

**483. Emil Abderhalden und Alfred Hirszowski: Synthese von Polypeptiden. XXVIII. Derivate des Glykokolls, *d*-Alanins, *l*-Leucins und *l*-Tyrosins.**

[Aus dem Chemischen Institut der Universität und dem Physiol. Institut der Tierärztl. Hochschule Berlin]

(Eingegangen am 11. August 1908).

Von den bei der partiellen Hydrolyse verschiedener Proteine erhaltenen Polypeptiden beansprucht ein aus dem Seidenfibroin gewonnenes Produkt, das aus 2 Molekülen Glykokoll, 1 Molekül *d*-Alanin und 1 Molekül *l*-Tyrosin besteht, ein ganz besonderes Interesse<sup>1</sup>). Diese Verbindung besitzt manche Eigenschaften, die gewissen Albumosen zukommen. Es scheint, daß für dieses Verhalten in erster Linie der Gehalt des betreffenden Tetrapeptids aus Seide an Tyrosin in Betracht kommt, denn es sind schon eine größere Anzahl von Polypeptiden dargestellt worden, die vier und noch mehr Aminosäuren enthalten und trotzdem weder mit Ammoniumsulfat, noch mit Kochsalzlösung bei gleichzeitigem Zusatz von Essigsäure oder Salpetersäure fällbar sind. Es ist nun von dem größten Interesse, alle diejenigen strukturisomeren Polypeptide synthetisch darzustellen, die sich aus 2 Mol. Glykokoll, 1 Mol. *d*-Alanin und 1 Mol. *l*-Tyrosin aufbauen lassen. Nun hat die partielle Hydrolyse des genannten Tetrapeptids ergeben, daß einmal Glykokoll mit *d*-Alanin und einmal mit *l*-Tyrosin verknüpft ist. Es wurden nämlich bei dem stufenweisen Abbau des Tetrapeptids aus Seide Glycyl-*d*-alanin-anhydrid und Glycyl-*l*-tyrosin-anhydrid erhalten. Die Zahl der möglichen Stereoisomeren schränkt sich infolgedessen auf 8 ein. Eines davon ist bereits von Emil Fischer dargestellt worden, nämlich das Glycyl-*d*-alanyl-glycyl-*l*-tyrosin. Dieses Tetrapeptid zeigt nach vielen Richtungen eine sehr große Übereinstimmung mit dem durch partielle Hydrolyse aus Seidenfibroin erhaltenen; dagegen ist die Verbindung mit Ammoniumsulfat nicht oder doch nur aus ganz konzentrierten Lösungen aussalzbar.

Es ist wohl möglich, daß nicht nur der Gehalt an *l*-Tyrosin den Polypeptiden einen den Albumosen ähnlichen Charakter verleiht; es dürfte in erster Linie darauf ankommen, an welcher Stelle im Molekül das *l*-Tyrosin sich findet.

<sup>1</sup> Emil Fischer und Emil Abderhalden: Bildung von Polypeptiden bei der Hydrolyse der Proteine. Diese Berichte **40**, 3544 [1907].

Wir haben als weiteren Beitrag zu dieser Frage das Tripeptid Glycyl-*d*-alanyl-*l*-tyrosin dargestellt und sein Verhalten gegen Ammoniumsulfat, wie auch seine übrigen Eigenschaften geprüft. Das gewonnene Produkt war amorph. Wir können somit für seine völlige Reinheit keine Garantie übernehmen. Seine konzentrierte wäßrige Lösung gab mit einer konzentrierten Ammoniumsulfatlösung einen geringen, flockigen Niederschlag; dessen Menge war aber so unbedeutend, daß wir sie auf eine dem Tripeptid vielleicht anhaftende Verunreinigung zurückführen möchten. Jedenfalls ist das Tripeptid als solches in seiner Hauptmenge mit Ammoniumsulfat nicht aussalzbar. Es ist von Interesse, daß das von Emil Fischer dargestellte, unserem Tripeptid strukturisomere Polypeptid, *d*-Alanyl-glycyl-*l*-tyrosin, aus einer sehr konzentrierten, wäßrigen Lösung bei gewöhnlicher Temperatur durch einen Überschuß einer gesättigten Ammoniumsulfatlösung ölig gefällt wurde<sup>1)</sup>.

Wir haben ferner die Dipeptide *d*-Alanyl-*l*-tyrosin und *l*-Leucyl-*l*-tyrosin dargestellt. Wir gingen aus von *l*-Tyrosin, das wir aus Seidenabfällen durch Hydrolyse mit Salzsäure gewonnen hatten<sup>2)</sup>, und kuppelten es mit den entsprechenden, in bekannter Weise dargestellten, optisch-aktiven Halogenfettsäurechloriden: *d*-Brom-propionylchlorid und *d*- $\alpha$ -Brom-isocaprolylchlorid.

Schließlich haben wir noch ein Tetrapeptid gewonnen, das *d*-Alanyl-diglycyl-glycin. Den Abbau dieses Tetrapeptids mit Pankreassaft hat der eine von uns in Gemeinschaft mit Koelker verfolgt<sup>3)</sup>. Es wird sehr rasch angegriffen. Auch *d*-Alanyl-*l*-tyrosin und *l*-Leucyl-*l*-tyrosin werden von aktiviertem Pankreassaft rasch gespalten.

In Erweiterung einer jüngst begonnenen Arbeit des einen von uns mit Markus Guggenheim<sup>4)</sup> über Derivate des 3.5-Dijod-*l*-tyrosins haben wir *d*-Alanyl-3.5-dijod-*l*-tyrosin dargestellt, um seine Eigenschaften kennen zu lernen.

---

<sup>1)</sup> Diese Berichte 40, 3704 [1907].

<sup>2)</sup> Emil Abderhalden und Yutaka Teruuchi: Notiz zur Darstellung von Tyrosin aus Seide. Ztschr. f. physiol. Chemie 48, 523 [1906].

<sup>3)</sup> Emil Abderhalden und A. H. Koelker: Weiterer Beitrag zur Kenntnis des Verlaufs fermentativer Polypeptidspaltung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 55, 416 [1908].

<sup>4)</sup> Emil Abderhalden und Markus Guggenheim: Synthese von Polypeptiden: Derivate des 3.5-Dijod-*l*-tyrosins. Diese Berichte 41, 1237 [1908].

## Experimenteller Teil.

## 1. Dipeptide.

*d*-Alanyl-*l*-tyrosin,

Bei der Darstellung des *d*-Alanyl-*l*-tyrosins benutzten wir denselben Weg, den Emil Fischer bei der Gewinnung des Glycyl-*l*-tyrosins eingeschlagen hat<sup>1)</sup>.

*d*- $\alpha$ -Brompropionyl-*l*-tyrosinäthylester,

Wir gingen von salzsaurem *l*-Tyrosinäthylester und von *d*- $\alpha$ -Brompropionylchlorid aus. Das zur Herstellung des ersteren verwendete *l*-Tyrosin zeigte  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -11.17^\circ$  in 4-prozentiger Salzsäure. Zur Gewinnung des *d*-Brompropionylchlorids gingen wir von *l*-Alanin aus, das wir durch Spaltung von *d*-*l*-Alanin mit Hefe gewonnen hatten. Es zeigte  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -10.14^\circ$  in salzsaurer Lösung. Die mit Hilfe von Nitrosylbromid dargestellte *d*-Brompropionsäure zeigte  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +47.36^\circ$ .

15 g salzsaure Tyrosinäthylester wurden mit 150 ccm Chloroform übergossen, und nun unter Kühlung 61.5 ccm normaler Natronlauge (1 Molekül) zugefügt. Unter kräftigem Schütteln gaben wir nun eine Lösung von 5.25 g ( $\frac{1}{2}$  Molekül) *d*- $\alpha$ -Brompropionylchlorid in 52.5 ccm Chloroform hinzu und dann zur Ausnutzung des ausfallenden salzsauren Tyrosinäthylesters abwechselnd 30 ccm einer Lösung von 9.4 g trocknen Natriumcarbonats und nochmals dieselbe Menge *d*- $\alpha$ -Brompropionylchlorid, in der gleichen Menge Chloroform gelöst. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Chloroformlösung im Scheidetrichter von der wäßrigen Lösung abgetrennt und letztere noch wiederholt mit Chloroform erschöpft. Die vereinigten Chloroformauszüge wurden dann mit Natriumsulfat getrocknet. Zur Gewinnung des in Lösung vorhandenen *d*- $\alpha$ -Brompropionyl-*l*-tyrosinäthylesters engten wir die Chloroformlösung unter stark vermindertem Druck bei einer  $35^\circ$  des Wasserbades nicht übersteigenden Temperatur so lange ein, bis die Lösung sich trübte. Beim Stehen auf Eis trat bald Krystallisation ein. Die Mutterlauge dieser Krystallisation haben wir, um den noch in Lösung befindlichen Teil des Kupplungsproduktes zu gewinnen, mit Petroläther gefällt. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus heißem

<sup>1)</sup> Emil Fischer: Synthese von Polypeptiden II. Diese Berichte **37**, 2486 [1904].

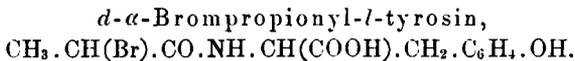
Wasser unter Anwendung von Tierkohle umkrystallisiert. Die Ausbeute betrug 17.5 g = 83.33 % der Theorie.

Zur Analyse wurde das Produkt im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet.

0.198 g Sbst.: 0.3553 g CO<sub>2</sub>, 0.0983 g H<sub>2</sub>O. — 0.1600 g Sbst.: 6 ccm N (19.5°, 768 mm). — 0.1260 g Sbst.: 0.0694 g AgBr.

C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>BrNO<sub>4</sub> (344.14). Ber. C 48.82, H 5.27, N 4.07, Br 23.28.  
Gef. » 49.08, » 5.55, » 3.85, » 23.44.

*d*- $\alpha$ -Brompropionyl-*l*-tyrosinäthylester schmilzt, im Capillarröhrchen erhitzt, bei 129—130° (korr. 133.5—134.5°). Er krystallisiert aus Wasser in büschelförmig angeordneten, langgestreckten Blättchen. Er ist in kaltem Wasser, Benzol und Äther schwer löslich, leicht löslich in heißem Wasser, Chloroform, absolutem Alkohol, Methylalkohol, Essigester und Aceton, sehr leicht löslich in gewöhnlichem Alkohol, so gut wie unlöslich in Petroläther. Das Produkt gibt die Millonsche Reaktion.



8 g *d*- $\alpha$ -Brompropionyl-*l*-tyrosinäthylester wurden mit 46.5 ccm normaler Natronlauge (2 Mol.) übergossen, und nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur die Natronlauge mit der äquivalenten Menge normaler Salzsäure neutralisiert. Nach dem Verdampfen der Lösung unter vermindertem Druck hinterblieb zunächst ein Öl, das bald krystallinisch erstarrte. Die Krystalle wurden aus Essigester umkrystallisiert. Die Ausbeute an reinem *d*- $\alpha$ -Brompropionyl-*l*-tyrosin betrug 7 g = 95.3 % der Theorie.

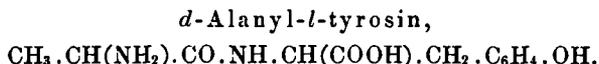
Zur Analyse wurde das Präparat im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet.

0.2032 g Sbst.: 0.338 g CO<sub>2</sub>, 0.0875 g H<sub>2</sub>O. — 0.2022 g Sbst.: 7.4 ccm N (15.5°, 750 mm). — 0.1714 g Sbst.: 0.1011 g AgBr.

C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>NBr (316.16). Ber. C 45.54, H 4.43, N 4.44, Br 25.29.  
Gef. » 45.40, » 4.82, » 4.20, » 25.10.

Der Bromkörper sintert beim Erhitzen im Capillarröhrchen bei 156° und schmilzt bei 161° (korr. 165.2°). Er krystallisiert aus Essigester in feinen, auf beiden Seiten zugespitzten Blättchen. Sie sind oft in Rosetten angeordnet.

Das *d*-Brompropionyl-*l*-tyrosin ist leicht löslich in gewöhnlichem und absolutem Alkohol, in Aceton. Essigester, Methylalkohol und ebenso in heißem Wasser; dagegen löst es sich schwer in kaltem Wasser. In Chloroform, Benzol, Äther und Petroläther ist es unlöslich. Es gibt die Millonsche Reaktion.



5.5 g *d*-Brompropionyl-*l*-tyrosin wurden mit 27.5 ccm wäßrigem Ammoniak von 25% übergossen, und die Lösung drei Tage bei 37° aufbewahrt. Der beim Verdampfen der ammoniakalischen Lösung unter vermindertem Druck verbleibende Rückstand wurde mit absolutem Alkohol ausgekocht, der unlösliche Rückstand in wenig warmem Wasser gelöst, und zu der Lösung solange absoluter Alkohol hinzugefügt, bis eine bleibende Trübung eintrat. Sehr bald trat Krystallisation ein. Die Ausbeute an reinem Dipeptid betrug 2.7 g = 62% der Theorie.

Das im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknete Präparat gab folgende Analysenwerte:

0.1791 g Sbst.: 0.3732 g CO<sub>2</sub>, 0.0986 g H<sub>2</sub>O. — 0.161 g Sbst.: 15.1 ccm (16°, 763 mm).

C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (252.2). Ber. C 57.14, H 6.40, N 11.15.  
 Gef. » 56.83, » 6.16, » 10.92.

Beim raschen Erhitzen des Dipeptids im Capillarröhrchen beginnt es gegen 198° (korr. 202.3°) aufzuschäumen; es hat keinen konstanten Schmelzpunkt. Erhitzt man weiter, dann färbt sich der Schaum im Capillarröhrchen gegen 252° gelb, und gegen 284—285° tritt dann völlige Zersetzung ein (korr. 285—286°). Es krystallisiert in prachtvollen, großen, sechsseitigen Tafeln des hexagonalen Systems. Es löst sich leicht in heißem Wasser, schwerer in kaltem und in Methylalkohol; in absolutem Alkohol, Äther und Petroläther ist es unlöslich.

0.2094 g Sbst.; in Wasser gelöst; Gesamtgewicht der Lösung 10.2418 g;  $d_4^{20} = 1.009$ ;  $\alpha$  im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht + 0.89°. Mithin:  $[\alpha]_D^{20} = + 43.14^\circ$ .

*d*-Alanyl-*l*-tyrosin wird von aktivem Pankreassaft vom Hunde sehr rasch in seine Komponenten zerlegt. Fügt man zu einer klaren Lösung des Dipeptids Pankreassaft hinzu, dann sieht man schon nach einstündigem Stehen der Flüssigkeit bei 37° Abscheidung von Tyrosinkrystallen. Der Verlauf der Spaltung läßt sich auch polarimetrisch genau verfolgen.

Mit Millons Reagens färbt sich die wäßrige Lösung rot. Xanthoproteinreaktion positiv. Biuretkation negativ. Mit Phosphorwolframsäure tritt auch in konzentrierter, wäßriger Lösung keine Fällung ein.

*d*-Alaninyl-3.5-dijod-*l*-tyrosin.

*d*- $\alpha$ -Brompropionyl-3.5-dijod-*l*-tyrosin,  
 $\text{CH}_3 \cdot \text{CHBr} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}(\text{COOH}) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4\text{J}_2 \cdot \text{OH}$ .

5 g *d*- $\alpha$ -Brompropionyl-*l*-tyrosinäthylester wurden in 29 ccm normaler Natronlauge (2 Mol.) gelöst und mit einer Lösung von 7.38 g Jod (4 Mol.) in Chloroform so lange unter Umschütteln versetzt, bis eine violette Färbung der Chloroformlösung eintrat. Nun wurden wiederum 29 ccm normaler Natronlauge (2 Mol.) und weitere Mengen der erwähnten Jodlösung in Chloroform zugegeben, bis wiederum Violett färbung eintrat. Die wäßrige Lösung trennten wir nunmehr im Scheidetrichter von der Chloroformlösung ab und säuerten sie mit verdünnter Salzsäure an. Es fiel sogleich ein grünlich gefärbtes Produkt im amorphen Zustande aus. Es wurde abfiltriert, in Alkohol gelöst und zu der Lösung nach dem Aufkochen mit Tierkohle und Abfiltrieren so lange kaltes Wasser hinzugefügt, bis eine bleibende Trübung eintrat. Nach einigem Stehen trat reichliche Krystallisation ein. Die Ausbeute betrug 7.2 g = 85% der Theorie.

Für die Analyse wurde das Produkt im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet.

0.1917 g Sbst.: 0.1813 g  $\text{CO}_2$ , 0.0411 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.1981 g Sbst.: 4.5 ccm N (20°, 769 mm). — 0.202 g Sbst.: 0.2318 g Halogensilber, 0.1516 g AgCl; 0.1659 g AgJ, 0.0659 g AgBr.

$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{BrJ}_2\text{NO}_4$  (568.01).

Ber. C 25.35, H 2.13, N 2.47, Hlg 58.78, J 44.70, Br 14.08.

Gef. » 25.79, » 2.40, » 2.42, » 58.26, » 44.38, » 13.88.

*d*- $\alpha$ -Brompropionyl-dijod-*l*-tyrosin schmilzt beim raschen Erhitzen bei 212—213° (korr. 217.3°) unter Zersetzung. Es krystallisiert aus heißem, absolutem Alkohol nach Zusatz von kaltem Wasser in zu Rosetten vereinigten, langgestreckten, dünnen Nadeln. Es löst sich leicht in Aceton, Essigester, Methylalkohol und absolutem Alkohol; etwas schwerer löslich als in letzterem ist es in gewöhnlichem Alkohol. In Wasser, Chloroform, Benzol, Äther und Petroläther ist es unlöslich.

Mit Millons Reagens gibt es keine Rotfärbung.

*d*-Alaninyl-3.5-dijod-*l*-tyrosin,

$\text{CH}_3 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}(\text{COOH}) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4\text{J}_2 \cdot \text{OH}$ .

6 g *d*- $\alpha$ -Brompropionyl-3.5-dijod-*l*-tyrosin wurden in 30 ccm 25-prozentigem Ammoniak gelöst, und die Lösung 3 Tage bei 37° aufbewahrt.

Den nach dem Verdampfen der ammoniakalischen Lösung verbleibenden Rückstand kochten wir mit Wasser aus. Der unlösliche

Rückstand krystallisiert aus wäßrigem Ammoniak in zu Büscheln vereinigten, zugespitzten Blättchen.

Die Ausbeute betrug 4.4 g = 83% der Theorie.

Für die Analyse wurde das Produkt im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet.

0.2105 g Sbst.: 0.2185 g CO<sub>2</sub>, 0.0548 g H<sub>2</sub>O. — 0.1921 g Sbst.: 9.2 ccm N (26°, 771 mm). — 0.1942 g Sbst.: 0.1798 g AgJ.

C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>J<sub>2</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub> (504.11). Ber. C 28.56, H 2.80, N 5.57, J 50.37.

Gef. » 28.31, » 2.91, » 5.32, » 50.13.

0.3276 g Sbst.; in 25-prozentigem Ammoniak gelöst; Gesamtgewicht der Lösung 4.1270 g.  $d_4^{20} = 0.97416$ . Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht: + 4.86°. Mithin:  $[\alpha]_D^{20} = + 62.88^\circ$ .

*d*-Alanyl-3.5-dijod-*l*-tyrosin färbt sich beim Erhitzen im Capillarröhrchen gegen 188° gelb; bei 205° wird es braun und schmilzt dann unter Zersetzung gegen 227° (korr. 231.5).

Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aceton, Äther, Petroläther, Benzol, Essigester, Chloroform, Methylalkohol, schwer löslich in Natronlauge, löslich in Ammoniak.

Mit Millons Reagens gibt es keine Rotfärbung. Die Xanthoproteinreaktion ist vorhanden. Biuretreaktion negativ.

*l*-Leucyl-*l*-tyrosin,



*d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-*l*-tyrosin,



Wir gingen auch hier vom salzsauren Tyrosinäthylester aus. Das zur Kupplung notwendige *d*- $\alpha$ -Bromisocapronylchlorid bereiteten wir aus *d*-Leucin, das wir durch Spaltung von racemischem Leucin mit Hilfe der Formylverbindung erhalten haben<sup>1)</sup>.

13 g salzsaurer Tyrosinester wurden mit 100 ccm Chloroform übergossen und mit 53 ccm normaler Natronlauge (1 Mol.) unter Kühlung geschüttelt. Die Chloroformlösung wurde im Scheidetrichter abgehoben und mit Natriumsulfat getrocknet. Nun gaben wir innerhalb einer halben Stunde 6 g (1 Mol.) *d*-Bromisocapronylchlorid in 30 ccm Chloroform gelöst unter fortwährendem Umschütteln hinzu. Hierauf wurde die Chloroformlösung vom ausgefallenen salzsauren Tyrosinäthylester abfiltriert, mit Natriumsulfat getrocknet und nunmehr unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Es hinterblieb ein Öl. Es enthält den *d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-*l*-tyrosinäthylester. Wir haben ihn nicht

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

isoliert, sondern sofort die Verseifung vorgenommen, indem wir das Öl in 60 ccm normaler Natronlauge lösten und dann nach zweistündigem Umschüteln die äquivalente Menge normaler Salzsäure zugeben.

Es fiel wiederum ein Öl aus. Um es vom beigemengten Kochsalz zu befreien, kochten wir es unter Zusatz von Tierkohle mit absolutem Alkohol aus und engten die nunmehr klare Lösung zur Trockne ein; der Rückstand wurde mit Petroläther angerieben, worauf er nach kurzer Zeit erstarrte.

Es ist uns nicht gelungen, diesen Körper in Krystallform zu erhalten. Es unterliegt jedoch keinem Zweifel, daß *d*-Bromisocapronyl-*l*-tyrosin krystallisiert. Wir haben offenbar die richtigen Bedingungen noch nicht getroffen. In kleinen Mengen haben wir es übrigens in Krystallform erhalten. Die Ausbeute betrug 6.3 g = 67 % der Theorie <sup>1)</sup>.

Das über Schwefelsäure im Vakuumexsiccator getrocknete Präparat ergab folgende Analysenzahlen:

0.1997 g Sbst.: 0.3692 g CO<sub>2</sub>, 0.0957 g H<sub>2</sub>O. — 0.1844 g Sbst.: 5.8 ccm N (22.5°, 769 mm).

C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>NBr (358.15). Ber. C 50.26, H 5.63, N 3.92.

Gef. » 50.42, » 5.36, » 3.58.

Das amorphe Produkt sinterte bei 118° und schmolz gegen 137—138° (korr. 141.5°).

Die Millonsche Reaktion war positiv.

*l*-Leucyl-*l*-tyrosin,

(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH.CH<sub>2</sub>.CH(NH<sub>2</sub>).CO.NH.CH(COOH).CH<sub>2</sub>.C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>.OH.

2.5 g *d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-*l*-tyrosin wurden mit 12.5 ccm einer 25-prozentigen wäßrigen Ammoniaklösung 4 Tage im Brutraum stehen gelassen.

Die Gewinnung des reinen Dipeptids bereitete einige Schwierigkeiten, weil es nicht gelingen wollte, den nach dem Abdampfen der ammoniakalischen Lösung verbleibenden Rückstand von Chlorammonium ganz zu befreien. Wir nahmen deshalb den Rückstand in etwas mehr als der berechneten Menge Barytlösung auf und verdampften unter vermindertem Druck fast zur Trockene. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst, der Baryt quantitativ mit Schwefelsäure entfernt und das Filtrat vom Bariumsulfat mit überschüssigem Silbersulfat geschüttelt; schließlich entfernten wir nach erfolgter Filtration das gelöste Silber mit 1,10-n. Salzsäure und die vorhandene Schwefelsäure quantitativ mit Baryt.

Es ist uns nicht gelungen, das Dipeptid im krystallisierten Zustande zu erhalten. Wir gewannen es nach dem Verdampfen seiner

<sup>1)</sup> Wobei allerdings zu beachten ist, daß die Hälfte des *l*-Tyrosinäthylesters als Hydrochlorid der Reaktion entzogen wurde.

Lösung als amorphes Pulver. Zu seiner Reinigung fällten im es aus seiner wäßrigen Lösung mit Alkohol und Äther.

Die Ausbeute betrug 0.9 g = 45 % der Theorie.

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

0.1613 g Sbst.: 0.3598 g CO<sub>2</sub>, 0.1069 g H<sub>2</sub>O. — 0.121 g Sbst.: 10.1 ccm N (25°, 775 mm).

C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (294.25). Ber. C 61.17, H 7.53, N 9.54.

Gef. » 60.84, » 7.41, » 9.45.

0.1080 g Sbst. in Wasser gelöst; Gesamtgewicht der Lösung 5.1153 g.  $d_4^{20} = 1.0048$ ;  $\alpha$  im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht: + 0.22°. Mithin:  $[\alpha]_D^{20} = + 10.37^\circ$ .

Das *l*-Leucyl-*l*-tyrosin färbt sich beim Erhitzen im Capillarrohr gegen 231° gelb, wird bei 256° braun und schmilzt schließlich unter Zersetzung gegen 264—265° (korr. 268.7—269.7°).

Es löst sich in kaltem Wasser ziemlich schwer; in Alkohol ist es so gut wie unlöslich und in Äther ganz unlöslich.

Millonsche Reaktion positiv, Xanthoproteinreaktion ebenfalls; die Biuretkreaktion ist negativ. Mit Phosphorwolframsäure gibt die wäßrige Lösung des Dipeptids einen im Überschuß des Fällungsmittels löslichen, amorphen Niederschlag.

## 2. Tripeptid.

Glycyl-*d*-alanyl-*l*-tyrosin,

CH<sub>2</sub>(NH<sub>2</sub>).CO.NH.CH(CH<sub>3</sub>).CO.NH.CH(COOH).CH<sub>2</sub>.C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>.OH.

Chloracetyl-*d*-alanyl-*l*-tyrosin,

CH<sub>2</sub>(Cl).CO.NH.CH(CH<sub>3</sub>).CO.NH.CH(COOH).CH<sub>2</sub>.C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>.OH.

Zur Darstellung dieser Verbindung gingen wir von dem oben beschriebenen *d*-Alanyl-*l*-tyrosin aus. 5 g dieses Dipeptids wurden in 39.68 ccm normaler Natronlauge (2 Mol.) gelöst, und bei guter Kühlung und fortwährendem Schütteln abwechselnd eine Lösung von 2.86 g Chloracetylchlorid (1.2 Mol.) in 20 ccm Äther und 19.84 ccm normaler Natronlauge (1 Mol.) zugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde dann mit 35.71 ccm normaler Salzsäure (1.8 Mol.) angesäuert.

Den nach dem Verdampfen der Lösung unter vermindertem Druck verbleibenden Rückstand kochten wir mit absolutem Alkohol aus. Die alkoholische Lösung ließen wir nun nach erfolgtem Einengen im Vakuumexsiccator verdunsten. Schließlich fällten wir das verbleibende Öl mit Äther und erhielten den Halogenkörper in Form einer feinen, pulverartigen Masse.

Die Ausbeute an diesem Produkt betrug 4.9 g = 75 % der Theorie.

Für die Analyse wurde das Produkt im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet.

0.2032 g Sbst.: 0.3817 g CO<sub>2</sub>, 0.1035 g H<sub>2</sub>O. — 0.152 g Sbst.: 10.9 ccm N (23°, 776 mm).

C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>Cl (328.66). Ber. C 51.12, H 5.21, N 8.54.

Gef. » 51.23, » 5.69, » 8.21.

Die amorphe Verbindung sintert beim Erhitzen im Capillarröhrchen gegen 97° und schmilzt zur schaumigen Masse gegen 108°; gegen 166° verschwinden die Bläschen, und die entstehenden Öltröpfchen färben sich dann gegen 210° gelb; gegen 236° tritt völlige Zersetzung ein.

Das Chloracetyl-*d*-alanyl-*l*-tyrosin löst sich in gewöhnlichem und absolutem Alkohol und in gewöhnlichem Aceton. Millon'sche Reaktion positiv.

Glycyl-*d*-alanyl-*l*-tyrosin,

CH<sub>2</sub>(NH<sub>2</sub>).CO.NH.CH(CH<sub>3</sub>).CO.NH.CH(COOH).CH<sub>2</sub>.C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>.OH.

Zu der Darstellung dieses Tripeptids übergossen wir 3 g Chloracetyl-*d*-alanyl-*l*-tyrosin mit 15 ccm 25-prozentigem wäßrigem Ammoniak und ließen die Lösung 4 Tage bei 37° stehen. Sie wurde dann unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Das Halogen entfernten wir in derselben Weise, wie wir es eben beim *l*-Leucyl-*l*-tyrosin beschrieben haben.

Es ist uns auch hier nicht geglückt, das Tripeptid in Krystallform zu erhalten. Wir gewannen es durch Fällen seiner konzentrierten, wäßrigen Lösung mit Alkohol als amorphes Pulver.

Die Ausbeute betrug 1.3 g = 46 % der Theorie.

Das bei 100° im Vakuum getrocknete Präparat gab folgende Analysenzahlen:

0.1421 g Sbst.: 0.2811 g CO<sub>2</sub>, 0.079 g H<sub>2</sub>O. — 0.1417 g Sbst.: 16.7 ccm N (23°, 767 mm).

C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> (309.26). Ber. C 54.32, H 6.19, N 13.62.

Gef. » 53.95, » 6.36, » 13.34.

0.2084 g Sbst. in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 4.6438 g;  $D_4^{20} = 1.0149$ ;  $\alpha$  im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht: — 0.22°. Mithin:  $[\alpha]_D^{20} = -4.83^\circ$ .

Das amorphe Produkt wird beim Erhitzen im Capillarröhrchen gegen 193° gelb; es zersetzt sich unter Schäumen gegen 204° (korr. 208°).

In Wasser löst es sich ziemlich leicht, während das Produkt in Alkohol, Aceton, Essigester, Äther, Petroläther und Chloroform unlöslich ist.

Millonsche Reaktion positiv. Xanthoproteinreaktion positiv. Die alkalische Lösung des Tripeptids gibt auf Zusatz einer verdünnten Kupfersulfatlösung eine schöne, violettrote Färbung. — Mit Phosphorwolframsäure entsteht ein amorpher Niederschlag, der sich im Überschuß des Fällungsmittels wieder auflöst. Mit Ammoniumsulfat gibt die konzentrierte, wäßrige Lösung des Tripeptids eine schwache Trübung; höchst wahrscheinlich ist sie auf eine geringfügige Verunreinigung zurückzuführen.

### 3. *Tetrapeptid.*

#### *d*-Alanyl-diglycyl-glycin.

#### *d*- $\alpha$ -Brompropionyl-diglycylglycin.

Zu seiner Darstellung verwendeten wir Diglycyl-glycin und *d*-Brompropionylchlorid.

Ersteres hatten wir aus Glycinanhydrid und Chloracetylchlorid bereit<sup>1)</sup>. Die Darstellung des *d*- $\alpha$ -Brompropionylchlorids war dieselbe, wie sie schon beim *d*-Brompropionyl-*l*-tyrosinäthylester erwähnt worden ist.

2.33 g Diglycylglycin wurden in 6.16 ccm zweifachnormaler Natronlauge (1 Mol.) gelöst. Zu der Lösung fügten wir nun unter Kühlung und fortwährendem Schütteln 2.4 g *d*- $\alpha$ -Brompropionylchlorid (1.25 Mol.) in 20 ccm Äther gelöst und ferner 12.32 ccm zweifach normaler Natronlauge (2 Mol.). Schließlich säuerten wir das Reaktionsgemisch mit 21.55 ccm normaler Salzsäure (1.75 Mol.) an und engten dann die Flüssigkeit unter vermindertem Druck so lange ein, bis die Abscheidung von Krystallen begann. Die Mutterlauge der Krystalle engten wir zur Trockue ein und lösten dann den Rückstand bei gleichzeitiger Anwendung von Tierkohle in heißem Wasser auf und kühlten dann auf Eis ab.

Die Ausbeute betrug 3.1 g = 77% der Theorie.

Für die Analyse wurde das Produkt im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet; es gab folgende Analysenwerte:

0.1735 g Sbst.: 0.2102 g CO<sub>2</sub>, 0.0719 g H<sub>2</sub>O. — 0.1706 g Sbst.: 19.3 ccm N (25°, 769 mm). — 0.207 g Sbst.: 0.1137 g AgBr.

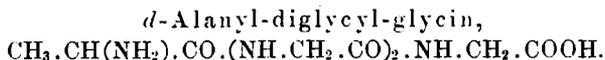
C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>N<sub>3</sub>Br (324.19). Ber. C 33.31, H 4.35, N 12.99, Br 24.36.

Gef. » 33.04, » 4.64, » 12.71, » 24.40.

Das *d*- $\alpha$ -Brompropionyl-diglycyl-glycin krystallisiert aus heißem Wasser in äußerst feinen, zu Büscheln vereinigten Nadeln. Es wird beim Erhitzen im Capillarröhrchen gegen 183° braun und schmilzt

<sup>1)</sup> E. Fischer, Synthese von Polypeptiden, XV. Mitteilung: diese Berichte 39, 2931 [1906]

bei 185° (korr. 189.5°) zu einer schäumenden Masse. Es ist in heißem Wasser löslich, unlöslich in Alkohol, Aceton, Äther, Petroläther, Benzol, Essigester, Chloroform und Methylalkohol.



Die Überführung des *d*- $\alpha$ -Brompropionyl-diglycyl-glycins in das Tetrapeptid *d*-Alanyl-diglycyl-glycin erfolgte in der üblichen Weise durch Stehenlassen des Halogenkörpers mit 25-prozentigem wäßrigem Ammoniak bei 37°.

Auch hier entfernten wir das Halogen mit Silber.

Das Tetrapeptid krystallisiert aus Wasser nach Zusatz von Alkohol in feinen Nadeln.

Die Ausbeute betrug 2.3 g = 71% der Theorie.

Das bei 100° im Vakuum getrocknete Präparat gab folgende Analysenzahlen:

0.2131 g Sbst.: 0.3231 g CO<sub>2</sub>, 0.1198 g H<sub>2</sub>O. — 0.1530 g Sbst.: 28.5 ccm N (20°, 761 mm).

C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>N<sub>4</sub> (260.15). Ber. C 41.51, H 6.19, N 21.54.  
Gef. » 41.33, » 6.24, » 21.24.

0.2654 g Sbst. in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 8.3308 g;  $D_4^{20} = 1.0116$ ;  $\alpha$  im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht + 0.87°. Mithin  $[\alpha]_D^{20} = + 26.99^\circ$ .

Das Tetrapeptid färbt sich beim Erhitzen im Capillarröhrchen gegen 225° (korr. 229.3°) gelb; gegen 233° (korr. 237.3°) wird es braun, und gegen 249—250° (korr. 253.7°) tritt dann totale Zersetzung ein.

Es löst sich ziemlich leicht in Wasser; in Alkohol, Aceton und Essigester ist es sehr schwer löslich. Seine wäßrige Lösung färbt sich nach Zusatz von Alkali und wenig verdünnter Kupfersulfatlösung schön rosarot. Die konzentrierte wäßrige Lösung gibt mit Phosphorwolframsäure einen amorphen Niederschlag, der sich aber schon in einem geringen Überschuß des Fällungsmittels wieder auflöst.