

und bekommt einen Krystallbrei, aus dem sich 60% reines 2,4-Dinitro-naphthol-1 vom Schmp. 138° isolieren lassen, während als alkalilunlösliches Produkt, neben unangegriffenem  $\alpha$ -Naphtholacetat, in einer Ausbeute von 5% 2-Nitro-naphtholacetat-1 vom Schmp. 118° gewonnen wird.

#### 8-Tolylsulfamino-naphthol-1.

Man erwärmt ein Gemisch gleicher Gewichtsmengen von *peri*-Aminonaphtholsulfat, *p*-Toluolsulfochlorid und entwässertem Natriumacetat unter Zusatz von etwas Eisessig auf dem Wasserbad und krystallisiert das in einer Ausbeute von 80% durch Wasser abgesehiedene Produkt aus verdünntem Alkohol. Es bildet breite, glänzende, weiße Schuppen vom Schmp. 189° und löst sich nur in sehr verdünnten Laugen, da schon bei mäßiger Konzentration die Alkalisalze unlöslich ausfallen.

$C_{17}H_{15}O_3NS$ . Ber. C 65.12, H 4.83, N 4.48, S 10.23.  
Gef. » 64.93, 64.89, » 5.01, 4.95, » 4.43, 4.56, » 10.34.

Bei der Kombination mit diazotiertem Anilin entsteht ein Gemisch von Azo- und Disazokörpern.

#### S-Acetaminonaphthol-äthyläther-1.

Man erhitzt Acetaminonaphthol in einer Leuchtgas-Atmosphäre mit 10-prozentiger Kalilauge und Äthyljodid auf dem Wasserbad am Rückflußkühler und krystallisiert den erhaltenen Äthyläther aus verdünntem Alkohol; er bildet breite, glänzende, weiße Blättchen vom Schmp. 154°

$C_{14}H_{15}O_2N$ . Ber. C 73.31, H 6.61, N 6.11.  
Gef. » 73.34, » 6.85, » 6.31, 6.18.

Basel, November 1909, Universitätslaboratorium I.

### 695. Emil Fischer und Andreas Luniak: Synthese von Polypeptiden. XXXII. Derivate des *l*-Prolins und des Phenyl-alanins.

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin.]

(Eingegangen am 4. Dezember 1909.)

Synthetisch ist bisher nur ein krystallisiertes Dipeptid des Prolins erhalten worden: das inaktive Prolyl-alanin, das bei Einwirkung von Ammoniak auf  $\alpha, \delta$ -Dibromvaleryl-alanin entsteht<sup>1)</sup>. Ferner sind von E. Fischer und G. Reif<sup>2)</sup> die Anhydride des *l*-Prolyl-

<sup>1)</sup> E. Fischer und U. Suzuki, diese Berichte **37**, 2845 [1904].

<sup>2)</sup> Ann. d. Chem. **363**, 118 [1908].



Umschütteln 3.3 g salzsaures Propylchlorid portionsweise im Laufe von etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde eingetragen. Dabei entsteht eine klare Lösung. Läßt man sie noch 1 Stunde in einer Kältemischung stehen, so scheidet sich ein dicker krystallinischer Niederschlag von salzsaurem Phenylalaninäthylester ab (3.2 g). Er wird abgesaugt, das Chloroform unter vermindertem Druck verdampft und der Rückstand noch mehrmals nach Zugabe von wenig Alkohol in der gleichen Weise verdampft, um den Rest des Chloroforms abzugeben. Der Rückstand, der meist ein dickes Öl, zuweilen aber auch fest ist, wird in 40 ccm Wasser gelöst und mit etwa 20 ccm Äther extrahiert, wodurch eine kleine Menge (etwa 1.3 g) freien Phenylalaninäthylesters entfernt wird. Um die in der wäßrigen Lösung enthaltenen Ester zu verseifen, fügt man eine Lösung von 16 g reinem krystallisiertem Bariumhydroxyd in 60 ccm warmem Wasser zu und läßt das Gemisch bei gewöhnlicher Temperatur und unter öfterem Schütteln 2 Stunden stehen. Für die möglichst vollständige Isolierung des Dipeptids schien es uns jetzt vorteilhaft, die Lösung ganz von Chlor und Barium zu befreien. Zu dem Zweck haben wir zunächst die Flüssigkeit wegen der geringen Löslichkeit des Dipeptids in Wasser auf 1800 ccm verdünnt, dann mit einem mäßigen Überschuß von Schwefelsäure versetzt und ohne Filtration mit 7 g feingepulvertem Silbersulfat geschüttelt. Aus der zentrifugierten klaren Flüssigkeit wurde zuerst das Silber mit Salzsäure und die Schwefelsäure mit Barytwasser quantitativ entfernt und schließlich das klare Filtrat unter vermindertem Druck auf etwa 200 ccm eingedampft. Während des Eindampfens schied sich das Dipeptid krystallinisch ab und wurde mehrmals abfiltriert. Die Gesamtmenge des schon fast reinen Präparats war 2.6 g oder 48% der Theorie, berechnet auf das angewandte salzsaure Propylchlorid.

Wahrscheinlich läßt sich die Isolierung des Dipeptids durch Verseifung mit Alkali an Stelle von Baryt und durch genaue Neutralisation des Alkalis mit Säure sehr vereinfachen. Zur völligen Reinigung haben wir 2.6 g Rohprodukt in 500 ccm siedendem Wasser gelöst; beim Abkühlen in Eis schieden sich wieder 1.6 g ab, die für die Analyse und die optischen Bestimmungen benutzt wurden.

0.4153 g lufttrockner Sbst. verloren bei  $110^{\circ}$  und 14 mm 0.0272 g  $H_2O$ .

$C_{14}H_{18}N_2O_3 + H_2O$  (280.18). Ber.  $H_2O$  6.43. Gef.  $H_2O$  6.54.

0.1550 g bei  $110^{\circ}$  und 14 mm getrockneter Sbst.: 0.3647 g  $CO_2$ , 0.0985 g  $H_2O$ . — 0.1526 g bei  $110^{\circ}$  und 14 mm getrockneter Sbst.: 14.2 ccm N über 33-prozentiger Kalilauge ( $20^{\circ}$ , 767 mm).

$C_{14}H_{18}N_2O_3$  (262.16). Ber. C 64.08, H 6.91, N 10.68.

Gef. » 64.16, » 7.09, » 10.79.

Für die optischen Bestimmungen wurde ebenfalls das bei  $110^{\circ}$  und 14 mm getrocknete Präparat benutzt; für den ersten Versuch war das Dipeptid in

20-prozentiger Salzsäure gelöst, der zweite wurde mit einer Lösung in *n*-Natronlauge ausgeführt.

I. 0.2269 g Subst.; Gesamtgewicht der Lösung (20-proz. HCl) 4.5700 g;  $d_4^{20} = 1.108$ ; Drehung im 1-dm-Rohr  $2.25^\circ$  nach links.

Mithin in 20-proz. Salzsäure  $[\alpha]_D^{20} = -40.90^\circ (\pm 0.4^\circ)$ .

II. 0.0388 g Subst.; Gesamtgewicht der Lösung 0.5881 g (*n*-Natronlauge)  $d_4^{20} = 1.04$ ; Drehung im  $\frac{1}{2}$ -dm-Rohr  $0.54^\circ$  nach rechts.

Mithin in *n*-Natronlauge  $[\alpha]_D^{20} = +15.74^\circ (\pm 0.3^\circ)$ .

Das bei  $110^\circ$  und 14 mm getrocknete Präparat schmolz unter Schäumen gegen  $247^\circ$  (korr.  $252^\circ$ ). In kaltem Wasser ist das Dipeptid sehr schwer, in Alkohol fast gar nicht löslich. Die wäßrige Lösung ist geschmacklos.

Das Kupfersalz, in der gewöhnlichen Weise bereitet, krystallisiert aus warmem Wasser in dunkelblauen, ziemlich großen Prismen. Sie enthalten  $3\frac{1}{2}$  Mol. Krystallwasser, das durch Trocknen bei  $127^\circ$  bestimmt wurde.

0.1846 g lufttrocknes Salz verloren bei  $127^\circ$  und 15 mm 0.0299 g  $H_2O$ .

$C_{14}H_{16}N_2O_3Cu + 3\frac{1}{2}H_2O$  (386.78). Ber.  $H_2O$  16.30. Gef.  $H_2O$  16.19.

0.1547 g trocknes Salz: 0.2932 g  $CO_2$ , 0.0705 g  $H_2O$ , 0.0383 g  $CuO$ .

$C_{11}H_{16}N_2O_3Cu$  (323.71). Ber. C 51.88, H 4.97, Cu 19.63.

Gef. » 51.67, » 5.11, » 19.78.

Aus diesen Daten ergibt sich die Identität unseres Dipeptids mit dem Spaltungsprodukt des Gliadins, wie folgende Zusammenstellung zeigt.

	Synthetisches <i>l</i> -Prolyl- <i>l</i> -phenylalanin	Dipeptid von Osborne und Clapp
Krystallform Zusammensetzung	Perlmutterglänzende Prismen $C_{14}H_{16}N_2O_3 + H_2O$	Ebenso
Schmelzpunkt und Geschmack	$247^\circ$ (unkorr.) unter Zersetzung, geschmacklos	$249^\circ$ (unkorr.) unter Gasent- wicklung, geschmacklos
Drehungsver- mögen in 20-proz. Salzsäure	$[\alpha]_D^{20} = -40.90^\circ$	$[\alpha]_D^{20} = -40.93^\circ$ $[\alpha]_D^{20} = -41.55^\circ$
		Gibt bei Hydrolyse Prolin und Phenylalanin
Kupfersalz	Blaue Prismen $C_{14}H_{16}N_2O_3Cu + 3\frac{1}{2}H_2O$	Gut ausgebildete blaue Kry- stalle des orthorhombischen Systems $C_{14}H_{16}N_2O_3Cu + 3\frac{1}{2}H_2O$

In den Mutterlaugen, die nach dem Krystallisieren des synthetischen *l*-Prolyl-*l*-phenylalanins bleiben, befindet sich noch eine kleine Menge von Dipeptid, gemischt mit *l*-Prolin und *l*-Phenylalanin. Diese drei Körper lassen sich auf folgende Weise trennen. Man verdampft zuerst unter vermindertem Druck bis zur Trockne und bringt das Prolin durch Aaskochen mit absolutem Alkohol in Lösung. Der Rückstand wird in heißem Wasser gelöst und mit gefällttem Kupferoxyd 20—30 Minuten gekocht. Dabei fällt das in Wasser fast unlösliche Kupfersalz des Phenylalanins aus, während das Kupfersalz des Dipeptids in Lösung bleibt. Man kann letzteres durch Eindampfen direkt krystallisiert erhalten. Noch besser stellt man daraus durch Fällung mit Schwefelwasserstoff in der Hitze das freie Dipeptid dar, das durch Abkühlen oder Eindampfen des Filtrats leicht zu isolieren ist.

#### Hydrolyse des Dipeptids durch Pankreatin.

Das einzige bisher synthetisch dargestellte Dipeptid des Prolins, das Prolylalanin<sup>1)</sup>, ist mit Fermenten nicht geprüft worden, und das gegen Pankreassaft beständige vermeintliche Leucyl-prolin<sup>2)</sup> wurde später als das Amid des Oxy-isocapronylprolins erkannt. Umso notwendiger erschien es uns, an dem neuen synthetischen Dipeptid das Verhalten gegen die Darmfermente zu untersuchen. Wir haben dafür das starkwirkende Pankreatin der Firma Rhenania (Aachen) gewählt. Wegen der geringen Löslichkeit des Dipeptids in Wasser haben wir etwas mehr als die äquimolekulare Menge Natriumcarbonat zugesetzt.

0.314 g *l*-Prolyl-*l*-phenylalanin wurden in 12 ccm  $\frac{1}{10}$ -Natriumcarbonatlösung suspendiert und nach Zusatz von 0.123 g Pankreatin und 10 Tropfen Toluol 48 Stunden im Brutraum (36°) geschüttelt. Hierbei ging das Dipeptid langsam, aber schließlich vollständig in Lösung.

Zum Nachweis der Spaltprodukte wurde die Flüssigkeit mit 12 ccm  $\frac{1}{10}$ -Schwefelsäure neutralisiert, einige Minuten gekocht (behufs Entfernung des Toluols), dann filtriert und die klare Lösung unter geringem Druck bis zur Trockne verdampft. Beim Aaskochen des Rückstandes mit 10 ccm Alkohol ging das Prolin mit einer kleinen Menge anderer Produkte in Lösung. Der alkoholische Auszug wurde verdampft, der Rückstand wieder mit Alkohol aufgenommen, die

<sup>1)</sup> E. Fischer und U. Suzuki, diese Berichte **37**, 2845 [1904].

<sup>2)</sup> E. Fischer und E. Abderhalden, Ztschr. f. physiol. Chem. **46**, 52 [1905].

filtrierte Lösung von neuem verdampft und diese Operation einige Mal wiederholt, bis der Rückstand in absolutem Alkohol völlig löslich war. Zur weiteren Reinigung diente das Kupfersalz. Zu dem Zweck wurde das nach Verdampfen des Alkohols bleibende Prolin in 5 ccm Wasser gelöst und mit gefällttem Kupferoxyd 10 Minuten gekocht, dann die filtrierte tiefblaue Lösung auf dem Wasserbade verdampft und der Rückstand mit Alkohol ausgekocht. Das alkoholische Filtrat haben wir wieder eingedampft, den Rückstand von neuem mit Alkohol ausgekocht und diese Operation wiederholt, bis die Masse in Alkohol völlig löslich war. Schließlich wurde das Prolin aus dem Kupfersalz durch Schwefelwasserstoff in Freiheit gesetzt und aus der alkoholischen Lösung durch vorsichtigen Zusatz von Äther krystallinisch abgeschieden. Seine Menge betrug 0.083 g. Das Präparat schmolz gegen 208° (korr.). Auch die mikropolarimetrische Untersuchung zeigte, daß es ziemlich reines *l*-Prolin war.

0.0332 g in vacuo getrockneter Subst.; Gesamtgewicht der wäßrigen Lösung 0.5712 g;  $d^{20} = 1.02$ ; Drehung im  $\frac{1}{2}$ -dm-Rohr 2.21° nach links.

$$\text{Mithin } [\alpha]_D^{20} = -74.55^\circ (\pm 0.3^\circ).$$

Zum Nachweis des durch die Hydrolyse entstandenen *l*-Phenylalanins wurde der in Alkohol unlösliche Teil der Aminosäuren, welcher außerdem Natriumsulfat enthielt, in etwa 10 ccm Wasser gelöst und mit Kupferoxyd 10 Minuten gekocht. Die jetzt filtrierte Flüssigkeit war nur schwach blau, woraus hervorging, daß keine erhebliche Menge von Dipeptid mehr vorhanden war. Das beim Kupferoxyd zurückgebliebene Phenylalaninkupfer wurde durch Auskochen mit verdünntem Ammoniak gelöst und das dunkelblaue Filtrat zur Trockne verdampft. Den Rückstand haben wir in heißem Wasser suspendiert, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die heiß filtrierte Flüssigkeit konzentriert. Hierbei schied sich das Phenylalanin krystallinisch ab. Ausbeute 0.093 g. Die Aminosäure schmolz gegen 281° (korr.) und zeigte auch in befriedigender Weise das Drehungsvermögen des *l*-Phenylalanins.

0.0126 g in vacuo getrockneter Subst.; Gesamtgewicht der wäßrigen Lösung 0.6213;  $d^{20} = 1.00$ ; Drehung im  $\frac{1}{2}$ -dm-Rohr 0.35° nach links.

$$\text{Mithin } [\alpha]_D^{20} = -34.51^\circ (\pm 1.0^\circ).$$

Zum Beweise, daß die Hydrolyse allein durch Pankreatin bewirkt wird, haben wir einen Kontrollversuch genau mit den gleichen Mengenverhältnissen, aber ohne Pankreatin angestellt. Das Dipeptid war hier nach 48-stündigem Aufbewahren im Brutraum nur teilweise gelöst, und als zum Schluß mit der äquivalenten Menge  $\frac{2}{10}$ -Schwefelsäure neutralisiert wurde, fiel aus der Lösung der größte Teil des unveränderten Dipeptids aus. Zurückgewonnen wurden 90 % der ange-

wandten Menge. In der wäßrigen Mutterlauge haben wir nach dem oben angegebenen Verfahren vergebens Prolin oder Phenylalanin gesucht.

*l*-Prolyl-*d*-phenylalanin.

Die Darstellung geschah genau so wie bei dem isomeren Dipeptid, nur trat an Stelle des *l*-Phenylalaninesters die *d*-Verbindung, die aus reinem *d*-Phenylalanin bereitet war. Ferner wurde die Flüssigkeit nach der Verseifung mit Baryt lange nicht so stark verdünnt. Schwieriger war aber hier die Isolierung des Dipeptids, weil es in Wasser viel leichter löslich ist als das Isomere. Die Trennung von unverändertem Phenylalanin wurde deshalb mittels des Kupfersalzes in folgender Weise ausgeführt: Nachdem Chlor, Silber, Barium und Schwefelsäure aus der Lösung genau gefällt waren, verdampfte man diese unter vermindertem Druck zur Trockne und kochte den Rückstand mit absolutem Alkohol aus, um das Prolin zu entfernen. Das nun zurückbleibende Gemisch, dessen Menge bei Anwendung von 2.5 g salzsaurem *l*-Prolylchlorid und 7 g *d*-Phenylalaninäthylester 4.3 g betrug, wurde in der 25-fachen Menge heißen Wassers gelöst, dann mit überschüssigem, gefälltem Kupferoxyd  $\frac{1}{4}$  Stunde gekocht und heiß filtriert. Da das *d*-Phenylalaninkupfer auch in heißem Wasser sehr schwer löslich ist, so blieb es zum größten Teil bei dem Kupferoxyd und konnte durch Auslaugen mit heißem verdünntem Ammoniak, Filtration und Wegkochen des Ammoniaks leicht gewonnen werden (2.4 g). Das erste, tiefblau gefärbte Filtrat enthielt hauptsächlich das Kupfersalz des Dipeptids. Nachdem die Lösung unter vermindertem Druck stark eingeeengt war, schied sich daraus das Kupfersalz bei längerem Stehen im Exsiccator als dunkelblaue, mikroskopische, dünne Prismen ab. Die Ausbeute betrug auf 2.5 g salzsaures Prolylchlorid 1.8 g oder 32 % der Theorie. Zur Reinigung wurde das Salz aus heißem, 85-prozentigem Alkohol umkrystallisiert. Das lufttrockne Salz enthält 2 Mol. Wasser.

0.1904 g lufttrocknes Salz verloren bei 127° und 14 mm 0.0188 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Cu + 2H<sub>2</sub>O (359.74). Ber. H<sub>2</sub>O 10.01. Gef. H<sub>2</sub>O 9.87.

0.1716 g bei 127° getrocknetes Salz: 0.3247 g CO<sub>2</sub>, 0.0789 g H<sub>2</sub>O, 0.0420 g CuO.

C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Cu (323.71). Ber. C 51.88, H 4.97, Cu 19.63.

Gef. » 51.60, » 5.15, » 19.59.

Das reine, krystallisierte Salz ist in kaltem Wasser recht schwer löslich.

Zur Gewinnung des Dipeptids wurde das reine Kupfersalz in der 150-fachen Menge heißen Wassers gelöst, mit Schwefelwasserstoff zer-

legt und das Filtrat verdampft. Aus der stark eingeeengten Flüssigkeit schied sich das Dipeptid in der Kälte in kleinen farblosen Prismen ab. Sie enthalten in lufttrocknem Zustande 1 Mol. Wasser.

0.3987 g lufttrockner Sbst. verloren unter 14 mm bei 110° 0.0263 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O (280.18). Ber. H<sub>2</sub>O 6.43. Gef. H<sub>2</sub>O 6.62.

0.1527 g trockne Sbst.: 0.3590 g CO<sub>2</sub>, 0.0941 g H<sub>2</sub>O. — 0.1232 g trockne Sbst.: 11.2 ccm N über 33-prozentiger Kalilauge (20°, 767 mm).

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (262.16). Ber. C 64.08, H 6.91, N 10.68.

Gef. » 64.11, » 6.91, » 10.54.

Das trockne Dipeptid schmilzt nicht ganz konstant gegen 218° (223° korr.) unter Schäumen zu einer braunen Flüssigkeit. Es ist zum Unterschied von dem isomeren *l*-Prolyl-*l*-phenylalanin ziemlich leicht löslich in kaltem Wasser, dagegen in absolutem Alkohol sehr schwer löslich. Der Geschmack ist bitter.

Wegen Mangel an Material haben wir nur eine mikropolarimetrische Bestimmung ausführen können.

0.0607 g bei 110° und 14 mm getrockneter Sbst.; Gesamtgewicht der Lösung (Wasser) 1.5268 g;  $d_4^{20} = 1.009$ ; Drehung im 1-dm-Rohr 2.08° nach links.

Mithin in Wasser  $[\alpha]_D^{20} = -52.0^\circ (\pm 0.5^\circ)$

### 696. G. Reddelien:

#### Notiz zur Darstellung von Benzophenon-imid-Derivaten.

(Eingegangen am 7. Dezember 1909.)

Zur Darstellung des Diphenylmethylen-anilins existieren bisher drei Vorschriften: Nach Pauly<sup>1)</sup> erhält man die Substanz durch Einwirkung von Anilin auf Benzophenonchlorid. Graebe<sup>2)</sup> stellte den Körper durch Eintropfen von Anilin in geschmolzenes Benzophenon bei 250—260° dar. Nach Nägelis Angaben<sup>3)</sup> endlich kann man durch 20-stündiges Kochen von Anilin, Benzophenon und geschmolzenem Natriumsulfat zu dem Imid gelangen. Von diesen Methoden ist die zweite die beste, doch ist sie bei Derivaten des Anilins nicht gut anwendbar. Weit schneller und mit fast ebenso guter Ausbeute erhält man die Substanz durch Kondensation von Benzophenon und Anilin mit wasserfreiem Zinkchlorid bei 160—180°. Auf diese Weise lassen sich auch leicht und schnell eine Reihe von Anilinderivaten mit dem Keton verbinden. Bei den so entstehenden Verbindungen

<sup>1)</sup> Ann. d. Chem. **187**, 196 [1877]. <sup>2)</sup> Diese Berichte **32**, 1678 [1899].

<sup>3)</sup> Bull. soc. chim. [3] **21**, 785 [1899].