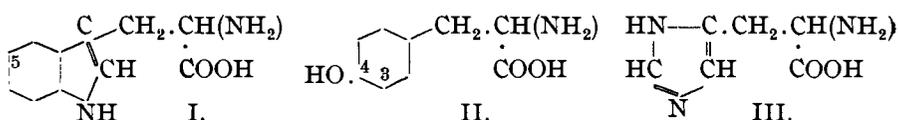


223. Hugo Bauer und Eduard Strauss: Substitutionen am Tyrosin und am Histidin.

[Aus d. Chem. Abteil. d. Georg-Speyer-Hauses in Frankfurt a. M.]
(Eingegangen am 13. Mai 1935.)

Wir haben im Hinblick auf die an den Proteinen stattfindenden Substitutionen begonnen, Modellversuche an Amino-säuren vorzunehmen; zuerst haben wir den Ort der Nitrierung am Tryptophan (I) zu bestimmen gesucht, und konnten zeigen, daß mit großer Wahrscheinlichkeit die Nitrogruppe in den Benzolkern des Tryptophans in *p*-Stellung (5-Stellung) zur Iminogruppe eintritt¹⁾ Im folgenden berichten wir nun über Versuche, die unsere Kenntnis der Jodierung des Tyrosins (II), 3-Nitro-tyrosins und Histidins (III) erweitern sollen; gerade die letztere Amino-säure fordert im Zusammenhang mit Studien am Hämoglobin unser besonderes Interesse²⁾.



1) Jod wird von Proteinen — wie längst bekannt³⁾ — nicht nur in alkalischem, sondern auch in neutralem und saurem Medium aufgenommen. Es läßt sich nun zeigen, daß insbesondere beim Globin das kohlenstoffgebundene Jod in stöchiometrischen Verhältnissen sowohl in den Tyrosin-, wie in den Histidin-Anteil eintritt. So war es für uns wichtig, die Jodierung dieser beiden Bausteine, die bisher nur in relativ stark alkalischem Medium durchgeführt worden ist, auch bei ganz schwach alkalischer bzw. saurer und neutraler Reaktion zu versuchen.

Nach den Angaben von A. Oswald⁴⁾, sowie von R. Zeynek⁵⁾ ist Natriumbicarbonat zur Jodierung des Tyrosins ungeeignet. Dies trifft jedoch nicht zu; vielmehr geht die Jodierung in einer Suspension von Tyrosin in Natriumbicarbonat-Lösung glatt vonstatten, wenn man längere Zeit energisch rührt. Eine Jodierung des freien Tyrosins in saurer Lösung gelingt nicht⁶⁾; aber es bedarf nur der Umwandlung in das Säure-amid, um in essigsaurer Lösung die Bildung von Dijod-tyrosin-amid zu erreichen. Hier zeigt sich der Einfluß der „basischen Situation“⁷⁾ auf die Fähigkeit der Jod-Aufnahme.

Ein Monojod-tyrosin konnte von uns nicht erhalten werden. Auch auf dem Umwege über monomercuriertes Tyrosin (Versuche von E. Maschmann) gelingt dies nicht; läßt man Jod auf monomercuriertes Tyrosin einwirken, so wird nicht nur das Quecksilber durch Jod ersetzt, sondern es tritt sofort auch ein zweites Atom Jod in den Kern ein. Es ergibt sich also,

1) H. Bauer u. E. Strauss, B. **65**, 308 [1932].

2) Vorläufige zusammenfassende Mitteilung in „Die Wissenschaftliche Woche zu Frankfurt a. M.“ **3**, 243 [1934] (Leipzig, Georg Thieme).

3) F. Hofmeister, Ztschr. physiol. Chem. **24**, 158 [1897].

4) A. Oswald, Ztschr. physiol. Chem. **59**, 320 [1909].

5) R. Zeynek, Ztschr. ges. exp. Mediz. **68**, 482 [1929].

6) F. Lieben u. R. Müller, Biochem. Ztschr. **197**, 127 [1928].

7) vergl. dazu H. Pauly, B. **43**, 2243, u. zw. S. 2248 [1910].

daß beim Tyrosin stets eine Dijod-Substitution eintritt (vergl. dagegen das Verhalten des Histidins).

2) Im Hinblick auf die von uns untersuchte Jodierung des Nitroglobins und die daraus gezogenen Folgerungen war es notwendig zu wissen, ob — wie wir ursprünglich angenommen haben — Nitrotyrosin imstande ist, Jod aufzunehmen. Die zahlenmäßigen Ergebnisse, die wir bei der Jodierung des Nitroglobins erhielten, schienen ja zunächst diese Annahme zu rechtfertigen; ein direkter Beweis wäre jedoch erst erbracht, wenn die Jodierung des freien Nitrotyrosins oder eines seiner Derivate zu jodhaltigen Substitutionsprodukten führte. Unsere dahin zielenden Versuche ergaben jedoch den wichtigen Befund, daß weder bei Anwendung verschiedener Nitrotyrosinderivate, wie des Mononitrotyrosinmethylesters, des Nitrotyrosin-glycyl-anhydrids und des Nitrotyrosin-amids, noch durch Variierung der Jodierungsmethoden Jod in das Nitrotyrosin eingeführt werden kann. Hier hat auch die „basische Situation“ keinen Einfluß. Die Jodierung wurde in Natronlauge, Natriumbicarbonat, Ammoniak und Pyridin, auch mit Quecksilberoxyd und Jod vorgenommen. Versuche, die Hr. Dr. E. Maschmann unternahm, um über eine Kern-Mercurierung des Nitrotyrosins zu dessen Jodierung zu gelangen, führten nicht einmal zur Einführung von Quecksilber in den nitrirten Benzolring.

Dieser negative Ausfall unserer Versuche macht es unwahrscheinlich, daß das im Eiweiß-Verband befindliche Nitrotyrosin imstande ist, Jod aufzunehmen; Schlüsse, die nun in bezug auf das Jodnitroglobin gezogen werden müssen, seien der Darstellung in anderem Zusammenhang vorbehalten.

3) Die Jodierung des Histidins (III) in freiem Zustande gelingt nicht; hingegen nehmen sowohl Histidin-anhydrid, wie auch Benzoylhistidin in schwach natron-alkalischer Lösung glatt 2 Atome Jod an 2 Kohlenstoffatomen des Imidazolrings auf⁸⁾. Nun ist das Histidin, so, wie es sich im Globin-Verband vorfindet, in alkalischem wie neutralem und essigsaurem Medium jodierbar; zufolge den bei der Jodierung des Globins erschlossenen stöchiometrischen Beziehungen entsteht hierbei ein Monojodhistidin. Ein entsprechendes Modell darzustellen, gelang uns durch neutrale Jodierung des Exobenzoylhistidinmethylesters. Gleichzeitig erhielten wir bei diesem Versuch einen Einblick in den Mechanismus der Jodierung am Imidazolring. Läßt man nämlich zu einer wäßrig-alkoholischen Lösung des Esters, der man Natriumjodat zugesetzt hat, eine kleine Menge Jod-Jodkalium-Lösung zufließen, so bildet sich ein braunroter Niederschlag, der bald wieder verschwindet. Bei weiterem Zusatz von Jodlösung wiederholt sich dieselbe Erscheinung, bis schließlich der braune Niederschlag bestehen bleibt. Dieser Vorgang läßt sich so deuten, daß das Jod zunächst den Wasserstoff der Imidogruppe des Imidazolrings unter gleichzeitiger Bildung eines rotbraunen, unlöslichen Perjodids ersetzt; vom Stickstoff wandert sodann das Jod an den Kohlenstoff. Bei dieser Versuchs-Anordnung tritt nur ein Atom Jod in den Imidazolring ein; wir wissen freilich noch nicht, an welchem der beiden in Frage kommenden Kohlenstoffatome die Substitution stattfindet.

Die Anschauung, daß die Jod-Substitution des Imidazolrings immer am Stickstoff einsetzt und sich nur von da weiter zum Kohlenstoff fortpflanzt, findet ihre Bestätigung darin, daß am Stickstoff besetzte Imidazole

⁸⁾ H. Pauly, B. 43, 2243 [1910].

nicht jodierbar sind⁹⁾). Auch die Kuppelung des Histidins mit Diazoverbindungen gelingt nicht, wenn die Imidazol-NH-Gruppe besetzt ist, z. B. beim Anserin¹⁰⁾.

Unser Versuch trifft bereits die Bedingungen, unter denen, auch bei Anwendung eines Jod-Überschusses, nur ein Jod in das Histidin eintritt, Bedingungen also, die der Situation und den Ergebnissen unserer Globin-Jodierungen entsprechen.

Die Fähigkeit des im Globin-Verband gebundenen Histidins, in (essig-)saurer Lösung Kohlenstoff-Jod aufzunehmen, beruht, wie wir annehmen, auf einer „basischen Situation“, in die die Histidin-Gruppe hineingestellt ist. Die gleiche Situation ist nach unserer Annahme die Ursache dafür, daß Histidin auch an der Imidogruppe zu einer relativ festen Jodbindung befähigt ist, wenn es sich im Globin-Verbande befindet. Diese besondere „basische Situation“ im Modell-Versuch nachzuahmen, ist uns noch nicht gelungen; wir haben bisher noch kein Jod-histidin-Derivat aus saurer Lösung gewinnen können.

Zusammenfassend läßt sich also Folgendes sagen: 1) Die Jodierung des Tyrosins erfolgt sehr leicht im neutralen wie im alkalischen Medium; sie führt stets zu einer Dijod-substitution. — 2) Unter besonderen Bedingungen, die offenbar der Bindungsform im Protein entsprechen und die wir als „basische Situation“ bezeichnen wollen, nimmt das Tyrosin auch im sauren Medium Jod auf. — 3) Das Gleiche gilt für das Histidin, bei dem es gelingt, im neutralen Medium ein Monojod-histidin zu gewinnen, an dessen Bildung sich der Weg des Jods von der Imidogruppe an den Kohlenstoff des Imidazolrings verfolgen läßt. — 4) Wir nehmen an, daß die gedachte „basische Situation“ insbesondere des Histidins an dem bei den Proteinen beobachteten Auftreten des sog. „Imid-Jods“ (das durch schweflige Säure ablösbar ist) ursächlich beteiligt ist; zur vollen Jod-Aufnahme an jenen NH-Gruppen läßt sich bei den Proteinen eine „basische Situation“ auch künstlich durch starkes Alkali erzeugen. Weitere Modell-Versuche in dieser Richtung sollen unternommen werden. — 5) Ein Jod-Eintritt in das mononitrierte Tyrosin scheint nicht möglich; unsere seinerzeit bezüglich der Jodierung des Nitro-globins gemachten Annahmen bedürfen demnach einer grundsätzlichen Korrektur.

Hrn. Dr. E. Maschmann danken wir bestens dafür, daß er uns seine Versuchs-Ergebnisse zur Veröffentlichung überlassen hat.

Beschreibung der Versuche.

1) Dijod-tyrosin: 1.8g Tyrosin ($\frac{1}{100}$ Mol) und 4.2g Natriumbicarbonat wurden in 200 ccm Wasser suspendiert und unter Eis-Kühlung und Rühren mit 20 ccm *n*-Jod-Lösung ($\frac{2}{100}$ Mol) versetzt. Nach 2 Stdn. war alles Jod verbraucht, die Flüssigkeit war braun gefärbt. Es wurden nunmehr noch einmal 20 ccm Jod-Lösung zugegeben, so daß nunmehr die für den Eintritt von 2 Atomen Jod berechnete Menge zugefügt war. Nach 3-stdg. Rühren war die Flüssigkeit tief braun, das Jod war verbraucht, das Tyrosin war fast völlig gelöst. Nunmehr wurde filtriert, das Filtrat mit wäßriger schwefliger Säure angesäuert und von den hierbei ausgeschiedenen, braunen Flocken abfiltriert. Das gelbe

⁹⁾ H. Pauly u. K. Gundermann, B. **41**, 3999 [1908], u. zw. S. 4005; H. Pauly u. E. Arauner, Journ. prakt. Chem. [2] **118**, 33 [1928], u. zw. S. 36.

¹⁰⁾ R. Kapeller-Adler u. F. Haas, Biochem. Ztschr. **269**, 263 [1934]; vergl. bereits R. Burian, B. **37**, 707 [1904].

Filtrat wurde mit Natriumacetat-Lösung bis zum Verschwinden der schwefligen Säure versetzt. Allmählich krystallisierte eine farblose Substanz aus, die aus winzigen, sternförmig gruppierten Nadeln bestand. Ausbeute an Dijod-tyrosin 2.4 g = 56% d. Th. Die Millon-Reaktion war negativ. Schmp. 204° unt. Zers.

0.2256 g Sbst.: 0.2409 g AgJ.

$C_9H_9O_3NJ_2$ (432.92). Ber. J 58.63. Gef. J 57.72.

2) Dijod-tyrosin-methylester: 1 g Tyrosin-methylester wurde in 100 ccm Wasser suspendiert, mit 2.1 g Natriumbicarbonat und dann unter Rühren und Eis-Kühlung mit 20 ccm *n*-Jod-Lösung versetzt. Die ersten Tropfen der Jod-Lösung verschwanden sofort, dann wurde der Jod-Verbrauch langsamer, ein brauner Niederschlag bildete sich, während der Ester verschwand. Es wurde alles Jod zugegeben, das aber nicht verbraucht wurde. Nach 2-stdg. Rühren wurde mit wäßriger schwefliger Säure angesäuert. Unter Kohlensäure-Entwicklung entfärbte sich das Reaktions-Gemisch. Da der nunmehr farblose Niederschlag in schwefliger Säure löslich ist, wurde mit 2-*n*. Natriumacetat essigsauer gemacht, der Niederschlag abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Zur Reinigung wurde in wenig Eisessig gelöst, mit Wasser verdünnt, filtriert und mit 2-*n*. Natronlauge neutralisiert. Die Substanz wurde so als weißer, pulveriger Niederschlag erhalten und mit Wasser, dann mit Alkohol gewaschen. Ausbeute 0.9 g. Aus Isopropylalkohol (Hartosol) wurden sehr kleine Krystalle erhalten, die sich bei 190° zersetzten. E. Abderhalden und M. Guggenheim¹¹⁾ geben als korr. Zers.-Pkt. 192° für Dijod-tyrosin-methylester an.

Sehr schwer löslich in Wasser und in Alkohol, sehr leicht in Eisessig, schwer in Isopropylalkohol. Die Millon-Reaktion ist negativ.

0.1467 g Sbst.: 0.1521 g AgJ.

$C_{10}H_{11}O_3NJ_2$ (446.94). Ber. J 56.80. Gef. J 56.04.

3) Dijod-tyrosin-äthylester: 2.1 g Tyrosin-äthylester wurden in 200 ccm Wasser unter Zusatz von 4.2 g Natriumbicarbonat mit 40 ccm *n*-Jod-Lösung wie vorher jodiert. Es bildete sich ein brauner Niederschlag, der schließlich schwarz wurde. Beim Ansäuern mit schwefliger Säure entstand eine gelbe Lösung, in der schmutzige Flocken eines Nebenproduktes suspendiert waren. Geruch nach Jodoform, das sich offenbar nach Zerstörung eines Teiles der Substanz aus der Äthylgruppe gebildet hatte, war wahrzunehmen. Das Filtrat vom Nebenprodukt wurde mit Natronlauge etwas überneutralisiert, wobei ein schwerer, weißer Niederschlag ausfiel, und dann schwach essigsauer gemacht. Ausbeute 3.6 g, ber. 4.6 g. Aus Alkohol wurden farblose, zu Rosetten vereinigte, glänzende Nadelchen erhalten, die sich bei 171° unter Braunfärbung zersetzten.

0.1937 g Sbst.: 0.1940 g AgJ.

$C_{11}H_{13}O_3NJ_2$ (460.95). Ber. J 55.07. Gef. J 54.14.

4) Dijod-tyrosin-amid: 3 g Tyrosin-amid wurden in 30 ccm Wasser warm gelöst. Dazu wurde eine Suspension von 4.3 g Jod in 150 ccm Eisessig unter Umrühren zugegeben, dann sofort eine Lösung von 1.2 g Jodsäure in 6 ccm Wasser. Dann wurde 2 Stdn. bei Zimmer-Temperatur gerührt, über Nacht stehen gelassen und weitere 3 Stdn. gerührt. Das Jod

¹¹⁾ B. 41, 1237 [1908].

hatte sich fast völlig gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde mit wäßriger schwefliger Säure entfärbt und im Vakuum eingedampft. Es schied sich eine farblose Krystallmasse aus, die mit Alkohol ausgezogen wurde. Die zurückbleibenden Krystalle enthielten kein Jod. Der alkohol. Auszug wurde im Vakuum eingedampft, der zähe Harz-Rest in Eisessig gelöst, mit Wasser verdünnt, filtriert und mit Natriumbicarbonat neutralisiert. Von einer etwas harzigen Vorfällung wurde abfiltriert, das Filtrat gab bei weiterem Zusatz von Carbonat farblose Kryställchen. Ausbeute 4.6 g. Zur Reinigung wurde in Eisessig gelöst, mit Wasser verdünnt, mit Tierkohle bei 15–20° durchgerührt, filtriert und mit Natriumbicarbonat neutralisiert. Das so erhaltene Produkt wurde in Wasser unter Zusatz von Ammoniak gelöst und durch Neutralisieren mit Essigsäure in rechteckigen Täfelchen (unter dem Mikroskop) erhalten. Millon-Probe negativ. Zers. bei 180°.

4.619 mg Sbst.: 4.200 mg CO₂, 0.980 mg H₂O. — 3.241 mg Sbst.: 0.171 ccm N (23.5°, 761 mm). — 3.221 mg Sbst.: 1.888 mg J.

C₉H₁₀O₂N₂J₂ (431.936). Ber. C 25.00, H 2.33, N 6.94, J 58.77.

Gef. „ 24.80, „ 2.37, „ 6.08, „ 58.62.

Dijod-tyrosin-amid ist in siedendem Wasser schwer löslich und scheidet sich beim Erkalten wieder ab. In siedendem Alkohol ist es schwer, leichter in siedendem Methanol löslich, fast unlöslich in Aceton. In Eisessig ist es in der Kälte leicht löslich und scheidet sich beim Verdünnen mit Wasser nicht wieder ab.

5) Nitro-tyrosin: Nach einer kurzen Angabe von R. Zeynek¹²⁾ haben wir folgende Methode ausgearbeitet: 10 g Tyrosin wurden in 44 ccm Eisessig von 96% suspendiert, und bei einer Temperatur von 8–10° unter Rühren portionsweise mit 6 ccm Salpetersäure ($d = 1.4$) versetzt. Das Tyrosin löste sich fast vollständig zu einer braunen Lösung. Bei weiterer Zugabe von 4 ccm Säure schied sich das Nitrat des Nitro-tyrosins ab. Nach kurzem Stehen in Eiswasser wurde abgesaugt und, ohne zu waschen, auf Ton abgepreßt. Ausbeute 11 g. Die Mutterlauge gab, mit viel Äther versetzt, noch 1 g Nitrat. Das so erhaltene Nitrat wurde in 50 ccm Wasser suspendiert, mit Ammoniak neutralisiert und gerade essigsauer gemacht. Das Nitro-tyrosin schied sich hellgelb krystallinisch ab, wurde abgesaugt und mit wenig Eiswasser gewaschen. Ausbeute 8.5 g. Zersetzt sich im Vakuum-Röhrchen unter Dunkelfärbung bei 228° (unkorr.).

6) 3-Nitro-tyrosin-methylester und -Chlorhydrat: In einer Suspension von 2 g Nitro-tyrosin in 20 ccm Methanol wurde ohne Kühlung Chlorwasserstoff eingeleitet. Nach Sättigung wurde noch 1/2 Stde. auf dem Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten trat bei gelindem Reiben krystallinische Erstarrung ein. Die Abscheidung des Nitro-tyrosin-methylester-Chlorhydrats wurde durch Äther-Zusatz vervollständigt. Die Krystallmasse wurde abgesaugt, mit Äther gewaschen und auf Ton abgepreßt. Durch Lösen in heißem Methanol und Zusatz von Äther wurde die Substanz in hellgelben Nadeln vom Zers.-Pkt. 197° erhalten. Sehr leicht löslich in Wasser, leicht in Methanol, schwer in Äther.

4.942 mg Sbst.: 7.865 mg CO₂, 2.140 mg H₂O. — 3.544 mg Sbst.: 0.300 ccm N (23.5°, 754 mm).

C₁₀H₁₃O₆N₂Cl (276.58). Ber. C 43.39, H 4.74, N 10.13, Cl 12.81.

Gef. „ 43.44, „ 4.85, „ 9.67, „ 12.71.

¹²⁾ Ztschr. physiol. Chem. 144, 246 [1925].

Aus der wäßrigen Lösung des Salzes fällt durch Zusatz von Natriumacetat der freie Nitro-tyrosin-methylester in feinen, orangeroten Krystallen aus, die unter dem Mikroskop als warzige Aggregate von Prismen erscheinen. Die in Wasser schwer lösliche Substanz wurde mit Eiswasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Sie schmilzt bei 173° zu einer roten Flüssigkeit, die sich langsam zersetzt. Leicht löslich in organischen Mitteln.

4.519 mg Sbst.: 8.220 mg CO₂, 1.970 mg H₂O. — 3.280 mg Sbst.: 0.331 ccm N (22°, 754 mm).

C₁₀H₁₂O₆N₂ (240.12). Ber. C 49.98, H 5.04, N 11.67.

Gef. „ 49.61, „ 4.88, „ 11.58.

7) 3-Nitro-tyrosin-amid: 3 g Nitro-tyrosin-methylester wurden mit bei 0° gesättigtem wäßrigen Ammoniak übergossen und im Eisschrank stehen gelassen. Ein Teil löste sich mit roter Farbe, der Bodensatz verwandelte sich z. T. in einen feinen, roten Niederschlag, z. T. behielt er seine ursprüngliche Form bei. Nach 5 Tagen wurde vom Unveränderten abgossen und im Vakuum abdestilliert. Hierbei trat zunächst völlige Lösung ein, bei weiterer Konzentration schied sich ein roter Niederschlag ab. Nachdem bis auf wenige ccm abdestilliert war, wurde abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Schmp. 196° unt. Zers. Gab beim Kochen mit 2-n. Natronlauge Ammoniak-Entwicklung. Die Substanz war jedoch kein Ammoniumsalz, denn die Neßler-Probe war negativ. In sehr verdünnter Essigsäure leicht löslich.

4.978 mg Sbst.: 8.710 mg CO₂, 2.180 mg H₂O. — 2.415 mg Sbst.: 0.392 ccm N (25°, 750 mm).

C₉H₁₁O₄N₂ (225.11). Ber. C 47.98, H 4.93, N 18.67.

Gef. „ 47.72, „ 4.90, „ 18.35.

In heißem Wasser mit orange Farbe löslich und daraus umkrystallisierbar. In sehr verdünnter Essigsäure unter Acetat-Bildung leicht löslich. In kaltem Alkohol unlöslich, in heißem unter Gelbfärbung löslich (vermutlich Alkohololyse). Methanol verhält sich ebenso. Unlöslich in heißem Aceton.

Mit Salzsäure ($d = 1.12$) entstand ein schön krystallisierendes Chlorhydrat: Feinste, lange, zu Büscheln vereinigte Nadeln.

8) *N*-Bromacetyl-3-nitro-tyrosin: 10 g Nitro-tyrosin wurden in Wasser in überschüssigem Natriumbicarbonat gelöst und unter Eiskühlung und Rühren portionsweise mit Brom-acetylbromid behandelt. Die Lösung wurde bicarbonat-alkalisch gehalten. Von etwas ausgeschiedener Substanz wurde abfiltriert und das Filtrat unter Rühren durch tropfenweisen Zusatz von verd. Salzsäure angesäuert. Die ersten Anteile waren schmierig, die weiteren schieden sich krystallinisch ab. Zur Reinigung wurde in Alkohol gelöst und mit Wasser ausgespritzt. Schmp. 175° unt. Zers.

4.997 mg Sbst.: 6.990 mg CO₂, 1.450 mg H₂O. — 2.917 mg Sbst.: 0.197 ccm N (21°, 768 mm). — 3.647 mg Sbst.: 0.810 mg Br.

C₁₁H₁₁O₆N₂Br (347.03). Ber. C 38.04, H 3.20, N 8.07, Br 23.03.

Gef. „ 38.15, „ 3.25, „ 7.92, „ 22.21.

9) *N*-Bromacetyl-3-nitro-tyrosin-methylester: 7.5 g Nitro-tyrosin-methylester-Chlorhydrat wurden in 150 ccm Wasser gelöst, mit Eis gekühlt und unter Rühren portionsweise mit Brom-acetylbromid versetzt. Durch Zusatz von Natriumacetat, dann von Natriumbicarbonat, wurde die Lösung stets essigsauer gehalten. Das Bromacetylprodukt schied

sich in gelben Flocken aus. Es verschmiert leicht durch Aufnahme von Brom-acetylbromid. Es wurde deshalb öfters abgesaugt und die Mutterlauge weiter wie vorher behandelt. Ausbeute 8.4 g. Aus Alkohol lange, schmale Prismen. Schmp. 127°. In heißem Wasser schwer löslich, in heißem Alkohol leicht, noch leichter in heißem Methanol. Aceton löst spielend in der Kälte, ebenso Eisessig.

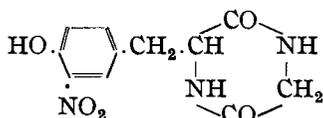
4.868 mg Sbst.: 7.115 mg CO₂, 1.600 mg H₂O. — 3.020 mg Sbst.: 0.190 ccm N (23°, 753 mm). — 3.047 mg Sbst.: 0.688 mg Br.

C₁₂H₁₃O₆N₂Br (361.04). Ber. C 39.89, H 3.63, N 7.76, Br 22.14.
Gef. „ 39.86, „ 3.68, „ 7.19, „ 22.58.

10) *N*-Glycyl-3-nitro-tyrosin: *N*-Bromacetyl-3-nitro-tyrosin wurde in hochkonzentriertem wäßrigen Ammoniak gelöst, 2 Tage stehen gelassen, dann allmählich erwärmt, schließlich unter Rückfluß 1/2 Stde. gekocht. Beim Abkühlen trat reichliche Krystallisation ein. Die gelben Krystalle wurden abgesaugt und mit Eiswasser gewaschen. Zur Reinigung wurde in heißem Wasser gelöst und mit Alkohol versetzt. Schöne, gelbe Nadelchen. Schmp. 247° unt. Zers. In Wasser schwer löslich, noch schwerer in Alkohol, leicht in Alkalien und Säuren.

4.738 mg Sbst.: 8.070 mg CO₂, 1.980 mg H₂O. — 3.322 mg Sbst.: 0.419 ccm N (22°, 768 mm).

C₁₁H₁₃O₆N₃ (283.12). Ber. C 46.62, H 4.63, N 14.84.
Gef. „ 46.45, „ 4.68, „ 14.75.



11) *N*-Glycyl-3-nitro-tyrosin-anhydrid ([3-Nitro-4-oxy-benzyl]-diketopiperazin): 3 g Bromacetyl-nitro-tyrosin-methylester wurden mit bei 0° gesättigtem Ammoniak übergossen. Es trat

rasch Lösung mit roter Farbe ein. Nach 3 Tage langem Stehen im Eisschrank wurde im Vakuum eingedunstet. Der gelbe Rückstand wurde mit Wasser, worin er schwer löslich war, aufgenommen und mit verd. Salzsäure angesäuert, wobei die Substanz fast weiß wurde. Sie wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen, zur Reinigung heiß in Eisessig gelöst und mit Wasser verdünnt stehen gelassen. Als bald krystallisierten schöne, feine, seidige Nadeln. Bei 254° Zersetzung unter Dunkelfärbung. Löslich in heißem Wasser, ziemlich schwer in heißem Alkohol und Methanol, kaum löslich in siedendem Aceton. Eisessig löst leicht beim Erwärmen.

4.786 mg Sbst.: 8.755 mg CO₂, 1.740 mg H₂O. — 2.902 mg Sbst.: 0.404 ccm N (22°, 768 mm).

C₁₁H₁₁O₅N₃ (265.11). Ber. C 49.79, H 4.18, N 15.85.
Gef. „ 49.89, „ 4.07, „ 16.28.

12) Neutral-jodierung des Exo-benzoyl-*l*-histidin-methylesters: Eine Lösung von 2.73 g Ester¹³⁾ in 50 ccm Methanol wurde mit 1 g Natriumjodat in 100 ccm Wasser und 5 g Jod in 100 ccm Methanol versetzt. Nach 3 Stdn. wurde mit einer konz. Natriumthiosulfat-Lösung das überschüssige Jod weggenommen. Die Flüssigkeit wurde filtriert und im

¹³⁾ O. Gerngross, Ztschr. physiol. Chem. 108, 56 [1919/20].

