

4.3 g Glycyl-*l*-leucyl-glycyl-*l*-leucin wurden in 12 ccm *n*-NaOH (1 Mol.) gelöst und mit 4 g *d*- α -Bromisocapronylchlorid (1.5 Mol.) und 24 ccm *n*-NaOH (2 Mol.) gekuppelt. Beim Ansäuern mit 5 ccm 5-*n*. Salzsäure fiel das Kupplungsprodukt ölig aus. Da es nicht fest zu erhalten war, wurde es sofort in 30 ccm 25-proz. Ammoniaks gelöst und 7 Tage bei 37° aufbewahrt. Die filtrierte Lösung wurde unter Alkoholzusatz eingedampft. Nach mehrmaligem Abdampfen wurde es allmählich zum Teil fest. Es empfiehlt sich auch hier, das Bromammonium mit Silbersulfat zu entfernen. Beim Umlösen des Pentapeptids aus ammoniakhaltigem Alkohol und Verdampfen des Ammoniaks wird das Pentapeptid als krystallinisches Pulver gefällt. Die Ausbeute ist auch in diesem Falle infolge Bildung ungesättigter Verbindungen schlecht. Im Capillarrohr erhitzt, wird die Substanz gegen 210° braun und schmilzt unter Zersetzung zwischen 250—260° (korr. 256—266°).

0.1372 g Sbst. brauchten nach Kjeldahl 14.7 ccm $\frac{1}{10}$ -H₂SO₄.

0.1396 g Sbst.: 0.2845 g CO₂, 0.1134 g H₂O.

C₃₂H₄₁O₆N₅ (471.5). Ber. C 55.58, H 9.08, N 15.0.

Gef. » 56.05, » 8.70, » 14.8.

0.0998 g Sbst. wurden in 10-prozentiger Salzsäure gelöst. Die Lösung, vom Gesamtgewicht 3.561 g und vom spez. Gewicht 1.08, drehte im 2 $\frac{1}{2}$ -cm-Rohr das Natriumlicht 0.11° nach links. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -14.5^\circ.$$

386. Emil Abderhalden und Paul Hirsch:

Synthese von Polypeptiden. Derivate des Isoleucins. III.

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

(Eingegangen am 15. August 1910.)

In Verfolgung der in den früheren Mitteilungen geschilderten Ziele haben wir einige weitere Isoleucin enthaltende Polypeptide dargestellt. Wir gingen zunächst von dem in der ersten Mitteilung¹⁾ beschriebenen *l*-Leucyl-*d*-isoleucin aus. Wir erhielten ein Präparat, das ein wesentlich besseres Drehungsvermögen zeigte als das früher erhaltene.

¹⁾ Emil Abderhalden, Paul Hirsch und Josef Schuler: Synthese von Polypeptiden: Derivate des Isoleucins, diese Berichte 42, 3394 [1909].

Zur optischen Bestimmung wurden 0.1182 g *l*-Leucyl-*d*-isoleucin in *n*-Salzsäure gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 3.9852 g. $d^{20} = 1.020$. Abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und filtriertem Gasglühlicht 0.7° nach rechts.

Mithin $[\alpha]_D^{20} = + 25.68^\circ (\pm 0.2^\circ)$ gegen $+ 20.17^\circ (\pm 0.2^\circ)$ des früheren Präparates.

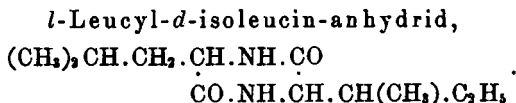
Es wurde auch die spezifische Drehung in Wasser bestimmt, um Vergleichswerte zu der Spaltung mit Hefepreßsaft zu erhalten.

0.1338 g Sbst. Gesamtgewicht der Lösung 7.6282 g. $d^{20} = 1.0045$. Abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und filtriertem Gasglühlicht 0.32° nach rechts. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = + 18.13^\circ (\pm 0.2^\circ).$$

Das Dipeptid gibt keine Biuret-Reaktion. Sein Geschmack ist bitter.

Das *l*-Leucyl-*d*-isoleucin diente zur Darstellung des *l*-Leucyl-*d*-isoleucinanhydrids.



1 g *l*-Leucyl-*d*-isoleucin wurde in 20 ccm Methylalkohol gelöst und zur Veresterung Salzsäuregas eingeleitet. Beim Stehen im Eisschrank schieden sich keine Krystalle von *l*-Leucyl-*d*-isoleucinmethyl-ester-chlorhydrat ab. Die Isolierung des Esters wurde unterlassen. Die alkoholische Lösung wurde unter vermindertem Druck eingedampft und der Rückstand noch 2-mal mit Methylalkohol zur Trockne verdampft. In die methylalkoholische Lösung des Rückstandes wurde nun trocknes, gasförmiges Ammoniak eingeleitet. Beim Stehen im Brutschrank schied sich das Anhydrid in feinen Nadelchen ab. Das Anhydrid wurde abgesaugt, die Mutterlauge bis zur weiteren Krystallabscheidung eingedunstet. Die abgeschiedenen Krystalle wurden abgesaugt. Dieser Prozeß wurde mehrmals wiederholt. Auf diese Weise gelang es, 0.7 g Rohprodukt zu erhalten.

Umkrystallisiert wurde aus der 300—400-fachen Menge Essigäther. Das Anhydrid ist in Eisessig und Alkohol leicht löslich, schwerer in Wasser, Äther und Essigäther.

Sein Schmelzpunkt liegt bei 291° (korr.), nachdem es bei 250° zu sintern begann.

0.1203 g Sbst. (über P₂O₅ getrocknet): 0.2820 g CO₂, 0.1055 g H₂O.

C₁₂H₂₃O₂N₂. Ber. C 63.66, H 9.80.

Gef. » 63.93, » 9.81.

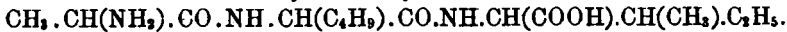
Zur optischen Bestimmung wurde in Eisessig gelöst.

0.0934 g Sbst. Gesamtgewicht der Lösung 7.3510 g. $d^{20} = 1.0125$. Abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und filtriertem Gasglühlicht 0.46° nach links. Mithin

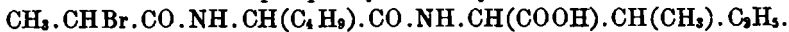
$$[\alpha]_D^{20} = -35.76^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

Wir haben ferner das Tripeptid *d*-Alanyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucin und das Tetrapeptid Glycyl-*d*-alanyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucin dargestellt.

d-Alanyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucin,



d- α -Brompropionyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucin.



6.8 g *l*-Leucyl-*d*-isoleucin (1 Mol.) wurden in 27 ccm *n*-Natronlauge (1 Mol.) gelöst. Abwechselnd wurden hierzu 6 g *d*-Brompropionylchlorid¹⁾ (1.2 Mol.) und 35 ccm *n*-Natronlauge unter Eiskühlung zugegeben. Nach Ansäuern mit 10 ccm 5-fachnormaler Salzsäure fiel der Bromkörper fast quantitativ aus. Durch Ausäthern der Mutterlauge und Fällen der Ätherauszüge mit Petroläther konnte die Ausbeute nicht verbessert werden. Sie betrug 9.1 g = 65 %.

Umkrystallisiert wurde aus 50-prozentigem Alkohol (1.5 g Substanz in 30 ccm Lösungsmittel).

Der Bromkörper ist in Wasser ziemlich schwer löslich, in absolutem Alkohol, Methylalkohol, Essigäther, Äther sehr leicht löslich, in Chloroform leicht löslich, in Benzol löslich und in Petroläther unlöslich.

Das *d*- α -Brompropionyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucin sintert beim Erhitzen im Capillarröhrchen bei 153° und ist bei 164° (korr.) klar geschmolzen.

0.1544 g Sbst. (über P_2O_5 getrocknet): 0.2673 g CO_2 , 0.0989 g H_2O .

$\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{O}_4\text{N}_2\text{Br}$. Ber. C 47.61, H 6.92.

Gef. • 47.21, » 7.12.

¹⁾ Bei der Darstellung der *d*-Brompropionsäure aus *l*-Alanin beobachteten wir hochsiedende Produkte. Sie hatten einen um ungefähr 50° höheren Siedepunkt als die reine Bromfettsäure. Sie destillierte zwar unzersetzt über, zersetzte sich jedoch rasch in der Vorlage.

In der mit flüssiger Luft gekühlten Vorlage des zur Vakuumzerlegung dienenden Wohl-Losantschischen Apparates konnte einmal Kondensation von Stickoxyd beobachtet werden. Wir geben diese Beobachtungen hier an, da schon oft Additionsprodukte bei ähnlichen Versuchen angetroffen wurden, ohne daß sich ihre Zusammensetzung aufklären ließ. Auch beim Isoleucin beobachteten wir bei der Darstellung der α -Brom- β -methyl- β -äthylpropionsäure hochsiedende Produkte. Vergl. hierzu auch die Beobachtungen von Emil Abderhalden und L. E. Weber: Synthesen von Polypeptiden. Derivate des *l*-Leucins, diese Berichte 43, 2430—2431 [1910].

Zur optischen Bestimmung wurde in absolutem Alkohol gelöst.

0.1312 g Sbst. Gesamtgewicht der Lösung 5.6948 g. $d^{20} = 0.7985$. Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und filtriertem Gasglühlicht 0.43 nach links. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -23.37^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

d-Alanin-*l*-leucyl-*d*-isoleucin.

7.5 g *d*- α -Brompropionyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucin wurden mit 100 ccm 25-prozentigem Ammoniak 7 Tage bei 37.5° stehen gelassen. Die Lösung wurde alsdann unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Wieder in Wasser gelöst, wurde sie eingengt und das sich abscheidende Tripeptid abgesaugt. Auf diese Weise wurden 3.6 g Tripeptid erhalten.

Die Mutterlauge, enthaltend Tripeptid und Bromammonium, wurde zur Entfernung des letzteren mit Silbersulfat geschüttelt und die Schwefelsäure quantitativ mit Barythydrat entfernt. Es gelang auf diese Weise, noch 0.4 g Tripeptid zu erhalten. Gesamtausbeute 4 g.

Umkrystallisiert wurde das Tripeptid aus absolutem Alkohol, dem ca. 10 ccm 25-prozentiges Ammoniak zugesetzt waren. Beim Abdunsten des Ammoniaks schied sich das Tripeptid in kleinen Nadelchen ab.

Das Tripeptid ist in absolutem Alkohol und in Methylalkohol schwer löslich, in Wasser, Essigäther, Chloroform und Benzol sehr schwer löslich, in Äther und Petroläther unlöslich.

Sein Schmelzpunkt liegt bei 245° (korr.), nachdem es bei 231° sinterte. Es schmilzt unter Bräunung und Zersetzung.

0.1283 g Sbst. (über P_2O_5 getrocknet): 0.2649 g CO_2 , 0.1021 g H_2O . — 0.1731 g Sbst.: 20.1 ccm N (20° , 756 mm).

$C_{15}H_{28}O_4N_3$. Ber. C 57.20, H 8.91, N 13.40.

Gef. » 56.31, » 8.90, » 13.32.

Zur optischen Bestimmung wurde das Tripeptid in *n*-Salzsäure und in *n*-Natronlauge gelöst.

In *n*-Salzsäure:

0.1426 g Sbst. Gesamtgewicht der Lösung 7.3046 g. $d^{20} = 1.2760$. Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und filtriertem Gasglühlicht 0.62° nach links. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -24.89^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

In *n*-Natronlauge:

0.1344 g Sbst. Gesamtgewicht der Lösung 7.5304 g. $d^{20} = 1.0420$. Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und filtriertem Gasglühlicht 0.85° nach links. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -45.72^{\circ} (\pm 0.2^{\circ}).$$

Auch wurde die spezifische Drehung des Körpers in wäßriger Lösung bestimmt, doch macht diese Bestimmung keinen allzu großen Anspruch auf

Genauigkeit, weil das Tripeptid in Wasser nur sehr schwer löslich ist und daher nur eine sehr verdünnte Lösung untersucht werden konnte.

0.0226 g Sbst. Gesamtgewicht 15.9562 g. $d^{20} = 1.0835$. Abgelesene Drehung im 2-dm-Rohr bei 20° und filtriertem Gasglühlicht 0.13° nach links.
Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -9.12^{\circ}.$$

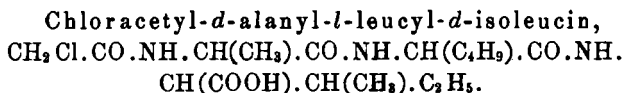
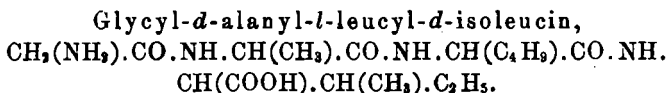
Das Tripeptid gibt die Biuret-Reaktion (violette Färbung). Es ist zuerst geschmacklos, hat jedoch einen bitteren Nachgeschmack. Seine Schwerlöslichkeit in Wasser erschwert die Geschmacksprobe.

Kupfersalz des *d*-Alanyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucins, $(C_{15}H_{27}O_4N_3)_2Cu$. 0.2 g Tripeptid wurden mit überschüssigem Kupferoxyd in Aufschlammung gekocht.

Das dunkelviolett gefärbte Filtrat wurde auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft.

0.0678 g Sbst. (über P_2O_5 bei 140° getrocknet): 0.0078 g CuO.

$(C_{15}H_{27}O_4N_3)_2Cu$. Ber. Cu 9.21. Gef. Cu 9.19.



2.4 g *d*-Alanyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucin (1 Mol.) wurden in 7.9 ccm *n*-Natronlauge gelöst. Zur Kupplung wurden angewandt 1.4 g Chloracetylchlorid (1.5 Mol.), in 4 ccm absolutem Äther gelöst, und 7.9 ccm *n*-Natronlauge. Der Chlorkörper wurde mit viel Äther ausgeschüttelt, die Ätherauszüge im Vakuum zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde zweimal mit Petroläther eingedampft. Hierauf wurde der Rückstand in absolutem Alkohol gelöst, mit Tierkohle entfärbt und filtriert. Zu dem heißen Filtrat wurde Wasser bis zur bleibenden Trübung zugegeben. Beim langsamen Eindunsten auf dem Wasserbade schied sich das Chloracetyl-*d*-alanyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucin in kleinen Nadelchen aus.

Die Ausbeute an umkrystallisiertem Produkt betrug $2.9 \text{ g} = 75 \%$.

Der Körper ist in absolutem Alkohol sehr leicht löslich, in Äther und Essigäther löslich (aus Essigäther scheidet er sich beim Erkalten ölig ab), in Wasser ziemlich schwer löslich, in Petroläther unlöslich. Er sintert bei 189° und ist bei 197° (korr.) klar geschmolzen.

0.1241 g Sbst. (über P_2O_5 getrocknet): 0.2371 g CO_2 , 0.0860 g H_2O . — 0.1560 g Sbst.: 14.5 ccm N (21° , 756 mm).

$C_{17}H_{30}N_2O_5$ Cl. Ber. C 52.11, H 7.66, N 10.73.

Gef. » 52.10, » 7.75, » 10.74.

Zur optischen Bestimmung wurde in absolutem Alkohol gelöst.

0.1912 g Subst. Gesamtgewicht der Lösung 5.8051 g. $d^{20} = 0.8106$. Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und filtriertem Gasglühlicht 1.44° nach links. Mithin

$$[\alpha]_D^{20} = -54.83^\circ (\pm 0.2^\circ).$$

Glycyl-*d*-alanyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucin.

1.7 g Chloracetyl-*d*-alanyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucin wurden mit 50 ccm 25-prozentigem Ammoniak 8 Tage bei 37.5° aufbewahrt. Die Lösung wurde hierauf im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand noch dreimal mit absolutem Alkohol eingedampft. Schließlich wurde er mit absolutem Alkohol aus dem Kolben gespült und abgesaugt. Der abgenutzte Rückstand wurde mit 5 ccm Wasser zerrieben. Auf diese Weise gelang es, 1 g vollständig chlorammoniumfreies Tetrapeptid zu erhalten.

Die alkoholische Mutterlauge sowie die wäßrige Mutterlauge, die von dem Anreiben des noch unreinen Tetrapeptides herrührte, wurde eingedampft. Der Rückstand, Tetrapeptid und Chlorammonium enthaltend, wurde mit Silbersulfat behandelt, um das Chlorammonium zu entfernen. Die Ausbeute an nicht umkrystallisiertem chlorfreiem Produkt betrug 1.1 g.

Das Tetrapeptid ist in Alkohol sowie Methylalkohol schwer löslich, in Wasser ziemlich schwer, in verdünntem Alkohol löslich, in Essigäther, Chloroform, Benzol schwer, in Äther und Petroläther unlöslich.

Um das Tetrapeptid umzukrystallisieren, haben wir es in 30 ccm absolutem Alkohol, dem 6 ccm 25-prozentiges Ammoniak zugesetzt waren, gelöst. Beim Abdunsten des Ammoniaks auf dem Wasserbade schied sich das Tetrapeptid krystallinisch ab.

Beim Erhitzen im Capillarrohr sintert der Körper bei 231° ; er beginnt bei 247° zu schmelzen und ist bei 251° (korr.) unter Bräunung und Zersetzung geschmolzen.

0.1398 g Subst. (bei 140° über P_2O_5 getrocknet): 0.2754 g CO_2 , 0.1092 g H_2O . — 0.1457 g Subst.: 18.9 ccm N (20° , 756 mm).

$C_{17}H_{32}N_4O_5$. Ber. C 54.84, H 8.60, N 15.05.

Gef. » 53.72, » 8.68, » 15.08.

Trotzdem die Analyse für den Kohlenstoff keinen gut stimmenden Wert ergab, halten wir das Präparat doch für ganz rein. Wir hatten bei leucinhaltigen Polypeptiden bei der Analyse fast immer Schwierigkeiten. Leider reichte die Substanz nicht zur Wiederholung der Analyse aus.

Zur optischen Bestimmung wurde das Tetrapeptid in *n*-Salzsäure und in *n*-Natronlauge gelöst.

In *n*-Salzsäure:

0.0726 g Sbst. Gesamtgewicht der Lösung 7.6334 g. $d^{20} = 1.0160$. Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und filtriertem Gasglühlicht 0.78° nach links. Mithin $[\alpha]_D^{20} = -80.59^\circ (\pm 0.2^\circ)$.

In *n*-Natronlauge:

0.0856 g Sbst. Gesamtgewicht der Lösung 7.8836 g. $d^{20} = 1.0450$. Drehung im 1-dm-Rohr bei 20° und filtriertem Gasglühlicht 0.89° nach links. Mithin $[\alpha]_D^{20} = -78.44^\circ (\pm 0.2^\circ)$.

Das Tetrapeptid gibt ausgesprochene Biuret-Reaktion. Die Geschmacksprobe ist infolge seiner Schwerlöslichkeit erschwert. Es erzeugt nach einiger Zeit bitteren Nachgeschmack.

Kupfersalz des Glycyl-*d*-alanyl-*l*-leucyl-*d*-isoleucins, $(C_{17}H_{31}N_4O_5)_2Cu$. 0.2 g Tetrapeptid wurden mit Kupferoxyd-Anschlammung im Überschuß gekocht.

Das blaugefärbte Filtrat wurde auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, der Rückstand mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen.

0.0762 g Sbst. (bei 140° über P_2O_5 getrocknet): 0.0074 g CuO.

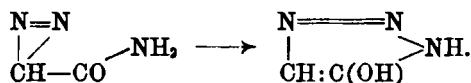
$(C_{17}H_{31}N_4O_5)_2Cu$. Ber. Cu 8.10. Gef. Cu 7.75.

387. Theodor Curtius und August Bockmühl: Zur Kenntnis des 5-Oxy-1.2.3-triazols.

[Mittteilung aus dem Chemischen Institut der Universität Heidelberg.]

(Eingegangen am 11. August 1910.)

5-Oxy-1.2.3-triazol (5-Triazolon) wurde zuerst von Curtius und Thompson¹⁾ dargestellt durch Umlagerung von Diazoacetamid mit Alkalien:



Kurz darauf haben Dimroth und Aickelin²⁾ die gleiche Verbindung aus 1-Phenyl-5-triazolon-4-carbonsäureester durch Entfernung der Phenylgruppe gewonnen und in Form des bereits von

¹⁾ Diese Berichte **39**, 4140 [1906].

²⁾ Diese Berichte **39**, 4390 [1906].