

rungsprodukt in 80 ccm trockenem Methylalkohol gelöst und mit Ammoniakgas bei  $-15^{\circ}$  gesättigt. Nach 5-tägigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur wurde verdampft, der Rückstand mit 25 ccm 96-proz. Alkohol aufgeköcht, erkalten gelassen, abgesaugt und aus der nötigen Menge heißem Wasser umkrystallisiert: 0.8 g. Farblose Blättchen. Sie waren das salzsaure Salz des Dioxo-piperazins.

Zur Analyse bei  $78^{\circ}$ , 0.1 mm über  $P_2O_5$  getrocknet.

4.425 mg Subst.: 8.250 mg  $CO_2$ , 2.493 mg  $H_2O$ . — 3.425 mg Subst.: 0.581 ccm N ( $23^{\circ}$ , 758 mm, nach Pregl). — 4.985 mg Subst.: 2.081 mg AgCl (direkt gefällt).

$C_{15}H_{22}O_3N_3Cl$  (355.7). Ber. C 50.60, H 6.24, N 19.69, Cl 9.97.  
Gef. „ 50.85, „ 6.30, „ 19.51, „ 10.33.

$[\alpha]_D^{25} = -0.93^{\circ} \times 3.5227 / 1 \times 1.002 \times 0.0808 = -40.4^{\circ}$  (in Wasser).

Die getrocknete Substanz sintert stark gegen  $165^{\circ}$  (korr.) und schmilzt aber erst gegen  $220^{\circ}$  (korr.) unter völliger Zersetzung. Das salzsaure Anhydrid gibt mit Kalium-Wismut-Jodid einen roten Niederschlag, mit Sublimat in Gegenwart von Natriumacetat eine weiße Fällung; mit soda-alkalischer Pikrinsäure-Lösung gibt es erst beim Erwärmen eine sehr schwache rötliche Färbung. Aus wäßrigen Lösungen des Hydrochlorids scheiden Alkalien das freie Anhydrid in Form langer Nadeln ab. Es ist in Wasser schwer löslich.

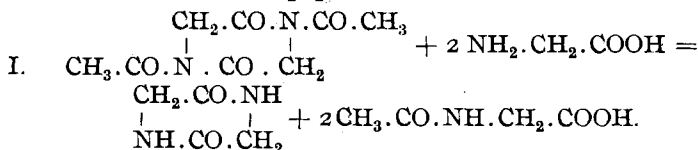
Setzt man das Anhydrid aus seinem Hydrochlorid in der eben erwähnten Weise in Freiheit, läßt die Lösungen stundenlang stehen und verwendet sie nachher für die optische Untersuchung als salzsaures Salz, so macht sich nur ein langsamer Abfall der Drehung bemerkbar. Am günstigsten verlief ein Versuch, den wir in  $n_{50}$ -Lösung durchführten. Nach 15 Stdn. war aber auch hier nur ein Abfall der Drehung um etwa 16% zu konstatieren. Wenn wir in etwas konzentrierteren Lösungen arbeiteten, so schied sich das freie Dioxo-piperazin in mehr oder weniger großen Beträgen aus, und dann war überhaupt keine Drehungsverminderung zu bemerken.

### 306. Max Bergmann, Vincent du Vigneaud<sup>1)</sup> und Leonidas Zervas: Acylwanderung und Spaltungsvorgänge bei acylierten Dioxo-piperazinen<sup>2)</sup>

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Leder-Forschung, Dresden.]

(Eingegangen am 8. Juni 1929.)

Wenn man *N, N'*-Diacetyl-2.5-dioxo-piperazin mit einem Alkalisalz des Glykokolls in wäßriger Lösung zusammenbringt, so wandern die Acetylene vom Dioxo-piperazin zur Amino-säure, und es entsteht Acetur-säure neben freiem Dioxo-piperazin:



Das freie *d*-Arginin als stark basische Amino-säure entreißt, ohne daß man erst Alkali zusetzen braucht, dem acylierten Dioxo-piperazin

<sup>1)</sup> Fellow National Research Council.

<sup>2)</sup> 29. Mitteilung über Umlagerung peptid-ähnlicher Stoffe; 27. und 28. Mitteilung voranstehend.



Das Verhalten unseres peracylierten Peptids zeigt die prinzipielle Möglichkeit, durch Veränderung des Imid-Wasserstoffes die Peptid-Bindung zu labilisieren, und zeigt weiter, daß für die Alkali-Hydrolyse der Peptid-Bindung die Anwesenheit von enolisierbarem Wasserstoff nicht unbedingt erforderlich ist. Für die Erforschung peptid-spaltender Enzyme ergibt sich aus unseren Beobachtungen die Anregung zu prüfen, wie weit bei enzymatischen Peptid-Hydrolysen der Imid-Wasserstoff einen Angriffspunkt des Ferments abgibt.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danken wir für die Gewährung von Mitteln.

### Beschreibung der Versuche.

Acylwanderung von Glycin-anhydrid zu Amino-säuren.

Glykokoll: Die eiskalte Lösung von 0.8 g Glykokoll in 5.3 ccm 2-n. Natronlauge wurde nach Zugabe von 1 g Diacetyl-glycin-anhydrid kurze Zeit geschüttelt. Unter spontaner Erwärmung ging dasselbe in Lösung, und bald schied sich freies Glycin-anhydrid in langen Tafeln ab. 0.4 g = 70% d. Th.

2.205 mg Sbst.: 0.478 ccm N (22°, 741 mm, nach Pregl).

$C_4H_6O_2N_2$  (114.06). Ber. N 24.56. Gef. N 24.45.

Das Filtrat vom Glycin-anhydrid wurde mit starker Salzsäure angesäuert. Beim Aufbewahren der etwas eingedickten Lösung wurden 0.7 g Acetursäure (60% d. Th.) abgeschieden, die nach einmaliger Krystallisation aus Wasser bei 206° (unkorr.) schmolz. Eine Mischprobe mit Acetursäure, die auf anderem Wege gewonnen war, zeigte keine Depression.

3.155 mg Sbst.: 0.338 ccm N (22°, 743 mm, nach Pregl).

$C_4H_7O_3N$  (117.05). Ber. N 11.97. Gef. N 12.12.

Arginin: Die Lösung von 2 g Diacetyl-dioxo-piperazin in 5 ccm Chloroform und die Suspension von 3.52 g *d*-Arginin in 6 ccm Wasser wurden zuerst unter Kühlung, später bei gewöhnlicher Temperatur 6 Stdn. miteinander auf der Maschine geschüttelt. Nach Entfernen des Chloroforms wurde die noch basisch reagierende wäßrige Schicht über Nacht in den Eisschrank gestellt, wobei das Dioxo-piperazin<sup>6)</sup> in einer Menge von 0.42 g entspr. 36% d. Th., ausfiel.

Die Mutterlauge des Dioxo-piperazins wurde mit der 5-fachen Menge Aceton versetzt. Es schied sich ein Öl ab, welches nach einiger Zeit teilweise krystallisierte. Die überstehende Flüssigkeit wurde entfernt, der Bodensatz mit 1 ccm Wasser durchgerührt, abgesaugt und mit 1 ccm kaltem Wasser nachgewaschen. Erhalten 1.5 g Acetyl-*d*-arginin-Dihydrat und aus der Mutterlauge noch weitere 0.35 g, im ganzen 36% d. Th. Die Substanz schmolz nach dem Krystallisieren aus Wasser teilweise gegen 120°, aber erst gegen 266° (korr.) war sie vollständig geschmolzen.

Zur Analyse wurde bei 78°, 0.3 mm über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.0943 g Sbst.: 0.1532 g CO<sub>2</sub>, 0.0641 g H<sub>2</sub>O. — 2.145 mg Sbst.: 0.487 ccm N (21°, 749 mm, nach Pregl).

<sup>6)</sup> Ber. N 24.56. Gef. N 24.72.

$C_8H_{16}O_3N_4$  (216.16). Ber. C 44.41, H 7.46, N 25.92.  
Gef. „ 44.31, „ 7.61, „ 25.98.

$$[\alpha]_D^{20} = + \frac{0.61^0 \times 2.7027}{2 \times 1.0014 \times 0.0908} = + 9.07^0 \text{ (in Wasser).}$$

Für das Acetyl-*d*-arginin wurde früher der Wert  $[\alpha]_D^{20} = + 7.80^0$  angegeben; das Präparat war seinerzeit aus Wasser mit Aceton gefällt. Zum Vergleich wurde Acetyl-*d*-arginin nach der früheren Vorschrift bereitet, aus Wasser krystallisiert und dann getrocknet:

$$[\alpha]_D^{21} = + \frac{0.64^0 \times 2.5584}{2 \times 1.0014 \times 0.0834} = + 9.8^0 \text{ (in Wasser).}$$

### Äthanolyse von Diacetyl-dioxo-piperazin in Gegenwart von Arginin.

In einer Lösung von 3.42 g Diacetyl-dioxo-piperazin in 175 ccm absol. Alkohol wurden 6 g gut gepulvertes *d*-Arginin (2 Mol.) suspendiert und das Ganze 4 Tage bei 20° geschüttelt. Die vom ungelösten Arginin filtrierte Flüssigkeit wurde im Vakuum vollständig verdampft, der Rückstand mehrmals mit im ganzen 75 ccm heißem Chloroform ausgelaugt, die Extrakte jedesmal filtriert (ungelöst 1.3 g, stark basisch, Biuret-Reaktion positiv) und unter vermindertem Druck auf etwa 5 ccm eingengt. Spontan und mehr noch auf Zusatz von 50 ccm Äther schieden sich 0.6–0.8 g Monacetyl-glycylglycin-äthylester in farblosen Blättchen ab, die auf dem Filter mit heißem Äther gewaschen wurden. Ihre genauere Beschreibung erfolgt weiter unten.

Die Mutterlauge der Monacetylverbindung wurde auf –15 bis –20° gekühlt, wobei sich der Diacetyl-glycylglycin-äthylester in langen Nadeln abschied (s. weiter unten).

Der Verlauf der Äthanolyse ist nicht wesentlich anders, wenn man nur mit 0.5 Mol. Arginin arbeitet.

### Monacetyl-glycylglycin-äthylester (III).

Nach Krystallisation aus Alkohol schmolz unser Präparat bei 153° (korr.) in Übereinstimmung mit den Angaben von E. Fischer<sup>7)</sup>, der 152° fand.

0.1186 g Sbst.: 0.2057 g CO<sub>2</sub>, 0.0734 g H<sub>2</sub>O. — 4.530 mg Sbst.: 0.562 ccm N (23°, 746 mm, nach Pregl). — 5.935 mg Sbst.: 6.950 mg AgJ.

$C_8H_{14}O_4N_2$  (202.1). Ber. C 47.50, H 6.98, N 13.86, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> 22.29.  
Gef. „ 47.30, „ 6.93, „ 14.04, „ 22.28.

Beim 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub>-stdg. Aufbewahren des Monacetyl-esters (51.5 mg) mit 3 Mol. *n*/<sub>5</sub>-Natronlauge werden genau 1 Mol. Lauge verbraucht: Ber. 1.27 ccm, gef. 1.28. Destilliert man die mit 3 Mol. *n*/<sub>5</sub>-Schwefelsäure versetzte Flüssigkeit unter vermindertem Druck mit der nötigen Vorsicht über, so ist im Destillat keine Säure zu finden. Dies beweist, daß keine Abspaltung von Essigsäure während der Alkali-Behandlung stattgefunden hat. Dementsprechend wurden bei der präparativen Durchführung des Versuchs, wie ihn E. Fischer<sup>8)</sup> beschrieben hat, 85% d. Th. an Monacetyl-glycylglycin vom Schmp. 186–187° (korr.) erhalten.

3.835 mg Sbst.: 0.532 ccm N (23°, 754 mm, nach Pregl).

$C_8H_{10}O_4N_2$  (174.1). Ber. N 16.08. Gef. N 15.87.

<sup>7)</sup> B. 35, 1095 [1902].

<sup>8)</sup> E. Fischer und E. Otto, B. 36, 2106 [1903].

*N, N'*-Diacetyl-glycylglycin-äthylester (II).

Dieser Ester wurde durch Krystallisation aus Äther gereinigt und schmolz dann bei 74—76<sup>0</sup>, also sehr viel niedriger als der Monacetyl-ester.

Zur Analyse wurde bei 56<sup>0</sup> und 0.3 mm über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1132 g Sbst.: 0.2034 g CO<sub>2</sub>, 0.0678 g H<sub>2</sub>O. — 3.880 mg Sbst.: 0.400 ccm N (22<sup>0</sup>, 746 mm, nach Pregl). — 5.140 mg Sbst.: 5.011 mg AgJ.

C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub> (244.14). Ber. C 49.15, H 6.61, N 11.48, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> 18.45.

Gef. „ 49.00, „ 6.70, „ 11.71, „ 18.70.

Gegen kochendes Wasser ist der Diacetyl-ester ziemlich resistent; denn nach 1/2-stdg. Kochen wurde zur Neutralisation nur eine Alkalimenge verbraucht, die wenig mehr als 1/4 Mol. entsprach. Um einen Überblick über das Verhalten gegen Alkali zu gewinnen, wurden 51.3 mg Sbst. mit 3 Mol. n/5-Natronlauge 1 1/2 Stdn. aufbewahrt und dann mit n/5-Schwefelsäure zurücktitriert. Es waren 2.05 ccm verbraucht, also genau 2 Mol. (ber. 2.10 ccm). Bei der Destillation unter vermindertem Druck ging Essigsäure über und verbrauchte in der Vorlage 0.47 ccm n/5-Lauge. Die bei der Alkali-Behandlung des Diacetyl-glycylglycin-äthylesters verbrauchten 2 Mol. Alkali sind also nur zu 1/4 auf abgespaltene Essigsäure zurückzuführen. Daneben ist Acetursäure gebildet, die wir in einem zweiten Versuch folgendermaßen isolierten: 0.3 g Diacetyl-glycylglycin-ester wurden mit 0.5 ccm Wasser und 1.35 ccm n-Natronlauge (1 Mol.) gelöst, 1 Stde. aufbewahrt und dann mit 1.35 ccm n-Schwefelsäure versetzt. Jetzt wurde unter geringem Druck verdampft und nacheinander mit Chloroform und mit Alkohol ausgekocht. Aus dem Chloroform-Teil wurden 0.03 g Monacetyl-glycylglycin-äthylester von den weiter oben beschriebenen Eigenschaften gewonnen. Der Alkohol-Teil gab nach starkem Einengen und Versetzen mit Äther 0.1 g Acetursäure<sup>9)</sup>, die nach 1-maliger Krystallisation bei 206—207<sup>0</sup> (unkorr.) schmolz.

Um das Verhalten des Diacetyl-esters gegen Arginin und Alkohol zu studieren, haben wir 0.3 g Ester mit 0.2 g *d*-Arginin in 10 ccm Äthanol geschüttelt. Nach mehreren Tagen wurde filtriert, verdampft, mit Chloroform ausgezogen, der Extrakt eingeengt und mit Äther gefällt. Erhalten 0.17 g Monacetyl-glycylglycin-äthylester vom Schmp. 153<sup>0</sup> (korr.), entspr. 70% der Theorie.

Die Methanolyse des Diacetyl-dioxo-piperazins verläuft ähnlich wie die Äthanololyse, d. h. ebenfalls unter Bildung von Derivaten des Glycyl-glycins. Wir verzichten deshalb auf die eingehendere Beschreibung unserer Versuche.

### 307. Karl Josephson: Zur Konfiguration der furoiden $\gamma$ -Glucose und ihrer Aceton-Derivate (II. Mitteilung über Umlagerungsreaktionen in der Kohlenhydrat-Gruppe<sup>1)</sup>).

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

(Eingegangen am 17. Juni 1929.)

Die bei der Acetonisierung der Glucose mit Aceton-Salzsäure oder Aceton-Schwefelsäure eintretende Reaktion schließt eine Umlagerung der  $\beta$ -Glucose(1.5) in  $\gamma$ -Glucose(1.4) in sich. Gehen wir von der, wie

<sup>9)</sup> Ber. N 11.97. Gef. N 12.12.

<sup>1)</sup> I. Mitteilung: A. (im Druck).