

Über Valyl-Leucinanhydrid

von

E. Krause.

Aus dem II. chemischen Universitätslaboratorium der Universität Wien.

(Vorgelegt in der Sitzung am 9. Juli 1908.)

Bei der Aufarbeitung der Spaltungsprodukte, die bei der Hydrolyse des Caseïns entstanden waren, fand Skraup und später Abderhalden Körper von der Zusammensetzung des Valyl-Leucinanhydrid. Es war von Interesse festzustellen, ob diese Spaltungsprodukte primärer Natur sind oder ob sie nicht erst später aus dem Valin- und Leucinester durch Kondensation entstehen. Ich habe deshalb unter anderem die Kondensation eines Gemisches von Leucin- und Valinester untersucht und es hat sich dabei gezeigt, daß 1. bei der Kondensation äquimolekularer Mengen Leucin und Valinester ein homogener Körper das Valyl-Leucinanhydrid sich bildet, 2. daß dieser Körper ausschließlich entsteht, 3. daß Valyl-Leucinanhydrid auch gebildet wird durch Schmelzen eines Gemisches von Valin und Leucin.

Es wurden ferner dargestellt: Valinimid aus dem Valinester. Leucinimid durch Schmelzen von Leucin. Versuche, auf einfacherem Wege, durch Erhitzen solche Diketopiperazine darzustellen, indem die Aminosäuren mit Essigsäureanhydrid erhitzt werden, schlagen bei Leucin fehl, indem sie schlecht und in anderer Richtung verlaufen.

Anhangsweise habe ich versucht, racemisches Leucin mittels des optisch-aktiven Estertartrates in die optisch-aktiven Komponenten zu zerlegen. Optische Aktivität trat nicht ein

Schließlich wurde die Löslichkeit von racemischen Valinestertartrat, Leucineestertartrat und Alanineestertartrat untersucht, deren Verschiedenheit eine Trennung der Aminosäuren mittels dieser Tartrate wahrscheinlich macht.

Experimenteller Teil.

Darstellung von Leucinäthylester.

Synthetisches Leucin (Kahlbaum'sches Präparat) wurde mit der fünffachen Menge absoluten Alkohols mit Salzsäure verestert und die Veresterung noch zweimal wiederholt. Die Zerlegung der Salzsäureverbindung erfolgte mit Natriumäthylat.

Das bei dieser Methode ausfallende NaCl ist oft kolloidal, nicht unbedeutliche Mengen blieben auch gelöst, welche die folgende Vakuumdestillation durch Spritzen erschwerten.

Die Ausbeute an reinem Ester betrug $62\frac{1}{2}\%$ des Ausgangsmaterials.

Der Siedepunkt lag unter 22 *mm* Druck bei 92°; angegeben bei 18 *mm* Druck 88°. 16 *mm* Druck bei $84\frac{1}{2}^{\circ}$; angegeben bei 12 *mm* Druck 83·5°.

Darstellung von Leucinimid.

Ein Teil dieses Esters wurde sofort nach der Methode von E. Fischer zu dem entsprechenden Diketopiperazin verarbeitet. Es seien nur die erzielten Ausbeuten angegeben. 6 g Leucinäthylester im Bombenrohr zirka 18 Stunden auf 180 bis 190° erhitzt, hatten nach dem Erkalten 1·86 g Leucinimid abgeschieden. Der Schmelzpunkt lag nach dem Umkrystallisieren aus absolut siedenden Alkohol bei 268 bis 269°. Von E. Fischer angegeben 271° (korr.).

Die von den im Rohre abgeschiedenen Krystalle getrennte Flüssigkeit ist unveränderter Leucinäthylester, der Siedepunkt lag unter 16 bis 17 *mm* Druck bei 84·5°. Nach abermaligem Erhitzen auf 180 bis 190° durch 24 Stunden, hatten sich viel dunkler gefärbte Krystalle abgeschieden, und zwar 0·39 g.

Der Schmelzpunkt lag bei 264°, nach wiederholtem Umkrystallisieren bei 269°, was ihre Identität mit Leucinimid bestätigte. Die Gesamtausbeute an Leucinimid war demnach 38% des Esters.

Der Leucinester geht daher auch bei sehr langem Erhitzen nur teilweise in das Imid über. Daß der Vorgang reversibel ist, diese Vermutung wurde durch einen späteren eigens dazu angestellten Versuch bestätigt. Ähnliches wurde auch bei der Darstellung des Valinimid beobachtet.

Eine rohe Bestimmung der Löslichkeit des Leucinimid in absolutem Alkohol ergab, daß 1 Teil Imid löslich ist in zirka 35 Teilen absoluten siedenden Alkohol.

α -Aminoisovaleriansäureäthylester.

Die Darstellung dieses Esters wie auch seine spätere Verarbeitung zu dem entsprechenden Diketopiperazin war natürlich ganz analog der des Leucinesters und des Leucinimid.

Es sei nun bemerkt, daß die Auflösung des Valyl's in Alkohol beim Einleiten von Salzsäuregas schwerer wie beim Leucin vor sich geht, und daß beim Kühlen vorübergehend ein krystallinischer Niederschlag ausfällt, der beim Erwärmen auf dem Wasserbade leicht wieder in Lösung geht.

Der α -Aminoisovaleriansäureester ging unter 23 mm Druck bei 82·5° über; in der Literatur wird der Siedepunkt unter 8 mm Druck bei 63·5° angegeben.

Die Ausbeute betrug in einem Falle 69% des Ausgangsmaterials, bei einer zweiten Darstellung 76%.

Valinimid. Dieses ist inzwischen schon von E. Fischer¹ beschrieben worden. Als mir diese Mitteilung bekannt wurde, waren die in diesem Abschnitt beschriebenen Versuche schon abgeschlossen.

5 g α -Aminoisovaleriansäureester wurden im Bombenrohr 24 Stunden auf 180 bis 190° erhitzt. Die nach dem Erkalten abgeschiedenen, schwach gelb gefärbten Krystalle wurden mit Äther gewaschen. Ausbeute 0·68 g. Der Schmelzpunkt lag bei 287° und war durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus siedendem absoluten Alkohol auf 304 bis 306° (nicht korr.) zu steigern. Er ist nicht ganz scharf, das Schmelzen erfolgt unter Zersetzung.

Bei Bestimmung der Schmelzpunkte des Leucinimid, des Valinimid, wie auch der später erhaltenen Produkte wurde das Röhrchen mit der Substanz

¹ Liebig's Ann. 354, 12 (1907).

immer erst zirka 50° unter ihrem Schmelzpunkt in den Schwefelsäureapparat gebracht und dann ziemlich schnell erhitzt.

Auch bei der Darstellung des Valinimid befand sich in der Bombe neben den Krystallen eine ziemlich große Menge gelblicher Flüssigkeit, unveränderten Esters, der zusammen mit dem Waschäther der Krystalle abermals der Vakuumdestillation unterworfen wurde. Das unter 25 mm Druck bei 83° übergehende Produkt wurde wiederum zirka 15 Stunden im Bombenrohr auf 190 bis 200° erhitzt. Die nach dem Erhitzen erhaltenen tief braunrot gefärbten Krystalle waren mit Äther nur schwer zu entfärben. Ihre Ausbeute betrug $0\cdot42\text{ g}$ (also zusammen 22% des Esters; bei einer späteren Darstellung wurden 25% erzielt). Der Schmelzpunkt betrug 282° , war aber durch öfteres Umkrystallisieren auf den Schmelzpunkt des bei der ersten Kondensation erhaltenen Produktes, d. i. 304 bis 306 zu bringen. Auch hier dürfte der Kondensationsvorgang reversibel sein.

Eine rohe Bestimmung der Löslichkeit des Valinimid ergab, daß 1 Teil Imid löslich in 180 Teilen absoluten siedenden Alkohols, mithin das Valinimid ungefähr 6 mal schwerer löslich ist als Leucinimid.

Die Analyse der im Vakuum über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergab:

$0\cdot0976\text{ g} : 0\cdot2164\text{ g CO}_2$ und $0\cdot795\text{ g H}_2\text{O}$.

$0\cdot1587\text{ g} : 19\cdot5\text{ cm}^3\text{ N}$ bei 759 mm und 190 .

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet
C	60·47	60·61
H	9·11	9·09
N	14·34	14·14

Zur Darstellung eines eventuellen Kupfersalzes wurde Valinimid in verdünntem Alkohol gelöst und mit reinem, gut ausgewaschenen CuO 2 Stunden gekocht. Es trat keine Blaufärbung ein; nach dem Abfiltrieren krystallisierte reines Valinimid aus, ein Beweis, daß Valinimid ein Kupfersalz nicht liefert.

Analoge Versuche mit Cu-Acetat führten zu dem gleichen Resultat.

Der α -Aminoisovaleriansäureester zersetzt sich äußerst schnell beim Stehen bei gewöhnlicher Temperatur. Um zu prüfen, ob er auch dabei in das Diacepiperazin übergeht, wurden 2·02 g Ester in ein Schmelzrohr eingeschlossen und nach viermonatlichem Stehen die entstandenen Krystalle untersucht. Die Ausbeute betrug bloß 0·0416 g. Sie zeigten den Schmelzpunkt 288° und nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol den Schmelzpunkt des Valinimid, 303 bis 305°. Unter dem Mikroskop erschienen sie als feine, für das Valinimid und Leucinimid charakteristische Nadelchen, so daß das Umwandlungsprodukt des Esters genügend als Valinimid gekennzeichnet erscheint.

Um die vermutete Umkehrbarkeit der Piperazinbildung festzustellen, wurde folgender Versuch ausgeführt:

Konzentrierte Lösungen der Imide reagieren neutral, die der aminosauen Ester alkalisch. Es wurde also Leucinimid mit absolutem Alkohol 24 Stunden auf 180 bis 190° erhitzt, zur Kontrolle daneben absoluten Alkohol allein unter gleichen Bedingungen. Nach dem Öffnen der Bomben zeigte das mit Alkohol erhitzte Leucinimid deutliche alkalische Reaktion, während der Alkohol der anderen Bombe neutral reagierte. Ob die alkalische Reaktion von Ester oder von Ammoniak, der durch sekundäre Reaktionen entstehen könnte, herrührt, konnte infolge der geringen Substanzmengen nicht festgestellt werden.

Valyl-Leucinanhydrid.

Zur Darstellung dieses unsymmetrisch substituierten Diketopiperazins wurden äquimolekulare Mengen Ester verwendet; 6·4 g Leucinäthylester mit 5·9 g Valinester im Bombenrohr 24 Stunden auf 180 bis 190° erhitzt. Die weißgelben Krystalle wurden in der gewöhnlichen Weise mit Äther entfärbt, der auch hier auftretende unveränderte Ester einer abermaligen Kondensation unterworfen. Die bei dieser zweiten Operation erhaltenen Krystalle waren nur äußerst schwer zu reinigen. Die Gesamtausbeute an Diacipiperazin betrug 34⁰/₀.

Die Löslichkeit des reinen, wiederholt aus Alkohol umkrystallisierten Kondensationsproduktes war: 1 Teil löslich in 25 Teilen siedenden absoluten Alkohol.

Die Analyse der im Vakuum über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergab:

0·1156 g : 0·2630 g CO₂ und 0·095 g H₂O.

0·1443 g : 16·8 cm³ N unter 760 mm bei 21°.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für	
		Valyl-Leucinanhydrid	Gemisch von Valin und Leucinimid
C	62·05	62·26	61·46
H	9·44	9·43	9·26
N	13·52	13·26	13·6

Die Resultate der Analyse geben natürlich keinerlei bestimmten Aufschluß über die Frage: ob das von mir erhaltene Kondensationsprodukt ein Gemisch oder ein homogener Körper ist.

Es wurden deshalb zunächst sehr genau die Schmelzpunkte der einzelnen Fraktionen und ihrer Mutterlaugen beobachtet.

Die nicht umkrystallisierte Substanz schmolz bei 251°, nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol bei 261°, 264°, endlich 266 bis 267°. Umkrystallisieren aus Eisessig erhöhte auf 273° und zeigte sich, daß das Krystallisieren aus Eisessig überhaupt viel günstiger ist.

Der Schmelzpunkt ging über 273 bis 274° (nicht korr.) nicht hinauf.

Bei Verarbeitung der Mutterlauge wurden ganz ähnliche Schmelzpunkte beobachtet.

Bei allen diesen Bestimmungen erfolgte das Schmelzen (im Gegensatz zu Valinimid) scharf und ohne Zersetzung.

Gemische von Valyl-Leucinanhydrid, mit Valinimid zu ungefähr gleichen Teilen, schmelzen bei 281°, solche von Valyl-Leucinanhydrid, mit Leucinimid zu ungefähr gleichen Teilen verrieben, bei 261°.

Die beobachteten Mischschmelzpunkte schließen ein Gemisch von Leucinimid und Valinimid nicht aus.

Das Mikroskop war in diesem Fall auch nicht verwendbar, da sowohl Leucinimid wie Valinimid in langen, feinen Nadeln krystallisieren, also ein Gemenge von einem einheitlichen Körper unter dem Mikroskop nicht zu unterscheiden ist.

Eine endgültige Entscheidung in der Frage über die Natur des Kondensationsproduktes brachte erst der folgende Versuch:

Es wurde ein Gemisch von Valinimid und Leucinimid hergestellt und fraktioniert krystallisiert, wobei die einzelnen Komponenten leicht und deutlich zurückerhalten wurden.

0·3 g Leucinimid und die gleiche Menge Valinimid wurden miteinander verrieben und in absolutem Alkohol gelöst. Schon in der Löslichkeit zeigte sich ein Unterschied von dem von mir erhaltenen Kondensationsprodukt. Es waren nämlich nötig zum Lösen dieser Menge 42 g Alkohol, während die gleiche Menge Valyl-Leucinanhydrid nach den festgestellten Löslichkeitsverhältnissen nur 15 g erfordert hätte; 0·3 g Valinimid + 0·3 g Leucinimid dagegen, für die einzelnen Bestandteile berechnet im Ganzen, 64 g Alkohol.

Der Schmelzpunkt der I. Fraktion unter starker Bräunung lag bei 298 bis 300° und nach nochmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol bei 303 bis 305°.

Der Schmelzpunkt der aus der Mutterlauge von Fraktion I erhaltenen Krystalle war 268°.

Schmelzpunkt der Krystalle aus der Mutterlauge und nach nochmaligem Umkrystallisieren 269°.

Also ein deutlicher Beweis, daß die Fraktion I, die in Alkohol schwerer lösliche Substanz Valinimid, die aus ihrer Mutterlauge erhaltene Leucinimid ist. Ein Gemisch von Valinimid und Leucinimid ist also durch fraktionierte Krystallisation leicht in die Komponenten zu zerlegen. Da die gleiche Operation bei dem von mir erhaltenen Kondensationsprodukt ein gleiches Resultat nicht gab, ist dieser Körper als einheitlich, als Valyl-Leucinanhydrid zu bezeichnen.

Die schon zitierte Methode von E. Fischer, durch Schmelzen der α -Aminoisovaleriansäure zu dem entsprechenden Anhydrid zu gelangen, ließ vermuten, daß man auf analoge Weise das Leucinimid, eventuell sogar das unsymmetrisch substituierte Diketopiperazin erhalten könne.

Zum Vergleich der Ausbeuten, wie auch um diese Methode kennen zu lernen, wurde zunächst Valinimid nach E. Fischer dargestellt, was ohne Schwierigkeit in recht guter Ausbeute

gelang. Da im Rohprodukt noch unveränderte Aminosäure vorhanden ist, wurde das Schmelzen ein zweitesmal wiederholt. Das braune Sublimat wurde in heißem Alkohol gelöst und mit Tierkohle entfärbt.

Die reine Substanz gibt beim Kochen mit Cu-Oxyd kein Kupfersalz, wohl aber die Mutterlaugen, die demnach noch α -Aminoisovaleriansäure enthalten.

Das Leucinimid wurde auf die gleiche Weise dargestellt, nur wurde hier zunächst die Trennung des Imids von unveränderter Aminosäure mit Wasser vorgenommen. Die Ausbeute war bedeutend schlechter wie beim Valinimid (8 bis 100/0 gegen 250/0 beim Valinimid).

4 g Leucin zweimal zum Schmelzen erhitzt, das Sublimat mit 150 g H₂O aufgeköcht. Der in Wasser unlösliche Teil wurde aus Alkohol umkrystallisiert und gab den Schmelzpunkt 268°. Bei längerem Kochen mit CuO gab er schwach grüne Krystalle, deren Cu-Gehalt aber so gering war, daß man die in H₂O unlöslichen Krystalle als ziemlich reines Leucinimid bezeichnen kann.

Die wässerige Lösung wurde mit Tierkohle entfärbt und konzentriert. Die dabei zunächst auskrystallisierende Fraktion erwies sich noch stark leucinimidhaltig. Bei weiterem Eindampfen krystallisierte Leucin, wie das Kupfersalz bewies.

Da Leucin in heißem Alkohol weniger löslich ist als Leucinimid, wurde versucht, das Anhydrid von der Aminosäure durch Auskochen mit Alkohol zu trennen.

Nach dem Schmelzen von 1.5 g Leucin wurde das Sublimat mit zirka 50 cm³ Alkohol erwärmt. Der unlösliche Teil, Leucin, war in heißem H₂O löslich und gab ein Kupfersalz. Die alkoholische Lösung wurde mit Tierkohle entfärbt, konzentriert und die Krystalle von der Mutterlauge befreit. Sie waren zum größten Teil in viel Alkohol löslich und gaben beim Erhitzen mit CuO schwach blau gefärbte Krystalle, die aber reichlich mit weißen Krystallen, Leucinimid, durchsetzt waren. Aus der Mutterlauge krystallisierte ziemlich reines Leucinimid.

Die Trennung mit Alkohol erwies sich also hier als lange nicht so scharf wie beim Valinimid. Immerhin konnte man sich durch Auskochen des Kupfersalzes mit Alkohol helfen, wobei fast nur das Imid in Lösung ging. Eventuell könnte man auch die aus der alkoholischen Lösung erhaltenen Krystalle noch einmal mit wenig Alkohol auskochen oder mit Wasser trennen.

Ganz scharf wird sich mit Alkohol kaum eine Trennung von Leucin und Leucinimid durchführen lassen, da ein Versuch ergab, daß kleine Mengen Leucin ebenfalls in der für Leucinimid festgestellten Menge Alkohol (der 35 fachen) löslich sind, wie die Bildung eines Kupfersalzes bewies.

Es wurde weiter versucht, Valyl-Leucinanhydrid durch Schmelzen gleicher Teile Valin und Leucin darzustellen.

Die leichte Zersetzbarkeit des Leucins in Amylamin und Kohlensäure, die schon bei der Darstellung des Leucinimid durch Schmelzen von Leucin die geringe Ausbeute bedingt hatte, gab auch bei diesem Versuch zunächst schlechte Resultate; bei vorsichtigem Erhitzen der Aminosäuren blieb der größte Teil Leucin unverändert, bei stärkerem Erhitzen zersetzt sich das Leucin.

Ein besseres Resultat wurde erzielt, indem das Gemisch von gleichen Teilen Valin und Leucin in stark evakuierten kurzen Bombenröhren sehr schnell im Wood'schen Bade auf zirka 340° erhitzt wurde. Ein Teil der Röhren ging dabei allerdings durch Explosion zu Grunde. Nach dem Öffnen der Bomben wurden die Krystalle in Alkohol gelöst und die Lösung konzentriert.

Durch eine recht umständliche Fraktionierung aus Wasser und Alkohol wurde die Hauptmenge der Substanz als Valyl-Leucinanhydrid erkannt. Bemerkenswert ist, daß Fraktionen vom höheren Schmelzpunkt des Valylimids nicht auftreten, daß also auch hier das gemischte Anhydrid das überwiegende Hauptprodukt ist.

Die Homogenität wurde noch folgendermaßen bewiesen:

Die vorwiegend auftretenden Fraktionen vom Schmelzpunkt 274° können kein Valin mehr enthalten, da sie in Wasser unlöslich, in Alkohol leicht löslich waren, ferner beim Kochen mit CuO kein Kupfersalz gaben. Ebenso kann kein Valinimid mehr vorhanden sein, da infolge des konstanten Schmelzpunktes 274° ein Gemenge ausgeschlossen ist, Valinimid selbst aber einen viel höheren Schmelzpunkt besitzt (303 bis 305°) (Valinimid, das sich bei diesem Versuch voraussichtlich als Nebenprodukt gebildet hat, muß also den tiefer schmelzenden Fraktionen ohne konstanten Schmelzpunkt beigemischt sein). Läßt sich nun bei der hydrolytischen Aufspaltung der Fraktionen vom Schmelzpunkt 274° Valin in irgendeiner Form nachweisen, so ist dies ein Beweis, daß das Valin nur vom Valyl-Leucinanhydrid herrühren kann.

0.3 g Substanz wurden mit rauchender, bei 0° gesättigter Bromwasserstoffsäure zirka 6 Stunden im Schießofen auf 100° erhitzt. Die nach dem Öffnen der Bombe auf dem Wässerbade

eingedampfte Flüssigkeit wurde nochmals mit Bromwasserstoffsäure erhitzt und wieder eingedampft. Die Bromwasserstoffsäure durch Silberoxyd, der minime Überschuß von Silber durch Schwefelwasser unter Zufügung von Aluminiumhydroxyd abgeschieden, hierauf mit CuO gekocht und das Kupfersalz durch abgekühltes Eindampfen in zwei Fraktionen isoliert.

- I. Schwerer löslich: 0·0310 g Substanz, bei 110° getrocknet, gaben 0·0078 g CuO = 20·10% Cu; berechnet für Leucinkupfer = 19·34% Cu.
 II. Leichter löslich: 0·0582 g Substanz (bei 110° getrocknet) gaben 0·0152 g CuO = 20·87% Cu; berechnet für Valinkupfer = 21·51% Cu.

Aus diesen Zahlen geht hervor, daß ein Gemenge von Leucin und Valin entstanden ist, also in der Schmelze Valyl-leucinanhydrid vorhanden ist.

Im folgenden wurde versucht, ob nicht auf einfachere Weise wie bisher, nämlich durch Erhitzen des Leucins mit Essigsäureanhydrid, das Anhydrid entsteht.

Kondensation von Leucin mit Essigsäureanhydrid.

2 g Leucin wurden mit zirka 30 g frisch destillierten Essigsäureanhydrid ungefähr 15 Stunden im Bombenofen auf 180 bis 190° erhitzt. Die Flüssigkeit war nach dem Erhitzen tief braunschwarz gefärbt. Das überschüssige Essigsäureanhydrid wurde im Vakuum abdestilliert, der Rückstand in möglichst wenig Aceton gelöst und durch Zusatz von Äther und Wasser in einem ätherischen und wässrigen Teil getrennt, welche beide Teile zusammen zirka 60% des Ausgangsmaterials enthalten, der ätherische Teil zirka 6 mal soviel wie der wässrige. Nach dem Eindampfen der Lösungen zeigte sich zunächst keine Krystallisation; erst als nach mehrtägigem Stehen der harzige Rückstand des wässrigen Teiles mit wenig Wasser angerieben wurde, entstanden feine, seiden-glänzende Nadelchen.

Der ätherisch-lösliche Teil aber war in keiner Weise zur Krystallisation zu bringen.

Bei weiteren Versuchen wurde in Dauer und Höhe des Erhitzens mannigfach verändert, so bei einigen mit Ätzbaryt alkalisch gemacht und entstandenes Amin durch Wasserdampfdestillation entfernt.

Als aber nach Entfernung des Baryts wieder der wasserlösliche Teil isoliert wurde, entstanden trotz Impfversuchung die früher erwähnten Nadeln gar nicht oder nur in so geringer Menge, daß die weitere Untersuchung aufgegeben werden mußte.

Anhang.

Es wurde versucht, racemisches Leucin durch Umkristallisation des optisch aktiven Leucinester tartrates aus Alkohol in die optisch aktiven Komponenten zu zerlegen:

30 g Leucinester gaben 41 g (theoretisch 44 g) Tartrat. Der Schmelzpunkt lag bei 143°. Das weinsaure Salz wurde wiederholt aus der zirka 5fachen Menge heißen absoluten Alkohols umkristallisiert, wobei stets nur 3 g in der erkalteten Lösung blieben; bei den späteren Umkristallisierungen wurde die 8 bis 10fache Menge absoluten Alkohols genommen. Ein Unterschied in der Löslichkeit zeigte sich dabei nicht, ebenso war ein Unterschied im Schmelzpunkt nicht wahrnehmbar. Nachdem nach 7maligem Umkristallisieren über die Hälfte des Tartrates in Lösung geblieben war, wurden 4 g der schwerst löslichen Kristallisation verseift.

4 g Substanz wurden in wenig Wasser gelöst und mit überschüssigem CaO (0·7 g statt 0·5 g) auf dem Wasserbad auf 70 bis 80° erwärmt, bis der Estergeruch so gut wie verschwunden war. Von dem überschüssigen CaO wurde filtriert und, um eventuell noch vorhandene kleine Mengen Ca zu entfernen, Kohlensäure eingeleitet. Um eventuelle Racemisierung zu vermeiden, wurde die Lösung bei 60 bis 70° eingedampft. Die ersten Kristallisationen, die das in Wasser schwer lösliche Calciumtartrat enthielten, wurden entfernt. Die bei weiterem Eindampfen ausgeschiedenen Leucinkristalle enthielten noch Weinsäure, wie aus der Reduktion ammoniakalischer Silberlösung hervorging.¹

Um sie zu entfernen, wurde wiederholt aus Wasser umkristallisiert und von den schwer löslichen Krystallen filtriert, zum Schluß die Leucinkristalle in Wasser gelöst und das Leucin mit Alkohol ausgefällt. Eine Probe auf Weinsäure gab immer noch einen schwachen Silberspiegel. Um festzustellen, ob eine derartige Menge Weinsäure eine merkliche Drehung der Polarisations ebene verursacht, wurde eine stark verdünnte Lösung von Calciumtartrat (zirka 1 : 2000) hergestellt, die bei der Reduktion ammoniakalischer Silberlösung einen bedeutend stärkeren Silberspiegel zeigte, wie den oben bei der Leucinlösung festgestellten. Bei der optischen Untersuchung dieser Lösung von Calciumtartrat war eine Drehung absolut nicht wahrnehmbar.

Von dem Leucin wurde eine 4·2prozentige Lösung in 21prozentiger Salzsäure untersucht. Das Leucin war vollständig

¹ Leucin selber, mit ammoniakalischer Silberlösung erhitzt, gibt keinen Silberspiegel.

inaktiv, infolgedessen ist eine Spaltung in die optisch-aktiven Komponenten nicht eingetreten.

Da Racemisierung vorliegen konnte, wurde der Versuch auf die gleiche Weise wiederholt und bezüglich des Eindampfens noch vorsichtiger verfahren. Auch hier war das Leucin optisch inaktiv geblieben.

Um festzustellen, ob Leucin von den anderen Aminosäuren im Wege der Weinsäureverbindungen ihrer Ester zu trennen ist, wurde die Löslichkeit von Leucinester-tartrat, Alaninester-tartrat und Valinester-tartrat in heißem absoluten Alkohol und bei 25° untersucht:

l-Leucinester-tartrat löslich in der zirka 5fachen Menge siedenden absoluten Alkohols und löslich in der 71fachen Menge absoluten Alkohols bei 25°.

l-Alaninester-tartrat löslich in der zirka 10fachen Menge siedenden absoluten Alkohols und in der 206fachen Menge absoluten Alkohols bei 25°.

l-Valinester-tartrat löslich in der zirka 1 bis 1½fachen Menge siedenden absoluten Alkohols und löslich in der 20fachen Menge absoluten Alkohols bei 25°.

Die gefundenen Löslichkeitsverhältnisse machen eine Trennung der Tartrate, sowie der entsprechenden Aminosäuren möglich. Das soll durch besondere Versuche noch näher erprobt werden.
