

Untersuchungen über α -Amino-N-carbonsäureanhydride VI.

Von

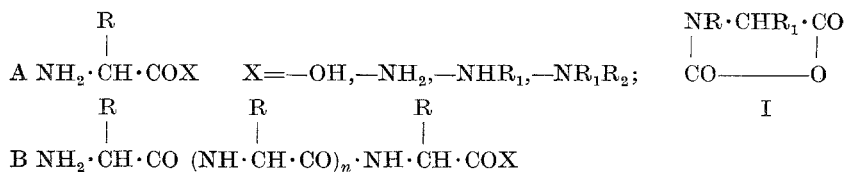
F. Wessely, K. Riedl und H. Tuppy.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 25. Febr. 1950. Vorgelegt in der Sitzung am 9. März 1950.)

Die erstmalig von *H. Leuchs*¹, später auf anderem Wege von *Th. Curtius*² dargestellten α -Amino-N-carbonsäureanhydride (I) sind hinsichtlich ihrer Reaktion mit Wasser und organischen Basen von *F. Wessely* und Mitarbeitern³ etwas näher untersucht worden. Neben der Bildung der entsprechenden Derivate der Aminosäuren (A) tritt abhängig von der Natur des Carbonsäureanhydrids und des zersetzenden Reagens auch die Bildung höhermolekularer Verbindungen (B) ein, in welchen die einzelnen Aminosäurereste peptidartig verknüpft sind.



In neuerer Zeit haben die α -Amino-N-carbonsäureanhydride wieder das Interesse der Forschung erregt. Vor allem die hochmolekularen Verbindungen wurden zu physikalisch-chemischen Untersuchungen und zu Vergleichen mit natürlichen Proteinen herangezogen. Sie stellen die

¹ *H. Leuchs*, Ber. dtsh. chem. Ges. **39**, 857 (1906). — *H. Leuchs* und *W. Manasse*, ibid. **40**, 3235 (1907). — *H. Leuchs* und *W. Geiger*, ibid. **41**, 1721 (1908).

² *Th. Curtius* und *W. Sieber*, Ber. dtsh. chem. Ges. **55**, 1543 (1922). — *Th. Curtius*, J. prakt. Chem. **125**, 211 (1930).

³ *F. Wessely*, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **146**, 72 (1925). — *F. Sigmund* und *F. Wessely*, ibid. **157**, 91 (1926). — *F. Wessely* und *F. Sigmund*, ibid. **159**, 102 (1926). — *F. Wessely* und *M. John*, Mh. Chem. **48**, 1 (1927); Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **170**, 38 (1927).

besten heute zugänglichen Proteinmodelle dar⁴. Auch zur Synthese von Peptiden, von welchen schon von dem einen von uns (*F. W.*)³ einige dargestellt wurden, sind die N-Carbonsäureanhydride wieder herangezogen worden⁵.

Wir haben vor einiger Zeit die Untersuchung dieser Körperklasse in verschiedenen Richtungen wieder aufgenommen und berichten hier über einige Zersetzungsversuche von α -Amino-N-carbonsäureanhydriden mit Wasser, verdünnten Säuren und Basen.

Bei der Zersetzung des Glycin-N-carbonsäureanhydrids mit Wasser hat der eine von uns (*F. W.*)³ vor längerer Zeit gefunden, daß die Art der erhaltenen Reaktionsprodukte von der Menge Wasser abhängt, die auf eine bestimmte Quantität des Carbonsäureanhydrids einwirkt. Eine quantitative Glykokollbildung tritt erst ein, wenn das Carbonsäureanhydrid in einem ungefähr 3000fachen Überschuß von Wasser gelöst reagiert. Auf die Art der Reaktionsprodukte, die sich in einer konzentrierteren Lösung bilden, wurde damals nur auf Grund der Bestimmung des Aminostickstoffes geschlossen, nachdem sich auch herausgestellt hatte, daß die Kohlensäure quantitativ abgespalten wird. Auf Grund der gefundenen Aminostickstoffwerte muß es sich bei den in konzentrierter wäßriger Lösung gebildeten Stoffen um Peptide handeln. Es blieb aber ungewiß, ob sich bei der in Frage stehenden Reaktion Peptide aller möglichen oder solche bestimmter Kettenlängen bilden.

Die Beantwortung der aufgeworfenen Frage ist heute durch das Verfahren der Verteilungschromatographie⁶ wesentlich erleichtert worden. Wenn man auch nicht erwarten kann, mit Hilfe der Verteilungschromatographie das gesamte „Spektrum“ der bei der Wasserzersetzung des Glycin-N-carbonsäureanhydrids gebildeten Peptide zu erhalten, so ermöglicht sie doch eine zuverlässige qualitative Analyse des in Wasser löslichen Gemisches der niederen Glycylpeptide.

Bei den Zersetzungen des Glycin-N-carbonsäureanhydrids verfahren wir etwas anders als früher. Dieses wurde, um bei Beginn der Zersetzung im homogenen Medium arbeiten zu können, in Dioxan oder Aceton gelöst und dann mit der entsprechenden Menge Wasser versetzt. Die Werte

⁴ *K. H. Meyer* und *Y. Go*, *Helv. chim. Acta* **17**, 1488 (1934). — *Y. Go* und *H. Tani*, *Bull. chem. Soc. Japan* **14**, 510 (1939). — *R. B. Woodward* und *C. H. Schramm*, *J. Amer. chem. Soc.* **69**, 1551 (1947). — *E. Katchalsky*, *I. Grossfeld* und *M. Frankel*, *ibid.* **70**, 2094 (1948). — *W. E. Hanby*, *S. G. Waley* und *J. Watson*, *Nature (London)* **161**, 132 (1948). — *M. Frankel* und *A. Berger*, *ibid.* **163**, 213 (1949). — *C. J. Brown*, *D. Coleman* und *A. C. Farthing*, *ibid.* **163**, 834 (1949). — *W. T. Astbury* und *C. E. Dalglish*, *ibid.* **162**, 596 (1948).

⁵ *I. Leggett Bailey*, *Nature (London)* **164**, 889 (1949).

⁶ *R. Conden*, *A. H. Gordon* und *A. J. P. Martin*, *Biochemic. J.* **38**, 224 (1944); **41**, 590 (1947).

der Tabelle 1 zeigen gute Übereinstimmung mit den früher erhaltenen Ergebnissen, nur sind die Aminostickstoffwerte durchwegs etwas niedriger gefunden worden. Es bilden sich also größere Mengen höherer Peptide. Die Unterschiede zwischen den Versuchen, bei welchen Dioxan und Aceton als Lösungsmittel verwandt wurden, sind gering. Wir können noch nicht entscheiden, worauf die festgestellten Unterschiede beruhen.

Tabelle 1.

0,1516 g Glycin-N-carbonsäureanhydrid = 1,5 Millimol, gelöst in a) 5 ml Dioxan, b) in 5 ml Aceton, c) ohne Lösungsmittel, wurden mit den angegebenen Wassermengen bei Zimmertemperatur versetzt. Die in den Spalten a, b, c angegebenen Zahlen bedeuten den Quotienten $\frac{\text{Amino-N}}{\text{Gesamt-N}}$ ⁷. In den Spalten a₁, b₁, c₁ ist die daraus berechenbare durchschnittliche Kettenlänge der Glycylpeptide angegeben.

Vers. Nr.	H ₂ O-Menge in ml	a	a ₁	b	b ₁	c	c ₁
1	1	0,06	17	—	—	0,1	10
2	3	0,12	8,4	0,08	12,5	0,22	4,5
3	5	0,15	6,7	0,11	9,1	0,28	3,6
4	10	0,24	4,2	0,23	4,3	0,52	1,9
5	20	0,45	2,2	0,57	1,75	0,78	1,3
6	50	0,8	1,25	—	—	0,96	1,04

Die Temperatur, bei der die Zersetzung vorgenommen wird, hat in dem untersuchten Intervall 15 bis 75° wenig Einfluß auf die Kettenlänge, wie aus den Zahlen der Tabelle 2 hervorgeht.

Tabelle 2.

0,1516 g Glycin-N-carbonsäureanhydrid, gelöst in 5 ml Dioxan wurden mit 5 ml Wasser bei den angegebenen Temperaturen versetzt.

Vers. Nr.	Temperatur in C°	$\frac{\text{Amino-N}}{\text{Gesamt-N}}$	Durchschn. Kettenlge.	Zeit ⁸
7	15	0,16	6,2	2
8	30	0,15	6,7	1,5
9	45	0,15	6,7	1,25
10	60	0,14	7,2	0,5
11	75	0,12	8,4	0,25

Ein Unterschied in den erhaltenen Aminostickstoffmengen zeigt sich je nach der Menge des zur Lösung des Carbonsäureanhydrids verwendeten Lösungsmittels (Tabelle 3). Verdünnte Lösungen ergeben, mit der gleichen Menge Wasser zersetzt, einen kleineren Amino-N-Wert. So

⁷ Bestimmt durch Formoltitration.

⁸ In Minuten, nach welcher eine Trübung eintritt.

erklären sich auch die Unterschiede in den Aminostickstoffmengen bei den oben besprochenen Wasserzersetzen des Glycin-N-carbonsäureanhydrids (Tabelle 1) nach der alten Methode (Spalte c) bzw. der neuen Methode (Spalte a und b).

Tabelle 3.

0,1516 g Glycin-N-carbonsäureanhydrid in verschiedenen Mengen von a) Dioxan, b) Aceton gelöst und bei Zimmertemperatur mit 5 ml Wasser versetzt, ergeben die unter a und b angegebenen Quotienten $\frac{\text{Amino-N}}{\text{Gesamt-N}}$ und die unter a_1 und b_1 verzeichneten durchschnittlichen Kettenlängen.

Vers. Nr.	ml Lsgm.	a	a_1	b	b_1
12	3	0,17	5,9	0,13	7,7
13	5	0,15	6,7	0,11	9,1
14	20	0,10	10,0	0,08	12,5

Wir haben auch die Zersetzungen von Glycin-N-carbonsäureanhydrid mit verdünnter NaOH und HCl, die von dem einen von uns (F. W.)² früher kurz beschrieben worden waren, teilweise unter etwas abgeänderten Bedingungen wiederholt und die früheren Ergebnisse bestätigen können. Es fällt der niedrige Aminostickstoffgehalt der Lösungen auf, die bei der Zersetzung mit 0,1 n und 0,01 n Lauge erhalten wurden, denn er liegt niedriger als der bei der Zersetzung mit reinem Wasser erhaltene.

Tabelle 4.

0,1516 g Glycin-N-carbonsäureanhydrid wurden in 5 ml Dioxan gelöst und mit 5 ml des Reagens versetzt. In der Spalte a ist der Quotient $\frac{\text{Amino-N}}{\text{Gesamt-N}}$ in Spalte a_1 die durchschnittliche Kettenlänge angegeben. In Spalte b und b_1 sind die entsprechenden Werte enthalten, die bei der Zersetzung mit dem betreffenden Reagens ohne Verwendung eines Lösungsmittels erhalten wurden.

Vers. Nr.	Reagens	a	a_1	Zeit ⁹	b	b_1
15	0,1 n HCl	0,69	1,45	klar	0,93	1,07
16	0,01 n HCl	0,29	3,5	20 Min.	0,73	1,37
17	0,001 n HCl	0,18	5,5	6 „	0,37	2,70
18	H ₂ O	0,15	6,7	5 „	0,27	3,70
19	0,001 n NaOH	0,13	7,7	10 Sek.	—	—
20	0,01 n NaOH	0,08	12,5	1 „	—	—
21	0,1 n NaOH	—	—	1 „	0,07	14,3
22	1 n NaOH	—	—	klar	1,0	1,0

⁹ Nach welcher eine Trübung eintritt. Sie gilt für die Zersetzungsversuche, die unter Verwendung von Dioxan angestellt wurden.

Für die papierchromatographische Untersuchung wurden folgende Zersetzungslösungen ausgewählt:

Vers. Nr.	Gesamt-N	
	Amino-N	Durchschn. Kettenlänge
4 a	0,24	4,2
6 a	0,80	1,3
16 a	0,29	3,4
20 a	0,08	12,5

Soferne sich ein unlöslicher Niederschlag abgeschieden hatte, wurde er abfiltriert. Seine Menge betrug z. B. bei Versuch 4a 53,5 mg. Die Zersetzungslösungen der Versuche 16a und 20a wurden vor dem Abfiltrieren auf neutrale Reaktion gebracht. Nach dem Konzentrieren der Filtrate auf 1 ml (bei Versuch 20a mußte auf 0,3 ml konzentriert werden) wurden zur chromatographischen Trennung 5 bis 8 μ l am oberen Ende des Papierstreifens (*Whatman* Nr. 1) aufgetragen. Als bewegliche Phase verwendeten wir entweder: a) Phenol-0,2-%iges Ammoniak oder b) ein Gemisch von Eisessig-Butanol-Wasser (1:4:5). Die beiden Gemische ergänzen sich gut. In Phenol gelingt eine besonders gute Trennung des Glykokolls von den Peptiden. Diese selbst werden mit Phenol-Ammoniak wohl auch noch weiter aufgelöst, aber die Trennung des Tetra- und Pentapeptides ist nicht mehr scharf. Zur absolut sicheren Identifizierung der höheren Peptide ist das Gemisch Eisessig-Butanol-Wasser besser geeignet. Da nach 20stündiger Laufzeit (das heißt, wenn die Lösungsmittelfront das untere Ende des Filtrierpapierstreifens erreicht hatte) die Glycylpeptide wegen ihrer voneinander nur wenig verschiedenen R_F -Werte noch nicht getrennt waren, wurde die Laufzeit verlängert und das Lösungsmittel über das Papierende hinaus abtropfen gelassen. Man kann auch den Streifen aus einem engen Schlitz im Boden der Kammer austreten lassen, damit das Eisessig-Butanol-Wasser-Gemisch vom Streifenende verdunsten kann. In diesen Fällen wurde auf die R_F -Messung verzichtet und mit einer künstlich bereiteten Vergleichslösung gearbeitet. In Tabelle 5 sind die R_F -Werte des Glykokolls und der reinen Glycylpeptide bis einschließlich des Pentapeptides für die beiden von uns verwendeten beweglichen Phasen enthalten. Die R_F -Werte bis zum Tripeptid waren schon von *R. Conden* und Mitarbeiter für Phenol-Ammoniak als beweglicher Phase festgestellt worden. Unsere Werte stimmen unter Berücksichtigung der Tatsache, daß die englischen Autoren ihre Bestimmungen auf *Whatman* Nr. 4 ausgeführt haben, gut überein. Wie die Werte der Tabelle 5 zeigen, bewegen sich die Peptide in Phenol-Ammoniak um so schneller, je mehr Glycylreste sie enthalten. Im Butanol-Eisessig-Wasser-Gemisch zeigen sie das umgekehrte Verhalten.

Tabelle 5.
 R_F -Werte, *Whatman* Nr. 1, $T = 20$ bis 22°C .

Substanz	Eisessig-Bu- tanol-Wasser 1:4:5	Phenol-0,2% Amoniak KCN-Zusatz
Glykokoll.....	0,16	0,42
Glycyglycin	0,15	0,58
Di-glycyglycin	0,14	0,66
Tri-glycyglycin	0,12	0,71
Tetra-glycyglycin	0,10	0,76

Die Glycylpeptide wurden in bekannter Weise durch systematischen Aufbau mit Hilfe von Chloracetylchlorid und nachfolgender Aminierung hergestellt. Sie erwiesen sich als chromatographisch einheitlich. Das

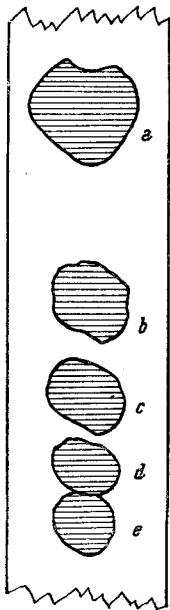


Abb. 1. Papierchromatogramm entwickelt mit Phenol-0,2% NH_3
 a... Glykokoll,
 b... Glycyglycin,
 c... Diglycyglycin,
 d... Triglycyglycin,
 e... Tetraglycyglycin.

künstliche Peptidgemisch, das wir am Streifen neben der Zersetzungslösung laufen ließen, war folgend zusammengesetzt: 23,4 mg Glykokoll, 43,1 mg Dipeptid, 33 mg Tripeptid, 32,5 mg Tetrapeptid, 33,7 mg Penta-peptid, gelöst in 5 ml H_2O . Abb. 1 zeigt das Chromatogramm einer Vergleichslösung. Genau die gleichen Bilder wurden bei der Chromatographie der oben angeführten Zersetzungslösungen erhalten. Wir fanden in ihnen immer Glykokoll und die Peptide bis zum Penta-peptid. Quantitative Angaben über die relativen Mengenverhältnisse der Aminosäuren und der Peptide können wir allerdings auf Grund unserer Versuche nicht machen, aber sie berechtigen zum Schluß, daß nicht die Bildung bestimmter Kettenlängen bevorzugt eintritt. Es ist natürlich die Kettenlänge abhängig von der Menge Wasser, das zur Zersetzung angewandt wird, derart, daß jene mit steigender Wassermenge immer kürzer, bzw. mit kleinen Wassermengen länger wird. So ließ sich aus dem Chromatogramm der Zersetzungslösung 6a deutlich das Überwiegen von Glykokoll feststellen. Im Extremfall, also mit sehr viel Wasser, wird die Bildung von Glykokoll praktisch quantitativ verlaufen. Mit abnehmender Wassermenge tritt die Bildung von Glykokoll auf Kosten der Peptide zurück. Ähnliches tritt auch bei der Zersetzung mit Laugen bestimmter Konzentration ein. So mußte, wie oben erwähnt, die Zer-

setzungslösung des Versuches 20a viel stärker als die der anderen Versuche konzentriert werden, um überhaupt das Glykokoll und die Peptide bis zum Penta-peptid nachzuweisen. Es entstehen aber immer Gemische und es

ist sicher, daß auch bei der Zersetzung von festem Glycin-N-carbonsäureanhydrid mit Wasserdampf bei Zimmertemperatur kein einheitliches Polypeptid gebildet wird. Leider erlauben es die Löslichkeitsverhältnisse dieser hochmolekularen Glycylpeptide nicht, Molekulargewichtsbestimmungen auszuführen, so daß die durchschnittliche Kettenlänge ungewiß bleibt. *K. H. Meyer* und *Go*⁴ haben sie auf Grund ihrer Versuche zu 2000 angenommen.

Die bisher erwähnten, am Glycin-N-carbonsäureanhydrid erhobenen Befunde dürfen aber nicht ohne weiteres auf andere Amino-N-carbonsäureanhydride übertragen werden. Wir berichten hier über vorläufige Versuche an am Stickstoff alkylierten N-Carbonsäureanhydriden.

Tabelle 6.

Es wurden stets 1,5 Millimol des N-Carbonsäureanhydrids in 5 ml Dioxan gelöst und mit 1 ml Wasser versetzt.

Substanz	Quotient Amino-N Gesamt-N	Durchschn. Kettenlge.	Bemerkungen
$\begin{array}{c} \text{NR} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \\ \qquad \qquad \\ \text{CO} \text{---} \text{O} \end{array}$			
R = H	0,06	17	Nach 5 Min. Beginn einer festen Ausscheidung
R = CH ₃	0,28	3,6	Nach längerem Stehen Abscheidung von Tröpfchen
R = C ₂ H ₅	0,87	1,15	Nach längerem Stehen Abscheidung von Tröpfchen
R = n-Propyl	0,88	1,14	Klar bleibende Lösung
R = Isobutyl	0,80	1,25	" " "
R = sec. Butyl	0,72	1,40	" " "
R = n-Amyl	0,81	1,25	" " "
R = Cyclohexyl	0,65	1,54	" " ¹⁰
R = C ₆ H ₅ CH ₂	0,59	1,70	" " ¹¹
R = C ₆ H ₅ CH ₂ CH ₂	0,85	1,17	Nach einigen Stdn. Abscheidung farbloser Kristalle

Aus den Zahlen der Tabelle 6 geht hervor, daß die Bildung höherer Peptide stark zurücktritt, wenn die Kettenlänge des Alkylrestes zunimmt. Die Reaktionsprodukte sind noch nicht in allen Fällen näher untersucht worden. Es dürften hauptsächlich Aminosäuren entstehen, daneben aber auch Diketopiperazine.

¹⁰ Neben der Aminosäure als Hauptprodukt wurde auch das entsprechende Diketopiperazin im Reaktionsprodukt nachgewiesen.

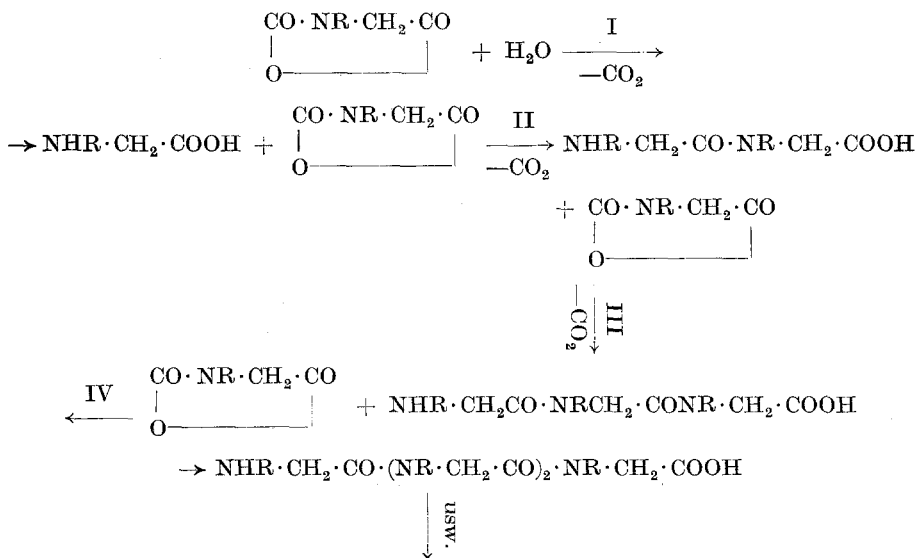
¹¹ Nach dreitägigem Stehen schieden sich aus der wäßr. Lösung weiße Kristalle in kleiner Menge ab, die sich als 1,4-Dibenzyl-2,5-diketopiperazin erwiesen.

Beim Sarkosin-N-carbonsäureanhydrid wurden auch Versuche mit verschiedenen Wassermengen durchgeführt und die abgespaltene CO_2 -Menge quantitativ bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 enthalten.

Tabelle 7.
1,5 Millimol Sarkosin-N-carbonsäureanhydrid wurden mit der angegebenen Menge Wasser ohne Anwendung eines Lösungsmittels zersetzt.

ml Wasser	gefunden CO_2 in %	Quotient Amino-N Gesamt-N	Durchschn. Kettenlge.
1	97	0,53	1,8
5	99	0,85	1,2
10	98	1,00	1,0

In einer früheren Arbeit haben wir ein vorläufiges Reaktionsschema für die Einwirkung von Basen auf N-Carbonsäureanhydride aufgestellt, das die Bildung der verschieden hochmolekularen Reaktionsprodukte beschreiben sollte. Wenn wir dieses auf die Wasserzersetzung der Amino-N-carbonsäureanhydride übertragen, so kommen wir zu folgender Formelreihe:



Wir haben also Folgereaktionen vor uns und die Ausbeute an den verschiedenen Reaktionsprodukten muß von den relativen Geschwindigkeiten der einzelnen Reaktionen abhängen. Hat sich durch Reaktion I

Aminosäure oder eine formelmäßig nicht wiedergebbare Vorstufe der Aminosäure gebildet, so konkurriert dieser Stoff mit dem Wasser um das noch nicht umgesetzte Carbonsäureanhydrid, das als Acylierungsmittel wirkt. Wird die Aminosäure rascher als das Wasser acyliert, erhalten wir Peptide, und zwar um so höhermolekulare, je kleiner die Geschwindigkeit der Reaktion des Carbonsäureanhydrids mit Wasser gegen die der anderen Reaktionen ist. Es ist also zu verstehen, daß die durchschnittliche Kettenlänge der Glycylpeptide mit abnehmender Konzentration des Zersetzungsreagens Wasser größer wird.

Einer besonderen Erörterung bedarf noch die von uns beobachtete Erscheinung, daß bei der Zersetzung mit verdünnter NaOH zunächst längere Peptidketten entstehen als bei der Zersetzung mit reinem Wasser. Unsere Versuche deuten darauf hin, daß bei größeren pH-Werten als 7 zunächst die Reaktion II und die folgenden rascher verlaufen als bei pH 7. Der Grund kann darin liegen, daß bei größeren pH-Werten das Glykokoll und die Peptide zu einem kleineren Teil in der Zwitterionenform vorliegen werden als in reinem Wasser. Die zwitterionischen Formen werden nicht acylierbar sein. Daß mit n NaOH quantitative Glykokollbildung eintritt, ist wohl so zu erklären, daß durch die wesentlich größere OH-Ionenkonzentration die Geschwindigkeit der Reaktion I wesentlich stärker beschleunigt wird als die der anderen Folgereaktionen.

Bei den N-alkylierten N-Carbonsäureanhydriden müssen nach unserer Meinung die Verhältnisse so liegen, daß bei ihnen die relative Geschwindigkeit der Reaktion I wesentlich größer ist als die der anderen Folgereaktionen.

Experimenteller Teil.

Darstellung der α -Amino-N-carbonsäureanhydride.

A. Gewinnung der N-Alkyl-aminoessigsäuren und deren Carbalkoxyverbindungen.

Die am Stickstoff durch Äthyl-, *n*-Propyl-, *i*-Butyl-, *sec.* Butyl-, β -Phenyl-äthyl- und Cyclohexyl-substituierten Aminoessigsäuren wurden mit Hilfe der Strecker-Synthese dargestellt: 1 Mol Alkylaminchlorhydrat wurde in einem Überschuß von 40%igem Formaldehyd (zirka 2 Mol) gelöst und unter Kühlung mit Eis-Kochsalzgemisch nach und nach mit einer ebenfalls gekühlten Lösung von 1 Mol Natriumcyanid in möglichst wenig Wasser versetzt, so daß die Temp. zwischen -3° und $+3^\circ$ blieb. Während des Zugebens der Cyanidlösung scheidet sich bereits das Alkylaminoessigsäurenitril ab, das nach mehrstündigem Stehen bei gewöhnlicher Temp. im Scheidetrichter abgetrennt wurde; die wäbr. Lösung wurde noch mehrmals mit Äther ausgezogen. Die Ausbeuten an rohem Nitril waren fast immer quantitativ. Zur Verseifung des Nitrils ließ man dieses mit der dreifachen Gewichtsmenge konz. Salzsäure gemischt einige Stdn. bei Zimmertemp. stehen; hierauf wurde mit der gleichen Menge Wasser verdünnt und 6 bis 8 Stdn. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach der Entfernung der überschüssigen Salzsäure durch Eindampfen wurde der Rückstand mit Wasser aufgenommen, mit NaOH alkalisch gemacht und mit Wasserdampf solange destilliert, bis das Destillat

nicht mehr alkalisch reagierte. Der Kolbenrückstand wurde neuerlich mit Salzsäure angesäuert, zur Trockene verdampft und der Rückstand mit absol. Alkohol ausgezogen. Aus der heißen alkohol. Lösung schied sich das Chlorhydrat der Aminosäure manchmal schon beim starken Abkühlen, manchmal erst beim Einengen aus und wurde meistens aus Alkohol umkristallisiert. Die Schmp. decken sich mit den Angaben der Literatur.

Das N-Benzylglycinchlorhydrat wurde nach *Mason* und *Winder*¹², das N-n-Amylglycin nach *Cocker* und *Harris*¹³ dargestellt.

Zur Gewinnung der *Carbalkoxyverbindungen* wurden 1 Mol des Glycinderivats, bzw. seines Chlorhydrats, in 2 n NaOH (1 Mol bei Verwendung der freien Aminosäure, bzw. 2 Mol beim Chlorhydrat) gelöst, unter Kühlung mit Eis mit 1,1 Mol Chlorkohlensäuremethyl- oder Äthylester versetzt und unter dauerndem Schütteln und Köhlen nach und nach mit $\frac{1}{2}$ Mol fester, wasserfreier Soda versetzt. Hierauf wurde noch bei gewöhnlicher Temp. weitergeschüttelt, bis keine CO₂-Entwicklung mehr auftrat und der Geruch nach dem Kohlensäureester verschwunden war. Nach dem Ansäuern der wäßr. Lösung wurden die Carbalkoxyverbindungen der Lösung mit Äther entzogen. Die Verbindungen stellten zähe Öle dar, die ohne weitere Reinigung verwandt wurden.

Das ebenfalls ölige *Carbobenzoxysarkosin* wurde entsprechend der Vorschrift von *Bergmann* und *Zervas*¹⁴ für das Carbobenzoxyglykokoll dargestellt.

B. N-Carbonsäureanhydride.

Für die Gewinnung des *Glycin-N-carbonsäureanhydrids* erwies sich die Vorschrift von *Go* und *Tani*¹⁵, die das Carbobenzoxyglykokoll mit SOCl₂ in das Chlorid überführen, das dann erhitzt wird, besser als die früher von uns angewandte³. Nach dem Verfahren der japanischen Autoren wurde in 84 bis 91% d. Th. das Carbonsäureanhydrid erhalten, das aus Dioxan umgelöst wurde.

Für die Darstellung des *Sarkosin-N-carbonsäureanhydrids* bedeutet die Verwendung der Carbobenzoxyverbindung keinen Vorteil vor der der Carbo-methoxy- oder Carbäthoxyverbindung. Nach diesem Verfahren wurden nur 34% d. Th. an Carbonsäureanhydrid erhalten.

Wesentlich bessere Ausbeuten erhielten wir nach einem *neuen Verfahren*, das auch bei der Darstellung anderer, am Stickstoff substituierter N-Carbonsäureanhydride gute Resultate ergab. Bei am Stickstoff nicht substituierten Aminosäuren versagt aber nach unseren bisherigen Ergebnissen diese Methode.

5,43 g Carbäthoxysarkosin wurden mit 12,5 ml Acetylchlorid und dem gleichen Vol. Essigsäureanhydrid 6 Stdn. unter Rückfluß auf 70° erwärmt. Nach dem Abdampfen des überschüssigen Chlorids und Anhydrids im Vak. bei 70 bis 75° erstarrte der Rückstand beim Erkalten. Der feste Kuchen wurde zuerst mit Äther gewaschen und nach dem Trocknen durch einmaliges Umlösen aus Chloroform reines Sarkosin-N-carbonsäureanhydrid vom Schmp. 99 bis 100° (Zers.) erhalten. Ausbeute 63% d. Th.

N-Äthyl-glycin-N-carbonsäureanhydrid. 1,86 g Carbäthoxyäthylglycin wurden mit 1,8 ml SOCl₂ zuerst auf 40°, dann im Vak. langsam auf 55° erhitzt (1 Std.). Das braune Reaktionsprodukt war weder durch starkes

¹² *A. T. Mason* und *G. R. Winder*, J. chem. Soc. London **65**, 188 (1894).

¹³ *W. Cocker* und *L. Harris*, J. chem. Soc. London **1940**, 1290.

¹⁴ *M. Bergmann* und *L. Zervas*, Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 1192 (1932).

¹⁵ *Y. Go* und *H. Tani*, Bull. chem. Soc. Japan **14**, 510 (1939).

Kühlen noch durch Kühlen der Chloroformlösung mit CO_2 -Acetongemisch zur Kristallisation zu bringen. Es ließ sich jedoch bei 0,005 mm bei 80 bis 90° Badtemp. unzersetzt in einer Ausbeute von 91,4% als schwach gelblich gefärbtes Öl gewinnen. Leicht löslich in Wasser, mittelmäßig löslich in Äther, unlöslich in Petroläther.

$\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_3\text{N}$. Ber. C 46,51, H 5,47. Gef. C 46,29, H 5,60.

N-n-Propyl-glycin-N-carbonsäureanhydrid. 2,81 g Carbäthoxypropylglycin wurden mit 1,4 ml SOCl_2 1 Std. auf 40° , dann im Vak. auf 65° erhitzt, bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Zur Reinigung wurde bei 0,08 mm und 115° Luftbadtemp. destilliert. Das leicht gelblich gefärbte Öl läßt sich aus Äther oder Chloroform bei Kühlung mit CO_2 -Acetongemisch in feine Nadeln überführen, die aber bereits bei Zimmertemp. schmelzen.

N-Isobutyl-glycin-N-carbonsäureanhydrid. 2,42 g Carbäthoxy-isobutylglycin wurden mit 1,5 ml SOCl_2 1 Std. auf 40° erwärmt und dann im Wasserstrahlvak. die Temp. langsam auf 70° gesteigert. Das erhaltene braune Öl wurde bei 0,004 mm und 80 bis 90° Badtemp. als hellgelbes, bald erstarrendes Destillat in einer Menge von 1,73 g erhalten. Nach 2maligem Umlösen aus mit CO_2 -Aceton-Gemisch gekühltem Äther wurden reine weiße, feine Kristallnadeln vom Schmp. 41° erhalten.

$\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$. Ber. C 53,49, H 7,06. Gef. C 53,04, H 7,19.

Bei der Zersetzung mit verd. HCl wurden 29,27% CO_2 gefunden (ber. 28,00%).

N-sec. Butyl-glycin-N-carbonsäureanhydrid. 2,55 g der Carbäthoxyverbindung wurden mit 2 ml SOCl_2 2 Stdn. lang auf 40° und 1 Std. im Wasserstrahlvak. auf 60° erwärmt. Durch Destillation bei 0,15 mm und 110 bis 120° Luftbadtemp. wurde ein farbloses Öl erhalten, das sich auch mit CO_2 -Aceton-Gemisch nicht zur Kristallisation bringen ließ. Mit Anilin wird stürmisch CO_2 entwickelt. Mit Ausnahme von Petroläther ist es in den gebräuchlichen organischen Medien leicht löslich.

$\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$. Ber. C 53,59, H 7,06. Gef. C 54,16, H 7,41.

N-n-Amyl-glycin-N-carbonsäureanhydrid. 3 g Carbäthoxyverbindung wurden mit 3 ml SOCl_2 1 Std. lang auf 40 bis 45° erwärmt und dann im Vak. die Temp. langsam auf 60° gesteigert und 1 Std. auf dieser Temp. gehalten. Das rotbraune, ölige Reaktionsprodukt lieferte bei der Destillation bei 0,005 mm und 90 bis 100° Luftbadtemp. in 91,1% d. Th. ein schwach gelbliches Öl, das 2mal aus Äther unter Kühlung mit CO_2 -Aceton-Gemisch umgelöst wurde. Schmp. 29° . Mit Ausnahme von Petroläther in den gebräuchlichen organischen Medien leicht löslich.

$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}$. Ber. C 56,12, H 7,65. Gef. C 56,80, H 7,22.

N-Cyclohexyl-glycin-N-carbonsäureanhydrid. 1,95 g Carbäthoxyverbindung wurden mit 0,8 ml SOCl_2 auf 45° und im Wasserstrahlvak. 1 Std. auf 60° erhitzt. Beim Abkühlen erstarrte der Kolbeninhalt zu einer gelblich-weißen Kristallmasse, die aus Chloroform-Petroläther umkristallisiert, weiße Blättchen (86,5% d. Th.) vom Schmp. 93 bis 96° ergaben.

$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}$. Ber. C 59,00, H 7,15. Gef. C 58,94, H 7,97.

2,16 g der Carbäthoxyverbindung wurden in 10 ml Acetylchlorid und dem gleichen Vol. Essigsäureanhydrid 8 Stdn. auf 70° erhitzt. Der nach dem Abdampfen des Chlorids und Anhydrids erhaltene feste Rückstand

lieferte nach dem Umlösen aus Chloroform-Petroläther weiße Kristalle vom Schmp. 94 bis 97° (Zers.).

N-Benzyl-glycin-N-carbonsäureanhydrid. 2,4 g Carbäthoxyverbindung wurden mit 0,95 ml SOCl_2 zuerst auf 40°, nach Aufhören der Gasentwicklung im Vak. 2 Stdn. auf 65 bis 70° erhitzt. Das feste Reaktionsprodukt wurde unter Zusatz von Tierkohle aus Äther-Petroläther umgelöst und so 1,27 g rein weiße Kristalle vom Schmp. 114 bis 115° erhalten. Mäßig löslich in kaltem Chloroform und Dioxan, wenig in Äther und unlöslich in Petroläther.

$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_3\text{N}$. Ber. C 62,82, H 4,74. Gef. C 62,97, H 4,66.

1,44 g der Carbäthoxyverbindung wurden mit 6 ml Acetylchlorid und dem gleichen Vol. Essigsäureanhydrid 8 Stdn. lang auf 75° unter Rückfluß erhitzt. Nach der Aufarbeitung (wie in ähnlichen Fällen oben beschrieben) wurde in 54,3%iger Ausbeute das Carbonsäureanhydrid erhalten.

N- β -Phenyläthyl-glycin-N-carbonsäureanhydrid. 1,69 g der Carbäthoxyverbindung wurden mit 0,7 ml SOCl_2 im Wasserbad auf 50° erwärmt. Dabei schieden sich nach einiger Zeit aus der honigfarbenen Flüssigkeit Kristalle aus. Nachdem fast die ganze Masse erstarrt war, wurde die Temp. auf 60° erhöht und bei dieser 1 Std. im Vak. belassen. Nach dem Umlösen aus Chloroform-Petroläther unter Zusatz von Tierkohle wurden 1,10 g weißer Kristalle vom Schmp. 108 bis 110° (Kofler) erhalten.

$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$. Ber. C 64,38, H 5,40. Gef. C 64,88, H 5,63.

Die C,H-Analysen wurden von Dr. G. Kainz im Mikroanalytischen Laboratorium des II. Chemischen Universitätslaboratoriums ausgeführt.