

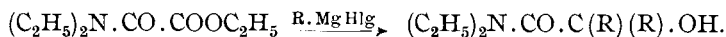
240. Alex. McKenzie und George Kidd Duff:
Die selektive Einwirkung von Organo-magnesiumverbindungen auf
***N*-Diäthyl-oxamidsäure-äthylester.**

[Aus d. Chem. Laborat. d. University College, Dundee, St. Andrews Universität.]

(Eingegangen am 20. April 1927.)

In einer vor kurzem erschienenen Mitteilung berichtet Barré¹⁾ über das Verhalten des *N*-Diäthyl-oxamidsäure-äthylesters gegen Äthyl-magnesiumbromid. Der Verfasser führte die Umsetzung bei niedriger Temperatur durch und erhielt hierbei ein Gemisch von Diäthyl-glykolsäure- und Propionyl-ameisensäure-diäthylamiden. Da wir schon seit einiger Zeit mit einer Untersuchung über das Verhalten der Grignard-Reagenzien gegen den *N*-Diäthyl-oxamidsäure-äthylester beschäftigt sind, so halten wir es für wünschenswert, unsere bisher auf diesem Arbeitsgebiete erhaltenen Resultate im Nachfolgenden bekannt zu geben.

Bei allen unseren Versuchen verwendeten wir die Grignard-Reagenzien im Überschuß und erhitzen nach Zugabe des Diäthyl-oxamidsäure-äthylesters (*N*-Diäthyl-oxamäthans) das Gemisch einige Zeit. Der Angriff des Reagens blieb hierbei auf die Gruppe $-\text{COOC}_2\text{H}_5$ beschränkt, während sich der Komplex $-\text{CO.N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ als bemerkenswert widerstandsfähig erwies:



Das Verfahren hat sich als allgemein verwendbar zur Darstellung der Diäthylamide von α -Oxy-carbonsäuren, COOH.C(R)(R).OH , erwiesen, und dürfte besonders aus dem Grunde oft nützliche Dienste leisten, weil diese Verbindungen auf dem Wege der direkten Einwirkung von Diäthylamin auf die Ester solcher Oxy-säuren nicht leicht zugänglich zu sein scheinen; so konnte z. B. das Diäthylamid der Benzilsäure aus Diäthylamin und Benzilsäure-methylester nicht erhalten werden. Dieses letztere Verhalten läßt sich in Parallele zu einer Beobachtung von E. Fischer und Dilthey²⁾ stellen, die bei der Umsetzung von Diäthyl-malonester mit Ammoniak ebenfalls nur Spuren von Diäthyl-malonamid gewannen. Es ließ sich demgemäß von vornherein erwarten, daß die in dieser Abhandlung zu beschreibenden Diäthylamide sich als sehr widerstandsfähig gegen verseifende Mittel erweisen würden, und in Wirklichkeit blieben sie auch praktisch unangegriffen, als sie mit starken Alkalien mehrere Stunden erhitzt wurden. Unser Verfahren ist dementsprechend nicht auf die Darstellung der Oxy-säuren selbst ausdehnbar. Das Verhalten der Diäthylamide tertiärer α -Oxy-säuren gegen Alkalien entspricht der schwierigen Verseifbarkeit solcher Ester von organischen Säuren, die sich nur schwer durch Esterifizieren der betr. Säuren mit Chlorwasserstoff oder konz. Schwefelsäure erhalten lassen und dann auch ebenso schwierig wieder zu verseifen sind.

Unter den von uns dargestellten Diäthylamiden der allgemeinen Formel $\text{HO.C(R)(R).CO.N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ befanden sich solche, in welchen das Radikal R (= Phenyl, α -Naphthyl, *p*- und *o*-Tolyl), eine starke Sättigungskapazität aufweist, und andererseits solche, bei welchen das Radikal R (= Äthyl oder Benzyl) nur eine geringe Sättigungskapazität besitzt; trotzdem verhielten

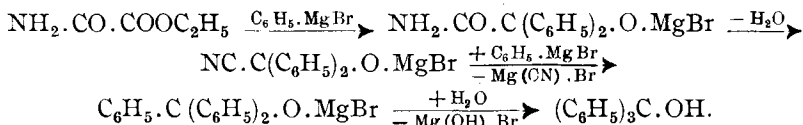
¹⁾ Compt. rend. Acad. Sciences **184**, 825 [1927].

²⁾ B. **35**, 844 [1902].

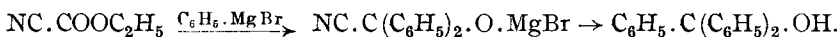
sich die Dialkylamide mit an den α -Kohlenstoff gebundenen Äthyl- und Benzylgruppen gegen Alkalien nicht wesentlich verschieden von denjenigen Diäthylamiden, bei welchen an gleicher Stelle Alkyle von hoher Sättigungskapazität vorhanden sind. Andererseits ließen sie aber einen Unterschied erkennen, wenn sie in Spuren zu konz. Schwefelsäure hinzugefügt wurden: sie zeigten keine Halochromie, während diese Erscheinung bei den Diäthylamiden der Benzilsäure, Di- α -naphthyl-, Di-*o*- und Di-*p*-tolyl-glykolsäure sehr ausgeprägt zu erkennen war.

Die Diäthylamide der Benzilsäure und der Di- α -naphthylglykolsäure wurden zu den entsprechenden Diäthylamiden der Diphenyl- und Di- α -naphthyl-essigsäure reduziert. Auch die so gewonnenen Diäthylamide erwiesen sich als gegen Alkalien äußerst widerstandsfähig, zeigten aber keine Halochromie. Das Diphenyl-essigsäure-diäthylamid tritt in zwei deutlich von einander verschiedenen Krystallformen auf: Prismen vom Schmp. 67—68° und Nadeln vom Schmp. 64—65°: diese beiden Formen lassen sich gegenseitig in einander überführen.

Wir möchten bei dieser Gelegenheit auch über die Einwirkung von Phenyl-magnesiumbromid auf Oxamäthan selbst berichten, die in dem Sinne einen sehr interessanten Verlauf nahm, als das Produkt der Reaktion Triphenyl-carbinol war. Letzteres dürfte sich im Sinne des folgenden Schemas gebildet haben:



Schließlich haben wir dann die Reaktion des Phenyl-magnesiumbromides auch mit dem Cyan-ameisensäure-äthylester untersucht, wobei wir ebenfalls Triphenyl-carbinol erhielten:



Die Einwirkung der Grignard-Reagenzien auf Oxamäthan wird noch weiter studiert.

Beschreibung der Versuche.

Phenyl-magnesiumbromid und *N*-Diäthyl-oxamidsäure-äthylester (*N*-Diäthyl-oxamäthan).

22 g (1 Mol.) des Esters wurden allmählich zu einer Grignard-Lösung hinzugefügt, die aus 80 g (4 Mol.) Brom-benzol dargestellt worden war. Als das Gemisch 2 Stdn. in gelindem Sieden erhalten wurde, schied sich ein schweres Öl ab. Die Zersetzung wurde mit Eis und verd. Schwefelsäure vorgenommen. Nach dem Vertreiben des Äthers aus der ätherischen Schicht wurde das Produkt zwecks Entfernung des Diphenyls mit einem Wasserdampf-Strom behandelt, und der ölige, beim Erkalten erstarrende Rückstand aus Äthylalkohol umkrystallisiert. Ausbeute: 23 g.

Das Benzilsäure-diäthylamid, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C}(\text{OH}) \cdot \text{CO} \cdot \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, scheidet sich in zu Rosetten gruppierten Nadeln ab, die bei 95—96° schmelzen.

$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_2\text{N}$. Ber. C 76.3, H 7.5, N 4.9. Gef. C 76.2, H 7.6, N 5.1.

Fügt man eine Spur dieser Substanz zu kalter konz. Schwefelsäure hinzu, so tritt sogleich eine rote Färbung auf, die jedoch schnell in smaragdgrün

übergeht. Kochen mit konz. Natronlauge zersetzt das Amid nicht in merklichem Umfange. Auch als 2 g desselben mit 8 g geschmolzenem Ätzkali 2 Stdn. erhitzt wurden, zeigte sich nur eine sehr langsame Entwicklung von Diäthylamin, und dementsprechend ließen sich auch nur Spuren Benzilsäure aus dem Produkt isolieren.

Bei einer zweiten, unter abweichenden Bedingungen durchgeführten Darstellung gelangten 10 g (1 Mol.) Diäthyl-oxamäthan auf eine aus 73 g (8 Mol.) Brom-benzol hergestellte Grignard-Lösung zur Einwirkung, wobei das Erhitzen auf 18 Stdn. ausgedehnt wurde. Bei diesem Versuch wurden 10 g umkrystallisiertes Benzilsäure-diäthylamid aus dem Produkt isoliert; es ist demnach klar, daß die $(C_2H_5)_2N.CO$ -Gruppe sich dem Angriff des Aryl-magnesiumbromides gegenüber sehr resistent verhält. Diese Schlußfolgerung ließ sich dann noch durch einen Versuch erhärten, bei welchem das Benzilsäure-diäthylamid selbst (10 g, 1 Mol.) mit aus 22 g (4 Mol.) Brom-benzol bereitetem Phenyl-magnesiumbromid unter Verlängerung des Erhitzens bis auf 15 Stdn. behandelt, aber 8 g des Diäthylamids unverändert zurückgewonnen wurden.

Als Benzilsäure-methylester (10 g) mit 18 g Diäthylamin 10 Stdn. auf dem Wasserbade erwärmt wurde, ergab sich überhaupt kein Anzeichen für die Bildung von Benzilsäure-diäthylamid, vielmehr wurde der Ester unverändert zurückerhalten.

Reduktion des Benzilsäure-diäthylamids.

Ein Gemisch von 12 g Diäthylamid, 18 g kryst. Zinnchlorür, 35 ccm konz. Salzsäure und 50 ccm Äthylalkohol wurde 30 Min. erhitzt und dann in einen Überschuß von Wasser ausgegossen. Das Produkt wurde mehrmals aus leichtem Petroläther (Sdp. 40–60°) umkrystallisiert (Ausbeute 9 g); durch die Analyse:

$C_{18}H_{21}ON$. Ber. C 80,8, H 7,9. Gef. C 80,9, 80,4, H 8,2, 7,9.

erwies es sich als Diphenyl-essigsäure-diäthylamid, $(C_6H_5)_2CH.CO.N(C_2H_5)_2$. Dieses Amid ist in niedrigsiedendem Petroläther und in Äthylalkohol von gewöhnlicher Temperatur nur wenig löslich.

Bei einer Reihe von Darstellungen wurden manchmal glasartige Prismen von rechtwinkligem Querschnitt erhalten, die scharf bei 67–68° schmolzen, in anderen Fällen dagegen ebenfalls glasartig aussehende Nadeln, die zu Rosetten gruppiert waren, aber (gleichfalls scharf) schon bei 64–65° schmolzen; gelegentlich ergab sich auch ein Gemisch von Prismen und Nadeln, das sich zwischen 62° und 67° verflüssigte. Es wurde anfangs vermutet, daß die Prismen und die Nadeln zwei verschiedene Substanzen darstellten; die eingehendere Prüfung lehrte jedoch bald, daß es sich nur um Varietäten ein und derselben Verbindung handelte. Durch sorgfältiges Umkrystallisieren in Erlenmeyer-Kölbchen, die, zwecks Verhütung einer Infektion mit Keimen aus der Luft, mittels Baumwolle verschlossen waren, gelang es, nach dem Animpfen mit Prismen ausschließlich aus Prismen bestehende Krystallisationen zu erzielen. Wurde jedoch die gleiche Lösung wieder erhitzt und dann abgekühlt, so schieden sich nach dem Animpfen mit Nadeln lediglich Nadeln ab. Die gegenseitige Umwandlung der beiden Formen in einander gelingt nach Belieben, sobald man hierbei entsprechende Vorsichtsmaßregeln trifft.

Das Diphenyl-essigsäure-diäthylamid läßt sich mit ausgezeichneter Ausbeute auch direkt aus Diphenyl-essigsäure gewinnen: Zu diesem Zweck wird die Säure (1 Mol.) mit Thionylchlorid (4 Mol.) bis zum Aufhören der Chlorwasserstoff-Entwicklung erwärmt, dann wird das überschüssige Thionylchlorid durch Erhitzen unter vermindertem Druck entfernt. Das so

erhaltene Diphenyl-acetylchlorid wird alsbald in trockenem Petroläther vom Sdp. 60—80° gelöst und überschüssiges Diäthylamin in mehreren Anteilen hinzugefügt. Nach 3 Stdn. hatte sich ein voluminöser Niederschlag ausgeschieden, der abfiltriert und zwecks Entfernung des Diäthylamin-Hydrochlorids mit Wasser erwärmt wurde; hiernach wurde das Ganze mit Äther extrahiert. Der erhaltene feste Körper wurde mit der Hauptmenge vereinigt, die aus dem petrolätherischen Filtrat gewonnen worden war, und die Gesamtmasse nunmehr aus leichtem Petroläther umgelöst. Die sich hierbei abscheidenden Krystalle bestanden fast ausschließlich aus rechteckigen Prismen und schmolzen bei 67—68°, während gleichzeitig nur einige wenige isolierte Nadel-Rosetten vorhanden waren. Das Verhalten des Produktes glich dem der Krystalle, die mit Hilfe von Diäthyl-oxamidsäure-äthylester dargestellt worden waren, in jeder Hinsicht.

Wird eine Spur Diphenyl-essigsäure-diäthylamid in konz. Schwefelsäure gelöst, so zeigt sich keinerlei Färbung. Das Amid bleibt unverändert, wenn man es mit konz. wäßriger oder alkoholischer Kalilauge kocht.

α -Naphthyl-magnesiumbromid und *N*-Diäthyl-oxamidsäure-äthylester.

20 g (1 Mol.) des Esters wurden allmählich zu einer Grignard-Lösung hinzugegeben, die aus 96 g (4 Mol.) α -Brom-naphthalin bereitet worden war; nach 4-stdg. Kochen wurde die Zersetzung des Produktes mit Eis und verd. Schwefelsäure vorgenommen. Das erhaltene Diäthylamid erwies sich als etwas schwer löslich in Äther, so daß sich ein Teil (A) desselben alsbald wieder ausschied und durch Abfiltrieren entfernt werden konnte. Nach dem Vertreiben des Äthers aus der ätherischen Lösung wurde das hinterbleibende Öl mit rektifiziertem Alkohol durchgerührt, um das in größerer Menge vorhandene Naphthalin und Dinaphthyl herauszulösen. Der feste Körper, der beim Abfiltrieren der alkohol. Lösung hinterblieb, wurde im Dampfstrom destilliert, der feste Rückstand mit A vereinigt und aus einem Gemisch von Alkohol und Chloroform umkrystallisiert. Ausbeute 30 g.

Das Di- α -naphthyl-glykolsäure-diäthylamid, $(C_{10}H_7)_2C(OH).CO.N(C_2H_5)_2$, krystallisiert in hexagonalen Prismen, die bei 196—197° schmelzen.

$C_{26}H_{25}O_2N$. Ber. C 81.4, H 6.6, N 3.7. Gef. C 81.5, H 6.8, N 3.6.

Eine Spur des festen Amids wurde von konz. Schwefelsäure rotgefärbt; die Lösung nimmt allmählich eine bläulich-schwarze Färbung an und wird beim Erwärmen braun. Als die Verbindung mit konz. wäßriger Kalilauge gekocht wurde, trat keine merkliche Hydrolyse ein.

Reduktion des Di- α -naphthyl-glykolsäure-diäthylamids.

Ein Gemisch von 5 g Diäthylamid, 12 g Stannochlorid, 20 ccm konz. Salzsäure und 50 ccm Alkohol wurde 2 Stdn. erwärmt und dann in viel Wasser ausgegossen. Der sich hierbei abscheidende feste Stoff wurde zunächst aus Alkohol und dann aus einem Gemisch von Alkohol und Chloroform umkrystallisiert. Ausbeute 3.5 g.

Das Di- α -naphthyl-essigsäure-diäthylamid, $(C_{10}H_7)_2CH.CO.N(C_2H_5)_2$, scheidet sich in rechtwinkligen Tafeln vom Schmp. 204—205° ab.

$C_{26}H_{25}ON$. Ber. C 85.0, H 6.9. Gef. C 84.8, H 7.1.

Es ist wenig löslich in Äther und leichtem Petroläther. Wird eine Spur des Amids zu konz. Schwefelsäure hinzugefügt, so tritt praktisch keine Färbung auf; wendet man jedoch größere Mengen an, so zeigt sich eine bläulich-grüne Färbung, die beim Erwärmen rein grün wird. Als die Verbindung mit konz. Natronlauge gekocht wurde, ließ sich kein Diäthylamin nachweisen.

p-Tolyl-magnesiumbromid und *N*-Diäthyl-oxamidsäure-äthylester.

- 8.8 g (1 Mol.) Ester und die aus 35 g (4 Mol.) *p*-Brom-toluol bereitete Grignard-Lösung wurden 3 Stdn. mit einander erhitzt; dann wurde wie üblich zersetzt, das Produkt zur Entfernung des Di-*p*-tolyls mit Dampf destilliert und der Rückstand schließlich mehrmals aus wasser-haltigem Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute 6 g.

Das Di-*p*-tolyl-glykolsäure-diäthylamid, $(\text{CH}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_4)_2\text{C}(\text{OH}) \cdot \text{CO} \cdot \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, scheidet sich aus leichtem Petroläther (Sdp. 40–60°) in glasartigen Nadeln ab; Schmp. 118–119°.

$\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{O}_2\text{N}$. Ber. C 77.1, H 8.1. Gef. C 77.5, H 8.2.

Eine Spur des Amids ruft in kalter konz. Schwefelsäure eine kirschrote Färbung hervor. Beim Kochen mit starker Natronlauge ließ sich kein Diäthylamin wahrnehmen.

o-Tolyl-magnesiumbromid und *N*-Diäthyl-oxamidsäure-äthylester.

12 g (1 Mol.) Ester, Grignard-Reagens aus 48 g (4 Mol.) *o*-Brom-toluol, 4-stdg. Erhitzen. Nach der Zersetzung mit Eis und verd. Schwefelsäure schieden sich 4 g des Diäthylamids ab. Der Rückstand der ätherischen Lösung war ein Öl; als dieses mit leichtem Petroläther verrieben wurde, ergaben sich 10 g fester Substanz. Diese wurden, gemeinsam mit den obigen 4 g, 2-mal aus Äthylalkohol umkrystallisiert; Ausbeute 11 g.

Das Di-*o*-tolyl-glykolsäure-diäthylamid, $(\text{CH}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_4)_2\text{C}(\text{OH}) \cdot \text{CO} \cdot \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, krystallisiert in Nadeln vom Schmp. 140–141°.

$\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{O}_2\text{N}$. Ber. C 77.1, H 8.1, N 4.5. Gef. C 76.9, H 8.3, N 4.4.

Mit konz. Schwefelsäure gibt das Amid zunächst eine nelkenrote Färbung, die dann rasch in smaragdgrün übergeht. Gleich den anderen, im Voranstehenden beschriebenen Verbindungen ist auch dieses Amid gegen siedende Ätzkalien sehr beständig.

Äthyl-magnesiumjodid und *N*-Diäthyl-oxamidsäure-äthylester.

10 g (1 Mol.) Ester, Grignard-Lösung aus 27 g (3 Mol.) Äthyljodid, 2-stdg. Erhitzen, Produkt in der gewohnten Weise zersetzt und dann unter vermindertem Druck destilliert. Ausbeute 5.5 g.

Das Diäthyl-glykolsäure-diäthylamid, $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{C}(\text{OH}) \cdot \text{CO} \cdot \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, siedet unter 15 mm Druck bei 122–123°, während Barré (l. c.) den Sdp.₁₁ 120° beobachtet hat.

$\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{O}_2\text{N}$. Ber. C 64.1, H 11.3. Gef. C 63.9, H 11.4.

Mit einer Spur des Amids gibt konz. Schwefelsäure keine Färbung. Als die Verbindung mit starker Natronlauge gekocht wurde, setzte sie ihrer Verseifung starken Widerstand entgegen.

Benzyl-magnesiumchlorid und *N*-Diäthyl-oxamidsäure-äthylester.

15 g (1 Mol.) Ester, Grignard-Reagens aus 44 g (4 Mol.) Benzylchlorid, 2-stdg. Erhitzen, Zersetzung wie üblich. Das Rohprodukt wurde mit leichtem Petroläther verrieben, um das beigemischte Dibenzyl zu entfernen, filtriert und 4-mal aus einem Gemisch von Benzol und niedrigsiedendem Petroläther (Sdp. 40–60°) umkristallisiert. Ausbeute 8 g.

Das Dibenzyl-glykolsäure-diäthylamid, $(C_6H_5.CH_2)_2C(OH).CO.N(C_2H_5)_2$, scheidet sich in glitzernden, monoklinen Nadeln ab; Schmp. 120.5–121.5°.

$C_{20}H_{26}O_2N$. Ber. C 77.1, H 8.1. Gef. C 77.4, H 8.3.

Eine Spur der gereinigten Verbindung ruft in konz. Schwefelsäure keine Färbung hervor, während das Rohprodukt die Säure nelkenrot färbt. Als das Amid mit starker Natronlauge gekocht wurde, machte sich Geruch nach Diäthylamin bemerkbar.

Phenyl-magnesiumbromid und Oxamäthan.

Bevor wir diese Reaktion untersuchten, stellten wir zunächst einige Versuche mit Oxalsäure und Oxamid an. 15 g wasser-freier Oxalsäure (1 Mol.) wurden 28 Stdn. mit dem Grignard-Reagens erhitzt, das aus 105 g (4 Mol.) Brom-benzol bereitet war. Hiernach konnte nur eine Spur Benzoyl-ameisensäure aus dem Produkt isoliert werden, so daß die Methode als ungeeignet für die allgemeine Darstellung von α -Keton-säuren erscheinen muß. Oxamid verhält sich ebenfalls sehr stabil gegenüber Phenyl-magnesiumbromid, wenn es mit einem Überschuß an letzterem erhitzt wird: Als 8 g (1 Mol.) Oxamid 12 Stdn. mit dem aus 86 g (6 Mol.) Brom-benzol bereiteten Grignard-Reagens erhitzt worden waren, ließen sich aus dem zersetzten Produkt 7.5 g des Amids zurückhalten.

In Gemeinschaft mit Hrn. Walter Mitchell wurden dann 10 g (1 Mol.) Oxamäthan 12 Stdn. mit dem aus 81 g (6 Mol.) Brom-benzol hergestellten Grignard-Reagens erhitzt. Beim Zersetzen des Produktes mit Eis und verd. Schwefelsäure trat Geruch nach Blausäure auf; dies ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß etwas Cyan-ameisensäure-äthylester (s. u.) vorhanden war, der von Wasser in Blausäure, Alkohol und Kohlendioxyd zerlegt wird³⁾. Das bei der Reaktion entstandene Diphenyl wurde durch Destillieren mit Wasserdampf entfernt. Dem hierbei verbleibenden Rückstand hing noch etwa Öl an; er wurde aus Alkohol umkristallisiert, aus dem sich hexagonale, bei 162–163° schmelzende, stickstoff-freie Prismen abschieden. Die Verbindung, die in einer Menge von 5 g entstanden war, ließ sich als Triphenyl-carbinol identifizieren.

$C_{13}H_{16}O$. Ber. C 87.6, H 6.2. Gef. C 87.5, H 6.2.

Sie gab mit konz. Schwefelsäure eine orangerote Färbung. Als wir Chlorwasserstoff in die ätherische Lösung einleiteten, bildete sich Triphenyl-chlor-methan vom Schmp. 110°. Alle diese Eigenschaften stimmen mit den in der Literatur für Triphenyl-carbinol angegebenen überein. Zum sicheren Vergleich bereiteten wir eine Probe des letzteren noch aus Phenyl-magnesiumbromid und Äthylbenzoat; als diese Substanz mit der auf dem obigen Wege aus Oxamäthan bereiteten vermischt wurde, ergab sich keine Erniedrigung des Schmelzpunktes.

³⁾ Weddige, Journ. prakt. Chem. [2] 10, 197.

Phenyl-magnesiumbromid und Cyan-ameisensäure-äthylester.

6 g (1 Mol.) des Esters wurden in Äther gelöst und dann zu einer Grignard-Lösung aus 34 g ($3\frac{1}{2}$ Mol.) Brom-benzol hinzugefügt. Es trat eine sehr kräftige Reaktion ein; die Zersetzung des Produktes wurde in der üblichen Weise vorgenommen und auch hier das Diphenyl mit Hilfe von Wasserdampf entfernt. Ausbeute an 2-mal aus rektifiziertem Alkohol umgelöstem Produkt: 3 g; hexagonale Prismen vom Schmp. $161-162^{\circ}$, die sich mit Hilfe der bei dem Produkt aus Oxamäthan benutzten Reaktionen als Triphenyl-carbinol charakterisieren ließen.

241. H. v. Euler und K. Josephson:
Über die Spezifität der Hefe- und Darm-Peptidasen.
(5. Mitteilung über Peptidasen¹⁾).

[Aus d. Chem. Laborat. d. Universität Stockholm.]

(Eingegangen am 6. Mai 1927.)

Durch Studium der Angreifbarkeit verschiedener Derivate des einfachsten Substrates der Peptidase-Wirkung (Glycyl-glycin) durch das Erepsin aus Schweinedarm haben wir die Frage betr. der Spezifität des bei der Spaltung des Glycyl-glycins wirksamen Enzyms in Angriff genommen. Wir haben dabei den Versuch eingeleitet mit der Untersuchung der verschiedenen Angreifbarkeit von Substraten, sowie mit dem Studium der Hemmung der Enzym-Wirkung durch verschiedene Stoffe. Dadurch konnten wir Rückschlüsse ziehen auf die Gruppen des Substrates und die Gruppen in dem Enzym, welche für die Bindung eines einfachen Substrates mit bekannter Konstitution in erster Linie verantwortlich sind. Aus unseren Versuchen schien uns die folgende Schlußfolgerung gezogen werden zu können: Die Bindung eines Dipeptids (Glycyl-glycin) an die Peptidase des Schweinedarms wird wenigstens zum Teil durch die freie Aminogruppe des Substrates vermittelt, und die Bindung dieser Aminogruppe an das Enzym erfolgt mit großer Wahrscheinlichkeit an einer Carbonylgruppe in dem Enzym.

Für diese Auffassung haben wir die folgenden experimentellen Befunde angeführt: Die Spaltbarkeit des Glycyl-glycins wird aufgehoben bei Substitution in der freien Aminogruppe durch Einführung des Benzoylrestes²⁾. Dabei verschwindet nicht nur die Spaltbarkeit durch die Peptidase, sondern die Affinität zu dem Enzym wird gleichfalls aufgehoben, indem eine Hemmung der Glycyl-glycin-Spaltung bei Zusatz von Benzoyl-glycyl-glycin nicht eintritt. Ferner werden Acetursäure und Hippursäure von der Darm-Peptidase nicht gespalten oder gebunden. Dagegen hatten wir bei der optimalen Acidität der Peptidase-Wirkung Hemmung durch Glykokoll wie auch α -Alanin gefunden³⁾. Die Hemmung durch die Aminosäuren ist aber in hohem Maße von der Acidität bzw. Alkalinität abhängig.

¹⁾ 1. Mitt.: H. v. Euler und K. Josephson, B. **59**, 226 [1926]; 2. Mitt.: Ztschr. physiol. Chem. **157**, 122 [1926]; 3. Mitt.: Ztschr. physiol. Chem. **161**, 270 [1926]; 4. Mitt.: K. Josephson und H. v. Euler, Ztschr. physiol. Chem. **162**, 85 [1926]. — Siehe auch H. v. Euler, Chemie der Enzyme, II. Teil, 2. Abschnitt, München 1927, S. 418ff.

²⁾ vergl. T. Imai, Ztschr. physiol. Chem. **136**, 205 [1924].

³⁾ Im Gegensatz zu den Angaben von K. G. Dernby, Biochem. Ztschr. **91**, 107 [1916/17].