 g; spez. Gew. 0.838. Drehung im 1-dcm-Rohr 5.23° nach rechts, mithin

$$[\alpha]_D^{20} = + 54.47^\circ.$$

1-Leucyl-glycyl-*d*-tryptophan,

3 g *d*-Bromisocapronyl-glycyl-*d*-tryptophan wurden in 50 ccm wäßrigem Ammoniak gelöst. Die Lösung blieb 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Dann wurde sie im Vakuum eingedampft, der Rückstand noch mehrmals mit Alkohol zur Trockne verdampft und dann zur Entfernung des Bromammoniums noch einmal mit heißem Alkohol ausgelaugt und filtriert. Der Filtrerrückstand wurde nun mit Alkohol und Äther gewaschen. Die Ausbeute an Tripeptid betrug 2.0 g. Wir konnten sie noch um 0.15 g vermehren, indem wir das gesamte alkoholische Filtrat eindampften und drei Tage mit wäßrigem Ammoniak im Brutraum stehen ließen. Zur Reinigung lösten wir

das erhaltene Rohprodukt in heißem Wasser, kochten mit Tierkohle und dampften die filtrierte Lösung im Vakuum zur Trockne ein.

Das Tripeptid schied sich nun in gallertigen Massen aus. Beim Behandeln mit Alkohol und Äther wurde es fest. So dargestellt, bildet es eine amorphe Masse, die sich nur ziemlich mäßig in heißem Wasser löst. In Alkohol ist es unlöslich. Es zersetzt sich gegen 234° (korr.), nachdem es schon vorher angefangen hat, sich gelbbraun zu färben. Wegen seiner geringen Löslichkeit ist es fast geschmacklos.

Zur Analyse wurde das Tripeptid bei 100° im Vakuum getrocknet.

0.1640 g Sbst.: 0.3649 g CO₂, 0.1052 g H₂O. — 0.1708 g Sbst.: 22.3 ccm N (19°, 732 mm).

C₁₉H₂₆N₄O₄ (374.2). Ber. C 60.93, H 7.00, N 14.98.

Gef. » 60.68, » 7.18, » 14.70.

0.3503 g Sbst. wurden in normaler Salzsäure gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 4.2950 g; spez. Gew. 1.04. Drehung im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht und 20° 2.73° nach rechts, mithin

$$[\alpha]_D^{20} = + 32.30^\circ.$$

369. Ossian Aschan: Über zwei neue Terpene.

[Vorläufige Mitteilung.]

(Eingegangen am 30. Mai 1907.)

Wenn das beim Sättigen von amerikanischen Rohpinen mit Chlorwasserstoff abfallende flüssige Hydrochlorid, welches ein buntes Gemisch von verschiedenen gesättigten Chloriden darstellt, mit Basen bei höherer Temperatur zerlegt wird, so läßt sich durch längeres Fraktionieren ein zwischen 145—150° übergehendes Terpen abscheiden. Der Geruch ist eigentümlich und erinnert etwas an den Octylalkohol, welcher durch Schmelzen von ricinolsaurem Natrium mit Alkalien entsteht. Bei fortgesetzter Destillation über Natrium ließen sich daraus folgende Fraktionen abscheiden, in denen dann die Konstante α_D (bei $l = 0.25$ dm, $t = 18^\circ$) bestimmt wurde:

Fraktion	Siedepunkt	Menge	α_D
1. Vorfraktion	140—145°	9 g	+ 0.21°
2.	145—146°	45 »	+ 0.35°
3.	146—146.5°	9 »	+ 0.35°
4.	146.5—148°	28 »	+ 0.35°
5.	148—150°	4 »	+ 0.31°

Zwischen 145—148° bleibt also die Drehung unverändert, weshalb dieses Intervall als der Siedepunkt des Terpens anzusehen ist. Die Analyse ergab: