

325. Terje Enkvist: Quecksilberverbindungen als Katalysatoren bei der Synthese von Asparaginsäure aus Fumarsäure und Ammoniak.

[Aus d. Chem. Laborat. d. Universität Helsinki — Helsingfors, Finnland.]

(Eingegangen am 23. September 1939.)

Die katalytische Einwirkung einfacher anorganischer Stoffe auf die von Engel¹⁾ festgestellte Bildung von Asparaginsäure durch Anlagerung von Ammoniak an Fumarsäure wurde in der vorliegenden Arbeit als Vorstudium zu einer Untersuchung über organische Katalysatoren mit Aspartase-Wirkung²⁾ untersucht. Zuerst wurde eine Reihe von Stoffen, vor allem Metallsalze, auf katalytische Fähigkeit geprüft. Hierbei wurde entweder die Zunahme des Amino-Stickstoffs durch Bestimmung nach dem van Slykeschen Nitritverfahren nach vorhergehender Entfernung des Ammonium-Stickstoffs durch Eindampfen mit Calciumhydroxyd oder die Abnahme des Permanganat-Verbrauchs in schwefelsaurer Lösung bei etwa 55° verfolgt. Asparaginsäure verbraucht nämlich zum Unterschied von Fumarsäure unter diesen Bedingungen nur sehr langsam Permanganat.

Keine oder höchstens sehr schwache katalytische Wirkung zeigten folgende Stoffe: Cl, Br, J, FeSO₄, PbO, ferner zusammen mit Seignettesalz: KCr(SO₄)₂ und FeCl₃ (Aminostickstoff-Verfahren), ohne Seignettesalz CoSO₄, Ni(NO₃)₂, [Co(NH₃)₄CO₃]₂SO₄, CuSO₄, CdCl₂, PdCl₂, H₂PtCl₆, Pb(NO₃)₂, MnCl₂, KHCO₃ (Permanganat-Verfahren). Dagegen ergaben Mercuri-oxyd, -chlorid und -sulfat wesentliche Reaktionsbeschleunigung (Permanganat-Verfahren; für Mercurichlorid wurde auch das Aminostickstoff-Verfahren mit positivem Ergebnis angewendet).

Die Aktivierung einer Anlagerung von Ammoniak durch Quecksilberverbindungen war meines Wissens bisher nicht bekannt.

Eine schwächere, aber doch deutliche katalytische Wirkung ergab Silbernitrat. Zusätze folgender organischer Substanzen verbesserten die Wirkung von Mercurichlorid nicht: Piperidin, Diäthylamin, Pyridin und Cyanacetamid (Permanganat-Verfahren). Ersatz der Ammoniak-Lösung durch Ammoniumcarbonat-Lösung führte zu schlechten Ausbeuten an Aminostickstoff.

Bei den Hauptversuchen wurde die Asparaginsäure als Kupfersalz isoliert. Die besondere Wirkung der Quecksilberverbindungen und des Silbernitrats wurde dabei bestätigt, und zwar wirkten Mercurichlorid, -oxyd und -sulfat pro Äquivalent etwa gleich stark. 1 Mol. Mercurichlorid vermag eine Zunahme der Asparaginsäuremenge um etwa 3 Mol. zu bewirken: die Reaktion ist also eine katalytische. Die Wirkung ist der Katalysatormenge etwa proportional. Die Fumarsäure ist, wenn mäßige Mengen des Katalysators verwendet werden, bei 100° in 9 Stdn. größtenteils, in 33 Stdn. praktisch vollständig aus der Lösung verschwunden.

Mercurosalze beschleunigen, nach dem Verhalten des Nitrats zu beurteilen, nur dadurch, daß sie in Mercurisalze übergeführt werden. 2 Mol. Mercurosalz wirken nämlich etwa gleich stark wie 1 Mol. Mercurisalz, was offenbar durch Disproportionierung von 2 Mol. Mercurosalz in je 1 Mol. Mercuriverbindung und metallisches Quecksilber bedingt ist (vergl. Gleditsch und Egidius³⁾). Natriumhydroxyd zeigt sowohl in Gegenwart als auch in Abwesen-

1) Compt. rend. Acad. Sciences **104**, 1805 [1887].2) Finska Kemistsamfund. Medd. **46**, 165 [1937].3) Ztschr. anorgan. allgem. Chem. **226**, 265 [1936]; **228**, 249 [1936].

heit von Mercurisalz einen hemmenden Einfluß auf die Asparaginsäurebildung. Dies ist überraschend, da in einigen Patentschriften⁴⁾ bei analogen Reaktionen, z. B. der Anlagerung von Butylamin an Crotonsäure oder Maleinsäureanhydrid oder von Ammoniak an Ölsäure, die Verwendung von Natronlauge oder anderen Alkalien als Reaktionsbeschleuniger empfohlen wird. — Auch Cuprochlorid zeigte einen hemmenden Einfluß.

Mercurichlorid wurde auch auf katalytische Wirkung bei der Anlagerung von Ammoniak an Maleinsäure geprüft; diese Säure lagert Ammoniak ohne Katalysator schneller an als Fumarsäure. Das Ergebnis war negativ: Mercurichlorid wirkte hier auf die Reaktionsgeschwindigkeit nicht nachweisbar ein. Ein ebenfalls negatives Ergebnis lieferten bei orientierenden Versuchen mit Maleinsäure und Prüfung nach dem Aminostickstoff-Verfahren Manganchlorid in Gegenwart sowie Jod in Abwesenheit von Ascorbinsäure.

Bei der Anlagerung von Ammoniak an Fumarsäure in Gegenwart von Mercuriverbindungen tritt als Nebenerscheinung eine Reduktion des Mercuri-Ions durch die organische Substanz ein, aber nach der Menge des abgeschiedenen Quecksilbers (Mercurverbindungen sind unter den Versuchsbedingungen unbeständig⁵⁾) zu urteilen nur in ganz geringem Ausmaß.

Die Reaktionslösung enthält nur wenig Äpfelsäure. Eine wesentliche Verschlechterung der Ausbeute an Asparaginsäure wegen Entstehung großer Mengen von Äpfelsäure, wie sie Engel¹⁾ für die Reaktion in Abwesenheit von Katalysator angenommen hat, tritt also in Gegenwart von Mercuriverbindungen nicht ein.

Mechanismus der Katalyse: Mercuriverbindungen beschleunigen die Anlagerung von Ammoniak spezifisch an Fumarsäure, aber nicht an Maleinsäure. Von früher ist bekannt, daß Mercuriverbindungen mit Maleinsäure, aber nicht mit Fumarsäure isolierbare Anlagerungsverbindungen bilden⁵⁾. Diese Umstände deuten an, daß die Katalyse nicht in einer Aktivierung des Ammoniaks, sondern der Fumarsäure besteht, und zwar so, daß diese mit der Mercuriverbindung einen unbeständigen Komplex bildet. Durch Bildung eines reaktionsunfähigen, allzu beständigen, isolierbaren Zwischenproduktes, wie ihn das Addukt von Maleinsäure und Mercurioverbindung darstellt, wird die Katalyse gehemmt. Die katalytische Wirkung des Silber-Ions, das wie das Mercuri-Ion mit Ammoniak leicht komplexes Kation bildet, weist wohl darauf hin, daß das Bindungsvermögen des Metall-Ions für Ammoniak für die Katalyse bedeutsam ist. Man kann vielleicht annehmen, daß Fumarat-Ion, Metall-Ion und Ammoniak zu einem unbeständigen Komplex zusammentreten, der dann in Aspartat-Ion und ammoniakfreies oder ammoniakarmes Metall-Ion zerfällt.

Bei den Versuchen mit Mercuriverbindungen wurde die Asparaginsäure über das Kupfersalz leicht in guter Ausbeute in kristallisierter, analysenreiner Form erhalten. Hier scheint darum ein brauchbares Verfahren für die Darstellung der *d,l*-Asparaginsäure vorzuliegen.

Beschreibung der Versuche.

(Unter teilweiser Mitarbeit von Frl. stud. Laura Laasonen.)

Permanganat-Verfahren: Die Ausführung und die wichtigsten Ergebnisse sind schon teils oben, teils an anderer Stelle²⁾ beschrieben worden.

⁴⁾ I. G. Farbenindustrie A.-G., Franz. Pat. 793504 (C. 1936 II, 1618); Franz. Pat. 48570 (C. 1938 II, 3987).

⁵⁾ Biilman, B. 35, 2576 [1902]; 43, 574 [1910].

Aminostickstoff-Verfahren: Ansätze von entweder je 3.00 ccm einer frisch dargestellten Lösung von Fumarsäure bzw. Maleinsäure in konz. wäbr. Ammoniak (10 g Säure pro 100 ccm Lösung) oder von 0.300 g Säure in 3.00 ccm mit 1.0 g Ammoniumcarbonat versetztem Wasser wurden gewöhnlich mit 150 mg des zu prüfenden Körpers versetzt und in zugeschmolzenen Röhren gewöhnlich 9 Stdn. bei 100°, in einigen Fällen 55 Tage bei etwa 33°, gleichzeitig mit Ansätzen ohne besonderen Zusatz erwärmt. Nach dem Erkalten wurde der Inhalt des Rohres mit Wasser verdünnt und dann im wesentlichen wie folgt verfahren: Es wurde ein kleiner Überschuß von Calciumhydroxyd hinzugefügt, fast zur Trockne eingedampft und dann, falls Mercuri-Ion zugegen war, dieses durch Ansäuern mit Salzsäure, Einleiten von Schwefelwasserstoff, Filtrieren und Waschen mit Wasser entfernt. Dann wurde wieder ein kleiner Überschuß von Calciumhydroxyd hinzugefügt, zur Trockne abgedampft, mit 2—3 ccm Wasser versetzt und abermals eingedampft, dann mit verd. Salzsäure angesäuert und wiederum zur Trockne abgedampft: das Eindampfen wurde jeweils auf dem Wasserbad vorgenommen. Der Rückstand wurde in 20-proz. Essigsäure gelöst, wenn nötig filtriert, und das Filtrat auf 25 ccm mit Wasser aufgefüllt. Der Gehalt der Lösung an Aminostickstoff wurde dann im Schüttelapparat von van Slyke bestimmt.

Die Ergebnisse mit Mercurichlorid sind in der Tafel 1 angegeben.

Tafel 1.

Säure, stets 0.300 g	3.0 ccm Lösung von	Tem- peratur	Dauer des Erwärm.	Zusätze	Amino- N, mg
Fumarsäure	NH ₃ , konz.	100°	9 Stdn.	—	8.0
Fumarsäure	NH ₃ , konz.	100°	9 Stdn.	HgCl ₂ 150 mg	21.5
Fumarsäure	(NH ₄) ₂ CO ₃ , 1 g	100°	9 Stdn.	—	2.7
Fumarsäure	(NH ₄) ₂ CO ₃ , 1 g	100°	9 Stdn.	HgCl ₂ 150 mg	4.5
Maleinsäure	NH ₃ , konz.	etwa 33°	55 Tage	—	1.6
Maleinsäure	NH ₃ , konz.	etwa 33°	55 Tage	HgCl ₂ 50 mg u. Acetondicar- bonsäure 100 mg	1.7

Versuche unter Abscheidung der Asparaginsäure als Kupfersalz.

Ansätze von je 3.0 ccm ammoniakalischer Fumarsäure- bzw. Maleinsäure-Lösung der oben angegebenen Konzentration wurden in zugeschmolzenen Röhren eine bestimmte Zeit auf 100° erwärmt. Bei den Versuchen unter Zusatz von Natriumhydroxyd wurde, um Ausfällung von fumarsaurem Natrium zu vermeiden, vor dem Erwärmen mit bestimmten Mengen Wasser verdünnt. Nach dem Erkalten und Öffnen des Rohres wurde unter Ausspülen mit reichlich Wasser in eine Abdampfschale übergeführt und zur Entfernung des Ammoniaks eingedampft, dann wieder mit Wasser verdünnt und das Mercuri-Ion durch Einleitung von Schwefelwasserstoff und Filtrieren entfernt. Das Filtrat wurde bis auf etwa 1 ccm eingedampft und dann die Hauptmenge der unverändert gebliebenen Fumarsäure durch Zusatz eines kleinen Überschusses von verd. Salpetersäure (frei von salpetriger Säure und Stickoxyden), meistens 1.8 ccm von der Konzentration 250 g HNO₃/l., ausgefällt, nach einigem Stehenlassen auf einem Büchner-Trichter von 18 mm Durchmesser abgenutzt, mit 0.5 ccm Wasser gewaschen, auf dem Wasserbad getrocknet und gewogen. Das salpetersaure Filtrat wurde mit Ammoniak-Lösung gegen Phenolphthalein alkalisch gemacht, dann durch Eindampfen auf dem Wasserbad auf etwa 4 ccm gebracht, mit 1 ccm 20-proz. Essigsäure angesäuert und mit 5 ccm 5-proz. Kupferacetat-Lösung sowie mit 0.25 g festem Kupferacetat versetzt. Es wurde weiter bis zur vollständigen Auflösung des Kupferacetats auf dem Wasserbad digeriert und dann die Lösung etwa 40 Stdn. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Danach wurde das Kupfersalz ganz in derselben

Weise wie die Fumarsäure abgenutzt, gewaschen, getrocknet und gewogen. Durch besondere Versuche wurde festgestellt, daß längeres Stehenlassen oder Abscheidung des asparaginsäuren Kupfers durch Eindaunfen mit überschüssigem Kupfercarbonat nach Brazier⁶⁾ die Ausbeute an Asparaginsäure bei den Versuchen mit Fumarsäure nicht wesentlich verbessert. Maleinsäure scheint dagegen die Abscheidung des asparaginsäuren Kupfers zu verzögern, indem bei längerem Stehenlassen im Filtrat ein recht beträchtlicher weiterer Niederschlag entsteht. Bei den Versuchen mit Maleinsäure wurde darum nach etwa 1-monatigem Stehenlassen wiederum filtriert und das Kupfersalz wie früher zur Wägung gebracht.

Die wichtigsten Ergebnisse sind in der Tafel 2 angeführt.

Tafel 2.
Ansätze von je 3.00 ccm konz. wädr. Ammoniaklösung.

Anfangs zugesetzte Säure, stets 300 mg	Dauer d. Er- wärm. auf 100°, Stdn.	Zusätze	Zurück- gewonnene Fumarsäure, mg *)	Asparaginsäures Kupfer	
				mg	% d. Th. ber. für C ₄ H ₅ O ₄ NCu. 2 H ₂ O
Fumarsäure..	9	—	156	132	22.1
Fumarsäure..	9	CuCl 0.000736 Mol.	182	19	3.2
Fumarsäure..	9	HgCl ₂ 0.000258 Mol.	135	182	30.5
Fumarsäure..	9	HgCl ₂ 0.000368 Mol.	29; 28	375	62.9
Fumarsäure..	9	HgCl ₂ 0.00258 Mol.	0	409	68.6
Fumarsäure..	33	HgCl ₂ 0.000368 Mol.	0	400	67.1
Fumarsäure..	9	HgO 0.000368 Mol.**)	54**)	366**)	61.4
Fumarsäure..	9	HgSO ₄ 0.000368 Mol.	38	340; 313	57.0; 52.5
Fumarsäure..	9	HgNO ₃ 0.000736 Mol.	39***)	367	61.5
Fumarsäure..	9	H ₂ O 2.50 ccm	235	102	17.1
Fumarsäure..	9	H ₂ O 2.00 ccm und 15.4 n. NaOH 0.50 ccm	191	42†)	7.0
Fumarsäure..	9	HgO 0.000368 Mol, H ₂ O 2.00 ccm, und 15.4 n. NaOH 0.50 ccm	19†)	17††)	2.8
Fumarsäure..	9	AgNO ₃ 0.000736 Mol.	88	261	43.8
Maleinsäure..	2½	—	—	186 ÷ 59†††)	41.1
Maleinsäure..	2½	HgO 0.000368 Mol.	—	198 ÷ ?†)	—
Maleinsäure..	9	—	—	305 ÷ 91†††)	66.4
Maleinsäure..	9	HgCl ₂ 0.000368 Mol.	—	303 ÷ 80	64.2

*) Aus den Ergebnissen des S. 1931 angegebenen Versuchs zur Reindarstellung der Asparaginsäure kann man errechnen, daß bei den Versuchen der Tafel 2 etwa 10 mg Fumarsäure in der Lösung geblieben sind.

***) Werte berechnet aus dem unten näher beschriebenen Versuch mit 25-mal größeren Mengen.

***) Daneben 85 mg Quecksilber.

†) Hellblau, enthielt wahrscheinlich Verunreinigungen.

††) Dunkelgrün, enthielt wahrscheinlich Verunreinigungen.

†††) Der zweite Wert gibt die Menge des nach etwa 1-monatigem Stehen ausgefallenen asparaginsäuren Kupfers an.

†) In diesem Fall wurde das später ausgefallene asparaginsäure Kupfer nicht bestimmt.

⁶⁾ Biochem. Journ. 24, 1190 [1930].

Sämtliche Rohre enthielten vor dem Versuch klare Lösungen außer bei dem Versuch mit Quecksilberoxyd in Gegenwart von Natronlauge, wo ein kräftiger Niederschlag vorhanden war.

Der Versuch mit Fumarsäure und Mercurichlorid während 33 Stdn. bzw. derjenige mit Maleinsäure ohne Katalysator während 9 Stdn. zeigen die praktisch, unter Berücksichtigung des Katalysatorverbrauchs, günstigsten bei der vorliegenden Arbeit gefundenen Bedingungen für die Darstellung der *d,l*-Asparaginsäure. Man sieht, daß nach genügend lange dauernder Erwärmung eine besondere Abtrennung von unverbrauchter Fumarsäure nicht nötig ist.

Reindarstellung der Asparaginsäure und Untersuchung der Nebenprodukte.

10 g Fumarsäure (Kahlbaum f. wissenschaftliche Zwecke) wurden unter Kühlung mit Wasser in wäbr. Ammoniak (d 0.90) gelöst und danach mit demselben Lösungsmittel auf 100 ccm aufgefüllt. 3 Ansätze von je 25 ccm dieser Lösung wurden in 3 Schießrohren mit je 0.665 g gelbem Quecksilberoxyd versetzt. Die Rohre wurden zugeschmolzen, das Quecksilberoxyd durch Umschütteln in Lösung gebracht und die Rohre sodann 9 Stdn. bei 100° erwärmt (Vorwärmungsperiode etwa 12 Min.). Der Inhalt der Rohre war danach schwach gelblich und klar, mit einem geringen, hellgrauen, aus Quecksilberkügelchen bestehenden Niederschlag. Die drei Ansätze wurden vereinigt und unter Ausspülen der Rohre mit etwa 400 ccm Wasser durch ein tariertes Filter gegossen. Gewicht des auf dem Wasserbad getrockneten Niederschlags: 0.27 g Hg. Das Filtrat wurde im wesentlichen nach dem auf Seite 1929 angegebenen Verfahren aufgearbeitet, wobei 25-mal größere Mengen an Reagenzien verwendet wurden. Nach dem Abfiltrieren der Hauptmenge der Fumarsäure wurde zur Ausfällung des noch in Lösung gebliebenen Anteils dieser Säure⁷⁾ zum salpetersauren Filtrat salpetersaure 10-proz. Mercuronitratlösung (enth. 5% HNO₃) in geringem Überschuß hinzugefügt. Nach Stehenlassen über Nacht wurde das Mercurofumarat abfiltriert, mit Wasser gewaschen und auf dem Wasserbad getrocknet. Gewicht: 1.031 g, das bei Annahme der Zusammensetzung C₄H₂O₄Hg₂ + 2 H₂O 0.217 g Fumarsäure entspricht. Das überschüssige Mercurio-Ion wurde durch Zusatz von einigen Tropfen 10-proz. Ammoniumchlorid und Filtrieren als Mercurchlorid entfernt.

Gewicht der mit Salpetersäure abgeschiedenen Fumarsäure (Schmp. im geschl. Rohr 273—274°, korr.): 1.36 g, des asparaginsäuren Kupfers: 9.15 g (beide auf dem Wasserbad getrocknet). Das Kupfersalz wurde durch Suspension in heißem Wasser und Einleiten von Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat des Kupfersulfids auf dem Wasserbad eingedampft. Hierbei schied sich schon in der Wärme Asparaginsäure krystallinisch ab. Ausb. 3.9 g vollständig krystallisierte, fast farblose Substanz (Hauptanteil) sowie 0.7 g gelbliche aber doch feste, durch Eindampfen des Filtrats erhaltene Substanz. Schmp. im geschlossenen Rohr für nicht umkryst. Substanz 223° bis 226°, für 2-mal aus heißem Wasser umkryst. Substanz 227—228° unter Zersetzung (Roths Apparat).

Analyse des auf dem Wasserbad getrockneten, nicht umkrystallisierten Hauptanteils. 149.3 mg Sbst.: 196.1 mg CO₂, 73.0 mg H₂O. — 18.730 mg Sbst.: 14.07 ccm 0.010-N. HCl (Kjeldahl).

C₄H₇O₄N. Ber. C 36.07, H 5.30, N 10.53. Gef. C 35.82, H 5.47, N 10.53.

⁷⁾ Vergl. Ölander, Ztschr. physik. Chem. A, **144**, 52 [1929].

Das Filtrat des Kupfersalzes wurde mittels Schwefelwasserstoffs entkupfert und nach Eindampfen zur Entfernung des Schwefelwasserstoffs mit einem kleinen Überschuß von Ammoniak versetzt, auf etwa 50 ccm eingedampft und mit 100 ccm absol. Äthylalkohol und 50 ccm 25-proz. Bleiacetatlösung versetzt. Die ausgefallenen Bleisalze wurden abfiltriert, mit Alkohol gewaschen und, in heißem Wasser suspendiert, mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat vom Bleisulfid wurde vorsichtig, zuletzt im Vakuumexsiccator, zur Trockne abgedampft. Sirupöser Rückstand 0.99 g. Er wurde mit etwa 80 ccm siedendem Alkohol ausgezogen und der Alkoholextrakt nach Verdampfen des Alkohols mit etwa 100 ccm Äther extrahiert.

In Alkohol Unlösliches: 0.64 g. Klebrige, hygroskopische, feste Substanz. Ammoniumstickstoff, nach van Slyke⁸⁾ durch Destillation im Vakuum nach Zusatz von Calciumhydroxyd bestimmt: 8.41 % N. — Gesamtmenge des Stickstoffs (Kjeldahl): 15.06 % N. — Asparaginsäure, nach dem S. 1929 beschriebenen Verfahren als Kupfersalz bestimmt: 25.7 % $C_4H_7O_4N$. Gehalt von (offenbar als Ammoniumsalz gebundener) Fumarsäure, bestimmt nach Ölander⁷⁾: 2.8 % $C_4H_4O_4$. Asche: Spuren.

Man kann aus der Differenz des Gehalts an Gesamt- und Ammoniumstickstoff berechnen, daß weit mehr stickstoffhaltige Säuren vorhanden sind als dem gefundenen Gehalt an durch Kupfersalz fällbarer Asparaginsäure entspricht; vielleicht bleibt ein Teil der Asparaginsäure wegen der Gegenwart von äpfelsaurem Ammonium bei der Ausfällung in Lösung, oder es liegt eine andere stickstoffhaltige Säure vor; jedenfalls muß die Menge der freien oder als Ammoniumsalz gebundenen stickstoff-freien Säuren einschließlich der Äpfelsäure hier verhältnismäßig klein sein.

Alkoholextrakt: 0.24 g. Krystallisierte, hygroskopische Substanz. Ammoniumstickstoff, nach Destillation mit Soda im Destillat colorimetrisch mit Nessler's Reagens bestimmt: 14 % N. Fumarsäure bestimmt nach Ölander⁷⁾: 3.1 % $C_4H_4O_4$. Äpfelsäure, berechnet aus der Vergrößerung des Fumarsäuregehalts, die durch 2-stdg. Erhitzen zusammen mit Natriumhydroxyd und Soda auf 120–130° nach Kuuz⁹⁾ verursacht wurde: 6.0 % $C_4H_6O_5$. — Semicarbazid ergab keine Ketonreaktion.

Ätherextrakt: 0.019 g. Krystallisierte Substanz vom Schmp. etwa 245° (im geschlossenen Rohr, Sintern). Gibt kräftigen Niederschlag mit Mercuronitrat in salpetersaurer Lösung. Hier liegt offenbar unreine Fumarsäure vor.

Ein anderer, dem obigen ähnlicher Versuch mit Mercurichlorid anstatt Mercurioxyd als Katalysator ergab gleichfalls analysenreine Asparaginsäure in guter Ausbeute.

10 g Fumarsäure wurden mit 100 ccm konz. wäbr. Ammoniak und 5 g Mercurichlorid in zugeschmolzenen Röhren 9 Stdn. auf 100° erwärmt. Nach Ausfällung der Hauptmenge der Fumarsäure mit Salzsäure, Entfernung des Mercuri-Ions als Sulfid und Eindampfen zur Trockne auf dem Wasserbad wurde mit Alkohol und Chlorwasserstoff nach E. Fischer¹⁰⁾ verestert. Der Ester wurde mittels gesättigter Kaliumcarbonat-Lösung in Freiheit gesetzt, in Äther aufgenommen und im Vakuum destilliert.

Vorlauf Sdp. ₁₂	121.5–125.5°	0.7 g
Hauptfraktion Sdp. ₁₂	125.5–127.5°	3.4 g
Nachlauf, hauptsächlich Sdp. ₁₂	202–206°	0.8 g
Teerartiger Rückstand		0.6 g

Hauptfraktion: d_4^{20} : 1.0815. n_D^{20} : 1.4378. Mol.-Refr. Gef. 45.88. — 14.132 mg Sbst.: 7.35 ccm 0.010-n. HCl (Kjeldahl). Gef. N 7.29. — $C_8H_{15}O_4N$ (2 O'', 2 O<). Ber. Mol.-Refr. 45.87, N 7.41.

Die Hauptfraktion bestand also aus reinem Asparaginsäure-diäthylester. Der Nachlauf kann als durch Kondensation des Asparaginsäureesters während der Destillation gebildet gedeutet werden (vergl. Fischer und Koenigs¹¹⁾).

⁸⁾ Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmeth. I. Teil 7, 38 [1923].

⁹⁾ C. 1903 II, 855.

¹⁰⁾ B. 34, 433 [1901].

¹¹⁾ B. 37, 4586 [1904].