

**388. Emil Fischer: Ueber die Spaltung einiger racemischer Amidosäuren in die optisch-activen Componenten.**

[Aus dem I. Berliner Universitäts-Laboratorium.]

(Eingegangen am 14. August.)

Während durch die hydrolytische Spaltung von Proteinstoffen in der Regel optisch-active Amidosäuren entstehen, sind die künstlichen Producte bekanntlich zunächst racemisch. Die vollständige Synthese der natürlichen Verbindungen ist deshalb erst dann erreicht, wenn es auch gelingt, den Racemkörper in die optisch-activen Componenten zu spalten. Das ist bisher nur in wenigen Fällen möglich gewesen. Am leichtesten gelingt die Darstellung der optisch-activen Asparagine; denn das synthetische Product zerfällt bei blosser Krystallisation aus Wasser, und die hemiëdrisch ausgebildeten Krystalle sind gross genug, um mechanisch getrennt zu werden. Indirect ist so auch die Synthese der beiden activen Asparaginsäuren ausgeführt. Die Möglichkeit einer gleichen Spaltung durch blosse Krystallisation wird für die racemische Glutaminsäure von Menozzi und Appiani<sup>1)</sup> angedeutet. Sie bemerken allerdings, die Menge der hemiëdrisch ausgebildeten Krystalle sei klein und deshalb die Trennung recht schwierig. Nach meinen Erfahrungen muss ich daran zweifeln, dass man auf diesem Wege die beiden activen Glutaminsäuren in irgend wie erheblichen Mengen darstellen kann. Es wäre deshalb wünschenswerth, dass die HH. Menozzi und Appiani genauere Angaben über ihre Versuche machen wollten, damit man ersehen kann, ob es sich hier um eine praktisch ausführbare Methode handelt.

Zahlreicher sind die Versuche, die racemischen Amidosäuren durch partielle Vergährung optisch-activ zu machen. So entstehen nach Schulze und Bosshard<sup>2)</sup> aus dem racemischen Leucin und der racemischen Glutaminsäure durch die Wirkung von *Penicillium glaucum* die bis dahin unbekannten optischen Antipoden der aus den Eiweisskörpern darstellbaren activen Säuren. Bei ihren Versuchen wurde die Vergährung so weit geführt, dass der zurückbleibende active Theil im reinen Zustand isolirt werden konnte. In ähnlicher Weise hat Engel<sup>3)</sup> den optischen Antipoden der gewöhnlichen Asparaginsäure aus dem Racemkörper gewonnen. Allerdings vermisst man in seiner Abhandlung die Angaben über den Pilz und über die quantitative optische Untersuchung des Productes.

Die fruchtbarste Methode der Spaltung von Racemkörpern durch Combination derselben mit anderen optisch-activen Substanzen ist bis-

<sup>1)</sup> Gazzetta chimica 24 (I), 378 u. 383 (1894).

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie 10, 138 (1886).

<sup>3)</sup> Bull. de la société chimique 50, 152.

her nicht mit Erfolg benutzt worden. Bei den einfachen Amidosäuren erklärt sich das leicht durch die geringe Verwandtschaft zu Basen und Säuren, welche die Combination mit den Alkaloiden oder mit activen Säuren ausserordentlich erschwert. Bei den Amidodicarbonsäuren, wie Asparaginsäure und Glutaminsäure, sind allerdings Salze mit den gewöhnlich gebrauchten, optisch-activen Basen darstellbar, und es liegen auch Angaben in der Literatur vor über Versuche, so eine Spaltung herbeizuführen, welche indessen resultatlos geblieben sind<sup>1)</sup>. Es fehlt demnach bisher noch eine vollständige Synthese für die gewöhnliche active Glutaminsäure und das natürliche Leucin.

Ja bei dem Alanin, welches allerdings bisher nur einmal als Spaltungsproduct von Proteinstoffen beobachtet wurde, ist überhaupt noch keine optisch-active Form bekannt. Auch beim Tyrosin, welches mit zu den ältesten Amidosäuren gehört, hat die Synthese nur bis zu dem Racemkörper geführt, und selbst die Existenz der dem gewöhnlichen Tyrosin optisch entgegengesetzten *d*-Verbindung ist noch zweifelhaft, da die partielle Vergährung des Racemkörpers nicht ausgeführt und ein rechtsdrehendes Tyrosin nur einmal von E. von Lippmann<sup>2)</sup> in Rübenschösslingen beobachtet, aber nur sehr wenig untersucht wurde.

Wegen des physiologischen Interesses, welches die oben erwähnten, optisch-activen Amidosäuren besitzen, schien mir ihre Bereitung aus den synthetischen Racemkörpern auf chemischem Wege wünschenswerth. Das Mittel dazu hat sich gefunden in ihren Benzoylderivaten. Dieselben sind stärkere Säuren, als die ursprünglichen Amidoverbindungen und bilden in Folge dessen mit den Alkaloiden beständige Salze. Sie sind ferner meistens in Wasser schwerer löslich und lassen sich in Folge dessen leichter isoliren; durch den Einfluss des Benzoyls wird auch das Krystallisationsvermögen der Salze erhöht. Endlich können diese Benzoylverbindungen wieder in die ursprünglichen Amidokörper zurückverwandelt werden. Diese Umstände zusammengenommen, haben es ermöglicht, das racemische Alanin, die Asparaginsäure und die Glutaminsäure in die optisch-activen Componenten zu zerlegen.

Als active Basen haben sich wieder Strychnin und Brucin, welche ich in der Zuckergruppe für diesen Zweck zuerst benutzte, besonders bewährt.

So wird aus dem racemischen Benzoylalanin schon durch zweimalige Krystallisation des Brucinsalzes aus Wasser eine active Form in reinem Zustande gewonnen, welche ich *l*-Benzoylalanin nenne. Die entsprechende *d*-Verbindung wurde aus den Mutterlaugen durch

<sup>1)</sup> z. B. für Glutaminsäure, Gazz. chim. 24 (I), 378.

<sup>2)</sup> Diese Berichte 17, 2339.

Darstellung des Strychninsalzes rein erhalten. Aus den beiden Benzoylverbindungen lassen sich dann durch Spaltung mit Salzsäure die beiden activen Alanine darstellen. In salzsaurer Lösung drehen dieselben recht erheblich, dagegen ist das Drehungsvermögen der freien Amidosäuren so schwach, dass es bei verdünnten Lösungen leicht übersehen wird. Wegen dieser Eigenschaft sind die optisch-activen Alanine wahrscheinlich bisher der Beobachtung entgangen. Denn ich zweifle nicht daran, dass man schon versucht hat, durch Pilzgährung das so leicht zugängliche, racemische Alanin zu spalten, was in der That, wie ich später zeigen werde, möglich zu sein scheint. Ebenso glaube ich, dass das Alanin, welches Weyl<sup>1)</sup> aus Seide durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure gewonnen hat, trotz der scheinbaren Inactivität in Wirklichkeit doch eine von den beiden optisch-activen Modificationen gewesen ist. Ich werde übrigens diese Vermuthung noch experimentell prüfen.

Die racemische Benzoylasparaginsäure lässt sich durch Brucin allein vollständig in die Componenten trennen, da bei der einen Form das neutrale Salz, bei der anderen das saure schwerer löslich ist. Aus den Benzoylverbindungen wurden dann die beiden activen Asparaginsäuren durch Kochen mit Salzsäure im reinen Zustand gewonnen.

Bei der racemischen Benzoylglutaminsäure ist weder das saure, noch das neutrale Brucinsalz trotz des grossen Krystallisationsvermögens für die Spaltung brauchbar. Dagegen gelingt dieselbe mit dem neutralen Strychninsalz. Diese Methode giebt die Benzoyl-*l*-glutaminsäure und weiterhin die *l*-Glutaminsäure in ganz reinem Zustand. Die Benzoyl-*d*-glutaminsäure liess sich aus den Mutterlaugen fast rein isoliren, weil sie von der gleichzeitig vorhandenen racemischen Verbindung durch ihre viel grössere Löslichkeit in Wasser und ihre geringere Neigung zu krystallisiren getrennt werden kann. Ihre Spaltung gab dann die natürliche *d*-Glutaminsäure, welche durch Umkrystallisiren aus starker Salzsäure völlig gereinigt werden kann und deren totale Synthese dadurch ermöglicht wird.

Für diese Versuche bedurfte ich grösserer Mengen der Benzoyl-amidosäuren, welche keineswegs leicht zugänglich und von denen die Derivate der Asparagin- und Glutamin-Säure nicht einmal bekannt sind. Der Grund dafür ist die Unvollkommenheit der bisher für die Benzoylirung von Amidosäuren benutzten Methoden. Das bekannte Schotten-Baumann'sche Verfahren, welches von Baum auf diese Körperklasse zuerst übertragen wurde, giebt beim Glykocoll noch ganz gute Resultate; dagegen lässt die Ausbeute beim Alanin schon zu wünschen übrig, und bei der Asparaginsäure bezw.

<sup>1)</sup> Diese Berichte 21, 1530.

Glutaminsäure erhält man durch Behandlung mit Benzoylchlorid in wässriger Lösung bei Abwesenheit oder bei Anwesenheit von Alkali, Pyridin oder ähnlichen Basen nur ganz kleine Mengen der Benzoylkörper.

Ausgezeichnet werden dagegen die Resultate, wenn man in wässriger Lösung bei Gegenwart von viel Natriumbicarbonat mit einem erheblichen Ueberschuss von Benzoylchlorid operirt. Das Verfahren hat sich auch bei dem Alanin, Leucin und Tyrosin<sup>1)</sup> bewährt. Es scheint deshalb allgemeiner brauchbar zu sein und wird voraussichtlich auch gute Dienste bei der Aufsuchung neuer Amidosäuren leisten.

Von befreundeter Seite wurde ich nachträglich darauf aufmerksam gemacht, dass in dem Lehrbuch von Meyer-Jacobson (Bd. II, S. 546) nach einer Privatmittheilung des Hrn. Bamberger für die Benzoylirung von alkaliempfindlichen Körpern die Anwendung von Natriumbicarbonat bereits empfohlen worden ist. Man erkennt aber leicht, dass es sich hier, wo die Producte gegen Alkali beständig sind, um einen ganz anderen, wie es scheint, specifischen Einfluss des Bicarbonats handelt.

#### Spaltung des racemischen Benzoylalanins.

Für die Bereitung des Benzoylalanins wurde zuerst das Verfahren von Baum<sup>2)</sup>, Schütteln einer schwach alkalischen Lösung von Alanin mit Benzoylchlorid, angewandt. Da aber die Ausbeuten stark schwankten und immer erheblich hinter der Theorie zurückblieben (die höchste Ausbeute an Rohproduct betrug 70 pCt. der Theorie, in anderen Fällen wurden nur 30 pCt. erhalten), so wurde schliesslich an Stelle des Alkalis Natriumbicarbonat verwendet und dabei ein recht gutes Resultat erzielt.

3 g Alanin wurden in 30 ccm Wasser gelöst, dann 22 g gepulvertes Bicarbonat und in kleinen Portionen 14.5 g Benzoylchlorid (3 Mol.) hinzugegeben und bei Zimmertemperatur tüchtig geschüttelt. Nach ca. 1 Stunde war das Benzoylchlorid verschwunden, und als die filtrirte Flüssigkeit mit Salzsäure übersättigt wurde, schied sich ein dicker Krystallbrei ab, welcher aus Benzoësäure und Benzoylalanin bestand. Derselbe wurde nach längerem Stehen filtrirt, ge-

<sup>1)</sup> Die Derivate des Leucins und Tyrosins sind in dieser Abhandlung nicht weiter erwähnt, sollen aber später genauer beschrieben werden. Das erstere, aus käuflichem Leucin dargestellt, ist das Monobenzoylderivat, es krystallisirt aus einer Mischung von Aether und Ligroin in schönen Prismen vom Schmp. 126—128°. Dagegen gab das active Tyrosin ein Dibenzoylproduct, welches aus Eisessig in farblosen Nadeln vom Schmp. 210—211° krystallisirt.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie 9, 465.

waschen, getrocknet und zur Entfernung der Benzoëssäure wiederholt mit Ligroïn ausgekocht. Die Ausbeute an rohem Benzoylalanin betrug 6 g, während 6.15 g berechnet sind. Einmaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser gab 4.5 g reines Präparat. Der Schmelzpunkt wurde, wie von Baum angegeben, bei 162—163° (corr. 165—166°) gefunden.

Der Versuch lässt sich ebenso leicht in grösserem Maassstabe ausführen.

#### *l*-Benzoylalanin.

Zur Abscheidung des linksdrehenden Benzoylalanins ist, wie schon erwähnt, das Brucinsalz besonders geeignet. Zur Darstellung desselben werden 65 g racemisches Product mit 157 g krystallwasserhaltigem Bruciu in 240 ccm Wasser heiss gelöst. Aus der kalt gewordenen Flüssigkeit scheidet sich im Laufe von 15 Stunden bei 0° ein Brucinsalz in harten Krusten ab, welche aus rosettenförmig gruppirten, flachen Prismen oder Tafeln bestehen. Dasselbe wurde zur Reinigung zweimal aus je 100 ccm Wasser umkrystallisirt und jedesmal erst nach 12-stündigem Stehen im Eisschrank filtrirt. Die Ausbeute betrug dann noch 84 g trocknes Salz, während 99 g berechnet sind, und das Product bestand aus centimeterlangen, meist zugespitzten Tafeln, welche grösstentheils kugel- oder rosettenförmig gruppirt waren. Analysirt wurde es nicht.

Zur Wiedergewinnung des Benzoylalanins löst man 20 g des Salzes in 60 ccm heissem Wasser, fügt 35 ccm Normal-Kalilauge hinzu, wodurch bald das Brucin ausgefällt wird, kühlt zur möglichsten Abscheidung desselben auf 0° ab und filtrirt auf der Pumpe. Die Mutterlauge wird mit 35 ccm Normal-Salzsäure angesäuert, unter vermindertem Druck bei 40—50° stark eingedampft und abgekühlt. Dabei fällt das active Benzoylalanin zunächst als Oel aus, welches aber bald krystallinisch erstarrt. 20 g Brucinsalz lieferten 4.8 g dieses Productes. Durch einmaliges Umkrystallisiren aus der fünf-fachen Menge heissem Wasser erhält man dasselbe ganz rein. Es krystallisirt aus Wasser in schönen, glänzenden Platten, welche häufig die Form eines Dachgiebels haben. Es schmilzt glatt bei 147—148° (corr. 150—151°), also erheblich niedriger, als das inactive Alanin, welches mithin eine wahre racemische Verbindung ist. Die an der Luft getrocknete Substanz verlor bei 100° nicht mehr an Gewicht.

0.2018 g Sbst.: 0.4592 g CO<sub>2</sub>, 0.1031 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>. Ber. C 62.18, H 5.7.

Gef. » 62.06, » 5.68.

Die Substanz löst sich bei 20° in 85 Theilen Wasser (für die Herstellung der Lösung wurde die fein gepulverte Substanz 6 Stunden mit Wasser geschüttelt). Eine Lösung, welche 0.99 pCt. enthielt,

drehte bei  $20^{\circ}$  im 4-Decimeterrohr das Natriumlicht  $0.13^{\circ}$  nach links, sodass  $[\alpha]_D^{20} = -3.3^{\circ}$ .

Wegen der geringen Löslichkeit der Säure wurde für die genaue optische Bestimmung die alkalische Lösung gewählt.

1.5 g Substanz wurden in 7.8 ccm Normalkalilauge (berechnet 7.77 ccm) und ca. 5.7 ccm Wasser gelöst. Das Gesamtgewicht der Flüssigkeit betrug 15.145 g, das spezifische Gewicht 1.0427, der Procentgehalt an Benzoylalanin 9.904 und die Drehung bei  $20^{\circ}$  im 2-Decimeterrohr bei Natriumlicht  $7.7^{\circ}$  nach links. Mithin beträgt für *l*-Benzoylalanin in wässrig-alkalischer Lösung die spezifische Drehung  $[\alpha]_D^{20} = -37.3^{\circ}$ .

Um zu prüfen, ob das untersuchte Benzoylalanin schon ganz frei von racemischer Verbindung sei, wurde eine andere Menge des Brucinsalzes doppelt so oft aus Wasser umkrystallisirt. Das daraus isolirte Benzoylalanin zeigte denselben, oben angegebenen Schmelzpunkt, und die optische Bestimmung gab für die alkalische Lösung  $[\alpha]_D^{20} = -37.4^{\circ}$ .

Das Benzoylalanin ist der Hippursäure recht ähnlich. Von den Salzen hat die Silberverbindung besonders schöne Eigenschaften. Sie fällt als krystallinischer Niederschlag aus, wenn die neutrale Lösung des Benzoylalanin-Ammoniaks mit Silbernitrat versetzt wird, und lässt sich auch durch Kochen der Säure mit Silberoxyd in wässriger Lösung darstellen. Sie ist selbst in heissem Wasser ziemlich schwer löslich und färbt sich beim längeren Stehen am Licht langsam dunkel.

#### *l*-Alanin.

Die hydrolytische Spaltung des Benzoylalanins durch Säuren geht ziemlich langsam von Statten. Als 5 g der Verbindung mit 25 ccm Salzsäure von 20 pCt. 5 Stunden auf  $100^{\circ}$  erhitzt wurden, war die Reaction noch nicht ganz beendet. Beim Erkalten schied sich ein dicker Brei von Benzoesäure ab, welcher ausgeäthert wurde. Dabei geht auch das unveränderte Benzoylalanin mit in den Aether über; es lässt sich leicht isoliren, indem man den Aether verdampft und den Rückstand mit Ligroïn auskocht, wobei nur die Benzoesäure gelöst wird. Die Menge des zurückgewonnenen Benzoylalanins betrug hier 1 g. Die salzsaure Lösung enthält nach dem Ausäthern das *l*-Alanin, dessen Hydrochlorat beim Verdampfen als farblose, krystallinische Masse zurückbleibt. Dasselbe wurde zur völligen Reinigung in nicht zu viel warmem, absolutem Alkohol gelöst und nach Zusatz von einigen Tropfen alkoholischer Salzsäure durch allmählichen Zusatz von Aether wieder abgeschieden. Es fiel dabei in sehr feinen, farblosen Nadeln aus, welche im Vacuum getrocknet, bei

100° nicht mehr an Gewicht verloren und den der Formel  $C_3H_7NO_2$ , HCl entsprechenden Chlorgehalt zeigten.

0.2343 g Sbst.: 0.2655 g AgCl.

$C_3H_7NO_2$ , HCl. Ber. Cl 28.29. Gef. Cl 28.03.

Das Salz ist in Wasser sehr leicht löslich und dreht das polarisirte Licht nach links.

Angewandt 1.0248 g Substanz; das Gesamtgewicht der Lösung betrug 11.0198 g, das spec. Gewicht 1.0278, der Procentgehalt an Alaninchlorhydrat 9.2996 und die Drehung bei 20° im 2 dm-Rohr bei Natriumlicht 1.85° nach links. Daraus berechnet sich die spec. Drehung  $[\alpha]_D^{20} = -9.68^\circ$ .

Zur Darstellung der freien Amidosäure ist die Zerlegung des Hydrochlorats mit Silberoxyd nicht zu empfehlen. Bessere Resultate giebt gefälltes Bleioxyd oder Bleihydroxyd. Zu dem Zweck wird das Hydrochlorat in ca. 30 Theilen Wasser gelöst und mit einem Ueberschuss von Bleioxyd, welches durch Eingiessen einer Bleiacetatlösung in warme Barytlösung dargestellt ist, 15 Minuten gekocht, bis eine Probe des Filtrats kaum noch eine Chlorreaction liefert. Die filtrirte Lösung wird dann mit Schwefelwasserstoff entbleit und verdampft, wobei das *l*-Alanin als fast farblose, krystallinische Masse zurückbleibt. Die Ausbeute ist, auf das Hydrochlorat berechnet, fast quantitativ. Zur völligen Reinigung wird das Präparat in der fünffachen Menge Wasser gelöst und in der Hitze Alkohol bis zur beginnenden Krystallisation hinzugefügt. Beim Erkalten fällt dann das *l*-Alanin in farblosen Stäbchen oder dünnen Prismen aus, welche, im Exsiccator getrocknet, wasserfrei sind und folgende Zahlen gaben:

0.1796 g Sbst.: 0.2658 g  $CO_2$ , 0.1252 g  $H_2O$ .

$C_3H_7NO_2$ . Ber. C 40.45, H 7.86. Gef. C 40.36, H 7.75.

Das *l*-Alanin zersetzt sich beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 297° unter stürmischer Gasentwicklung, unterscheidet sich also in dieser Beziehung nicht viel von der racemischen Verbindung, die sich an demselben Thermometer bei 293° zersetzte. Es löst sich sehr leicht in heissem Wasser und krystallisirt daraus bei genügender Concentration in der Kälte. Es löst beim Kochen gefälltes Kupferoxyd in reichlicher Menge mit blauer Farbe auf.

Das Drehungsvermögen des *l*-Alanins ist sehr gering. Eine wässrige Lösung, die 8.8 pCt. Alanin enthielt, drehte bei Natriumlicht im 1 dm-Rohr ca. 0.21° nach links. Bei Anwendung von violettem Licht drehte dieselbe Lösung ca. 0.44° nach links.

Durch Benzoylchlorid wird die Verbindung bei Gegenwart von Natriumbicarbonat glatt in das *l*-Benzoylalanin zurückverwandelt, dessen Reinheit durch die Bestimmung der specifischen Drehung in alkalischer Lösung (gef. 36.8°) controllirt wurde.

*d*-Benzoylalanin.

Dasselbe befindet sich in der Mutterlauge, welche das *l*-Benzoylalanin als Brucinsalz abgeschieden hat. Zu seiner Gewinnung wurde die aus dem obigen Versuch mit 65 g racemischem Benzoylalanin resultirende erste Mutterlauge mit dem doppelten Volumen Wasser verdünnt, dann zur Fällung des Brucins mit 250 ccm Normal-Kalilauge versetzt, abgekühlt, filtrirt und die Lösung mit 250 ccm Normalsalzsäure angesäuert. Aus der klaren Flüssigkeit schieden sich im Lauf von 15 Stunden 9 g grosse, schwach gelb gefärbte Prismen ab, welche zum grössten Theil aus racemischem Benzoylalanin bestanden. Die Mutterlauge gab, nachdem sie durch Verdampfen im Vacuum stark concentrirt war, noch 18 g eines krystallisirten Productes, welches nach der optischen Untersuchung einer Probe aus ca. 90 pCt. *d*-Benzoylalanin und 10 pCt. racemischer Verbindung bestand. Durch Umkrystallisiren aus Wasser lässt sich die letztere Beimengung nicht gut entfernen, weil sie schwerer löslich ist, als die active Form. Man gelangt deshalb rascher zum Ziel durch Verwandlung in das Strychninsalz.

Zu dem Zweck wurden 13.3 g von dem erwähnten Product mit 23 g Strychnin in 300 ccm heissem Wasser gelöst. Beim mehrstündigen Stehen in der Kälte schieden sich schöne, dicke Tafeln oder flache Prismen aus, welche öfters an Briefcouverts erinnerten. Dieselben wurden noch viermal aus je 300 ccm Wasser umkrystallisirt. Die Ausbeute betrug dann zuletzt 20.5 g. Das reine Salz fällt aus der concentrirten Lösung in grossen Tafeln, welche meist zu dicken Aggregaten verwachsen sind. Aus der verdünnten Lösung krystallisiren dagegen beim mehrtägigen Stehen glänzende, schön ausgebildete, dicke Platten oder auch Prismen.

Zur Umwandlung in das *d*-Benzoylalanin wurden 20 g des Salzes in 600 ccm Wasser gelöst, mit 40 ccm Normal-Kalilauge zerlegt, abgekühlt, filtrirt und die Mutterlauge mit 40 ccm Normal-Salzsäure angesäuert. Die im Vacuum stark concentrirte Flüssigkeit schied dann beim Abkühlen das reine *d*-Benzoylalanin ab. Die Ausbeute betrug 5.2 g. Der relativ grosse Verlust ist hauptsächlich durch das häufige Umkrystallisiren des Strychninsalzes bedingt.

Die Substanz schmilzt genau so wie die *l*-Verbindung bei 147—148° (corr. 150—151°), und die optische Bestimmung gab folgendes Resultat:

Eine Lösung vom Gewicht 11.199 g, welche 1.0312 g Substanz mit der für 1 Mol. berechneten Menge Kaliumhydroxyd enthielt und das spec. Gewicht 1.0397 hatte, drehte im 2 dm-Rohr bei 20° das Natriumlicht 7.11° nach rechts. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D^{20} = +37.13^\circ$ , während bei dem *l*-Benzoylalanin unter denselben Bedingungen  $-37.4^\circ$  gefunden wurde.



*d*-Alanin.

Dasselbe wird durch Spaltung des Benzoylderivats genau in derselben Weise wie die *l*-Verbindung gewonnen. Die optische Bestimmung des salzsauren Salzes gab folgendes Resultat:

Eine Lösung von 7.4963 g, welche 0.644 g Chlorhydrat (bei 100° getrocknet) enthielt und das spec. Gewicht 1.0242 hatte, drehte bei 20° im 1 dm-Rohr das Natriumlicht 0.84° nach rechts. Mithin  $[\alpha]_D^{20} = +9.55^\circ$ , während bei der *l*-Verbindung  $-9.68^\circ$  gefunden wurde.

Sowohl das salzsaure Salz wie die freie Amidosäure sind, abgesehen von dem optischen Verhalten, den *l*-Verbindungen ganz gleich.

Versuch, das  $\gamma$ -Alanin durch Schimmelpilze zu spalten.

Penicillium glaucum wächst auf einer 2-procentigen Alaninlösung, welche mit Nährsalzen versetzt ist, recht schlecht. Etwas besser entwickelt sich Aspergillus niger, und dabei findet eine partielle Vergärung statt, wie folgende Beobachtung zeigt:

1 g  $\gamma$ -Alanin wurde in 50 ccm Wasser gelöst, dazu 1 ccm einer Salzlösung zugegeben, die in 100 ccm 0.1 g Kaliumphosphat und 0.02 g Magnesiumsulfat enthielt. Als die sterilisirte Lösung mit Sporen von Aspergillus niger geimpft worden war und bei 33° im Brutschrank stehen blieb, begann schon nach einem Tage die Mycelbildung. Nach 15 Tagen war eine ziemlich starke Pilzdecke mit reichlicher Conidienbildung entstanden. Die bräunlich gefärbte Flüssigkeit wurde jetzt filtrirt, mit Thierkohle entfärbt und eingedampft. Der Rückstand betrug 0.9 g, sodass nur ein kleiner Theil des Alanins vergohren war. Dieses Product, mit der berechneten Menge Salzsäure und Wasser zu 4 ccm gelöst, drehte im 1 dm-Rohr 0.15° nach links. Offenbar war also ein Theil des *d*-Alanins durch den Pilz verzehrt, aber die Spaltung blieb doch sehr unvollkommen, denn sie entsprach nur etwa 10 pCt. des Racemkörpers. Die Aussicht, auf diesem Wege reines *l*-Alanin zu gewinnen, ist also nicht sehr gross, und die zuvor beschriebene chemische Methode dürfte deshalb den Vorzug verdienen.

Benzoylirung der *l*-Asparaginsäure.

Beim Schütteln einer Lösung von Asparaginsäure in Natronlauge oder Pyridin mit Benzoylchlorid liess sich kein Benzoylderivat erhalten. Besser war das Resultat, als die wässrige Lösung der Säure zur Anwendung kam; nur ist man hier genöthigt, bei starker Verdünnung zu arbeiten, und die Ausbeute lässt auch noch viel zu wünschen übrig. Sehr befriedigend war letztere bei Zusatz von Bicarbonat.

Man suspendirt 15 g käufliche Asparaginsäure in 250 ccm Wasser, setzt 83 g Natriumbicarbonat hinzu und trägt dann unter dauerndem

kräftigem Schütteln allmählich 45 g Benzoylchlorid ein. Unter Kohlensäureentwicklung geht dasselbe in Lösung, und die Reaction kann in  $\frac{3}{4}$ —1 Stunde zu Ende geführt werden. Die schwach getrübbte Flüssigkeit wird jetzt filtrirt, mit 90 ccm Salzsäure vom spec. Gewicht 1.19 versetzt und der Niederschlag nach einigem Stehen in Eiswasser filtrirt, getrocknet und dann zur Entfernung der Benzoëssäure wiederholt mit Ligroïn ausgekocht. Die zurückbleibende Benzoylasparaginsäure wird aus heissem Wasser umkrystallisirt. An der Luft getrocknet, ist die Substanz wasserfrei, wodurch sie sich von der gleich zu beschreibenden racemischen Verbindung scharf unterscheidet.

0.2018 g Sbst.: 0.4132 g  $\text{CO}_2$ , 0.0878 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}_5$ . Ber. C 55.70, H 4.64.

Gef. » 55.84, » 4.83.

Sie löst sich in etwa 3—4 Theilen heissem Wasser und in 261 Theilen Wasser von  $20^\circ$ . Aus warmem Wasser krystallisirt sie in Nadeln oder langen, schmalen Blättchen und schmilzt bei  $180$ — $181^\circ$  (corr.  $184$ — $185^\circ$ ) ohne Zersetzung.

In alkalischer Lösung dreht sie das polarisirte Licht nach rechts. Für die quantitative Bestimmung diente eine Lösung, welche mit der für 2 Mol. KOH berechneten Menge Normalkalilauge und Wasser hergestellt war, 9.0167 pCt. Benzoyl-*l*-Asparaginsäure enthielt und das spec. Gewicht 1.0592 besass. Die Drehung betrug bei  $20^\circ$  im 2-Decimeterrohr bei Natriumlicht  $7.15^\circ$  nach rechts. Daraus berechnet sich für Benzoyl-*l*-Asparaginsäure bei Gegenwart von 2 Mol. KOH  $[\alpha]_D^{20} = +37.4^\circ$ . Merkwürdigerweise ist diese Zahl ebenso gross, wie bei dem activen Benzoylalanin.

*r*-Benzoylasparaginsäure. Für ihre Bereitung benutzte ich inactive Asparaginsäure, welche nach der Vorschrift von Michael und Wing<sup>1)</sup> dargestellt war. Das Verfahren war das gleiche wie bei der activen Verbindung. Die Ausbeute an Benzoylproduct betrug vor dem Umkrystallisiren aus Wasser 85 pCt. der Theorie. Für die Analyse wurde dasselbe zweimal aus Wasser umkrystallisirt. Die so erhaltenen, glänzenden, farblosen Platten, welche meist zu dicht verwachsenen Aggregaten vereinigt sind, enthalten im lufttrocknen Zustand 1 Mol. Krystallwasser, welches beim zweistündigen Erhitzen auf  $110^\circ$  völlig entweicht.

0.8718 g Sbst. verloren 0.0644 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}_5 + \text{H}_2\text{O}$ . Ber.  $\text{H}_2\text{O}$  7.06. Gef.  $\text{H}_2\text{O}$  7.39.

Die wasserfreie Substanz gab folgende Zahlen:

0.2360 g Sbst.: 0.4816 g  $\text{CO}_2$ , 0.0980 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}_5$ . Ber. C 55.70, H 4.64.

Gef. » 55.65, » 4.61.

<sup>1)</sup> Diese Berichte 17, 2984.

Das trockne Product schmilzt bei 161—162° (corr. 164—165°) ohne Zersetzung. Es löst sich in 3—4 Theilen heissem Wasser. Für die Löslichkeit in kaltem Wasser hat man zu unterscheiden zwischen der trocknen und der krystallwasserhaltigen Säure. Die letztere verlangt zur Lösung 664 Theile Wasser von 20° (die Lösung wurde durch sechsstündiges Schütteln der fein gepulverten Substanz mit Wasser dargestellt). Die trockne Säure ist dagegen viel leichter löslich. Schüttelt man deshalb die gepulverte, trockne Substanz mit etwa 200 Theilen Wasser, so entsteht zunächst eine klare Lösung, dann aber erfolgt sehr bald die Krystallisation der wasserhaltigen Verbindung. Die im Vergleich zu der activen Substanz geringe Löslichkeit in Wasser sowie der Wassergehalt der Krystalle beweisen, dass die Substanz eine wahre racemische Verbindung und kein mechanisches Gemisch der beiden optischen Formen ist.

#### Zerlegung der racemischen Benzoylasparaginsäure in die optisch-activen Componenten.

Dieselbe lässt sich ebenfalls mit Brucin ausführen und liefert sogar beide optischen Isomeren im reinen Zustand. Denn die Benzoylasparaginsäure bildet mit der Base ein neutrales und ein saures Salz, von welchen das eine bei der *l*-Verbindung und das andere bei der *d*-Verbindung schwerer löslich ist.

20 g wasserhaltige *r*-Benzoylasparaginsäure werden mit 78 g Brucin (2 Mol.) in 200 ccm Wasser heiss gelöst. Beim 12—15-stündigen Stehen der abgekühlten Lösung scheiden sich farblose Nadeln oder Blättchen ab, welche meist zu kugeligen Aggregaten vereinigt sind. Sie bestehen der Hauptmenge nach aus dem Brucinsalz der Benzoyl-*l*-asparaginsäure, welches aber erst durch häufig wiederholtes Umlösen aus heissem Wasser von dem Isomeren getrennt werden kann. Bei der vierten Krystallisation aus 200 ccm Wasser trat schon ein deutlicher Unterschied hervor; denn zuerst schieden sich grosse Prismen oder Tafeln ab, und die abgegossene Mutterlauge lieferte dann beim mehrstündigen Stehen feine, glänzende, meist kugelig vereinigte Nadeln. Diese Erscheinung wiederholte sich beim weiteren Umkrystallisiren der grossen Tafeln, und erst nach dreimaliger Krystallisation war das Salz ganz rein. Die Ausbeute betrug ungefähr 50 pCt. der Theorie.

Zur Isolirung der Benzoylasparaginsäure wurden 25 g des Brucinsalzes in 200 ccm Wasser warm gelöst, mit 50 ccm Normal-Kalilauge versetzt, auf 0° abgekühlt, filtrirt, die Mutterlauge mit 50 ccm Normal-Salzsäure versetzt und unter stark vermindertem Druck eingedampft. Die Ausbeute ist nahezu quantitativ.

Das Product schmolz bei  $180-181^{\circ}$  (corr.  $184-185^{\circ}$ ) und zeigte unter denselben Bedingungen, wie sie oben beschrieben sind, auch das Drehungsvermögen der Benzoyl-*l*-asparaginsäure (gefunden  $[\alpha]_D^{20} = +37.4^{\circ}$ ).

#### Verwandlung der Benzoylverbindung in *l*-Asparaginsäure.

Die Spaltung findet vollständig statt, wenn die Benzoylverbindung mit der achtfachen Menge 10-procentiger Salzsäure  $2\frac{1}{2}$  Stunden auf  $100^{\circ}$  erhitzt wird. Die abgeschiedene Benzoesäure wird ausgeäthert, und beim Verdampfen der wässrigen Lösung bleibt das Chlorhydrat der Asparaginsäure zurück. Löst man dasselbe in wenig Wasser und versetzt mit der berechneten Menge Normal-Kalilauge, so scheidet sich in der Kälte die Asparaginsäure ab. Zum Vergleich mit der gewöhnlichen, natürlichen Verbindung wurde die optische Untersuchung in alkalischer Lösung ausgeführt.

Eine Lösung vom Gewicht 11.5923 g, welche 0.3853 g Substanz und 3 Mol.-Gew. Natriumhydroxyd enthielt und das spec. Gewicht 1.0394 besass, drehte im 2-Decimeterrohr bei  $20^{\circ}$  das Natriumlicht  $0.155^{\circ}$  nach links. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D^{20} = -2.24^{\circ}$ .

Zum Vergleich wurde reine, künstliche Asparaginsäure (aus gewöhnlichem Asparagin), welche nochmals aus Wasser umkrystallisirt und deren Reinheit durch eine Stickstoffbestimmung und durch Alkalimetrie controllirt war, zunächst ganz unter den gleichen Bedingungen untersucht:

Eine Lösung von 13.2857 g, welche 0.4454 g Substanz und 3 Mol.-Gew. Natriumhydroxyd enthielt und das spec. Gewicht 1.0398 besass, drehte bei  $20^{\circ}$  im 2-Decimeterrohr das Natriumlicht  $0.165^{\circ}$  nach links. Mithin  $[\alpha]_D^{20} = -2.37^{\circ}$ .

Dann wurden noch zwei weitere Versuche bei grösserer Concentration und mit 2 Mol.-Gew. Base ausgeführt. Sie zeigen, dass mit steigender Concentration die spezifische Drehung abnimmt: •

1. Eine Lösung von 20.4814 g, welche 1.2290 g Substanz und 2 Mol.-Gew. Natriumhydroxyd enthielt und das spec. Gewicht 1.0521 besass, drehte bei  $20^{\circ}$  im 2-Decimeterrohr das Natriumlicht  $0.24^{\circ}$  nach links. Mithin  $[\alpha]_D^{20} = -1.9^{\circ}$ .

2. Eine Lösung von 12.3382 g, welche 1.1382 g Substanz und 2 Mol.-Gew. Natriumhydroxyd enthielt und das spec. Gewicht 1.0811 besass, drehte bei  $20^{\circ}$  im 2 dm-Rohr das Natriumlicht  $0.23^{\circ}$  nach links. Mithin  $[\alpha]_D^{20} = -1.15^{\circ}$ .

Diese Werthe stimmen leidlich überein mit den Angaben von Pasteur<sup>1)</sup> über die spezifische Drehung des asparaginsäuren Natriums.

<sup>1)</sup> Ann. d. Chem. 82, 328.

welche er für eine 13-procentige Lösung bei  $12^{\circ}$  und für weisses Licht  $-2.23^{\circ}$  fand. Sie weichen dagegen stark von den Angaben A. Becker's<sup>1)</sup> ab. Letzterer fand unter Bedingungen, wie die oben innegehaltenen, und bei einem Natriumgehalt, welcher von 1—5 Mol.-Gew. schwankte, die specifische Drehung der Asparaginsäure  $[\alpha]_D = -9.04$  bis  $-9.07^{\circ}$ .

Da zur Zeit von Becker's Untersuchung für die Darstellung der Asparaginsäure eine bequeme Methode fehlte, so ist zu vermuthen, dass er ein unreines, vielleicht asparaginhaltiges Material für seine Bestimmungen benutzt hat.

**Benzoyl-*d*-asparaginsäure:** Dieselbe befindet sich in den Mutterlaugen, aus welchen das benzoyl-*l*-asparaginsäure Brucin auskrystallisirt ist. Zu ihrer Reinigung dient, wie schon erwähnt, das saure Brucinsalz. Um dasselbe darzustellen, ist es aber zunächst nöthig, die Benzoylasparaginsäure aus den Laugen zu isoliren. Das geschah, wie bei dem obigen Versuch, durch Fällen des Brucins mit überschüssiger Kalilauge, Ansäuern des Filtrats mit der entsprechenden Menge Salzsäure und Concentriren durch Eindampfen im Vacuum. Aus den Mutterlaugen des obigen Versuches wurden im Ganzen 11 g trockne Benzoylasparaginsäure zurückgewonnen.

Als 10.3 g davon mit 20.3 g Brucin (1 Mol.) in 100 ccm heissem Wasser gelöst waren, schied sich beim längeren Stehen der erkalteten Flüssigkeit das saure Brucinsalz in kleinen, hübsch ausgebildeten Prismen ab. Das Salz wurde zunächst dreimal aus je 150 ccm Wasser umkrystallisirt. Seine Menge betrug dann 14 g. Da die aus einer Probe regenerirte Benzoyl-*d*-asparaginsäure bei der optischen Untersuchung noch etwas zu schwaches Drehungsvermögen zeigte, so wurde das Salz noch zweimal in der gleichen Art aus Wasser umgelöst. Die jetzt isolirte Benzoyl-*d*-asparaginsäure schmolz bei  $180-181^{\circ}$  (corr.  $184-185^{\circ}$ ) und hatte auch das Drehungsvermögen des optischen Antipoden.

0.523 g Substanz wurde mit 2 Mol.-Gew. KOH und Wasser gelöst; das Gesamtgewicht der Lösung betrug 5.3669 g und das spec. Gewicht 1.065. Sie drehte im 1 dm-Rohr das Natriumlicht  $3.9^{\circ}$  nach links. Daraus berechnet sich für Benzoyl-*d*-asparaginsäure in alkalischer Lösung  $[\alpha]_D^{20} = -37.6^{\circ}$ . Die Differenz mit dem optischen Antipoden ( $0.2^{\circ}$ ) liegt innerhalb der Versuchsfehler.

Zur Umwandlung in die *d*-Asparaginsäure wurde die Benzoylverbindung ebenso behandelt, wie es oben für die optisch-isomere Substanz beschrieben ist. Die so erhaltene Asparaginsäure ist zweifellos identisch mit der von Piutti aus dem rechtsdrehenden Asparagin

<sup>1)</sup> Diese Berichte 14, 1037.

erhaltenen. Für die optische Bestimmung wurde hier die salzsaure Lösung benutzt.

0.3419 g Substanz wurden mit 3 Mol.-Gew. Salzsäure gelöst; das Gesamtgewicht der Lösung betrug 8.2273 g, das spec. Gewicht 1.032 und die Drehung bei  $20^\circ$  im 1 dm-Rohr bei Natriumlicht  $1.09^\circ$  nach links. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D^{20} = -25.5^\circ$ .

Zum Vergleich diene natürliche *l*-Asparaginsäure, welche unter denselben Bedingungen folgendes Resultat gab:

0.3455 g Substanz wurden mit 3 Mol.-Gew. Salzsäure gelöst; das Gesamtgewicht der Lösung betrug 8.2749, das spec. Gewicht 1.033 und die Drehung bei  $20^\circ$  im 1 dm-Rohr bei Natriumlicht  $1.107^\circ$  nach rechts. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D^{20} = +25.7^\circ$ .

Ein zweiter Versuch bei grösserer Concentration (Procentgehalt 8.8173 und spec. Gewicht 1.0705) aber sonst gleichen Bedingungen gab  $[\alpha]_D^{20} = +26.47$ .

Dieser Werth nähert sich sehr der alten von Pasteur<sup>1)</sup> angegebenen Zahl 27.86, welche ungefähr bei gleicher Concentration der Lösung, aber für weisses Licht (Uebergangsfarbe) gefunden wurde.

Stark abweichend sind dagegen wieder die Werthe, welche Becker<sup>2)</sup> gefunden hat. Ueber die vermuthliche Ursache dieser Differenz habe ich mich oben ausgesprochen.

### Benzoylglutaminsäure.

Die Benzoylirung der Glutaminsäure lässt sich, ebenso wie bei der Asparaginsäure, mit recht befriedigender Ausbeute auf nassem Wege mit Benzoylchlorid und Natriumbicarbonat ausführen. Verwendet man die racemische Glutaminsäure, so ist selbstverständlich auch das Benzoylderivat racemisch. Bei Benützung von optisch-activer, natürlicher Glutaminsäure findet dagegen eine Complication statt, indem ein Theil des Productes während des chemischen Vorganges racemisirt wird und mithin ein Gemenge von activem und racemischem Benzoylkörper erhalten wird.

Racemische Benzoylglutaminsäure: 10 g racemische Glutaminsäure werden mit 46 g Natriumbicarbonat in 150 ccm Wasser eingetragen und geschüttelt, bis die Säure in Lösung gegangen ist; ein Theil des Bicarbonats bleibt dabei ungelöst. Dazu fügt man allmählich unter dauerndem, starkem Schütteln 30 g Benzoylchlorid. Im Laufe von  $\frac{3}{4}$ —1 Std. kann die Operation bei Zimmertemperatur beendet werden. Benzoylchlorid und Bicarbonat gehen während derselben in Lösung, und die Flüssigkeit ist zum Schluss nur schwach getrübt. Jetzt wird dieselbe filtrirt und mit 50 ccm Salzsäure vom

<sup>1)</sup> Ann. d. Chem. 82, 325.

<sup>2)</sup> Diese Berichte 14, 1038.

spec. Gewicht 1.19 angesäuert. Dabei scheidet sich sofort eine reichliche Menge von Benzoëssäure ab, beim Abkühlen in Eis und längerem Stehen krystallisirt in der Regel auch der grösste Theil der Benzoylglutaminsäure. Da aber zuweilen die Krystallisation ausbleibt, so empfiehlt es sich, jedenfalls die wässrige Mutterlauge unter stark vermindertem Druck einzudampfen und dann wieder abzukühlen. Das Gemisch von Benzoëssäure und Benzoylglutaminsäure wird nach dem Trocknen wiederholt mit Ligroin ausgekocht, wobei die Benzoëssäure in Lösung geht. Die Ausbeute an Benzoylglutaminsäure beträgt ca. 80 pCt. der Theorie. Das Product wird zur Reinigung aus 4 Theilen heissem Wasser umkrystallisirt. Die farblosen, langen, schmalen Blättchen, welche öfters kugelig verwachsen sind, enthalten nach dem Trocknen an der Luft 1 Mol. Krystallwasser, welches im Vacuum bei gewöhnlicher Temperatur sehr langsam, dagegen bei 80° im Vacuum schon innerhalb 2 Stdn. völlig entweicht.

0.5769 g Sbst. verloren: 0.0369 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub> + H<sub>2</sub>O. Ber. H<sub>2</sub>O 6.69. Gef. H<sub>2</sub>O 6.40.

Die Analyse des getrockneten Productes ergab:

0.1714 g Sbst.: 0.3608 g CO<sub>2</sub>, 0.0780 g H<sub>2</sub>O.

0.2015 g Sbst.: 9.8 ccm N (17°, 764 mm).

C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>. Ber. C 57.37, H 5.18, N 5.58.

Gef. » 57.41, » 5.06, » 5.67.

Die getrocknete Säure schmilzt bei 152—154° (corr. 155—157°) zu einer farblosen Flüssigkeit. Die wasserhaltige Verbindung löst sich in 124 Theilen Wasser von 20°. (Für die Bestimmung diente eine Lösung, welche durch 5-stündiges Schütteln der gepulverten Substanz mit Wasser von 20° hergestellt war.) In Alkohol ist sie leicht löslich.

Ihre Salze mit Kalium, Natrium, Calcium und Baryum sind selbst in kaltem Wasser leicht löslich. Schwer löslich ist das Silber-salz; es krystallisirt aus der ammoniakalischen Lösung beim Wegkochen des Ammoniaks in feinen, farblosen Nadeln.

Wird die optisch-active, natürliche Glutaminsäure in der oben beschriebenen Weise benzoylirt, so beobachtet man zunächst die gleichen Erscheinungen. Aber beim Ansäuern der wässrigen Lösung mit Salzsäure bleibt das leichter lösliche Benzoylproduct in der Mutterlauge, während die Benzoëssäure auskrystallisirt. Wird das Filtrat unter stark vermindertem Druck eingedampft, so scheidet sich der Benzoylkörper zunächst als Oel ab, welches aber beim mehrtägigen Stehen krystallinisch erstarrt. Zur Entfernung der beigemengten Benzoëssäure wird ebenfalls mit Ligroin ausgekocht. Die Ausbeute an Benzoylkörper beträgt dann 60—65 pCt. der Theorie. Aus heisser, wässriger Lösung scheidet er sich zunächst wieder als Oel aus, wird aber

allmählich, besonders nach dem Einimpfen eines Krystalles, fest. Wie schon erwähnt, ist das Präparat ein Gemisch von activer und racemischer Benzoylglutaminsäure. Das beweist der unconstante Schmelzpunkt, ferner der schwankende Gehalt an Krystallwasser und endlich die optische Untersuchung in alkalischer Lösung. Aus ihrem Resultat wurde in einem Falle das Verhältniss von optisch-activem zu Racem-Körper wie 3:2 festgestellt.

Die theilweise Racemisirung der Glutaminsäure durch Benzoylirung bei niederer Temperatur ist beachtenswerth und scheint durch besondere Verhältnisse bedingt zu sein. Denn bei der Benzoylirung der activen Asparaginsäure und des activen Alanins wurde nichts Aehnliches beobachtet.

#### Spaltung der racemischen Benzoylglutaminsäure in die optischen Componenten.

Obschon die beiden Brucinsalze sehr schön krystallisiren, so sind sie doch für den vorliegenden Zweck wenig geeignet. Bessere Dienste leistet das neutrale Strychninsalz.

Zur Bereitung desselben werden 35 g wasserhaltige *r*-Benzoylglutaminsäure mit 87 g (2 Mol.) gepulvertem Strychnin in 450 ccm heissem Wasser gelöst. Nach dem Erkalten beginnt langsam die Krystallisation. Nach 20-stündigem Stehen im Eisschrank wird die Masse abgesaugt und wieder in 500 ccm heissem Wasser gelöst. Die Krystallisation erfolgt jetzt in der Kälte rascher, sodass nach 6-stündigem Stehen im Eisschrank filtrirt werden kann. Man wiederholt die Krystallisation aus der gleichen Menge Wasser noch zweimal, wobei es vortheilhaft ist, beim Auflösen einige Gramm gepulvertes Strychnin der Flüssigkeit zuzusetzen und dann zu filtriren. Bei jeder Operation werden die Krystalle des Salzes schöner, zur völligen Reinigung ist es aber nöthig, dieselben noch zweimal umzukrystallisiren, wozu wegen der geringeren Menge 400 ccm Wasser ausreichen. Das Salz bildet schliesslich feine, farblose, lange, schmale Blättchen, welche vielfach kugelförmig verwachsen sind. Die Ausbeute betrug zum Schluss 21 g, während theoretisch 60 g trocknes, actives, neutrales, benzoylglutaminsaures Strychnin der Menge der racemischen Verbindung entsprachen.

Die dem Salze zu Grunde liegende Benzoylverbindung entspricht der *l*-Glutaminsäure und ich bezeichne sie deshalb als

#### Benzoyl-*l*-glutaminsäure.

Zur Darstellung der freien Säure werden 20 g des Salzes in 400 ccm heissem Wasser gelöst, mit 48 ccm Normal-Kalilauge versetzt und das abgeschiedene Strychnin nach guter Abkühlung filtrirt. Die Mutterlauge wird mit 52 ccm Normal-Salzsäure angesäuert und im



Vacuum stark eingedampft. Beim Abkühlen der concentrirten Lösung scheidet sich die active Benzoylglutaminsäure zunächst als zähes Oel ab, welches aber bei  $0^{\circ}$  nach einiger Zeit krystallinisch erstarrt. Die Ausbeute beträgt 4.6 g. Zur Reinigung wird sie aus heissem Wasser, wovon weniger, als zwei Theile zur Lösung genügen, umkrystallisirt. Sie scheidet sich beim Erkalten langsam in meistens dreieckig geformten Blättchen oder compacten Aggregaten aus, die keine scharfe Umgrenzung zeigen. An der Luft getrocknet, enthält die Säure kein Krystallwasser.

0.17 g Sbst.: 0.3584 g  $\text{CO}_2$ , 0.0851 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}_5$ . Ber. C 57.37, H 5.18.

Gef. » 57.49, » 5.56.

Sie schmilzt bei  $128-130^{\circ}$  (corr.  $130-132^{\circ}$ ), mithin  $25^{\circ}$  niedriger, als die racemische Verbindung. Von dieser unterscheidet sie sich auch durch die viel grössere Löslichkeit in Wasser. Denn sie löst sich bei  $20^{\circ}$  schon in 21 Theilen und beim Kochen in weniger, als 2 Theilen. Die wässrige Lösung dreht rechts.

Eine Lösung von 10.6982 g, die 0.5132 g Substanz enthielt und das spec. Gewicht 1.0114 besass, drehte bei  $20^{\circ}$  im 2 dm-Rohr das Natriumlicht  $1.34^{\circ}$  nach rechts. Mithin  $[\alpha]_D^{20} = +13.81^{\circ}$ . In alkalischer Lösung dreht sie dagegen nach links.

1.0863 g, mit 2 Mol.-Gew. KOH gelöst, sodass das Gewicht der Lösung 11.4223 g und das spec. Gewicht 1.0588 betrug, drehten im 2 dm-Rohr das Natriumlicht  $3.77^{\circ}$  nach links. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D^{20}$  in alkalischer Lösung zu  $-18.7^{\circ}$ . Eine stärkere Drehung wurde nicht erhalten, wenn auch das Strychninsalz noch öfters, als oben angegeben, umkrystallisirt war, woraus man schliessen darf, dass die untersuchte Säure rein war.

Verwandlung der Benzoylverbindung in die *l*-Glutaminsäure: 1.5 g wurden mit 12 ccm 10-procentiger Salzsäure  $3\frac{1}{2}$  Stdn. auf  $100^{\circ}$  erhitzt, die in Freiheit gesetzte Benzoëssäure ausgeäthert und die salzsaure Lösung im Vacuum verdampft. Eine kleine Menge von Benzoylglutaminsäure war noch unzersetzt und mit der Benzoëssäure in den Aether gegangen. In Folge dessen betrug die Ausbeute an salzsaurer Benzoylglutaminsäure nur 0.9 g, während 1.1 g berechnet sind. Das Chlorhydrat wurde mit der berechneten Menge Normal-Kalilauge zerlegt und die abgeschiedene Säure aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle umkrystallisirt. Sie schied sich beim Erkalten in feinen, schillernden Blättchen ab und wurde für die Analyse bei  $100^{\circ}$  getrocknet.

0.2063 g Sbst.: 0.3074 g  $\text{CO}_2$ , 0.1129 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$ . Ber. C 40.82, H 6.12.

Gef. » 40.64, » 6.08.

Die Säure schmolz beim raschen Erhitzen gleichzeitig mit einem Präparat von Glutaminsäure aus Casein bei  $208^{\circ}$  (corr.  $213^{\circ}$ ) unter Zersetzung. Die Abweichung der Angaben von E. Schulze<sup>1)</sup> erklärt sich durch die Zersetzung. Für die optische Untersuchung diene die salzsaure Lösung, welche bekanntlich viel stärker dreht, als die freie Glutaminsäure.

0.2863 g *l*-Glutaminsäure wurden mit der äquimolekularen Menge Salzsäure in Wasser gelöst. Die Flüssigkeit, welche 5.4078 g wog, das spec. Gewicht 1.0233 hatte und 5.3011 pCt. Glutaminsäure enthielt, drehte im 1 dm-Rohr das Natriumlicht  $1.63^{\circ}$  nach links, woraus sich in äquimolekularer salzsaurer Lösung  $[\alpha]_D^{20} = 30.05^{\circ}$  berechnet.

Zum Vergleich diene eine *d*-Glutaminsäure aus Casein. Eine Lösung von 12.1308 g, welche 0.65 g oder 5.3583 pCt. *d*-Glutaminsäure mit der äquivalenten Menge Salzsäure enthielt und das spec. Gewicht 1.0237 hatte, drehte im 2 dm-Rohr das Natriumlicht  $3.34^{\circ}$  nach rechts. Mithin  $[\alpha]_D^{20}$  in äquimolekularer salzsaurer Lösung  $+ 30.45^{\circ}$ .

Schulze und Bosshard<sup>2)</sup> geben einen etwas höheren Werth  $31.1^{\circ}$  an, aber sie haben eine erheblich grössere Menge von Salzsäure angewandt, wodurch die kleine Differenz wahrscheinlich ihre Erklärung findet. Stark abweichend ist dagegen die Beobachtung von Scheibler<sup>3)</sup>  $[\alpha]_D = + 25.5^{\circ}$ .

#### Benzoyl-*d*-glutaminsäure.

In den Mutterlaugen, welche von der Gewinnung des benzoyl-*l*-glutaminsauren Strychnins herrühren, befindet sich alle Benzoyl-*d*-glutaminsäure, selbstverständlich neben einer geringeren Menge des optischen Isomeren. Wird daraus die Säure in Freiheit gesetzt, so scheidet sich zuerst die schwerer lösliche racemische Verbindung ab, und aus der Mutterlauge lässt sich dann die Benzoyl-*d*-glutaminsäure durch blosse Krystallisation in fast reinem Zustand gewinnen. Dem entspricht folgende Vorschrift:

Die erwähnten Mutterlaugen, welche noch ungefähr 100 g Strychninsalz enthielten, wurden auf ca. 1 L im Vacuum eingedampft, mit 230 ccm Normal-Kalilauge versetzt, das ausgefällte Strychnin nach mehrstündigem Stehen der Flüssigkeit bei  $0^{\circ}$  abfiltrirt, das Filtrat mit 240 ccm Normal-Salzsäure übersättigt und im Vacuum auf ca. 150 ccm eingedampft. Beim Erkalten schied sich die racemische Säure ab, und nach gutem Kühlen in Eiswasser betrug ihre Menge

<sup>1)</sup> Diese Berichte 16, 314.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie 10, 143.

<sup>3)</sup> Diese Berichte 17, 1728.

20 g. Als die Mutterlauge im Vacuum weiter stark eingedampft war, schied sich beim Stehen in der Kälte die active Säure als dickes Oel und der Rest des Racemkörpers in Krystallen ab. Das Oel konnte grösstentheils von den letzteren mit wenig Wasser abgeschlämmt werden; der Rest, welcher an den Krystallen haftete, wurde sammt den letzteren in wenig heissem Wasser gelöst, dann der Racemkörper durch Abkühlen wieder ausgeschieden und die Mutterlauge von Neuem zur Gewinnung des activen Productes eingedampft. Das Oel verwandelte sich im Laufe von 24 Stunden oder rascher beim Einimpfen von Kryställchen des activen Körpers in eine krystallinische Masse. Ihre Menge betrug 7.2 g. Das Präparat war gelb gefärbt, und da Thierkohle die Farbe nicht wegnimmt, so wurde es zur Reinigung in heissem Wasser gelöst und mit einem Ueberschuss von zweifach-basischem Bleiacetat versetzt. Das hierbei ausfallende Bleisalz ist zunächst undeutlich krystallinisch, verwandelt sich aber beim längeren Stehen mit der Mutterlauge in schöne Nadelchen. Es wurde filtrirt, dann in heissem Wasser suspendirt, durch Schwefelwasserstoff zersetzt und das farblose Filtrat im Vacuum bis auf einige Cubikcentimeter eingedampft. Beim längeren Stehen in der Kälte schieden sich jetzt feine, seidenglänzende Nadelchen aus, welche meist zu concentrischen Aggregaten vereinigt waren und die Flüssigkeit breitartig erfüllten. Das Präparat war noch nicht ganz frei von Racemkörpern; nach der optischen Bestimmung enthielt es von letzterem etwa 10 pCt. Eine Lösung von 11.5133 g, die 1.0715 g Substanz mit 2 Mol.-Gew. KOH enthielt und das spec. Gewicht 1.0571 hatte, drehte bei 20° im 2 dm-Rohr das Natriumlicht  $3.38^\circ$  nach rechts. Mithin  $[\alpha]_D^{20} = +17.18^\circ$ , während bei der reinen Benzoyl-*l*-glutaminsäure  $-18.7^\circ$  gefunden wurden.

Die Verunreinigung verrieth sich auch im Schmelzpunkt, denn die Substanz sinterte zwar stark bei 128°, war aber erst bei 137—139° vollständig geschmolzen.

Da eine völlige Entfernung des Racemkörpers durch blosser Krystallisation nicht zu erwarten war und auch kein anderes Salz mit einer activen Base gefunden wurde, welches die völlige Reinigung dieser Benzoyl-*d*-glutaminsäure ermöglicht hätte, so wurde das Präparat zur Darstellung der *d*-Glutaminsäure selbst benutzt, welche sich leicht als schwer lösliches Hydrochlorat von der kleinen Menge des Racemkörpers trennen lässt.

#### Synthetische *d*-Glutaminsäure.

2.5 g der oben erwähnten, noch etwas verunreinigten Benzoylverbindung wurden mit 20 ccm 10-procentiger Salzsäure 4 Stunden im Wasserbade erhitzt, dann die Benzoësäure ausgeäthert und die salz-

saure Lösung im Vacuum eingedampft. Der bald krystallinisch werdende Rückstand wurde aus 20-procentiger, heisser Salzsäure umkrystallisirt. Die Ausbeute betrug 1.2 g und nach nochmaligem Umkrystallisiren aus derselben Salzsäure 0.8 g. In wenig Wasser gelöst und mit der berechneten Menge Normal-Kali versetzt, gab das Salz die freie  $\alpha$  Glutaminsäure, welche nach dem Abkühlen in Eis filtrirt und nochmals aus Wasser umkrystallisirt wurde. Das Präparat zeigte dann beim raschen Erhitzen denselben Zersetzungspunkt  $208^{\circ}$  (corr.  $213^{\circ}$ ) wie die natürliche Glutaminsäure und ebenso in salzsaurer Lösung das Drehungsvermögen der letzteren.

Eine Lösung von 6.4137 g, die 0.3036 g Glutaminsäure und 1 Mol.-Gew. Salzsäure enthielt und das spec. Gewicht 1.0203 besass, drehte bei  $20^{\circ}$  im 1 dm-Rohr das Natriumlicht  $1.49^{\circ}$  nach rechts. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D^{20} = +30.85^{\circ}$ , während für die natürliche Glutaminsäure aus Casein  $+30.45^{\circ}$  gefunden wurden.

#### Versuch zur Spaltung der Hippursäure.

Obschon die Säure kein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthält, schien es mir doch nicht überflüssig, ihr Verhalten gegen die optisch-activen Basen zu prüfen. Zur Anwendung kamen Morphin, Strychnin, Chinin und Brucin, von welchen nur die beiden letzteren krystallisirte Salze lieferten. Besonders schön ist die Brucinverbindung.

Löst man 10 g Hippursäure und 26 g der Base in 30 ccm heissem Wasser, so scheidet sich aus der dicken Flüssigkeit nach dem Erkalten im Laufe von einigen Stunden ein dicker Brei von Krystallen ab, welcher aus mikroskopisch kleinen, unregelmässig begrenzten Blättchen besteht. Nach nochmaliger Krystallisation aus derselben Menge Wasser werden grosse, aber sehr dünne, meist sechseckige Blätter erhalten. Das Salz wurde viermal aus Wasser umkrystallisirt, wobei die schliesslich erhaltene Ausbeute auf etwa  $\frac{1}{10}$  der ursprünglichen Menge zurückging. Die daraus regenerirte Hippursäure zeigte den Schmelzpunkt des Ausgangsmaterials und in alkalischer Lösung keine wahrnehmbare Drehung.

Zur Darstellung des Chiuinsalzes wurden 3 g Hippursäure mit 6.3 g Chinin in 150 ccm Wasser heiss gelöst. Beim Erkalten fiel zunächst ein Oel aus, welches aber nach einigem Stehen zu kugeligen Krystallaggregaten erstarrte. Das Salz wurde noch zweimal aus Wasser umkrystallisirt und dann die Hippursäure regenerirt. Sie war ebenfalls optisch-inactiv. Es scheint also auf diesem Wege eine Verwandlung der Hippursäure in optisch-active Formen nicht möglich zu sein, was mit den geltenden theoretischen Anschauungen im Einklang steht.

### Spaltung des Benzoyltyrosins.

Im Gegensatz zum Tyrosin selbst bildet die von Erlenmeyer jun. synthetisch dargestellte, racemische Benzoylverbindung<sup>1)</sup> mit den Alkaloiden beständige Salze. Von diesen scheint mir gleichfalls das Brucinsalz für die Darstellung der optisch-activen Formen am meisten geeignet zu sein. Dasselbe fällt aus heissem Wasser, worin es ziemlich schwer löslich ist, beim Erkalten zunächst als zäher Syrup aus, aber beim längeren Stehen bilden sich auch Krystalle, und durch systematisches Lösen und Abkühlen liess sich daraus in erheblicher Menge ein krystallisirtes Salz darstellen, welches, mit Alkali zerlegt, actives Benzoyltyrosin lieferte. Dasselbe schmolz bei 163—164° (corr. 166—167°), d. i. mehr als 20° niedriger, als die racemische Verbindung und zeigte in alkalischer Lösung die specifische Drehung + 18.8°.

Ueber seine Verwandlung in actives Tyrosin, sowie über die Versuche zur Isolirung des optischen Antipoden hoffe ich bald Näheres mittheilen zu können. Ferner beabsichtige ich, das neue Verfahren auch für die Spaltung des racemischen Leucins und einiger anderer, synthetischer Amidosäuren zu benutzen.

---

Bei obigen Versuchen habe ich mich der eifrigen und geschickten Hülfe des Hrn. Dr. F. Hübner erfreut, wofür ich demselben besten Dank sage.

---

### 389. Le Roy W. McCay: Ueber die Sulfoxyarsensäuren.

(Eingegangen am 12. August.)

#### I.

Die Einwirkung der Alkalihydroxyde auf Arsenpentasulfid.

Nach Berzelius löst sich Arsenpentasulfid in wässrigen Alkalien zu Alkaliarseniat und Alkalisulfarseniat. Diese Behauptung von Berzelius muss auf einer falschen Beobachtung beruhen, denn in einer frisch hergestellten Lösung von Arsenpentasulfid in Alkalihydroxyd ist es mir niemals gelungen, die Anwesenheit von Arsensäure sicher nachzuweisen. Setzt man nämlich zu einer solchen Lösung (der Versuch lässt sich am bequemsten mit einer ammoniakalischen Lösung von Arsenpentasulfid ausführen) Ammoniumchlorid und dann Magnesiamischung hinzu, so fällt nichts aus. Wird die ursprüngliche Lösung aber mit etwas Arsensäure versetzt und dann mit Magnesiamischung

---

<sup>1)</sup> Diese Berichte 30, 2981 und Ann. d. Chem. 307, 138.