

Für die Analyse war im Vakuum (15 mm) bei 105° getrocknet. Die lufttrockne Substanz verlor dabei 4.8% an Gewicht.

0.1658 g Sbst.: 0.3698 g CO<sub>2</sub>, 0.0574 g H<sub>2</sub>O. — 0.1846 g Sbst.: 0.4121 g CO<sub>2</sub>, 0.0594 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub> (274.08). Ber. C 61.30, H 3.68.  
Gef. » 60.83, 60.88, » 3.87, 3.60.

Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr schmilzt die Säure gegen 270° unter Gasentwicklung zu einer braunen Flüssigkeit. Sie löst sich leicht in kaltem Aceton und Essigester, schwer in heißem Alkohol und Äther, fast garnicht in Benzol, Chloroform und Petroläther. Die wäßrige Lösung gibt mit Eisenchlorid ähnliche Färbungen wie die Protocatechusäure.

### 231. Emil Fischer und Otto Gerngross:

#### Synthese von Polypeptiden. XXX. Derivate des *l*-Cystins.

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin.]

(Eingegangen am 30. März 1909.)

Vom Cystin sind bisher nur symmetrische Tripeptide, die Diglycyl-, Dialanyl- und Dileucylverbindungen bekannt<sup>1)</sup>. Sie wurden nach der Halogenacylmethode gewonnen. Da aber damals die aktiven  $\alpha$ -Halogenfettsäuren noch nicht zugänglich waren und deshalb inaktive  $\alpha$ -Brompropionsäure und  $\alpha$ -Bromisocapronsäure benutzt wurden, so ist die Einheitlichkeit der beschriebenen Produkte in stereochemischer Beziehung zweifelhaft.

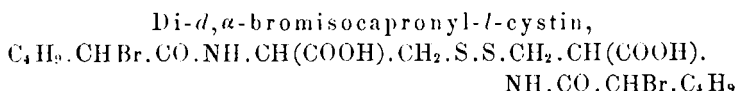
Wir haben deshalb die Synthese des Dileucylcystins mit optisch aktiver *d*- $\alpha$ -Bromisocapronsäure wiederholt und statt des früher beschriebenen amorphen Präparates ein krystallinisches Produkt gewonnen, das wir als Di-*l*-leucyl-*l*-cystin bezeichnen und dessen stereochemische Einheitlichkeit kaum zweifelhaft ist. Das Präparat bietet noch ein besonderes Interesse, weil es selbst aus verdünnter wäßriger Lösung durch Ammoniumsulfat gefällt wird und mithin im Sinne der üblichen Nomenklatur der Spaltprodukte von Proteinen als eine »Albumose« bezeichnet werden kann. Es gleicht in dieser Beziehung dem ebenfalls synthetisch gewonnenen Leucyltriglycyltyrosin<sup>2)</sup>.

Ferner haben wir beobachtet, daß bei der Kupplung des *l*-Cystins mit Halogenacylchlorid in alkalischer Lösung neben dem Di-halogenacylderivat auch ein Mono-halogenacylderivat entsteht. Seine Menge wird, wie leicht begreiflich, größer, wenn vom Cystin ein Überschuß

<sup>1)</sup> E. Fischer und U. Suzuki, diese Berichte **37**, 4575 [1904].

<sup>2)</sup> E. Fischer, diese Berichte **40**, 3710 [1907].

zur Anwendung kommt. Genau untersucht haben wir die schön krystallisierenden Mono-*d*, $\alpha$ -bromisocapronyl- und Monochloracetylverbindungen. Beide werden durch Ammoniak in die entsprechenden Dipeptide verwandelt, die wir aber bisher leider nicht in ganz reinem Zustand gewinnen konnten.



6 g Cystin ( $[\alpha]_D = -216^\circ$ ) werden in 5 ccm *n*-Natronlauge (2 Mol.) gelöst, die Lösung in einer geräumigen Schüttelflasche stark gekühlt und unter starkem Schütteln abwechselnd in ca. 8 Portionen 11.7 g *d*- $\alpha$ -Bromisocapronylchlorid (2.2 Mol., bereitet aus *d*-Leucin) und 62.5 ccm *n*-Natronlauge (2.5 Mol.) zugefügt. Da die ganze Masse bald zu einem steifen Schaum gesteht, so ist die Anwendung von Glasperlen zu empfehlen. Nach ca.  $\frac{3}{4}$  Stunden ist das Chlorid verbraucht, und beim Ansäuern mit 15 ccm 5-*n*. Salzsäure fällt ein dickes Öl aus, während gleichzeitig der Schaum verschwindet. Es wird zweimal ausgeäthert und die Ätherauszüge nach dem Trocknen mit Natriumsulfat auf ein kleines Volumen abgedampft. Ist man im Besitz von Krystallen, so erhält man das Kupplungsprodukt gleich rein, wenn man die konzentrierte ätherische Lösung impft und einige Stunden in einer Kältemischung aufbewahrt. Nach dem Absaugen und Waschen mit kaltem Äther betrug die Ausbeute an reinem, weißem Produkt ca. 8 g oder 54% der Theorie.

Fällt man die stark eingeengte ätherische Lösung durch Petroläther, so erhält man das Kupplungsprodukt als ein gelbliches Öl, das beim Reiben bald erstarrt, und dessen Menge ca. 10 g (ca. 70% der Theorie) beträgt. Aber dem Produkt haftet eine Verunreinigung an, die durch Digerieren mit 10 Teilen absolutem Äther entfernt werden muß, wobei ungefähr 20% gelöst bleiben. Zur Reinigung wird die Substanz in etwa 10 Teilen Essigäther gelöst und die Lösung bis zur Trübung mit Petroläther versetzt. Sie scheidet sich beim längeren Stehen in großen, meist zu Sternen oder kugligen Aggregaten vereinigten, zugespitzten, harten Prismen ab, die häufig 5 mm lang sind und beim raschen Erhitzen im Capillarrohr nach vorheriger Sinterung zwischen  $121^\circ$  und  $123^\circ$  (korr.) unter Gasentwicklung schmelzen. Zur Analyse wurde unter 15 mm Druck bei  $80^\circ$  getrocknet.

0.1696 g Sbst.: 0.2253 g CO<sub>2</sub>, 0.0775 g H<sub>2</sub>O. — 0.1153 g Sbst.: 4.9 ccm N ( $16^\circ$ , 758 mm). — 0.1241 g Sbst.: 0.0794 Ag Br. — 0.2010 g Sbst.: 0.1523 g BaSO<sub>4</sub>.

C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (594.29). Ber. C 36.35, H 5.09, N 4.71, Br 26.91, S 10.79.  
Gef. » 36.18, » 5.11, » 4.95, » 27.23, » 10.40.

In Wasser ist die Substanz auch in der Hitze sehr schwer löslich, leicht in Alkohol, Aceton, Essigäther, Pyridin, schwer in Äther, fast unlöslich in Petroläther.

Zur optischen Bestimmung diente eine 10-prozentige Lösung in ab-  
absolutem Alkohol, wobei 2 Präparate verschiedener Darstellung zur Ver-  
wendung kamen.

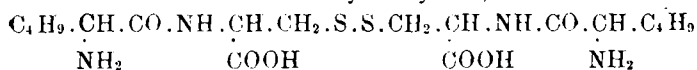
0.1512 g Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 1.5012 g;  $d^{20} = 0.834$ .  
Drehung im 1-dm-Rohr bei  $21^{\circ}$  und Natriumlicht  $11.23^{\circ}$  nach links. Mithin

$$[\alpha]_D^{21} = -133.7^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

0.4473 g Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 4.4027 g;  $d^{20} = 0.827$ .  
Drehung im 1-dm-Rohr bei  $20^{\circ}$  und Natriumlicht  $11.09^{\circ}$  nach links. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -132.0^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

Di-*l*-leucyl-*l*-cystin,



Da der Bromkörper in kaltem Ammoniak ziemlich schwer löslich ist, so werden 5 g mit 50 ccm wäßrigem Ammoniak von 25% gelinde erwärmt, bis klare Lösung eintritt und dann die Flüssigkeit sechs Tage bei  $25^{\circ}$  aufbewahrt. Man verdampft nun das überschüssige Ammoniak unter vermindertem Druck, wobei das starke Schäumen einige Unbequemlichkeit verursacht, löst den Rückstand in wenig Wasser und verdampft unter Zusatz von Alkohol abermals unter vermindertem Druck. Wird dieses Eindampfen mit Alkohol mehrmals wiederholt, so bleibt schließlich das Tripeptid gemischt mit Ammoniumbromid nicht als Sirup, sondern als nahezu farbloses Pulver zurück.

Man löst mit einem Gemisch von 40 ccm Wasser und 15 ccm Alkohol bei ca.  $70^{\circ}$ . Hierbei bleibt ein kleiner Rückstand, der zum größten Teil aus Cystin besteht. Aus dem Filtrat wird mit etwa 250 ccm Aceton das Dileucylcystin gefällt. Den Niederschlag löst man abermals in 60 ccm kaltem Wasser, filtriert wenn nötig und fällt von neuem mit etwa 200 ccm Aceton. Das so erhaltene Tripeptid ist frei von Brom und Ammoniak. Seine Menge schwankt zwischen 40 und 50% der Theorie. Für die Analyse und optische Bestimmung war nochmals umgelöst und bei  $100^{\circ}$  unter 15 mm Druck getrocknet.

0.1310 g Sbst.: 0.2222 g  $\text{CO}_2$ , 0.0892 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.1100 g Sbst.: 11.4 ccm N ( $16.5^{\circ}$ , 763 mm).

$\text{C}_{16}\text{H}_{31}\text{O}_6\text{N}_4\text{S}_2$  (466.42). Ber. C 46.31, H 7.34, N 12.02.

Gef. » 46.26, » 7.62, » 12.20.

Da die Substanz sich in kaltem Wasser zu langsam löst, so wurde für die optische Untersuchung die salzsaure Lösung benutzt.

0.0132 g Subst. gelöst in *n.*-Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 0.5159 g;  $d_{20}^{20} = 1.03$ . Drehung im  $\frac{1}{2}$ -dm-Rohr bei  $20^{\circ}$  und Natriumlicht  $1.80^{\circ}$  ( $\pm 0.02^{\circ}$ ) nach links. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -136.6^{\circ} (\pm 0.8^{\circ}).$$

Das körnige Präparat beginnt beim Erhitzen im Capillarrohre gegen  $200^{\circ}$  sich gelb zu färben und zersetzt sich bei höherer Temperatur immer mehr, ohne zu schmelzen. Es verlangt von kochendem Wasser ca. 6–7 Teile zur Lösung, kommt aber beim Abkühlen nicht heraus. In kaltem Wasser ist es erheblich schwerer löslich und in Aceton, Alkohol und in Äther so gut wie unlöslich.

Die wäßrige Lösung färbt sich beim Kochen mit gefällttem Kupferoxyd rein blau. Versetzt man die in der Kälte bereitete alkalische Lösung des Tripeptids mit sehr wenig Kupfersulfat, so tritt eine schöne rotviolette Farbe auf, die bei mehr Kupfersulfat in Blauviolett und dann in reines Blau umschlägt. Beim Kochen der Flüssigkeit wird die Farbe ganz dunkel, weil eine tiefgreifende Zersetzung des Peptids eintritt, die wohl derjenigen des Cystins durch heißes Alkali ähnlich ist.

Die mit Schwefelsäure versetzte wäßrige Lösung gibt mit Phosphorwolframsäure einen amorphen Niederschlag, der in der Wärme schmilzt.

Wie leicht das Tripeptid durch Ammoniumsulfat gefällt wird, zeigen folgende Daten: Eine Lösung in der 20-fachen Menge heißen Wassers, die von einer schwachen Trübung abfiltriert und ganz klar war, gab bei  $20^{\circ}$  auf Zusatz des gleichen Volumens einer bei derselben Temperatur gesättigten Lösung von Ammoniumsulfat einen nicht unerheblichen flockigen Niederschlag, der sich auf weiteren Zusatz von Ammoniumsulfatlösung und Abkühlen auf  $0^{\circ}$  noch erheblich vermehrte.

Die Substanz hat also in dieser Beziehung ausgesprochenen Charakter der Albumosen, und es verdient hervorgehoben zu werden, daß sie das erste krystallisierte, künstliche Polypeptid dieser Art ist.

Die eben beschriebene körnige Form des Di-*l*-leucyl-*l*-cystins ist zweifellos krystallinisch; aber die Krystalle sind nicht so deutlich ausgebildet, daß man von einer bestimmten Form sprechen könnte. Wir haben aber die Substanz auch in hübsch ausgebildeten, kleinen Prismen erhalten. Das gelingt, wenn man die nötige Geduld hat, durch Lösen in möglichst wenig heißem Wasser, Verdünnen mit der dreifachen Menge Methylalkohol und allmählichen Zusatz von Aceton oder Äther bis zur beginnenden Trübung. Bei wochenlangem Stehen scheiden sich dann jene Krystalle ab, oder aber es verwandeln sich die anfangs abgeschiedenen Knollen ebenfalls in Aggregate von kleinen Nadeln oder Prismen. Viel rascher erhält man indessen die Prismen

auf folgendem, etwas ungewöhnlichem Wege: Man löst 0.1 g Pikrinsäure in ca. 3 ccm Methylalkohol und fügt 0.1 g Tripeptid hinzu, das sich beim Umschütteln klar löst. Fügt man jetzt in kleinen Portionen sehr fein gepulvertes Tripeptid weiter zu, so löst es sich ebenfalls, bis ungefähr nochmals 0.1 g verbraucht sind. Dann beginnt eine Trübung der Flüssigkeit, und wenn man rasch filtriert, so scheiden sich aus der Flüssigkeit schöne, kleine Prismen des Tripeptids ab, deren Menge schwankt, aber sehr wohl ein Viertel des angewandten Tripeptids erreichen kann. Zur Analyse wurde bei 100° unter 15 mm Druck getrocknet.

0.1036 g. Sbst.: 10.9 ccm N (18°, 763 mm). — 0.1032 g Sbst.: 0.1112 g BaSO<sub>4</sub>.

C<sub>18</sub>H<sub>31</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub>S<sub>2</sub> (466.42). Ber. N 12.02, S 13.75.

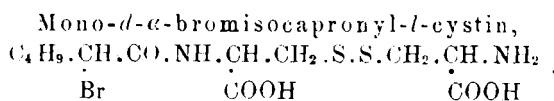
Gef. » 12.23, » 14.11.

Diese Krystalle zeigen in Bezug auf Löslichkeit, Verhalten in der Hitze und gegen Ammoniumsulfat die allergrößte Ähnlichkeit mit dem körnigen Produkt. Der Geschmack ist unangenehm und ganz schwach ins Bittere spielend, aber wenig charakteristisch. Das Drehungsvermögen fanden wir etwas höher.

0.0124 g Sbst., gelöst in *n*-Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 0.5043 g;  $d_{20}^{20} = 1.03$ . Drehung im 1/2-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 1.79° ( $\pm 0.01^\circ$ ) nach links. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -141.4^\circ (\pm 0.4^\circ).$$

Aber die Differenz ist doch zu klein, als daß man eine wesentliche Verschiedenheit der beiden Präparate annehmen könnte. Da die Analyse des körnigen Produkts gut stimmende Werte ergeben hat, so vermuten wir, daß es in geringer Menge eine gewisse Beimischung enthält, die durch die Pikrinsäure in Lösung gehalten wird. Es ist schon früher wiederholt darauf hingewiesen worden, daß bei Polypeptiden Isomere existieren, die einander gegenseitig an der Krystallisation hindern. Gelegenheit zu solchen Isomerien ist durch die Anwesenheit der Säureamidgruppe (Lactam- und Lactimform) selbst bei den einfachsten Gliedern der Klasse hinreichend gegeben, und die Schwierigkeiten der Krystallisation, denen man so häufig auch bei einheitlich zusammengesetzten Präparaten begegnet, dürfte gerade so wie bei manchen Zuckerarten durch das Vorhandensein solcher leicht in einander unwandelbarer Isomeren bedingt sein.



Die Verbindung entsteht in kleiner Menge bei der oben beschriebenen Darstellung der Dibromverbindung. Sie scheidet sich aus der

schwach salzsauren Lösung nach dem Ausäthern des Dibromkörpers bei mehrstündigem Stehen krystallinisch aus. Ihre Menge betrug nur 8% der Dibromverbindung. Viel größer wird die Ausbeute, wenn bei der Kupplung ein erheblicher Überschuß von Cystin zur Anwendung kommt. Dem entspricht folgende Vorschrift, bei der gleichzeitig eine erhebliche Menge vom Dibromkörper gewonnen und auch das im Überschuß angewandte Cystin größtenteils zurückerhalten wird.

Zu einer Lösung von 10 g Cystin in 153 ccm *n*-Natronlauge werden bei 0° unter starkem Turbinieren gleichzeitig 3 g *d*- $\alpha$ -Bromisocapronylchlorid und 16.5 ccm *n*-Natronlauge im Laufe von einer Stunde zugetropft und hinterher noch die verschlossene Flasche unter Zusatz von Glasperlen geschüttelt, bis der Geruch des Chlorids fast vollständig verschwunden ist. Dann wird mit 300 ccm *n*-Salzsäure langsam und unter Schütteln versetzt, um den ausfallenden Niederschlag in leicht filtrierbarer Form zu erhalten. Nach zweistündigem Stehen bei 0° wird abfiltriert und sowohl das Filtrat wie der feste Rückstand mit Äther ausgeschüttelt, wobei das *d*- $\alpha$ -Dibromcapronylecystin in Lösung geht. Es bleibt beim Verdampfen des Äthers als dickes Öl zurück, das in der oben beschriebenen Weise krystallisiert erhalten wird. Die Menge des rohen Dibromkörpers beträgt ungefähr 50% der Theorie, berechnet auf das Chlorid.

Der in Äther unlösliche Teil des Niederschlags ist ein Gemisch von Cystin und Mono-bromisocapronylecystin. Behufs Lösung des letzteren wird wiederholt mit viel Methylalkohol ausgekocht. Bei obigen Mengenverhältnissen sind im ganzen 500 ccm ausreichend. Das hierbei zurückbleibende Cystin kann direkt für eine neue Kupplung verwendet werden. Aus der methylalkoholischen Lösung scheidet sich beim Einengen das Mono-bromisocapronylecystin krystallinisch ab, und die Krystallisation kann durch Zusatz von Essigester noch vervollständigt werden. Die beste Ausbeute betrug 1.6 g oder 27% der Theorie, berechnet auf das angewandte Chlorid.

Für die Analyse wurde das nicht weiter umkrystallisierte Präparat bei 80° unter 15 mm Druck getrocknet.

0.1010 g Sbst.: 0.1289 g CO<sub>2</sub>, 0.0470 g H<sub>2</sub>O. — 0.1206 g Sbst.: 0.0552 g AgBr. — 0.1314 g Sbst.: 0.1450 g BaSO<sub>4</sub>.

C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>BrS<sub>2</sub> (417.26). Ber. C 34.51, H 5.07, Br 19.16, S 15.37.  
Gef. » 34.81, » 5.21, » 19.48, » 15.15.

Für die optische Bestimmung war nochmals in Wasser unter Zusatz von Natriumcarbonat gelöst, mit Essigsäure angesäuert und durch Abkühlen auf 0° die Krystallisation herbeigeführt. Zuletzt wurde das Präparat wie oben getrocknet.

0.1515 g Subst., gelöst in 0.75 ccm *n*-Natronlauge und 2 ccm Wasser. Gesamtgewicht 2.9825 g.  $d = 1.028$ . Drehung im 1-dm-Rohr bei 21° und Natriumlicht 6.80° ( $\pm 0.02^\circ$ ) nach links. Mithin:

$$[\alpha]_D^{21} = -130.2^\circ (\pm 0.4^\circ).$$

Das Mono-*d*- $\alpha$ -bromisocapronylcystin schmilzt bei raschem Erhitzen im Capillarrohr gegen 194° unter Bräunung und Aufschäumen. Es ist in den gewöhnlichen indifferenten organischen Flüssigkeiten recht schwer oder gar nicht löslich. Am leichtesten wird es von Methylalkohol aufgenommen und krystallisiert daraus in feinen, farblosen Plättchen. In Alkalien, Ammoniak und selbst in wäßrigem Pyridin löst es sich leicht. Aus letzterem kann es durch vorsichtigen Zusatz von Alkohol und Äther in Gestalt von Nadelchen ausgefällt werden. Von ganz verdünnter kalter Salzsäure wird es ziemlich schwer aufgenommen und unterscheidet sich dadurch vom Cystin. Dagegen löst warme, verdünnte oder auch kalte, stärkere Salzsäure leicht. Diese Basizität der Verbindung ist nicht auffallend, da sie ja noch eine Aminogruppe des Cystins enthält.

Durch einen vorläufigen Versuch haben wir uns überzeugt, daß das Mono-*d*- $\alpha$ -bromisocapronyl-*l*-cystin sich in alkalischer Lösung in der üblichen Weise mit *d*- $\alpha$ -Brompropionylchlorid zu einem krystallisierenden Produkt kuppeln läßt, und wir zweifeln nicht daran, daß auf diesem Wege gemischte Di-halogenacylcystine und daraus durch Amidierung gemischte Tripeptide des Cystins gewonnen werden können.

Mono-*l*-leucyl-*l*-cystin. Mit diesem Namen bezeichnen wir das durch Amidierung der zuvor beschriebenen Bromverbindung entstehende amorphe Produkt, obschon wir es, wie die späteren Analysen anzeigen, nicht ganz rein erhalten konnten. 4 g Mono-*d*- $\alpha$ -bromisocapronyl-*l*-cystin werden mit 20 ccm 25-prozentigem wäßrigem Ammoniak gelöst und 6 Tage bei 25° aufbewahrt, dann von einem geringen, dunklen Niederschlag abfiltriert und die gelbe Flüssigkeit unter stark vermindertem Druck verdampft. Der anfangs sirupöse Rückstand wird beim wiederholten Verdampfen mit Alkohol unter vermindertem Druck fest und spröde. Um das darin enthaltene Cystin, das offenbar durch Hydrolyse der Acylverbindung entsteht, zu entfernen, laugt man mit einem Gemisch von 9 ccm Wasser und 15 ccm Alkohol aus. Die Menge des zurückbleibenden Cystins beträgt ca. 0.5 g.

Versetzt man das Filtrat mit etwa 130 ccm Aceton, so fällt ein Sirup aus, der nach dem Entfernen der Mutterlauge beim Verreiben mit Aceton fest wird und sich filtrieren läßt, an der Luft aber wieder zerfließt. Man löst ihn in einem Gemisch von 6 ccm Wasser und 7 ccm Alkohol, fällt mit 60 ccm Aceton und behandelt wie zuvor. Das Lösen in Alkohol der gleichen Konzentration und Füllen mit Aceton

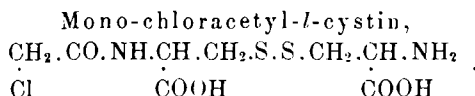
wird dann mit kleineren Flüssigkeitsmengen einige Male wiederholt, bis das Produkt halogenfrei ist und an der Luft nicht mehr zerfließt. Die Ausbeute betrug 1.9 g oder 56% der Theorie.

Das so bereitete Dipeptid ist ein farbloses, lockeres Pulver, das keinen Schmelzpunkt hat und sich im Capillarrohr von 165° an färbt und bei höherer Temperatur immer dunkler wird. Zur Analyse war bei 100° unter 15 mm Druck getrocknet.

0.0997 g Sbst.: 0.1513 g CO<sub>2</sub>, 0.0595 g H<sub>2</sub>O. — 0.1199 g Sbst.: 0.1840 g CO<sub>2</sub>, 0.0710 g H<sub>2</sub>O. — 0.1194 g Sbst.: 11.6 ccm N (19°, 757 mm). — 0.1517 g Sbst.: 15 ccm N (21.5°, 752 mm).

C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>O<sub>5</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub> (353.33). Ber. C 40.76, H 6.56, N 11.90.  
Gef. » 41.39, 41.85, » 6.68, 6.62, » 11.16, 11.16.

Die Zahlen zeigen, daß die Substanz noch nicht ganz rein war. Sie löst sich sehr leicht in Wasser, sehr schwer in absolutem Alkohol und fast gar nicht in Aceton, Äther und Essigäther. Die konzentrierte wäßrige Lösung gibt mit überschüssiger, gesättigter Lösung von Ammoniumsulfat bei guter Abkühlung auch einen ziemlich starken, klebrigen Niederschlag.



Es entsteht neben dem schon bekannten Di-chloracetylcystin<sup>1)</sup> durch Kupplung der Aminosäure mit Chloracetylchlorid, wenn erstere in erheblichem Überschuß verwendet wird. Eine leidliche Ausbeute erhält man nach folgender Vorschrift:

24 g (0.1 Mol.) werden in 200 ccm *n*-Natronlauge gelöst und zu der in einer Kältemischung gekühlten Flüssigkeit unter heftigem Schütteln abwechselnd und in etwa 10 Portionen 5.6 g Chloracetylchlorid (0.05 Mol.) und 50 ccm *n*-Natronlauge im Laufe von etwa 15 Minuten zugegeben. Das Chlorid verschwindet sofort. Um das unveränderte Cystin in filtrierbarer Form auszuschcheiden, fügt man allmählich unter Schütteln 40 ccm 5-fachnorm. Salzsäure zu, läßt noch eine halbe Stunde bei 0° stehen und filtriert den Niederschlag auf der Nutsche. Die Menge des Cystins beträgt ungefähr 14 g. Filtrat und Waschwasser werden nun unter stark vermindertem Druck völlig eingedampft und der zum erheblichen Teil ölige Rückstand 3--4-mal mit je 25 ccm Essigester unter gelindem Erwärmen durchgeschüttelt. Hierbei geht das Di-chloracetylcystin in Lösung und wird durch starkes Einengen und Fällern mit Petroläther krystallinisch gewonnen.

<sup>1)</sup> E. Fischer und U. Suzuki, diese Berichte **37**, 4576 [1904].



Die Ausbeute an Rohprodukt beträgt ungefähr 3.5 g. Um die geringe Menge des darin enthaltenen Monochloracetylkörpers zu entfernen, löst man in 10 ccm heißem Wasser, behandelt mit wenig Tierkohle und versetzt das Filtrat mit 2 ccm verdünnter Salzsäure, wodurch das basische Monochloracetylcystin gebunden wird. Das Di-chloracetylcystin scheidet sich aber beim Erkalten bald in farblosen und analysereinen Krystallen ab.

Der vom Essigester nicht gelöste Rückstand enthält außer Kochsalz Monochloracetylcystin und noch etwas unverändertes Cystin. Er wird zur Entfernung des Kochsalzes zuerst mit 50 ccm eiskaltem Wasser sorgfältig verrieben, abgesaugt und mit wenig eiskaltem Wasser gewaschen. Die Menge dieses Rohprodukts schwankt zwischen 7 und 9 g. Für die Abtrennung des darin enthaltenen Cystins haben wir nur einen Weg, Auslaugen mit wäßrigem Pyridin, gefunden, wodurch die Mono-chloracetylverbindung gelöst wird.

Zu dem Zweck werden 8 g des Rohprodukts mit einem kalten Gemisch von 30 ccm Wasser und 3.5 ccm Pyridin sorgfältig ausgelaugt und die Flüssigkeit abgesaugt oder mit einem Puckallschen Ballonfilter filtriert. Leider geht die Filtration wegen der amorphen Beschaffenheit des Cystins so langsam vonstatten, daß sie 12—24 Stunden in Anspruch nimmt. Nachgewaschen wird mit einer kleinen Menge kalten Wassers. Das Filtrat wird mit ungefähr vier Volumen Alkohol gemischt und durch Äther das Mono-chloracetylcystin gefällt. Aus 8 g Rohprodukt erhält man 4.5—5 g fast reines Präparat. Zur völligen Reinigung trägt man das krystallinische Pulver in die 15-fache Menge siedenden Wassers ein, behandelt die schwachgelb gefärbte Flüssigkeit rasch mit etwas Tierkohle, filtriert und versetzt die schnell auf etwa 50° abgekühlte Flüssigkeit mit dem doppelten Volumen Aceton. Nach kurzer Zeit beginnt die Abscheidung von farblosen, meist rechteckig abgeschnittenen, kleinen Prismen oder langgestreckten, rechteckigen Plättchen; sie werden nach mehrstündigem Stehen bei 0° filtriert. Für die Analyse war bei 100° getrocknet.

0.1810 g Sbst.: 0.2024 g CO<sub>2</sub>, 0.0713 g H<sub>2</sub>O. — 0.1481 g Sbst.: 11.3 ccm N (17°, 768 mm). — 0.1279 g Sbst.: 0.0563 g AgCl. — 0.1996 g Sbst.: 0.2957 g BaSO<sub>4</sub>.

C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>ClS<sub>2</sub> (316.69). Ber. C 30.31, H 4.14, N 8.85, Cl 11.19, S 20.25.  
Gef. » 30.50, » 4.41, » 8.97, » 10.88, » 20.34.

Für die optische Bestimmung diente die Lösung in *n*-Salzsäure. 0.0884 g Sbst., Gesamtgewicht der Lösung 1.9039 g; *d*<sup>20</sup> = 1.036. Drehung im 1-dm-Rohr bei 21° und Natriumlicht 8.10° (± 0.01°) nach links. Mithin:

$$[\alpha]_D^{21} = -168.4^\circ (\pm 0.2^\circ).$$

Ein Präparat, das von einer anderen Darstellung herrührte, gab unter den gleichen Verhältnissen  $[\alpha]_D^{17} = -169.2^{\circ}$ . Wir wollen übrigens zufügen, daß bei noch anderen Präparaten, die nicht so sorgfältig umkrystallisiert waren, die spezifische Drehung 4–5 Grade niedriger gefunden wurde.

Das Mono-chloracetyl-*l*-cystin hat keinen konstanten Schmelzpunkt. Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr verschäumt es (Zersetzung unter Aufschäumen) gegen 185–190°. Es ist in absolutem Alkohol, Aceton und Essigester sehr schwer löslich, etwas leichter wird es von Methylalkohol aufgenommen. In Alkalien und Ammoniak, sowie in verdünnten Mineralsäuren löst es sich leicht, was seinem Charakter als Säure und Base entspricht. Ebenso wird es, wie oben angeführt, durch wäßriges Pyridin leicht gelöst und unterscheidet sich dadurch von dem Cystin. Durch heiße, verdünnte Salzsäure wird es rasch hydrolysiert, und in alkalischer Lösung läßt es sich mit *d*- $\alpha$ -Bromisocapronylechlorid kuppeln.

Mouoglycyl-*l*-cystin. Die Amidierung des Chlorkörpers kann in der gewöhnlichen Weise wie bei den Leucylverbindungen ausgeführt werden, rascher aber kommt man durch Erhitzen zum Ziele. 5 g Mono-chloracetyl-*l*-cystin werden mit 50 ccm 25-prozentigem Ammoniak in einem verschlossenen Gefäß eine halbe Stunde auf 70° erhitzt, dann die gelbe Lösung unter geringem Druck eingedampft, bis alles Ammoniak ausgetrieben ist. Das hierbei abgeschiedene Cystin wird filtriert, die Mutterlauge auf ein kleines Volumen eingedampft und das Dipeptid mit Alkohol gefällt. Die abgesaugte Masse löst man in etwa 12 ccm Wasser und fällt wieder mit etwa 90 ccm Alkohol.

Die Ausbeute an so gewonnenem, halogenfreiem Dipeptid beträgt etwa 2.8 g oder 60% der Theorie. Das Präparat hat manchmal, aber nicht immer, eine ganz schwach rote Farbe und ist noch keineswegs rein. Es wurde deshalb für die Analysen noch zweimal in der obigen Weise aus wäßriger Lösung durch Alkohol gefällt und dann bei 100° unter 15 mm Druck getrocknet.

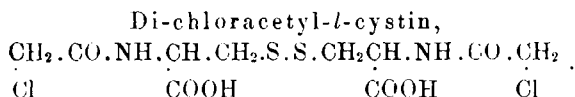
0.1659 g Sbst.: 0.2128 g CO<sub>2</sub>, 0.0823 g H<sub>2</sub>O. — 0.1183 g Sbst.: 14.7 ccm N (17.5°, 743 mm). — 0.1227 g Sbst.: 0.1841 g BaSO<sub>4</sub>.

C<sub>3</sub>H<sub>15</sub>O<sub>5</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub> (297.26). Ber. C 32.30, H 5.08, N 14.14, S 21.57.

Gef. » 34.19, » 5.42, » 14.10, » 20.60.

Die Zahlen zeigen, daß das Präparat immer noch ziemlich unrein war. Alle Versuche, die Substanz oder ihre Salze zu krystallisieren, waren bisher vergeblich. Die wäßrige Lösung gibt mit Silbernitrat einen farblosen, amorphen Niederschlag, der sich beim Erwärmen der Flüssigkeit gelb färbt, und mit Sublimat ebenfalls einen farblosen Niederschlag. Sie wird auch nach dem Ansäuern durch Phosphor-

wolframsäure gefällt; dagegen erzeugt eine konzentrierte Ammonium-sulfatlösung keinen Niederschlag. Gegen Kupfersalze verhält sich das Dipeptid ähnlich dem vorher beschriebenen Dileucylcystin.



Für seine Darstellung<sup>1)</sup> ist die alte Vorschrift, bei der auf 1 Mol. Cystin 2.4 Mol. Chlorid angewandt werden, weit besser, aber als Nebenprodukt kann man es, wie oben beschrieben, auch bei der Bereitung der Mono-chloracetylverbindung ohne zu große Mühe gewinnen. Bei dieser Gelegenheit haben wir gefunden, daß die Verbindung, wenn sie aus Wasser krystallisiert wird, Wasser enthält, dessen Menge 1 Mol. entspricht. In heißem Wasser ist sie nämlich leicht löslich, scheidet sich aber daraus in der Kälte in feinen Nadeln ab, die im Capillarrohr schon gegen 90° stark sintern, während die wasserfreie Substanz, der früheren Angabe ungefähr entsprechend, bei 136° schmilzt.

Eür die Analyse der krystallwasserhaltigen Substanz diente ein lufttrocknes Präparat.

0.2140 g Sbst.: 0.1478 g AgCl.

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_6\text{N}_2\text{Cl}_2\text{S}_2 + \text{H}_2\text{O}$  (411.16). Ber. Cl 17.24. Gef. Cl 17.08.

Für die Bestimmung des Krystallwassers wurde das lufttrockne Präparat unter 15 mm Druck erst bei 80°, wobei schon Sinterung eintritt, und dann bei 108° bis zur Konstanz getrocknet.

0.2308 g lufttrockne Sbst.: 0.0101 g H<sub>2</sub>O.

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_6\text{N}_2\text{Cl}_2\text{S}_2 + \text{H}_2\text{O}$  (411.16). Ber. H<sub>2</sub>O 4.38. Gef. H<sub>2</sub>O 4.38.

Als die getrocknete Substanz in Essigester gelöst und durch Petroläther abgeschieden war, schmolzen die feinen Blättchen oder Tafeln ziemlich scharf bei 136°. Zur Ergänzung der früheren Angabe haben wir auch noch eine optische Untersuchung in alkoholischer Lösung ausgeführt.

0.1521 g lufttrockne Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 1.4965 g.  $d_{20} = 0.8344$ . Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 10.20° ( $\pm 0.02^\circ$ ) nach links. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -120.3^\circ (\pm 0.2^\circ).$$

Schließlich sagen wir Hrn. Dr. Walter Axhausen für seine Hilfe bei obigen Versuchen besten Dank.

<sup>1)</sup> l. c.