

60.74% Platin und 17.44% Stickstoff. Rauchende Salzsäure greift nur langsam an, ersetzt allmählich die Nitritgruppen gegen Chlor und entzieht das salzartig gebundene Toluidin. Die zurückbleibenden blaßgrünlich-gelben Nadeln sind ein Toluidin-platochlorid, das in anderem Zusammenhang näher beschrieben werden soll.

**498. Emil Abderhalden, Paul Hirsch und Josef Schuler:
Synthese von Polypeptiden: Derivate des Isoleucins.**

(I. Mitteilung.)

[Aus dem Physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Berlin.]

(Eingegangen am 13. August 1909.)

Bei der partiellen Hydrolyse mehrerer Proteine sind Produkte erhalten worden, welche bei der totalen Hydrolyse neben verschiedenen Aminosäuren Leucin lieferten. So wurde beispielsweise aus Edestin eine Verbindung isoliert, an deren Aufbau nur Glykokoll und Leucin beteiligt sind. Die Analysenresultate und die Bestimmung des Molekulargewichts deuten auf ein Dipeptid. Dieses Produkt wurde in Form seines Anhydrids isoliert. Seine Eigenschaften — Löslichkeit, Drehungsvermögen, Krystallisation — stimmen jedoch mit denjenigen des *l*-Leucyl-glycinanhydrids nicht überein. Es liegt die Vermutung nahe, daß am Aufbau des isolierten Anhydrids neben dem gewöhnlichen Leucin auch das von Felix Ehrlich¹⁾ entdeckte *d*-Isoleucin beteiligt ist, d. h. mit anderen Worten, das isolierte Anhydrid ist nicht einheitlich, sondern enthält höchstwahrscheinlich neben *l*-Leucyl-glycinanhydrid *d*-Isoleucyl-glycinanhydrid. Diese Vermutung erhielt in der Tat eine Bestätigung, indem es gelang, bei der totalen Hydrolyse des isolierten Anhydrids neben *l*-Leucin und Glykokoll mit Sicherheit *d*-Isoleucin nachzuweisen. Wir begegneten dem *d*-Isoleucin bei der totalen Hydrolyse von beim partiellen Abbau von Proteinen erhaltenen Spaltprodukten noch oft und haben alle Ursache anzunehmen, daß Beimengungen von *d*-Isoleucin enthaltenden Polypeptiden die Krystallisation von vermeintlich gut gereinigten, *l*-Leucin aufweisenden Polypeptiden störten.

¹⁾ Felix Ehrlich, Über den neuen optisch-aktiven Nichtzucker, das Isoleucin. Ztschr. d. Vereins d. Zuckerind. **1904**, 975. — Über die Entstehung des Fuselöls. Ztschr. d. Vereins d. Deutsch. Zuckerind. **55**, 892 [1905]. — Über das natürliche Isomere des Leucins. Diese Berichte **37**, 1809 [1904]. — Über eine Synthese des Isoleucins. Diese Berichte **41**, 1453 [1908].

Die gemachten Beobachtungen legten den Wunsch nahe, synthetisch Polypeptide darzustellen, an deren Aufbau *d*-Isoleucin beteiligt ist. Das Studium der Eigenschaften derartiger Produkte ließ Mittel und Wege erhoffen, um eine Trennung der bei der partiellen Hydrolyse von Proteinen erhaltenen, *l*-Leucin und *d*-Isoleucin aufweisenden Spaltprodukte zu ermöglichen. Bis jetzt ist von Polypeptiden, an deren Aufbau Isoleucin beteiligt ist, nur das von Felix Ehrlich dargestellte Isoleucinanhydrid bekannt¹⁾. Ehrlich hat ferner das gewonnene Anhydrid aufgespalten und dürfte bereits das Dipeptid Isoleucyl-isoleucin in Händen gehabt haben. Genauere Angaben über dieses Dipeptid liegen nicht vor. Wir haben nun im Einverständnis mit dem Entdecker des Isoleucins eine Reihe von Dipeptiden dargestellt, an deren Aufbau *dl*- und *d*-Isoleucin beteiligt sind.

Darstellung des *dl*-Isoleucins.

Das zu den unten mitgeteilten Versuchen dienende *dl*-Isoleucin haben wir im Prinzip nach der fast gleichzeitig von Brasch und Ernst Friedmann²⁾ und Felix Ehrlich³⁾ mitgeteilten Methode dargestellt. Als Ausgangsmaterial diente käufliches, technisch reines Methyl-äthyl-ke-ton. Es wurde nach der Methode von Norris und Green⁴⁾ mit metallischem Natrium zu sekundärem Butylalkohol reduziert. Wiederholte Versuche ergaben, daß das Eintreten der nötigen Natriummenge in viel kürzerer Zeit erfolgen kann, als es von Norris und Green angegeben worden ist. So brauchten wir z. B. zur Reduktion von 4-mal je 72 g Keton mit zusammen 550 g Natrium nur 5 Stunden an Stelle der vorgeschriebenen 4 Tage. Im Durchschnitt erzielten wir 75 % an sekundärem Butylalkohol. Sehr wesentlich ist bei der Ausführung der Reduktion sorgfältige Kühlung.

Zur Bromierung des sekundären Butylalkohols verwendeten wir eine nach den Angaben von Freundler und Damond⁵⁾ und Norris und Green⁴⁾ (Johnson) kombinierte Methode.

¹⁾ Felix Ehrlich, Über das natürliche Isomere des Leucins. Diese Berichte **40**, 2538 [1907].

²⁾ Brasch und Friedmann, Eine neue Synthese des Isoleucins, Beitr. zur chem. Physiol. u. Pathol. **9**, 376 [1908].

³⁾ F. Ehrlich, Über eine Synthese des Isoleucins, diese Berichte **41**, 1453 [1908].

⁴⁾ J. F. Norris and E. H. Green, Some new derivatives of secondary butylalcohol, Amer. Chem. Journ. **26**, 293 [1901].

⁵⁾ P. Freundler et E. Damond, Sur la préparation de l'alcool amylique racémique, Compt. rend. **141**, 830 [1905].

100 g sekundärer Butylalkohol wurden in Eis gut gekühlt und nun durch einen in das aufgesetzte Kühlrohr eingeführten Tropftrichter 200 g Phosphortribromid tropfenweise zugegeben. Der Zufluß wurde so reguliert, daß kaum Bromwasserstoff entwich. Nach erfolgter Zugabe des Phosphortribromids wurde das Reaktionsprodukt nach $\frac{1}{4}$ -stündigem Stehen so lange im Wasserbad erhitzt, als noch Bromwasserstoff entwich. Diese Operation dauerte im Durchschnitt 1 Stunde. Hierauf wurde das Reaktionsprodukt in Eiswasser gegossen. Nach erfolgter Abtrennung der Bromidschicht im Scheidetrichter wurde die zurückbleibende Lösung wiederholt ausgeäthert und die Ätherauszüge zur Bromidschicht hinzugegeben. Zur Entfernung des Phosphorwasserstoffs und der phosphorigen Säure wurde nunmehr das Gemisch mit einer 10-proz. Natriumcarbonatlösung geschüttelt, im Scheidetrichter abgetrennt, die ätherische Lösung mit Natriumsulfat gründlich getrocknet, dann der Äther abdestilliert und das sekundäre Butylbromid durch fraktionierte Destillation gereinigt. Zur Verbesserung der Ausbeuten ist es ratsam, den abdestillierten Äther, sowie die Vorläufe der nochmaligen fraktionierten Destillation zu unterwerfen, da das Bromid mit Ätherdampf sehr leicht flüchtig ist. In gleicher Weise verfahren wir auch bei der Darstellung des sekundären Butylalkohols. Die Ausbeute an sekundärem Butylbromid betrug im Durchschnitt 75 % des angewandten Butylalkohols.

Die Gewinnung der sekundären Butylmalonsäure erfolgte in der üblichen Weise (Emil Fischer) durch Kupplung des sekundären Butylbromids mit Natriummalonester. Die entstehende Butylmalonsäure bietet insofern Schwierigkeiten, als sie oft nur schwer in die feste Form übergeht. Wir kamen am besten zum Ziel, indem wir die schließlich resultierende ätherische Lösung der Butylmalonsäure zunächst bei gewöhnlichem Druck verdampften, dann die letzten Spuren des Äthers unter vermindertem Druck vertrieben und nunmehr so lange auf 50° erhitzten, bis die anfänglich sirupförmige Butylmalonsäure zu einer festen Masse erstarrte. Die Ausbeute betrug im Durchschnitt 80 %.

Beim Bromieren der so erhaltenen sekundären Butylmalonsäure ergab sich, daß ein Umkrystallisieren der rohen sekundären Butylmalonsäure nicht notwendig ist. Auch hier wurde die ätherische Lösung der Sekundärbutyl-brom-malonsäure, wie oben angegeben, unter vermindertem Druck erhitzt. Zur Reinigung wurde die erhaltene Säure stets aus Benzol umkrystallisiert. Die Ausbeute an reinem Produkt betrug 80 %.

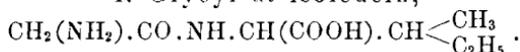
Abspaltung des Carboxyls und Amidierung der gewonnenen α -Brom- β -methyl- β -äthyl-propionsäure wurden nach Vorschrift (E. Fischer) vorgenommen. Das erhaltene *dl*-Isoleucin wurde aus Wasser umkrystallisiert. Bemerkt sei, daß bei einigen Darstellungen Isoleucin erhalten wurde, das in Wasser bedeutend schwerer

löslich war, als das gewöhnliche *dl*-Isoleucin. Worauf diese Unterschiede beruhen, vermochten wir bisher nicht festzustellen.

Spaltung des *dl*-Isoleucins. Zur Zerlegung des racemischen Isoleucins in die optisch-aktiven Komponenten verwendeten wir die Formylverbindung [E. Fischer und O. Warburg¹⁾, Locquin²⁾]. Das zu unseren Versuchen dienende *d*-Isoleucin zeigte $[\alpha]_D^{20} = +41.29^\circ$ ($\pm 0.2^\circ$) in 20-proz. Salzsäure.

I. Derivate des *dl*-Isoleucins.

1. Glycyl-*dl*-isoleucin,



Chloracetyl-*dl*-isoleucin, $\text{CH}_2\text{Cl}.\text{CO}.\text{NH}.\text{CH}(\text{COOH}).\text{CH} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{C}_2\text{H}_5 \end{array}.$

6 g *dl*-Isoleucin wurden in 45.9 ccm *n*-Natronlauge (1 Mol.) gelöst und abwechselnd 10 g Chloracetylchlorid (2 Mol.) und 162 ccm *n*-Natronlauge (3.5 Mol.) unter Eiskühlung zugegeben. Zur Isolierung des Kuppelungsprodukts wurde die filtrierte Reaktionsflüssigkeit mit 16 ccm 5-fachnormaler Salzsäure angesäuert. Nach kurzer Zeit erfolgte Krystallisation. Die Krystalle wurden abgesaugt. Die Mutterlauge engten wir unter vermindertem Druck auf etwa 500 ccm ein. Nun ätherten wir 4-mal mit je 50 ccm Äther aus. Die ätherische Lösung wurde nach vorhergehendem Trocknen mit Natriumsulfat unter vermindertem Druck auf etwa 30 ccm eingengt. Das Chloracetyl-*dl*-isoleucin wurde nunmehr mit Petroläther ausgefällt. Die Ausbeute betrug 7.7 g (77 %). Umkrystallisiert wurde das Rohprodukt aus der 16-fachen Menge heißen Wassers.

Das Chloracetyl-*dl*-isoleucin löst sich in heißem Wasser leicht, schwerer in kaltem. In absolutem Alkohol, in Methylalkohol und Äther ist es leicht löslich. Auch in Essigäther, Aceton, Chloroform und warmem Benzol ist es löslich. Aus letzterem krystallisiert es beim Abkühlen wieder aus. In Petroläther ist es unlöslich. Das Chloracetyl-*dl*-isoleucin beginnt beim Erhitzen im Capillarröhrchen bei 100° zu sintern und ist bei $105\text{--}106^\circ$ (korr.) klar geschmolzen.

0.1901 g Sbst.: 0.3208 g CO_2 , 0.1170 g H_2O . — 0.3210 g Sbst.: 15.6 ccm $\%_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$ (nach Kjeldahl). — 0.2007 g Sbst.: 0.1386 g AgCl.

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

²⁾ R. Locquin, Dédoublément de l'acide α -amino- β -méthyl- β -éthyl-propionique en ses deux inverses optiques (I). Bull. soc. chim. [4] **1**, 595 [1907].

$C_8H_{14}NO_3Cl$. Ber. C 46.24, H 6.79, N 6.76, Cl 17.07.
Gef. » 46.02, » 6.88, » 6.80, » 17.07.

Glycyl-*dl*-isoleucin.

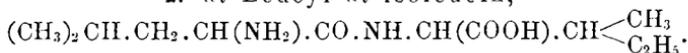
4.85 g Chloracetyl-*dl*-isoleucin wurden unter schwachem Erwärmen in 50 ccm 25-proz. wäßrigem Ammoniak gelöst. Nach 3-tägigem Stehen bei 37° wurde die Lösung unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Zur Entfernung des Chlorammoniums wurde Silber-sulfat angewandt. Es gelang nicht, das Dipeptid in Krystallform zu erhalten. Es wurde in verdünntem Alkohol gelöst und mit Äther gefällt. Die Ausbeute betrug infolge von Verlusten nur 2.3 g.

Das Dipeptid ist in Wasser leicht löslich, in Alkohol schwer löslich, in Aceton, Methylalkohol und Essigäther ebenfalls schwer löslich, unlöslich in Äther. Das Dipeptid beginnt beim Erhitzen im Capillarröhrchen bei 215° sich zu bräunen, sintert bei 219° und schmilzt gegen 242° (korr.).

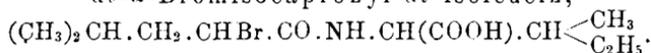
0.1374 g Sbst.: 0.2535 g CO_2 , 0.1071 g H_2O . — 0.1555 g Sbst. verbrauchten 16.85 ccm $\frac{n}{10}$ - H_2SO_4 (nach Kjeldahl).

$C_8H_{16}N_2O_3$. Ber. C 50.86, H 8.35, N 14.92.
Gef. » 50.32, » 8.71, » 15.17.

2. *dl*-Leucyl-*dl*-isoleucin,



dl- α -Bromisocapronyl-*dl*-isoleucin,



5 g *dl*-Isoleucin wurden in 38 ccm *n*-Natronlauge (1 Mol.) gelöst und abwechselnd 10 g α -Bromisocapronylchlorid (1.2 Mol.) und 68 ccm *n*-Natronlauge (1.75 Mol.) unter Eiskühlung zugegeben. Von einer geringen Trübung wurde abfiltriert und darauf aus dem Reaktionsgemisch mit 13.5 ccm 5-fachnormaler Salzsäure das α -Bromisocapronyl-*dl*-isoleucin abgeschieden. Es fällt zunächst ölig aus, wird nach 1½-stündigem Stehen im Eisschrank fest, aber nicht krystallinisch. Nach längerem Stehen wurde abgesaugt und die Mutterlauge 3-mal mit je ca. 50 ccm Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Natriumsulfat getrocknet, dann unter vermindertem Druck auf ein kleines Volumen eingengt und mit Petroläther gefällt. Die Gesamtausbeute an rohem α -Bromisocapronyl-*dl*-isoleucin betrug 10.9 g (93 %). Es ist in absolutem Alkohol, Methylalkohol, Essigäther, Benzol, Aceton leicht, in Wasser schwer, in Petroläther fast gar nicht löslich. Umkrystallisiert wurde es durch Lösen in ca. 100 ccm ab-

solutem Alkohol (10-fache Menge) und Ausfällen mit ca. 120 ccm Wasser. Das α -Bromisocapronyl-*dl*-isoleucin fängt bei 135° an zu sintern und schmilzt nicht ganz scharf zwischen 146° und 149° (korr.).

0.1609 g Sbst.: 0.2738 g CO₂, 0.1000 g H₂O. — 0.2608 g Sbst. verbrauchten 8.65 ccm $\frac{1}{10}$ -H₂SO₄ (nach Kjeldahl). — 0.1998 g Sbst.: 0.1222 g AgBr.

C₁₂H₂₂O₃NBr. Ber. C 46.75, H 7.14, N 4.55, Br 25.95.

Gef. » 46.41, » 6.95, » 4.64, » 26.01.

dl-Leucyl-*dl*-isoleucin.

5 g *dl*- α -Bromisocapronyl-*dl*-isoleucin wurden in ca. der 5-fachen Menge 25-proz. wäßrigem Ammoniak gelöst und 4 Tage im Brutschrank stehen gelassen. Die Lösung wurde auf ca. $\frac{1}{3}$ eingengt, wobei reichliche Krystallabscheidung eintrat. Das so gewonnene Rohprodukt betrug 2.8 g (76 %). Die Krystalle sind auch nach dem Umkrystallisieren aus der ca. 30-fachen Menge heißen Wassers noch nicht einheitlich. Neben rhombischen Blättchen zeigen sich zu Rosetten vereinigte, zum Teil zugespitzte Prismen. Das Dipeptid ist löslich in Wasser, schwer in Alkohol, Äther, Aceton, Essigäther. Es bräunt sich im Capillarrohr bei ca. 250° und schmilzt bei 255—256° (korr. 262—263°). Es enthält höchst wahrscheinlich 1 Mol. Krystallwasser, das erst bei höherer Temperatur abgegeben wird.

0.3945 g der lufttrocknen, etwas hygroskopischen Substanz hatten nach 20-stündigem Trocknen bei 105° über Phosphorpentoxyd 0.0324 g Wasser verloren (1 Mol. Wasser = 0.0271 g).

0.1438 g Sbst.: 0.3117 g CO₂, 0.1220 g H₂O. — 0.1462 g Sbst. verbrauchten 12.36 ccm $\frac{1}{10}$ -H₂SO₄ (nach Kjeldahl).

C₁₂H₂₄O₃N₂. Ber. C 59.02, H 9.84, N 11.47.

Gef. » 59.13, » 9.49, » 11.83.

II. Derivate des *d*-Isoleucins.

Von größerer Bedeutung als die racemisches Isoleucin enthaltenden Polypeptide sind solche, an deren Aufbau die in der Natur vorkommende optisch-aktive Form beteiligt ist, nämlich das *d*-Isoleucin. Es stehen uns nach den Untersuchungen von Emil Fischer verschiedene Methoden zur Verfügung, um *d*-Isoleucin einzuführen. Einmal kann das *d*-Isoleucin selbst mit Chloracetylchlorid und optisch-aktiven Halogenacylchloriden gekuppelt werden. Wir haben zunächst diesen einfachsten Weg beschrieben und Glycyl-*d*-isoleucin, *d*-Alanyl-*d*-isoleucin und *l*-Leucyl-*d*-isoleucin dargestellt. Eine weitere Möglichkeit, *d*-Isoleucin einzuführen, ist durch die Chlorierung dieser Aminosäure gegeben. Wir haben einen vorläufigen Versuch mit

dl-Isoleucin ausgeführt. Es wurden 5 g feingepulvertes, im Trockenschrank getrocknetes *dl*-Isoleucin in einem 200 ccm fassenden Stöpselzylinder mit 60 ccm frischem Acetylchlorid übergossen. Das Gemisch wurde gut abgekühlt. Nun gaben wir 9.5 g (1.2 Mol.) frisches, schnell gepulvertes Phosphorpentoxyd zu. Da nach längerem Schütteln auf der Schüttelmaschine keine Abscheidung erfolgte, engten wir unter vermindertem Druck in dem angewandten Zylinder bis auf etwa $\frac{1}{2}$ ein. Das rasch abgesaugte, mit kaltem Acetylchlorid und mit Petroläther gewaschene Produkt wurde im Vakuumexsiccator über Phosphorsäureanhydrid getrocknet. Die Ausbeute betrug nur etwa 40 % der Theorie. Wir haben das *dl*-Isoleucylchlorid in der üblichen Weise mit Glykokollester gekuppelt und uns überzeugt, daß das Isoleucin sich auf diesem Wege zur Synthese von Polypeptiden verwenden läßt. Wir werden nunmehr den Versuch mit *d*-Isoleucin wiederholen.

In Analogie mit anderen Beobachtungen¹⁾ war zu erwarten, daß sich *d*-Isoleucin auch ausgehend von *l*-Isoleucin auf dem Umweg über die entsprechende Bromfettsäure einführen läßt. Wir haben zunächst aus *d*- α -Brom- β -methyl- β -äthyl-propionsäure *l*-Isoleucin gewonnen.

Verwandlung des *l*-Isoleucins in *d*- α -Brom- β -methyl- β -äthyl-propionsäure.

5 g Formyl-*l*-isoleucin ($[\alpha]_D^{20} = -24.28^\circ \{\pm 0.2^\circ\}$) wurden eine Stunde mit 23 ccm 20-proz. Bromwasserstoffsäure am Rückflußkühler gekocht. Darauf wurde die Flüssigkeit unter vermindertem Druck vollständig zur Trockne verdampft. Das erhaltene bromwasserstoffsaure *l*-Isoleucin wurde in 12 $\frac{1}{2}$ ccm 20-prozentiger Bromwasserstoffsäure gelöst, in einer Kältemischung von Eis und Salz stark abgekühlt und dann in 5 Portionen 7.5 g Brom unter gleichzeitigem Einleiten eines kräftigen Stromes von Stickoxyd zugegeben. Das Einleiten von Stickoxyd wurde 2 $\frac{1}{2}$ Stunden fortgesetzt und nach Zugabe von weiteren 3 g Brom noch 1 $\frac{1}{2}$ Stunden fortgeführt.

Zur Entfernung des überschüssigen Broms wurde $\frac{1}{4}$ Stunde ein kräftiger Luftstrom durch die Flüssigkeit gesaugt und hierauf der Rest des Broms mit schwelliger Säure entfernt. Die ölig abgeschiedene Bromfettsäure wurde dreimal mit je 50 ccm Äther ausgeäthert und der Ätherauszug mit Chlorcalcium unter häufigem Umschütteln getrocknet. Die Bromfettsäure wurde im Vakuum bei 2 mm Druck destilliert. Sie ging bei 102° als farblose Flüssigkeit über und erstarrte in der

¹⁾ Emil Fischer und Helmuth Scheibler, Zur Kenntnis der Waldenschen Umkehrung. II. Diese Berichte **41**, 889 [1908]. — Dieselben, Zur Kenntnis der Waldenschen Umkehrung. III. Diese Berichte **41**, 2891 [1908].

mit Eis und Salz gekühlten Vorlage zu weißen Krystallen. Die Rohausbeute an Bromfettsäure betrug 2.25 g¹⁾. Die erhaltene Bromfettsäure wurde aus 1 ccm Petroläther umkrystallisiert. Beim Abkühlen in einer Kältemischung trat sofort Krystallisation ein. Die Krystalle wurden auf einem eisgekühlten Trichter abgesaugt und mit 1 ccm eiskaltem Petroläther gewaschen. Die Mutterlaugen wurden aufgearbeitet. Die erhaltene Bromfettsäure wird bei 30° weich und ist bei 39° klar geschmolzen. Zur optischen Bestimmung wurde die Säure in thiophenfreiem Benzol gelöst.

Die Brombestimmung nach Carius ergab:

0.1909 g Sbst.: 0.1826 g AgBr.

$C_6H_{11}O_2Br$. Ber. Br 41.03. Gef. Br 40.71.

Optische Bestimmung: 0.4016 g Sbst., Gesamtgewicht der Lösung 4.0130 g. $d^{20} = 0.9170$. Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 2.43° nach rechts.

Mithin $[\alpha]_D^{20} = + 26.48^\circ (\pm 0.2^\circ)$.

Überführung der *d*- α -Brom- β -methyl- β äthylpropionsäure in *l*-Isoleucin.

1.5 g *d*-Bromfettsäure wurden in 15 ccm 25-proz. wäßrigem Ammoniak gelöst und 3 Tage bei 37° stehen gelassen. Beim Eindampfen der Lösung erfolgte Krystallisation (0.5 g). Das bromfreie Produkt wurde zur optischen Bestimmung in Wasser gelöst.

0.1102 g Sbst., Gesamtgewicht der Lösung 3.9146 g. $d^{20} = 1.0054$. Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 0.31° nach links.

Mithin $[\alpha]_D^{20} = - 11.39^\circ (\pm 0.6^\circ)$.)

0.1291 g Sbst.: 0.2600 g CO₂, 0.1167 g H₂O.

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

Gef. » 54.92, » 10.11.

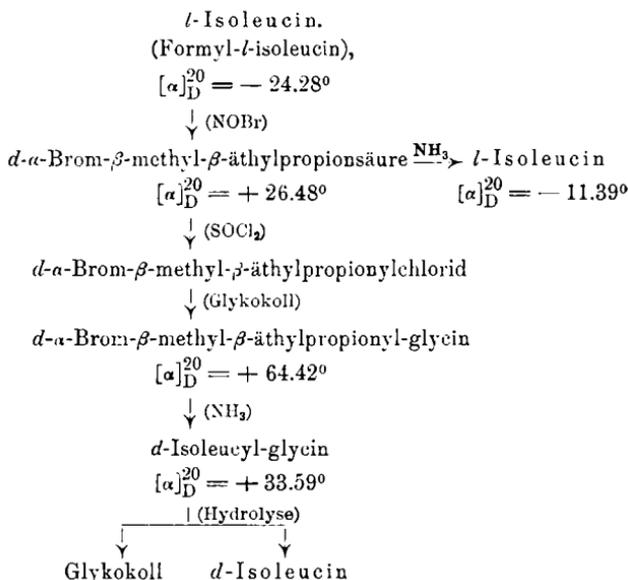
Wir hatten also ausgehend von *l*-Isoleucin wiederum *l*-Isoleucin erhalten. Die Verhältnisse liegen somit ganz analog wie beim Valin. Um die Verwertbarkeit des *l*-Isoleucins für die Synthese von *d*-Isoleucin enthaltenden Polypeptiden zu prüfen, haben wir die *d*- α -Brom- β -methyl- β -äthylpropionsäure chloriert, mit Glykokoll gekuppelt und das entstandene Produkt amidiert. Leider war die Ausbeute an reinem Dipeptid so gering, daß wir dieses nicht eingehender untersuchen konnten. Wir hydrolysierten das Dipeptid durch Kochen mit 25-prozentiger Schwefelsäure und gewannen Glykokoll und *d*-Isoleucin.

¹⁾ Bei einer Wiederholung des Versuches mit 10 g Formyl-*l*-isoleucin erhielten wir 9.7 g Bromfettsäure.

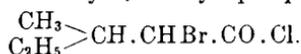
²⁾ Locquin gibt an $[\alpha]_D^{20} = - 10.55^\circ$ in wäßriger Lösung.

Auch dieses Verhalten stimmt mit den beim Valin gemachten Beobachtungen überein. Wir beobachteten ebenfalls beim Amidieren das Auftreten einer ungesättigten Verbindung, die wohl als Methyl-äthylacrylsäure zu betrachten ist.

Die erhaltenen Resultate seien in der folgenden Übersicht wiederholt:

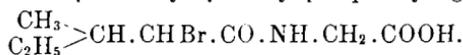


d- α -Brom- β -methyl- β -äthyl-propionylchlorid,



8.5 g *d*- α -Brom- β -methyl- β -äthylpropionsäure wurden 3 Stunden mit 20 g Thionylchlorid am Rückflußkühler auf 60° erhitzt. Nach Verjagen des überschüssigen Thionylchlorids wurde das Säurechlorid unter stark vermindertem Druck destilliert. Sdp. 67° bei 3 mm Druck. Ausbeute 7 g.

d- α -Brom- β -methyl- β -äthylpropionyl-glycin,



3.66 g Glykokoll, gelöst in 29.5 ccm *n*-Natronlauge, wurden mit 7 g *d*- α -Brom- β -methyl- β -äthylpropionylchlorid und 39 ccm *n*-Natronlauge gekuppelt. Zur Entfärbung wurde mit etwas Tierkohle geschüttelt und das Filtrat mit 8 ccm 5-fachnorm. Salzsäure übersättigt. Das Kupplungsprodukt fiel zuerst als Öl aus, beim Stehen im Eis-

schränk erstarrte die ganze Flüssigkeit zu einer krystallinischen Masse. Der Bromkörper wurde abgesaugt. Die Mutterlauge nach beträchtlicher Konzentration ausgeäthert. Durch Ausfällen der getrockneten Ätherauszüge mit Petroläther ließen sich noch 0.5 g Bromkörper gewinnen. Die Gesamtausbeute betrug 8 g.

Der Bromkörper wurde aus der 5-fachen Menge heißen Wassers umkrystallisiert. Er krystallisiert in kleinen, verflochtenen Nadelchen. Der Bromkörper ist in Wasser löslich, in verdünntem Alkohol, absolutem Alkohol, Methylalkohol, Äther, Essigäther, Chloroform und Aceton sehr leicht löslich, in Benzol löslich, in Petroläther unlöslich. Er beginnt bei 85° zu sintern und ist bei 91—92° (korr.) klar geschmolzen. Zur Analyse wurde er bei 80° über Phosphorperoxyd getrocknet.

0.2046 g Sbst.: 0.1539 g AgBr. — 0.1063 g Sbst.: 5.2 ccm N (23°, 762 mm).
0.1560 g Sbst.: 0.2171 g CO₂, 0.0797 g H₂O.

C₈H₁₄NO₃Br. Ber. Br 31.75, C 38.10, H 5.56, N 5.56.

Gef. » 32.01, » 37.95, » 5.71, » 5.56.

Zur optischen Bestimmung wurden 0.1890 g Sbst. in absolutem Alkohol gelöst. Gesamtgewicht 4.2550 g. $d^{20} = 0.8037$. Abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht: 2.30° nach rechts. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = +64.42^\circ (\pm 0.2^\circ).$$

d-Isoleucyl-glycin, $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{C}_2\text{H}_5 \end{matrix} > \text{CH} \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$.

6 g *d*- α -Brom- β -methyl- β -äthylpropionyl-glycin wurden mit 40 ccm 25-prozentigem wäßrigem Ammoniak 5 Tage im Brutschrank aufbewahrt. Die Lösung wurde nach erfolgter Filtration unter vermindertem Druck eingedampft. Die Entfernung des Bromammoniums bereitete Schwierigkeiten. Wir wendeten Silbersulfat an. Die schließlich resultierende Lösung des Dipeptids wurde unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft, der Rückstand in wenig Alkohol gelöst und das Dipeptid mit Äther gefällt. Die Menge des erhaltenen Rohproduktes betrug 2 g. Durch Umkrystallisieren aus Essigäther erhielten wir 0.45 g reines Produkt. Schmp. 162° (korr.). Es gelang nicht, aus der Mutterlauge weitere Mengen des reinen Dipeptids zu erlangen.

Das Dipeptid ist in Wasser, Alkohol, Methylalkohol, Aceton und Chloroform leicht löslich, in Essigäther und Benzol löslich, in Äther und Petroläther unlöslich.

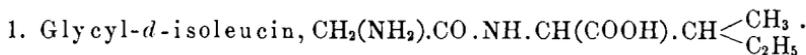
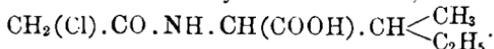
Zur optischen Bestimmung wurden 0.3106 g in Wasser gelöst. Gesamtgewicht 5.2650 g. $d^{20} = 1.020$. Abgelesene Drehung bei Natriumlicht bei 20° 2.02° nach rechts.

Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = + 33.59^\circ (\pm 0.2^\circ).$$

Hydrolyse des *d*-Isoleucyl-glycins.

0.3 g *d*-Isoleucyl-glycin wurden mit 25 ccm 25-prozentiger Schwefelsäure 8 Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Nach Entfernung der Schwefelsäure mit Baryhydrat dampften wir die Lösung unter vermindertem Druck auf ein kleines Volumen ein. Die Lösung drehte 0.81° nach rechts. Der Versuch, die beiden entstandenen Aminosäuren — Glykokoll und Isoleucin — durch fraktionierte Krystallisation zu trennen, ergab kein befriedigendes Resultat. Wir schieden schließlich das Glykokoll in Form seines Pikrates ab¹⁾. Wir lösten den beim Eindampfen der Hydrolysenflüssigkeit verbleibenden Rückstand in 3 ccm Wasser und gaben eine Lösung von 0.3 g Pikrinsäure in 1 ccm absolutem Alkohol zu. Das sich abscheidende Glykokollpikrat wurde abzentrifugiert. Es schmolz gegen 190° . Das Filtrat vom Glykokollpikrat wurde mit Salzsäure angesäuert und die Pikrinsäure ausgeäthert. Die wäßrige Lösung, die das salzsaure Salz des *d*-Isoleucins enthalten mußte, wurde zur Trockne verdampft und der Rückstand zur Bestimmung des Drehungsvermögens verwendet. Das so gewonnene Präparat drehte etwa 10° nach rechts. Da die ursprüngliche Lösung des *d*-Isoleucins ein viel höheres Drehungsvermögen gezeigt hatte, so bleibt nur die Annahme übrig, daß das isolierte Isoleucin durch die mannigfachen Operationen racemisiert worden ist. Wir betrachten die vorliegenden Angaben als vorläufige und werden den ganzen Versuch bei der Darstellung von *d*-Isoleucin enthaltenden Polypeptiden wiederholen.

Chloracetyl-*d*-isoleucin,

5 g *d*-Isoleucin wurden in 38.3 ccm (1 Mol.) *n*-Natronlauge gelöst und dazu unter guter Kühlung in 10 Portionen abwechselnd eine Lösung von 8.5 g (2 Mol.) Chloracetylchlorid in 55 ccm absolutem Äther und 133 ccm *n*-Natronlauge (3.5 Mol.) gegeben. Der Chloridgeruch verschwindet ziemlich schnell. Zuletzt wurde der Äther durch Luftdurchleiten vertrieben und mit 15 ccm 5-fachnormaler Salzsäure schwach übersättigt. Die momentan entstandene Trübung verschwindet

¹⁾ P. A. Levene, Glycocol-Picrate. The Journal of Biol. Chemistry, 1, 413 [1906].

beim Schütteln vollständig. Ohne die Abscheidung durch längeres Abkühlen herbeizuführen, haben wir die Lösung sofort 6-mal mit durchschnittlich je 50 ccm Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Natriumsulfat getrocknet, unter vermindertem Druck auf ca. 30 ccm eingengt und mit Petroläther ausgefällt. Das Chloracetyl-*d*-isoleucin schied sich zunächst ölig ab und krystallisierte auch nach 12-stündigem Stehen in Eismischung nicht. Erst nach erneutem, völligem Eindampfen, Aufnehmen des Öles mit absolutem Alkohol und Abdunsten desselben im Vakuumexsiccator beginnt die Krystallisation. Durch wiederholtes Verreiben mit Petroläther wird sie vervollständigt. Die Ausbeute an Rohprodukt betrug 6.7 g = 80%.

Dasselbe wurde durch Lösen in wenig trockenem Chloroform und Ausfällen mit Petroläther umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt des umkrystallisierten Produktes liegt zwischen 74° und 75°. Das Chloracetyl-*d*-isoleucin ist leicht löslich in Äther, Alkohol, Benzol, Chloroform, Essigäther, Aceton, etwas schwer in Wasser, unlöslich in Petroläther.

Für die Analyse wurde das Chloracetyl-*d*-isoleucin mit Methylalkohol über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1638 g Subst.: 0.2769 g CO₂, 0.0985 g H₂O. — 0.2000 g Subst.: 0.1385 g AgCl. — 0.1669 g Subst. verbrauchten 7.93 ccm ⁿ₁₀-H₂SO₄ (nach Kjeldahl).

C₈H₁₄NO₃Cl. Ber. C 46.26, H 6.75, N 6.76, Cl 17.07.

Gef. » 46.10, » 6.73, » 6.65, » 17.12.

Zur optischen Bestimmung wurden 0.2396 g Subst. in 6 ccm absolutem Alkohol zu 4.9020 g Gesamtgewicht gelöst. Spez. Gewicht 0.7941. Abgelesen im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht + 0.97° (± 0.01°).

$$[\alpha]_D^{20} = + 25.0^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

Glycyl-*d*-isoleucin.

4.5 g Chloracetyl-*d*-isoleucin wurden, in der 10-fachen Menge 25-prozentigem Ammoniak gelöst, 4 Tage bei 37° stehen gelassen. Die Lösung unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und zur Entfernung des Ammoniumchlorids mit Silbersulfat geschüttelt. Nach Einengung der chloridfreien Lösung auf ca. 30 ccm fällt das Glycyl-*d*-isoleucin als lockere, rein weiße Masse aus. Die Abscheidung wird durch absoluten Alkohol vervollständigt. Die Ausbeute an Rohprodukt betrug 3.3 g (80%). Das Glycyl-*d*-isoleucin ist sehr leicht löslich in Wasser, sehr schwer in Alkohol, Äther, Benzol, Aceton, Essigäther, Petroläther. Es wurde umkrystallisiert durch Lösen in der 20-fachen Menge Wasser und Ausfällen mit Alkohol. Es krystallisiert in glänzenden Blättchen. Es schmilzt gegen 255° (262° korr.) unter Bräunung.

Für die Analyse wurde die Substanz bei 100° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

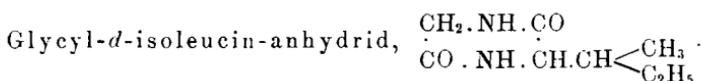
0.1717 g Sbst.: 0.3208 g CO₂, 0.1343 g H₂O. — 0.1688 g Sbst. verbrauchten 17.95 ccm ⁿ/₁₀-H₂SO₄.

C₈H₁₆O₃N₂. Ber. C 51.06, H 8.51, N 14.92.

Gef. » 50.96, » 8.69, » 14.89.

Für die optische Bestimmung wurden 0.2988 g Sbst. in 7 ccm Wasser zu 7.1362 g Gesamtgewicht gelöst. Spez. Gewicht 1.008, abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht — 0.62° (± 0.02°).

$$[\alpha]_D^{20} = -14.7^\circ (\pm 0.4^\circ)$$



1 g Glycyl-*d*-isoleucin wurde in 10 ccm absolutem Methylalkohol suspendiert und mit gasförmiger Salzsäure verestert. Das Hydrochlorid des Esters wurde längere Zeit im Eisschrank stehen gelassen, ohne daß Abscheidung erfolgte. Die Lösung wurde darauf unter vermindertem Druck eingedampft und zur völligen Vertreibung der Salzsäure diese Operation mit jeweiligen erneuerter Aufnahme in absolutem Methylalkohol dreimal wiederholt. Der Rückstand bildet ein leicht gefärbtes Öl. Es wird abgekühlt und direkt mit der ca. 10-fachen Menge 25-prozentigem Ammoniak versetzt, worauf alsbald eine reichliche Abscheidung eintritt. Das aus feinen Nadelchen bestehende Produkt wird nach einigem Stehen abgesaugt. Es beträgt mit dem aus der Mutterlauge gewonnenen ca. 0.75 g (83%). Es ist leicht löslich in Eisessig und Alkohol, sukzessive schwerer in Wasser, Äther, Petroläther. Das Produkt wird aus der 25-fachen Menge Wasser unter Zusatz von wenigen Tropfen verdünnter Salzsäure umkristallisiert, wobei sehr schöne, zu Kugeln vereinigte Nadelchen allmählich ausfallen. Es schmilzt gegen 255° (262° korr.) zu einer braunen Masse.

Für die Analyse wurde die Verbindung bei 105° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

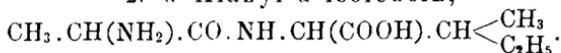
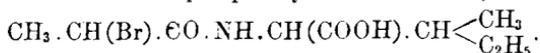
0.1680 g Sbst.: 0.3460 g CO₂, 0.1169 g H₂O. — 0.0642 g Sbst. verbrauchten 7.45 ccm ⁿ/₁₀-H₂SO₄.

C₈H₁₄O₂N₂. Ber. C 56.47, H 8.05, N 16.49.

Gef. » 56.17, » 7.73, » 16.25.

Für die optische Bestimmung wurden 0.0843 g Sbst. in 2.75 ccm Eisessig zu 2.957 g Gesamtgewicht gelöst; spez. Gewicht 1.055; abgelesen im 1/2-dm-Rohr + 0.39° (± 0.01°).

$$[\alpha]_D^{20} = -26.05^\circ (\pm 0.6^\circ)$$

2. *d*-Alanyl-*d*-isoleucin,*d*- α -Brompropionyl-*d*-isoleucin,

6 g *d*-Isoleucin wurden in 47 ccm (1 Mol.) *n*-Natronlauge gelöst und dazu unter Kühlung mit Kältegemisch abwechselnd 7.7 g (1 Mol.) *d*- α -Brompropionylchlorid in 25 ccm Äther und 47 ccm (1 Mol.) *n*-Natronlauge gegeben. Nach Vertreiben des Äthers wurde die Lösung mit 9.6 ccm 5-fachnormaler Salzsäure schwach übersättigt. Das *d*- α -Brompropionyl-*d*-isoleucin fällt hierbei sofort locker krystallinisch aus und wird nach mehrstündigem Stehen im Eisschrank abgenutscht. Die Mutterlauge wird mehrmals mit Äther ausgeschüttelt, der Extrakt mit Natriumsulfat getrocknet, auf ein kleines Volumen unter vermindertem Druck eingeeengt und der Bromkörper mit Petroläther daraus abgeschieden. Die Ausbeute an rein weißem Rohprodukt betrug 9.1 g (76 %). Es ist leicht löslich in Äther, Alkohol, warmem Benzol, Essigäther, schwerer in Wasser, unlöslich in Petroläther. Es wurde aus der 50-fachen Menge heißen Wassers umkrystallisiert. Es krystallisiert daraus in zweigförmig angeordneten Nadeln. Es schmilzt bei 150–151° (151–152° korr.).

Für die Analyse wurde bei 105° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1603 g Sbst.: 0.2397 g CO₂, 0.0891 g H₂O. — 0.1624 g Sbst. verbrauchten 6.45 ccm ⁿ/₁₀-H₂SO₄ (nach Kjeldahl). — 0.1959 g Sbst.: 0.1359 g AgBr.

C₉H₁₆O₃NBr. Ber. C 40.60, H 5.91, N 5.28, Br 30.07.

Gef. » 40.79, » 6.17, » 5.56, » 29.53.

Für die optische Bestimmung wurden 0.1947 g Sbst. in 4.9 ccm absolutem Alkohol zu 4.062 g Gesamtgewicht gelöst. $d^{20} = 0.8007$. Abgelesen im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht + 0.94° ($\pm 0.02^{\circ}$). Mithin:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +24.5^{\circ} (\pm 0.4^{\circ}).$$

d-Alanyl-*d*-isoleucin.

6.6 g *d*- α -Brompropionyl-*d*-isoleucin wurden mit der ca. 5-fachen Menge 25-prozentigem, wäßrigem Ammoniak 4 Tage bei 37° stehen gelassen und die klare Lösung unter vermindertem Druck eingeeengt. Auf ca. die Hälfte ihres Volumens eingedampft, beginnt sie sich zu trüben. Auf Zusatz von Alkohol scheidet sich nach einigem Stehen eine dicke, aus feinen Krystallnadeln bestehende, rein weiße Masse ab, von der abgenutscht wird. Durch wiederholtes Einengen und Ausfällen mit Alkohol ließ sich noch eine erhebliche Menge bromfreien Produktes isolieren. Die Gesamtausbeute an so gewonnenem Produkt betrug 3.1 g (62 %).

Das *d*-Alanyl-*d*-isoleucin ist in Wasser leicht, in Alkohol, Äther, Benzol, Chloroform, Aceton sehr schwer löslich. Es wurde umkristallisiert durch Lösen in wenig warmem Wasser und Ausfällen mit Alkohol. Es scheidet sich dabei in feinen, zu Drusen vereinigten Nadeln ab. Beim Erhitzen im Capillarröhrchen sintert es bei ca. 220° und schmilzt gegen 224—225° (korr. 228—229°).

Für die Analyse wurde die Substanz bei 105° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1617 g Sbst.: 0.3165 g CO₂, 0.1314 g H₂O. — 0.1048 g Sbst. verbrauchten 10.3 ccm ⁿ/₁₀-H₂SO₄.

C₉H₁₈O₃N₂. Ber. C 53.41, H 8.97, N 13.89.

Gef. » 53.38, » 9.09, » 13.76.

Für die optische Bestimmung wurden 0.1747 g Sbst. in 4.5 ccm *n*-Salzsäure gelöst zu 4.7108 g Gesamtgewicht. Spez. Gewicht 1.062. Abgelesen im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht + 0.24° (± 0.02°).

$$[\alpha]_D^{20} = + 6.1^{\circ} (\pm 0.6^{\circ}).$$

In wäßriger Lösung war die Drehung sehr schwach. In *n*-Natronlauge war sie etwas stärker und zwar nach links.

0.2425 g Sbst. wurden in 4.6 ccm *n*-Natronlauge zum Gesamtgewicht von 5.0068 g gelöst. $d^{20} = 1.042$. Abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht — 0.15° (± 0.01°).

$$[\alpha]_D^{20} = - 2.97^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

d-Alanyl-*d*-isoleucin-anhydrid,
$$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \cdot \text{CH} \cdot \text{NH} \cdot \text{CO} \\ \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH} \cdot \text{CH} \end{array} \begin{array}{l} \diagup \\ \diagdown \end{array} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{C}_2\text{H}_5 \end{array}$$

1.5 g *d*-Alanyl-*d*-isoleucin wurden in 15 ccm absolutem Methylalkohol gelöst und zweimal bis zur Sättigung gasförmige Salzsäure eingeleitet. Die Lösung des Esterhydrochlorids wurde einige Zeit im Eisschrank stehen gelassen, ohne daß sich dieses ausschied. Zur völligen Entfernung der freien Salzsäure wurde die Lösung 4-mal mit absolutem Methylalkohol unter vermindertem Druck verdampft, wonach eine zähflüssige, fast farblose Masse zurückblieb. Diese wurde in einem ziemlichen Überschuß von (ca. 25 ccm) gesättigtem alkoholischem Ammoniak gelöst. Dabei schied sich sofort ziemlich reines Ammoniumchlorid ab, von dem nach einigem Stehen abgenutscht wurde. Da sich weiter nichts ausschied, wurde die Lösung unter vermindertem Druck eingengt, wobei zuletzt wieder eine zähflüssige Masse resultierte. Jetzt wurde dieselbe mit verdünntem wäßrigem Ammoniak versetzt. Es trat sofort reichliche Ausscheidung mikroskopischer Nadelchen ein. Nach einiger Zeit wurden die Krystalle abgesaugt. Das so gewonnene, fast reine Rohprodukt betrug 1 g (73%). Es ist leicht löslich in Eisessig und Alkohol, schwerer in Wasser, Äther,

recht schwer in Essigäther. Es wurde aus der 350-fachen Menge des letzteren Lösungsmittels umkrystallisiert und in sehr reiner Form daraus erhalten. Der Schmelzpunkt liegt bei 244—245° (250—251°, korr.). Das Anhydrid zeigt dabei Bräunung.

Zur Analyse und optischen Bestimmung wurde das Produkt bei 105° über Phosphorpentoxyd getrocknet:

0.1721 g Sbst.: 0.3681 g CO₂, 0.1349 g H₂O.

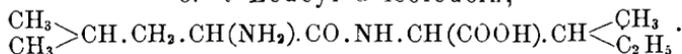
C₉H₁₆N₂O₂. Ber. C 58.63, H 8.75.

Gef. » 58.33, » 8.77.

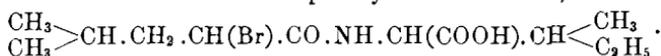
Zur optischen Bestimmung wurden 0.2944 g Sbst. in 4.6 ccm Eisessig zu 5.0432 g Gesamtgewicht gelöst. $d_{20} = 1.059$; abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht -0.98° . Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -16.6^{\circ} (\pm 0.1^{\circ}).$$

3. *l*-Leucyl-*d*-isoleucin,



d- α -Bromisocapronyl-*d*-isoleucin,



4 g *d*-Isoleucin (1 Mol.) wurden in 30.8 ccm *n*-Natronlauge (1 Mol.) gelöst. Dazu wurden in 6 Portionen abwechselnd 6.6 g *d*- α -Bromisocapronylchlorid (etwas mehr als 1 Mol.) und 46 ccm *n*-Natronlauge unter Eiskühlung zugegeben. Beim Ansäuern mit 9.6 ccm 5-fach *n*-Salzsäure fiel der Bromkörper fast quantitativ aus. Aus der Mutterlauge konnten durch Ausäthern und Fällern mit Petroläther nur noch 0.1 g Bromkörper gewonnen werden. Die Ausbeute betrug 6.6 g (71%). Umkrystallisiert wurde aus 50 ccm absolutem Alkohol unter Zusatz von 75 ccm Wasser. Das *d*- α -Bromisocapronyl-*d*-isoleucin wurde in derben rhombischen Krystallen (Würfeln mit vielen Kanten) erhalten.

Der Bromkörper ist in kaltem Wasser wenig löslich, in heißem Wasser ziemlich leicht löslich. Sehr leicht löslich ist er in absolutem Alkohol, Methylalkohol, Essigäther, Äther, Aceton und Benzol. In Chloroform ist er leicht löslich, in Petroläther unlöslich. Das *d*- α -Bromisocapronyl-*d*-isoleucin sintert bei 152° und ist bei 157—158° klar geschmolzen.

Zur Analyse getrocknet über P₂O₅ bei 80°.

0.1789 g Sbst.: 0.1085 g AgBr. — 0.1886 g Sbst.: 0.3193 g CO₂, 0.1215 g H₂O. — 0.0726 g Sbst.: 2.8 ccm N (22.6°, 763 mm).

C₁₂H₂₂O₃NBr. Ber. Br 25.85, C 46.75, H 7.14, N 4.55.

Gef. » 25.81, » 46.16, » 7.20, » 4.42.

Zur optischen Bestimmung wurde in Essigäther gelöst. 0.1958 g Sbst., Gesamtgewicht 4.2962 g, $d_{20} = 0.9051$. Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 2.02° nach rechts. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = +48.97^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

l-Leucyl-*d*-isoleucin.

5 g *d*- α -Bromisocapronyl-*d*-isoleucin wurden mit 50 ccm 25-prozentigem Ammoniak 6 Tage bei 37° aufbewahrt. Die Lösung wurde alsdann unter vermindertem Druck vollständig zur Trockne verdampft und der Rückstand in heißem 96-prozentigem Alkohol vollständig gelöst. Die alkoholische Lösung wurde im Vakuum bis zur eintretenden Krystallisation eingengt. Die abgesaugten Krystalle waren bromfrei. Dieser Prozeß wurde noch zweimal wiederholt. Es gelang, auf diese Weise 1.7 g vollständig bromfreies Dipeptid zu gewinnen.

Die Mutterlauge, enthaltend Dipeptid und Bromammonium, wurde auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Hierbei ging ein Teil des Dipeptids in das Anhydrid über, das sich durch Unlöslichkeit in Wasser auszeichnet. Zur Entfernung des Bromammoniums wurde Silbersulfat angewandt. Es gelang auf diese Weise, noch 0.9 g Dipeptid zu erhalten. Ausbeute 2.4 g (62%). Umkrystallisiert wurde das Dipeptid aus 96-prozentigem Alkohol unter Zusatz von etwas Wasser. Es wurde in würfelförmigen Krystallen erhalten.

Das Dipeptid ist in Wasser sehr leicht löslich, in absolutem Alkohol, Methylalkohol, Chloroform, Aceton und Benzol löslich, in Äther und Petroläther unlöslich. Es schmilzt beim Erhitzen im Capillarrohr bei 288° (korr.).

0.2692 g Sbst., lufttrocken, verloren beim Erhitzen über P_2O_5 auf 80° 0.0280 g H_2O .

Krystallwassergehalt für $1\frac{1}{2}$ Mol. Ber. H_2O 9.92%.

Gef. » 10.40 ».

0.1550 g Sbst.: 0.3331 g CO_2 , 0.1386 g H_2O . -- 0.0738 g Sbst., entsprechend 0.0632 g wasserfreier Sbst.: 6.5 ccm N (22° , 763 mm).

$C_{12}H_{24}O_3N_2$. Ber. C 59.02, H 9.84, N 11.47.

Gef. » 58.61, » 10.03, » 11.76.

Optische Bestimmung:

0.1182 g Sbst., entsprechend 0.1065 g wasserfreier Sbst., gelöst in *n*-Salzsäure. Gesamtgewicht 3.9852 g, $d_{20} = 1.020$. Abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 0.55° nach rechts. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = +20.17^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

In *n*-Natronlauge dreht das Dipeptid ganz schwach nach links.

Wir beabsichtigen, weitere Synthesen von *d*-Isoleucin enthaltenden Polypeptiden auszuführen, um ein möglichst großes Material ver-

schiedenartiger Polypeptide zur Verfügung zu haben. Es sollen die gewonnenen Produkte nicht nur das Aufsuchen entsprechender Verbindungen unter den Spaltprodukten von stufenweis abgebauten Proteinen erleichtern, sondern sie sollen auch auf ihr Verhalten gegenüber peptolytischen Fermenten geprüft werden.

**499. Emil Abderhalden und G. Alessandro Brossa:
Synthese von Polypeptiden. Derivate des *p*-Jodphenyl-alanins.**

[Aus dem Physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule, Berlin.]

(Eingegangen am 15. August 1909.)

Polypeptide, an deren Aufbau halogenhaltige, aromatische Aminosäuren beteiligt sind, haben mit der Entdeckung, daß die Jodgorgosäure 3.5-Dijod-*l*-tyrosin ist, größeres Interesse erlangt. Es ist wohl möglich, daß man beim stufenweisen Abbau von Proteinen, die halogenhaltige Bausteine enthalten, zu Polypeptiden gelangen wird, die derartige Aminosäuren aufweisen. Es sind bereits Polypeptide dargestellt worden, an deren Aufbau 3.5-Dijod-*l*-tyrosin beteiligt ist¹⁾. Es schien uns von Interesse, auch Polypeptide kennen zu lernen, die Jodphenyl-alanin enthalten. *p*-Jodphenyl-alanin ist neuerdings von Wheeler und Clapp²⁾ dargestellt worden. Die Autoren gingen von *p*-Jodbenzylbromid und Phthalimidmalonester aus. Wir haben die gleiche Verbindung auf zwei andere Arten gewonnen.

Die eine Methode lehnt sich an die von E. Fischer³⁾ gegebene Darstellung von Phenylalanin an. Wir kuppelten *p*-Nitrobenzylchlorid mit Natrium-malonester. Den entstandenen *p*-Nitrobenzyl-malonester reduzierten und verseiften wir. Die gebildete *p*-Aminobenzyl-malonsäure wurde diazotiert und nun Jod eingeführt. Die *p*-Jodbenzyl-malonsäure führten wir dann in *p*-Jodbenzyl-brom-malonsäure, diese in *p*-Jodphenyl-brom-

¹⁾ Emil Abderhalden und Markus Guggenheim: Synthese von Polypeptiden. XXIV. Derivate des 3.5-Dijod-*l*-tyrosins, diese Berichte **41**, 1237 [1908] und Weiterer Beitrag zur Kenntnis von Derivaten des 3.5-Dijod-*l*-tyrosins, ebenda **41**, 2852 [1908].

²⁾ Henry L. Wheeler und Samuel H. Clapp: Untersuchungen über Halogenaminosäuren: *p*-Jodphenyl-alanin, Amer. Chem. Journ. **40**, 458 [1908]; vergl. auch: 3.5-Dibromphenyl-alanin, ebenda **40**, 337 [1908].

³⁾ Emil Fischer, Synthese von Polypeptiden. IV. Derivate des Phenylalanins, diese Berichte **37**, 3062 [1904].