

67. Emil Fischer: Ueber die Ester der Aminosäuren¹⁾.

[Aus dem I. Berliner Universitätslaboratorium.]

(Eingegangen am 12. Februar.)

Wie Th. Curtius²⁾ vor längerer Zeit gezeigt hat, lassen sich die Ester des Glykocolls, welche man zwar früher schon durch Einwirkung von Jodalkyl und Alkohol erhalten, aber nur in Form ihrer Salze isolirt hatte, viel leichter durch Alkohol und Salzsäure bereiten, und die freien Ester werden aus den Hydrochloraten durch die berechnete Menge Silberoxyd als unzersetzt destillirende, stark basische Flüssigkeiten gewonnen. Er wandte das gleiche Verfahren auf das Alanin, Leucin, Tyrosin, die Aminomalonsäure und die Asparaginsäure an, begnügte sich aber hier mit der Isolirung der Hydrochlorate, welche ihm als Rohmaterial für seine bekannten Studien über aliphatische Diazverbindungen dienten.

Aus den Beobachtungen von Curtius über den Glykocolläthylester, der als Typus der ganzen Klasse dienen kann, sind zwei Verwandlungen hervorzubeben. Die eine findet in wässriger Lösung statt und führt zum sogenannten Glycinanhydrid, für welches Curtius und Schulz später die bimolekulare Formel $C_4H_6N_2O_2$ ermittelten³⁾.

Die andere erfolgt beim blossen Stehen des Esters und liefert ein Product, welches die Biuretreaction zeigt und beim Kochen mit Wasser zum Theil in eine leimähnliche Substanz übergeht.

Ueber die Ester der kohlenstoffreicheren Aminosäuren liegen sonst nur dürftige Angaben vor. Tafel⁴⁾ hat das Hydrochlorat des γ -Aminovaleriansäureäthylesters beschrieben. Liliensfeld⁵⁾ erwähnt kurz, dass er den Aethylester des Leucins und Tyrosins nach dem Verfahren von Curtius dargestellt habe. Ferner hat Röhm⁶⁾ den salzsauren Leucin-Aethylester und -Methylester bereitet und zur Reinigung bezw. Identificirung eines Leucins benutzt. Endlich haben Weidel und Roithner⁷⁾ das Hydrochlorat des β -Aminopropionsäureäthylesters dargestellt.

Bei der grossen Bedeutung, welche die Aminosäuren als Spaltungsproducte der Proteinstoffe besitzen, hielt ich eine erneute Untersuchung ihrer Ester für wünschenswerth, um bessere Methoden für

¹⁾ Der Berliner Akademie vorgelegt am 29. November 1900. Siehe Sitzungsberichte 1900, 1062.

²⁾ Diese Berichte 16, 753 [1883], 17, 953 [1884]; ferner Curtius und Goebel, Journ. für prakt. Chem. 37, 150 [1888].

³⁾ Diese Berichte 23, 3041 [1890]. ⁴⁾ Diese Berichte 22, 1862 [1889].

⁵⁾ Dubois', Archiv für Physiol. 1894, 383, 555.

⁶⁾ Diese Berichte 30, 1980 [1897].

⁷⁾ Monatsh. für Chem. 17, 179 [1896].

die Reinigung und Trennung der Aminosäuren sowie für die Bereitung ihrer Derivate zu gewinnen.

Der erste Schritt auf diesem Wege ist mir gelungen durch eine wesentliche Vereinfachung in der Darstellung der freien Ester. Das Verfahren von Curtius, die Hydrochlorate durch die genau äquivalente Menge Silberoxyd zu zerlegen, ist nicht allein kostspielig, sondern hat den viel grösseren Nachtheil, dass man die Salze isoliren muss, um die Menge des Oxyds richtig zu wählen. Diese Bedingung ist aber in allen Fällen, wo es sich um complicirte Gemische handelt, garnicht zu erfüllen.

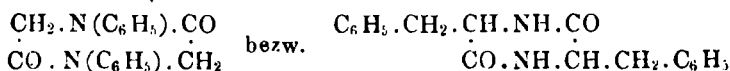
Sehr viel einfacher erreicht man dasselbe Ziel durch Alkali in concentrirter wässriger Lösung. Durch gute Abkühlung lässt sich die Verseifung der Ester vermeiden, und fügt man hinterher noch trocknes Kaliumcarbonat zu, so lassen sich auch die ganz leicht löslichen Producte so vollständig ausäthern, dass die Ausbeuten fast eben so gut sind, wie bei der Anwendung von Silberoxyd. Auf diese Weise habe ich die neutralen Aethylester des Glykocolls, Sarcosins, Alanins, der α -Aminobuttersäure, des *l*- und *r*-Leucins, der racemischen α -Aminonormalcapronsäure, des Phenylalanins, des Tyrosins, der *d*-Asparaginsäure und der *d* Glutaminsäure dargestellt.

Die Diaminosäuren konnten bisher aus Mangel an Material nicht geprüft werden; ich beabsichtige aber, diese Versuche nachzuholen.

Die Ester der Monoaminosäuren sind, mit Ausnahme des schön krystallisirten Tyrosinderivates, alkalisch reagirende Flüssigkeiten, welche sämmtlich unter vermindertem Druck unzersetzt destilliren und deren Löslichkeit in Wasser mit steigendem Molekulargewicht abnimmt. Auffallend leicht löslich in reinem Wasser sind die Derivate der Asparagin- und Glutamin-Säure. Auch im Siedepunkt bestehen, selbst bei stark vermindertem Druck, so erhebliche Differenzen, dass Gemenge durch fractionirte Destillation zerlegt werden können. Besonders eignen sich diese Ester auch zur Isolirung der Aminosäuren aus complicirten Gemischen, und ich zweifle nicht daran, dass man sie in Zukunft bei Studien über die hydrolytische Spaltung der Proteinstoffe zur Erkennung und Reinigung von Aminosäuren benutzen wird; denn Letztere können sehr leicht aus den Estern durch Kochen mit Wasser bezw. Barythydrat regenerirt werden und ausserdem lassen sich die Ester selbst durch den Siedepunkt, die verschiedene Löslichkeit in Wasser oder durch den Schmelzpunkt der meist schön krystallisirenden Pikrate unterscheiden. Die Vortheile des Verfahrens werde ich später speciell bei der Beschreibung des Leucinesters zeigen.

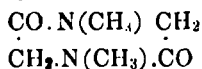
In den Estern ist die Aminogruppe ebenso reactionsfähig wie in den gewöhnlichen Aminen, und da die Ester ausserdem zum Unterschied von den freien Säuren in Alkohol, Aether, Benzol leicht löslich sind,

so erscheinen sie für die Bereitung von zahlreichen Derivaten der Aminosäuren besonders geeignet. Ich habe mich überzeugt, dass sie mit Säureanhydriden, Säurechloriden, Halogenalkylen, Isocyanaten, Senfölen, Aldehyden, Ketonen, Schwefelkohlenstoff, Phosgen energisch reagiren, sodass sie voraussichtlich bei allen Verwandlungen, welche für die einfachen primären Amine bekannt sind, denselben substituiert werden können. Einige Beispiele dafür werde ich bei der Beschreibung des Glykocollesters geben. Besonders leicht verwandeln sich die Ester auch unter Abgabe von Alkohol in Producte, die dem Glycinanhydrid entsprechen. Curtius hat die Verwandlung beim Glykocollester in wässriger Lösung beobachtet. Bei den Homologen tritt unter diesen Bedingungen nur Verseifung zu den Aminosäuren ein, sehr glatt erfolgt aber die Bildung der Anhydride beim Erwärmen in geschlossenen Gefässen auf 170–180°, sodass dies zweifellos die beste Darstellung für die Producte ist. Mehrere Repräsentanten der Körperklasse sind längst bekannt. Am ältesten ist wohl das sogenannte Leucinimid, welches zuerst von Bopp¹⁾ 1849 beobachtet und später auch künstlich aus dem Leucin durch Erhitzen im Kohlensäure-²⁾ oder im Salzsäure-Strom³⁾ erhalten wurde. Ich werde unten zeigen, dass es am leichtesten aus dem Leucinester bereitet wird. Nächst dem wurde das entsprechende Derivat des Alanins⁴⁾ durch Erhitzen der Aminosäure im Salzsäurestrom dargestellt und unter dem Namen Lactimid beschrieben. Ihm folgten das Anhydrid des Phenylglykocolls von P. J. Meyer⁵⁾ und das Phenyllactimid, von Erlenmeyer und Lipp⁶⁾ bei der trocknen Destillation des Phenylalanins erhalten, für welche schon von den Entdeckern vermuthungsweise die Formeln



aufgestellt wurden.

Dass das Sarcosin beim Erhitzen zum Theil in Anhydrid übergeht, wurde von F. Mylius⁷⁾ beobachtet. Er war auch der Erste, welcher für die Verbindung die Structurformel



durch Aufspaltung in Dimethyloxamid und Oxalsäure bei der Oxydation mit Permanganat in überzeugender Weise begründete.

¹⁾ Ann. d. Chem. 69, 28 [1849].

²⁾ Hesse und Limpricht, Ann. d. Chem. 116, 201 [1860].

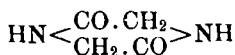
³⁾ Kohler, Ann. d. Chem. 134, 367 [1865].

⁴⁾ Preu, Ann. d. Chem. 134, 372 [1865].

⁵⁾ Diese Berichte 10, 1967 [1877]. ⁶⁾ Ann. d. Chem. 219, 206 [1883].

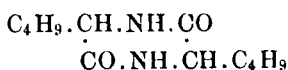
⁷⁾ Vgl. diese Berichte 17, 286 [1884].

Leider hat er versäumt, die Analogie seines Körpers mit dem Leucinimid und Lactimid hervorzuheben und dadurch die Natur der ganzen Klasse klarzustellen. Dies ist aber ebensowenig von Curtius geschehen, welcher das Anhydrid des Glykocolls schon vorher entdeckte, vier Jahre später genau beschrieb und endlich dafür auch nach Feststellung des Molekulargewichtes vermuthungsweise die Strukturformel



aufstellte¹⁾.

Dagegen hat R. Cohn²⁾, der sich zuletzt mit dem Leucinimid beschäftigte und nicht allein sein Molekulargewicht bestimmte, sondern auch die Reduction mit Natrium und Alkohol studirte und durch seine Resultate zu der Strukturformel



geführt wurde, auf die Analogie mit den Derivaten des Alanins und Glykocolls hingewiesen.

Das Leucinimid ist also offenbar der älteste Repräsentant der Klasse, für welche besonders zahlreiche Glieder in der aromatischen Reihe von Bischoff, Widmann, Kossel u. A. dargestellt wurden und welche man jetzt gewöhnlich α , γ - oder 2.5-Diacipiperazine nennt.

Die Derivate der aliphatischen Aminosäuren, mit Ausnahme des Glykocolls, werden nach meiner Erfahrung am leichtesten durch längeres Erhitzen der Ester im geschlossenen Rohr auf 170–180° erhalten. Sie entstehen aber auch, allerdings in schlechterer Ausbeute, durch die Wirkung von Natriumäthylat auf die alkoholische Lösung der Ester, wenn man der Vorschrift folgt, welche Vorländer³⁾ für die Verwandlung des Anilinoessigsäureäthylesters in Diphenyldiacipiperazin gegeben hat.

Gewinnung des freien Glykocolläthylesters.

50 g des nach der Vorschrift von Curtius dargestellten Hydrochlorats werden mit 25 ccm Wasser übergossen, wobei nur partielle Lösung erfolgt, dann mit etwa 100 ccm Aether überschichtet und unter gleichzeitiger starker Kühlung mit 40 ccm Natronlauge (33 pCt. NaOH) versetzt. Zum Schluss fügt man noch so viel trocknes gekörntes Kaliumcarbonat zu, dass die wässrige Schicht in einen dicken Brei verwandelt wird. Nach kräftigem Umschütteln wird die ätherische

¹⁾ a. a. O.

²⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. 29, 283 [1900].

³⁾ Diese Berichte 33, 2458 [1900].

Lösung abgegossen, der Rückstand noch zwei bis drei Mal mit weniger Aether durchgeschüttelt und die vereinigte ätherische Lösung nach dem Filtriren zuerst etwa 10 Minuten mit trockenem Kaliumcarbonat und dann mit etwas Calcium- oder Baryum-Oxyd mehrere Stunden geschüttelt. Das scharfe Trocknen ist nothwendig, wenn man den Ester wasserfrei erhalten will. Nach dem Abdampfen des Aethers wird der Rückstand destillirt. Bei 11 mm kochte derselbe constant bei $43-44^{\circ}$, und es blieb nur ein sehr geringer Rückstand. Die Ausbeute betrug 52 pCt. des angewandten Hydrochlorats oder 70 pCt. der Theorie. Der Verlust ist zum Theil durch die Verflüchtigung des Esters beim Abdestilliren des Aethers bedingt. Das charakteristische Pikrat des Esters krystallisirt aus warmem Wasser in quadratischen Prismen, welche bei 154° (157° corr.) ohne Zersetzung schmelzen.

Die stark basischen Eigenschaften des Glykocollesters sind schon von Curtius hervorgehoben worden. Die nachfolgenden Beobachtungen zeigen aber weiter, dass derselbe ein vorzügliches Mittel ist, um die verschiedenartigsten Derivate des Glykocolls zu gewinnen.

Verbindungen des Glykocollesters mit Acetylaceton und Acetessigester.

Dieselben entstehen aus gleichen Molekülen der Componenten unter Abspaltung von Wasser analog den Ammoniakderivaten und haben aller Wahrscheinlichkeit nach auch dieselbe Structur. Da eine rationelle Nomenclatur der Producte schwierig ist, so will ich sie vorläufig durch Zusammenfügen der Namen der beiden Bestandtheile bezeichnen.

Acetessigester-Glykocollester, $\text{CH}_3 \cdot \text{C} \begin{smallmatrix} \text{CH} \cdot \text{CO}_2 \text{C}_2\text{H}_5 \\ \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2 \text{C}_2\text{H}_5 \end{smallmatrix}$

Vermischt man 3 g Acetessigester und 2.5 g Glykocollester (gleiche Moleküle), so tritt nach einigen Minuten schwache Erwärmung ein. Nach etwa 20 Minuten trübt sich die Flüssigkeit durch Abscheidung von Wasser und erstarrt nach etwa einer Stunde krystallinisch. Man lässt zur Vervollständigung der Reaction noch einige Stunden stehen und löst dann die kaum gefärbte Krystallmasse in warmem Petroläther. Beim Erkalten krystallisirt sie in farblosen, langen, vielfach büschelförmig verwachsenen Nadeln, und die Abscheidung ist bei 0° nach einigen Stunden so vollständig, dass die Ausbeute fast quantitativ wird.

0.2234 g Sbst.: 0.4586 g CO_2 , 0.1596 g H_2O . — 0.2480 g Sbst.: 14.1 ccm N (16° , 736 mm).

$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{N}$. Ber. C 55.81, H 7.91, N 6.51.

Gef. » 55.58, » 7.93, » 6.59.

Die Substanz schmilzt bei 53°. In Alkohol, Aether und Benzol ist sie sehr leicht, in Wasser auch in der Wärme schwer löslich und wird von heissem, verdünntem Alkali ziemlich rasch gelöst, wobei Verseifung erfolgt.

Acetylaceton-Glykocoll ester, $\text{CH}_3 \cdot \text{C} \begin{smallmatrix} \text{CH} \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3 \\ \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5 \end{smallmatrix}$.

Vermischt man gleiche Gewichtstheile von Diketon und Ester, so tritt bald so starke Erwärmung ein, dass es bei grösseren Mengen zweckmässig ist, zu kühlen. Nach einigen Stunden ist die schwach gelbe Flüssigkeit, welche sich bald durch Wasserabscheidung trübt, krystallinisch erstarrt. Aus warmem Petroläther unkrystallisirt, bildet die Verbindung lange, farblose Nadeln.

0.2037 g Sbst.: 0.4347 g CO_2 , 0.1464 g H_2O . — 0.2505 g Sbst.: 16.6 ccm N (14°, 760 mm).

$\text{C}_9\text{H}_{15}\text{O}_3\text{N}$. Ber. C 58.38, H 8.11, N 7.57.

Gef. » 58.20, » 7.98, » 7.79.

Die Substanz schmilzt bei 68° (corr.) und lässt sich in kleiner Menge sogar bei gewöhnlichem Druck destilliren, wobei allerdings ein Theil zerstört wird. In reinem Wasser ist sie besonders in der Wärme in erheblicher Menge löslich, wird aber leicht ausgesalzen.

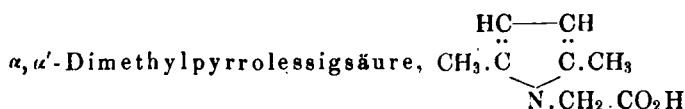
In Alkohol, Aether, Benzol ist sie leicht löslich, erheblich schwerer in Petroläther. Von verdünnter, kalter Salzsäure oder Schwefelsäure wird sie sehr leicht aufgenommen und beim Erwärmen rasch zersetzt. In kalter, verdünnter Natronlauge ist sie nicht löslich. Beim Erwärmen damit geht sie aber bald, offenbar unter Verseifung, in Lösung.

Acetonylaceton und Glykocoll ester.

In Folge der starken Basicität verbindet sich der Glykocoll ester auch mit diesem Diketon schon bei gewöhnlicher Temperatur unter Wasserabspaltung und Bildung eines Pyrrolderivates.

Man vermischt zu dem Zweck gleiche Gewichtstheile von Ester und Diketon. Das Gemenge färbt sich bald gelb, erwärmt sich gelinde und trübt sich nach etwa 15 Minuten durch Abscheidung von Wasser. Zur Vervollständigung der Reaction lässt man es 12 Stdn. stehen.

Das erste Product, welches offenbar ein Ester ist, bildet ein schwach gelbes Oel, welches einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspann intensiv roth färbt. Durch Erwärmen mit verdünntem Alkali wird es verseift und liefert dabei die



Zur Bereitung der Säure, welche ziemlich unbeständig ist, bedarf es einiger Vorsicht. 6 g Ester werden mit 25 ccm heisser Natronlauge von 6 pCt. einige Minuten geschüttelt, bis klare Lösung eingetreten ist und nach dem Abkühlen mit 5 ccm Salzsäure (spec. Gewicht 1.19) versetzt, wobei die neue Säure erst als Oel fällt, aber bald in Nadeln oder flachen Prismen krystallisirt. Sie wird sofort filtrirt und mit etwa 180 ccm Ligroin (Sdp. 65–72°) zweimal ausgekocht, wobei eine rothbraune, schmierige Masse zurückbleibt. Beim Erkalten krystallisirt die Säure in farblosen, langen Nadeln. Die Ausbeute betrug 54 pCt. der Theorie, berechnet nach der Menge des Diketons.

Für die Analyse waren die Krystalle im Vacuum getrocknet.

0.2001 g Sbst.: 0.4583 g CO₂, 0.1276 g H₂O. — 0.2368 g Sbst.: 18.4 ccm N (13.5°, 756.5 mm).

C₈H₁₁O₂N. Ber. C 62.74, H 7.19, N 9.15.

Gef. » 62.47, » 7.08, » 9.12.

Die reine Säure schmilzt beim raschen Erhitzen bei 130–131° zu einer rothen, später braunen Flüssigkeit. In Alkohol, Aether, Chloroform ist sie spielend leicht löslich. Aus warmem Wasser, in welchem sie ziemlich leicht löslich ist, krystallisirt sie in feinen Blättchen oder seltener in Nadeln. In kaltem Wasser ist sie auch noch ziemlich löslich, wird aber daraus schon durch wenig Kochsalz gefällt. Ein mit der wässrigen Lösung imprägnirter Fichtenspahn färbt sich mit rauchender Salzsäure intensiv fuchsinroth.

Bemerkenswerth ist die Unbeständigkeit an der Luft. In befeuchtetem Zustand oder in wässriger Lösung verwandelt sie sich im Laufe von 1–2 Tagen in eine rothbraune, schmierige Masse. Ferner reducirt die wässrige Lösung ammoniakalische Silberlösung in der Hitze.

Glykocollester und Phenylsenföf.

Die stark exothermische Reaction giebt je nach der Temperatur verschiedene Producte. Mässigt man den Vorgang durch Verdünnung des Glykocollesters, so entsteht durch einfache Addition der Componenten ein leicht löslicher, niedrig schmelzender Körper, der höchstwahrscheinlich der Sulfobarnstoff C₆H₅.NH.CS.NH.CH₂.CO₂C₂H₅ ist und dementsprechend als Phenylthiocarbamido-Essigsäureäthylester zu bezeichnen wäre.

Zu seiner Bereitung löst man 1 Theil Glykocollester in 2 Theilen Aether und fügt allmählich 1.3 Theile Phenylsenföf zu. Die Flüssigkeit erwärmt sich zum Sieden und scheidet langsam das Additions-

product als farblose Krystallmasse ab. Es ist vorthailhaft, wenigstens 24 Stunden stehen zu lassen. Die Ausbeute beträgt dann gegen 90 pCt. der Theorie. Die Substanz wird in etwa 12 Theilen warmem Aether gelöst und die etwas eingedampfte Lösung der Krystallisation überlassen. Der Thioharnstoff scheidet sich dann in rhombenähnlichen, ziemlich dicken Tafeln ab.

0.2009 g Sbst.: 0.4075 g CO₂, 0.1069 g H₂O. — 0.2175 g Sbst.: 22.0 ccm N. (14°, 759 mm).

C₁₁H₁₄O₂N₂S. Ber. C 55.46, H 5.88, N 11.77.

Gef. » 55.32, » 5.97, » 11.89.

Die Substanz schmilzt bei 85°. Sie löst sich in Alkohol, zumal in der Wärme, sehr leicht und auch in heissem Wasser in erheblicher Menge. Von verdünnten Alkalien wird sie sofort aufgenommen; die Lösung färbt sich bald roth, und auf Zusatz von Säuren fällt wieder ein krystallinischer Niederschlag aus.

Ein dem letzten sehr ähnliches Product entsteht, wenn Glykocoll ester und Phenylsenföl ohne Verdünnungsmittel vermischt werden. Das Gemisch erwärmt sich stark, färbt sich gelbroth und scheidet nach dem Uebergiessen mit Alkohol ein Krystallpulver ab, dessen Menge ungefähr 1¼ vom Gewicht des Glykocoll esters beträgt. Dasselbe lässt sich aus heissem Eisessig leicht umkrystallisiren, bildet schwach gelbe Blättchen und löst sich leicht mit rother Farbe in Alkali.

Carbamidodiessigsäurediäthylester, $\text{CO} < \begin{matrix} \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5 \\ \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5 \end{matrix}$

Löst man 5 g Glykocoll ester in 40 ccm Benzol und fügt allmählich 6 ccm einer Phosgen-Toluollösung von 20 pCt. unter Abkühlung zu, so entsteht sofort ein starker krystallinischer Niederschlag, der filtrirt und in 45 ccm heissem Wasser gelöst wird. Beim Erkalten fällt der Harnstoff aus, während salzsaurer Glykocoll ester in Lösung bleibt. Die Ausbeute betrug 2.1 g oder 75 pCt. der Theorie.

Für die Analyse war das Product im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.2162 g Sbst.: 0.3690 g CO₂, 0.1352 g H₂O. — 0.2309 g Sbst.: 24.2 ccm N (14°, 756 mm).

C₉H₁₆O₅N₂. Ber. C 46.55, H 6.90, N 12.07.

Gef. » 46.55, » 6.94, » 12.21.

Der Carbamidodiessigsäurediäthylester schmilzt bei 144° (146° corr.). Er löst sich ziemlich leicht in heissem Alkohol oder Wasser und krystallisirt beim Erkalten rasch in feinen, langen Prismen.

Beim Erwärmen mit sehr verdünnten Alkalien wird er rasch gelöst und in eine Säure verwandelt, die beim Ansäuern der nicht zu

verdünnten alkalischen Lösung bald in feinen Blättern krystallisiert und wahrscheinlich die Carbamidodiessigsäure ist, aber nicht näher untersucht wurde.

Glykocoll ester und Schwefelkohlenstoff.

Unter lebhafter Reaction vereinigen sie sich zu einem krystallinischen Product, welches in die Klasse der sulfocarbaminsauren Salze gehört und mithin folgende Structur hat: $C_2H_5CO_2.CH_2.NH.CS.SH$, $NH_2.CH_2.CO_2C_2H_5$.

Die jetzt übliche Nomenclatur reicht leider nicht aus, um für diese Verbindung einen passenden Namen abzuleiten.

Vermischt man 5 g Glykocoll ester mit 5 ccm Aether und fügt allmählich 2 g Schwefelkohlenstoff hinzu, so kommt die Mischung ins Sieden und scheidet bald ein dickes Oel ab, welches nach dem Verdunsten des Aethers im Verlaufe von einigen Stunden krystallinisch erstarrt. Die Substanz ist in Wasser und warmem Alkohol oder Benzol leicht löslich. Für die Analyse wurde sie aus sehr wenig warmem Alkohol umkrystallisiert und im Vacuum getrocknet.

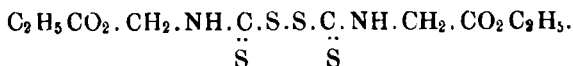
0.2410 g Sbst.: 20.7 ccm N (16° , 763 mm). — 0.1889 g Sbst.: 0.3088 g $BaSO_4$.

$C_9H_{18}O_4N_2S_2$. Ber. N 9.93, S 22.69.

Gef. » 10.05, » 22.45.

Die Verbindung schmilzt bei 79° . Sie krystallisiert aus der sehr concentrirten alkoholischen Lösung beim starken Abkühlen in mikroskopischen kleinen Prismen oder Nadeln. In warmem Essigester ist sie etwas schwerer als in Alkohol löslich, und von Aether wird sie sehr wenig aufgenommen. Beim Aufbewahren färbt sie sich roth. Gegen Silber- und Quecksilber-Salze verhält sie sich ganz ähnlich wie das methylcarbaminsaure Methylamin. Sie giebt erst farblose Niederschläge, welche aber sehr bald, besonders beim Erwärmen, sich schwärzen unter Bildung von Schwefelmetall, während gleichzeitig der starke Geruch eines Senföls auftritt.

Durch alkoholische Jodlösung wird das sulfocarbaminsaure Salz in einen krystallisirten Körper $C_{10}H_{16}N_2O_4S_4$ verwandelt. Ich betrachte ihn als das Oxydationsproduct der Sulfocarbaminsäure und gebe ihm deshalb die Formel:



Man löst das sulfocarbaminsaure Salz in Alkohol und fügt eine starke alkoholische Jodlösung zu, solange sie entfärbt wird. Auf Zusatz von Wasser fällt das neue Product in der Regel sofort als krystallinische Masse, zuweilen aber auch als Oel aus, welches später erstarrt. Die Ausbeute beträgt 65—70 pCt. der Theorie. Zur Ana-

lyse wurde die Substanz aus siedendem Ligoïn, wovon aber 300—400 Theile erforderlich sind, umkrystallisirt, und die so erhaltenen langen, flachen Nadeln oder Spiesse im Vacuum getrocknet.

0.1917 g Sbst.: 0.2425 g CO₂, 0.0771 g H₂O. — 0.2160 g Sbst.: 14.4 ccm N (15°, 765 mm). — 0.2335 g Sbst.: 0.6116 g BaSO₄.

C₁₀H₁₆O₄N₂S₄. Ber. C 33.71, H 4.49, N 7.86, S 35.95.

Gef. » 33.96, » 4.40, » 7.86, » 36.02.

Die Verbindung schmilzt bei 84°. Sie ist in warmem Benzol äusserst leicht und dann stufenweise schwerer löslich in Alkohol, Aether, Ligoïn. Sie ist geruchlos. Beim Kochen mit Wasser schmilzt sie und zersetzt sich unter Verbreitung des Seifölgeruches.

Alaninäthylester.

Das schon von Curtius und Koch beschriebene Hydrochlorat ist so leicht löslich, dass man auf seine Isolirung am besten verzichtet. Es wird deshalb die salzsaure alkoholische Lösung unter stark vermindertem Druck aus einem Bade, welches nicht heisser als 35° ist, bis zum Syrup eingedampft. Den Rückstand behandelt man in ähnlicher Weise wie das Hydrochlorat des Glykocollsters.

Der Alaninester siedet unter 11 mm Druck bei 48° und hat die Dichte D_{12.5°} = 0.9846. Die Ausbeute betrug 80 pCt. der Theorie, berechnet auf das angewandte Alanin.

0.1905 g Sbst.: 0.3575 g CO₂, 0.1610 g H₂O. — 0.2149 g Sbst.: 21.6 ccm N (13°, 764 mm).

C₅H₁₁NO₂. Ber. C 51.28, H 9.40, N 11.97.

Gef. » 51.13, » 9.39, » 11.94.

In Geruch und Reactionen gleicht die Verbindung dem Glykocollster, unterscheidet sich aber von diesem durch grössere Haltbarkeit. Erst nach wochenlangem Stehen des Präparates bei gewöhnlicher Temperatur gab sich eine Veränderung durch Abscheidung von feinen Nadelchen zu erkennen, welche den Schmelzpunkt des längst bekannten Lactimids zeigten.

Viel rascher entsteht die gleiche Substanz beim 24-stündigen Erhitzen im geschlossenen Rohr auf 180°. Die Ausbeute betrug dann die Hälfte des angewandten Esters oder 82 pCt. der Theorie, und das Product bestand aus fast farblosen, langen Prismen, welche gleich den richtigen Schmelzpunkt 274° (280° corr.) zeigten.

Das Verfahren ist zur Darstellung des Körpers der älteren Methode, von welcher Proust selbst angibt, dass sie schlechte Ausbeuten liefere, jedenfalls vorzuziehen.

Die Bildung eines Productes mit Biuretreaction, welche beim Glykocoll so leicht erfolgt, habe ich bei der spontanen Zersetzung des Alaninesters oder der höheren Homologen bisher nicht beobachtet.

Beim mehrstündigen Kochen mit der 10-fachen Menge Wasser am Rückflusskühler wird der Alaninester vollständig verseift, was man an dem Verschwinden der alkalischen Reaction verfolgen kann, und beim Abdampfen der Lösung bleibt das Alanin in quantitativer Ausbeute zurück.

Das Pikrat des Alaninaethylesters ist in warmem Wasser ziemlich leicht löslich, krystallisirt daraus in feinen gelben Nadeln und schmilzt bei 168° (171° corr.).

Diese Versuche wurden mit dem racemischen Alanin angestellt, in Folge dessen ist der Ester auch als ein Gemisch von *d*- und *l*-Form zu betrachten. Es ist indessen nicht zu bezweifeln, dass die Ester der beiden activen Alanine ebenso zu gewinnen sind und den gleichen Siedepunkt besitzen.

α -Aminobuttersäureaethylester.

10 g racemische α -Aminobuttersäure wurden fein zerrieben, in 50 cc absolutem Alkohol suspendirt und gasförmige Salzsäure ohne Abkühlung eingeleitet. Nachdem die Aminosäure im Laufe von etwa 15 Minuten in Lösung gegangen, wurde noch etwa 10 Minuten auf dem Wasserbade erhitzt und dann die Lösung in einer Kältemischung gekühlt. Dabei fiel das Hydrochlorat des Esters als dicker Brei von feinen Nadeln aus, welche abgesaugt und mit kaltem Alkohol und Aether gewaschen wurden. Die Ausbeute betrug 12 g oder 74 pCt. der Theorie. Aus der Mutterlauge kann noch durch Eindampfen unter stark vermindertem Druck eine weitere Menge gewonnen werden. Das Salz löst sich in der gleichen Quantität Wasser beim gelinden Erwärmen auf, fällt aber beim Abkühlen wieder in farblosen feinen Nadelchen aus, ebenso krystallisirt es aus heissem Alkohol. Zur Abscheidung des freien Esters verfährt man ähnlich wie beim Glykocoll. Die Operation wird aber durch die geringere Löslichkeit des Productes erleichtert. Der Ester siedet unter 11 mm Druck bei 61.5° und hat $D_{12.5^{\circ}} = 0.9655$.

Er ist in Wasser noch sehr leicht löslich, wird aber schon durch wenig Kaliumcarbonat ausgesalzen. Mit den anderen üblichen Lösungsmitteln ist er in jedem Verhältniss mischbar.

0.2043 g Sbst.: 0.4120 g CO_2 , 0.1852 g H_2O . — 0.1913 g Sbst.: 17.5 ccn N (14° , 753 mm).

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N}$. Ber. C 54.96, H 9.92, N 10.69.

Gef. » 55.00, » 10.06, » 10.60.

Der Geruch ist nicht so stark alkalisch wie derjenige des Glykocollsters. Das Pikrat krystallisirt aus Wasser in kleinen dünnen Prismen, die bei 126° (127° corr.) schmelzen.

Ebenso leicht wie der α -Aminobuttersäureester lässt sich die β -Verbindung darstellen, welche nach den Versuchen des Hrn. Roeder, die später mitgeteilt werden sollen, unter 12.5 mm Druck bei 59–60° siedet. Dagegen misslang der Versuch bei der γ -Aminobuttersäure, von der mir Hr. J. Tafel eine grössere Quantität, welche er durch sein schönes Verfahren aus Succinimid gewonnen hatte, zur Verfügung stellte.

Die Veresterung verläuft auch hier, wie schon Tafel beobachtet hat¹⁾ normal, wenn man die Säure in der 5-fachen Menge Alkohol suspendirt und Salzsäure einleitet. Sie geht rasch in Lösung, und wenn man nachher noch kurze Zeit auf dem Wasserbade erwärmt, so scheidet die Flüssigkeit beim starken Abkühlen einen dicken Brei von feinen Krystallen ab, welche das Hydrochlorat des Esters sind. Als die ganze Masse aber durch Eindampfen im Vacuum, Zerlegen mit Alkali, Ausziehen mit Aether und Destillation im Vacuum auf freien Ester verarbeitet wurde, resultirte ausschliesslich das innere Anhydrid der γ -Aminobuttersäure, das Pyrrolidon, für welches unter 12 mm Druck der Sdp. 133° beobachtet wurde.

3.6-Diäthyl-2.5-Diacipiperazin, $C_8H_{14}O_2N_2(C_2H_5)_2$.

Das bisher nicht bekannte Product hatte sich nach 24-stündigem Erhitzen des α -Aminobuttersäureesters auf 170° in glänzenden, schwach gelb gefärbten Blättchen ausgeschieden, welche beim Waschen mit Aether farblos wurden. Die Ausbeute betrug 83 pCt. der Theorie. Zur völligen Reinigung genügt einmaliges Umkrystallisiren aus heissem Alkohol, von welchem ungefähr die 30-fache Gewichtsmenge nöthig ist. Die Verbindung scheidet sich daraus in glänzenden Blättchen ab, welche unter dem Mikroskop wie Rhomben aussehen, bei 265° (corr.) schmelzen und schon 2° niedriger wieder erstarren.

0.2021 g Sbst.: 0.4185 g CO_2 , 0.1484 g H_2O . — 0.2033 g Sbst.: 28.2 ccm N (15°, 762 mm).

$C_8H_{14}O_2N_2$. Ber. C 56.46, H 8.23, N 16.47.

Gef. » 56.48, » 8.16, » 16.25.

Die Verbindung löst sich in starker Salzsäure (spec. Gewicht 1.19) sehr leicht, in verdünnter Säure aber viel schwerer. In heissem Wasser ist sie schon recht schwer löslich.

Leucinaethylester.

Wie schon erwähnt, hat Röhm ann das Hydrochlorat des Esters dargestellt, und zwar sowohl die active wie die inactive Form. Für die Darstellung der freien Ester ist die Isolirung der recht leicht löslichen Hydrochlorate überflüssig. Zur Bereitung des inactiven Productes geht man am bequemsten von dem synthetischen Leucin aus.

¹⁾ Diese Berichte 33, 2232 [1900].

20 g desselben werden mit 100 ccm Alkohol übergossen und durch Einleiten von gasförmiger Salzsäure in Lösung gebracht. Zum Schluss wird noch 15 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt und dann die Flüssigkeit unter stark vermindertem Druck aus einem Bade, dessen Temperatur nicht über 35° steigt, zum Syrup verdampft. Den Rückstand löst man in möglichst wenig Wasser, überschichtet mit Aether, kühlt auf 0° ab und fügt dann allmählich einen Ueberschuss von concentrirter Natronlauge zu. Die aetherische Lösung des Leucinesters wird getrocknet und nach dem Verdampfen des Aethers im Vacuum destillirt. Für die Analyse diente ein Product, welches mit Calciumoxyd getrocknet war.

0.1772 g Sbst.: 0.3912 g CO₂, 0.1723 g H₂O. — 0.2318 g Sbst.: 17.4 ccm N (16°, 769 mm).

C₈H₁₇O₂N. Ber. C 60.38, H 10.70, N 8.80.

Gef. » 60.21, » 10.80, » 8.85.

Die Ausbeute an reinem Ester betrug 75–80 pCt. der Theorie. Der Siedepunkt lag unter 12 mm Druck bei 83.5°, unter 18 mm bei 88° und unter 761 mm bei 196°. Spec. Gewicht D_{17°} = 0.929.

Der Ester hat einen eigenthümlichen, nicht sehr starken, aber unangenehmen Geruch. Er löst sich in etwa 23 Theilen Wasser von Zimmertemperatur; durch concentrirtes Alkali oder durch Salze, wie Kaliumcarbonat, wird er leicht daraus abgeschieden. In verdünnten Mineralsäuren ist er sehr leicht löslich, mit Alkohol, Aether, Benzol und Ligroin in jedem Verhältniss mischbar. Das Pikrat ist selbst in heissem Wasser ziemlich schwer löslich und krystallisirt in gelben, oft farbenförmig gruppirten Nadelchen vom Schmp. 134° (136° corr.). Recht schön krystallisirt auch das neutrale *d*-weinsäure Salz aus wenig Wasser oder heissem Alkohol. Es bildet glänzende Blättchen, schmilzt bei 143° (145° corr.) und scheint nicht oder nur sehr schwer in die Salze des *l*- und *d*-Leucinesters geschieden zu werden.

Zur Rückverwandlung in Leucin wird der Ester mit der 20-fachen Menge Wasser mehrere Stunden am Rückflusskühler gekocht, bis klare Lösung entstanden und die alkalische Reaction verschwunden ist. Beim Eindampfen scheidet sich das Leucin krystallinisch aus, und die Ausbeute ist quantitativ. Man kann die Verseifung auch durch Lösen des Esters in überschüssiger Salzsäure und Eindampfen, bis eine Probe mit Alkali keinen Ester mehr abscheidet, bewerkstelligen, erhält dann aber natürlich salzsaures Leucin.

l-Leucinäthylester. Er wird auf die gleiche Weise aus dem natürlichen Leucin dargestellt. Der Siedepunkt ist, wie es nach den Erfahrungen bei den Weinsäureestern zu erwarten war, derselbe wie bei dem inactiven Product.

Für die Bestimmung des Drehungsvermögens wurde der reine Ester im 1-Decimeterrohr geprüft und $[\alpha]_D^{20} = +13.1^\circ$ gefunden.

Bei der Verseifung gab dieser Ester ein Leucin, welches, in 20-procentiger Salzsäure gelöst, bei der Concentration 4.48 pCt. $[\alpha]_D^{20} = +17.86^\circ$ gab, ein Werth, der mit der von E. Schulze für reines Leucin angegebenen Zahl, $+17.5^\circ$, hinreichend genau übereinstimmt. Es geht daraus hervor, dass bei der Veresterung keine Racemisirung stattfindet.

Das Pikrat des activen Leucinesters scheidet sich aus Wasser in wirr durcheinander gewachsenen Nadelchen ab, deren Schmelzpunkt bei 128° (129.5° corr.) gefunden wurde.

Darstellung von reinem Leucin mittels des Esters.

Wer sich jemals damit beschäftigt hat, Leucin nach den älteren Vorschriften aus Horn oder Nackenband darzustellen, der kennt die ausserordentlichen Schwierigkeiten der Reinigung. Durch häufiges Umkrystallisiren erhält man zwar schliesslich recht schön aussehende Präparate, welche sich aber bei der optischen Bestimmung immer noch als unrein erweisen. Es ist mir auf diesem Wege überhaupt nicht gelungen, Producte zu gewinnen, welche das von J. Mauthner¹⁾ und E. Schulze²⁾ für reines Leucin angegebene Drehungsvermögen zeigten. Ich glaube deshalb, dass in früheren Zeiten sehr wenig Chemiker oder Physiologen ganz reines, actives Leucin unter den Händen gehabt haben, und dadurch erklären sich auch die vielfachen Widersprüche über die Löslichkeit des Leucins oder über die Schmelzpunkte seiner Derivate. Im Conglutin und Casein hat man allerdings später Materialien gefunden, aus denen mit geringerer Mühe reines Leucin zu isoliren ist, und, seitdem das Casein käuflich ist, pflegt man dieses für die Darstellung der Aminosäure zu benutzen. Aber auch hier bedarf es oft wiederholter Krystallisation, die grosse Verluste verursacht, um ein Präparat von richtigem Drehungsvermögen darzustellen.

Alle diese Schwierigkeiten werden durch die Estermethode gründlich beseitigt, weil die Verunreinigungen der Rohleucine entweder bei der Abscheidung oder bei der fractionirten Destillation des Esters fortfallen, und man erreicht in mehreren Stunden dasselbe, wozu sonst wochenlanges Krystallisiren erforderlich ist.

So wurde der oben beschriebene, active Leucinester, welcher bei der Verseifung ein Leucin vom richtigen Drehungsvermögen lieferte, aus einem Rohleucin gewonnen, welches aus Casein hergestellt und absichtlich aus den späteren Mutterlaugen nur durch einmalige Krystallisation abgeschieden war.

Selbst aus Horn gelingt es mit dieser Methode leicht, ein fast reines Leucin darzustellen. Da der Versuch gleichzeitig den Beweis

¹⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. 7, 222 [1883].

²⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. 9, 100 [1884].

liefert, dass das Verfahren zur Aufzuehung neuer Aminosäuren geeignet ist, will ich ihn ausführlich beschreiben.

1 kg Hornspähne, nach der Vorschrift von Schwanert mit Schwefelsäure zersetzt, gaben an Rohleucin 75 g erste und 40 g zweite Krystallisation. Die erste Fraction wurde in der für das reine Leucin beschriebenen Weise verestert und das nach dem Verdampfen der ätherischen Lösung zurückbleibende dunkle Oel bei 11 mm Druck destillirt.

Nach einem sehr geringen Vorlauf (etwa 1 g) wurden folgende Fractionen erhalten:

83—85°	29 g,
85—95°	4.5 »

Als Rückstand blieb eine dunkle zähe Masse in nicht sehr grosser Menge, welche bei höherer Temperatur schon deutliche Zersetzung erfuhr. Die Hauptfraction gab bei abermaliger Destillation 22 g constant siedenden Esters, der die Drehung $[\alpha]_D^{20} + 12.84^\circ$ zeigte. Durch Verseifen mit Wasser wurde daraus ein Leucin erhalten, welches sehr schön aussah, bei der Elementaranalyse stimmende Zahlen gab, aber trotzdem noch nicht ganz rein war, da es in salzsaurer Lösung die specifische Drehung $+ 18.5^\circ$ zeigte (statt 17.8°).

Aus der zweiten Fraction des Rohleucins wurden nur 6.5 g Leucinester isolirt. Die Gesamtausbeute betrug also etwa 35 g. Bei Berücksichtigung der Verluste, welche bei der Veresterung der reinen Aminosäure entstehen, würde aus diesen Zahlen folgen, dass in den 120 g Rohleucin nur etwa 40 g der reinen Substanz enthalten sind. Die eben erwähnte, höher siedende Fraction der Ester zeigte ein erheblich höheres Drehungsvermögen $[\alpha]_D^{20} + 17.6^\circ$ und enthielt neben Leucin eine andere Aminosäure, welche leider bisher nicht ganz rein erhalten werden konnte. Die Analyse der aus dem Ester regenerirten und mehrmals krystallisirten Verbindung deutet am meisten auf Amino-valeriansäure hin, deren Vorkommen im Horn bisher nicht nachgewiesen wurde.

Der bei der Fractionirung der Ester erhaltene Vorlauf schied beim längeren Stehen eine feste weisse Masse ab, welche starke Biuretreaction zeigte. Da diese Verwandlung für den Glykocoll ester charakteristisch ist, so glaube ich schliessen zu dürfen, dass bei der Hydrolyse des Horns auch Glykocoll in kleiner Menge entsteht. *

Nach demselben Verfahren habe ich die Spaltungsproducte des Caseïns und gemeinschaftlich mit Dr. Skita diejenigen des Fibroïns aus Seide untersucht. Bei Ersterem wurden, ausser den früher beobachteten Monoaminosäuren, gefunden Phenylalanin, α -Pyrrolidincarbon-säure und noch verschiedene andere Aminosäuren, deren Zusammensetzung erst festgestellt werden muss. Aus dem Fibroïn wurde eben-

falls Phenylalanin und ausserdem eine neue Säure, deren Ester bei 10 mm Druck zwischen 130—140° siedet, erhalten. Ausführlichere Mittheilungen darüber werden in der Zeitschrift für physiologische Chemie folgen. Ich habe auch Glutin und Blutfibrin in Arbeit genommen und beabsichtige, die Versuche auf eine grössere Zahl von Proteinstoffen auszudehnen.

Darstellung

des Leucinimids (3.6-Diisobutyl-2.5-diacipiperazin).

Wie schon erwähnt, wird dasselbe am besten durch Erhitzen des Esters gewonnen, und zwar nimmt man dafür am bequemsten den synthetischen inactiven Ester. Wird derselbe 24 Stunden im geschlossenen Rohr auf 180—190° erhitzt, so besteht der Rohrinhalt nach dem Erkalten aus schwach gelb gefärbten Krystallen, welche durch Waschen mit Aether farblos werden. Die Ausbeute betrug 63 pCt. der Theorie, und aus der ätherischen Lösung konnten auch noch 12 pCt. unveränderter Leucinester zurückgewonnen werden. Einmaliges Umkrystallisiren aus siedendem Alkohol genügt zur völligen Reinigung.

0.1945 g Sbst.: 0.4537 g CO₂, 0.1700 g H₂O. — 0.2055 g Sbst.: 22.4 ccm N (20.5°, 754 mm).

C₁₂H₂₂O₂N₂. Ber. C 63.71, H 9.73, N 12.39.

Gef. » 63.62, » 9.71, » 12.34.

Die reine Substanz schmilzt bei 271° (corr.). Dieselbe Verbindung entsteht unter gleichen Bedingungen aus dem activen Leucinester, wobei offenbar Racemisirung stattfindet.

Sehr langsam erfolgt die Bildung des Piperazinderivates auch schon bei niedriger Temperatur. Bei einem Präparat, welches bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt wurde, hatten sich nach mehreren Monaten feine Nadeln in kleiner Menge abgeschieden, welche leicht durch den Schmelzpunkt identificirt werden konnten.

Rasch verläuft die gleiche Reaction in alkoholischer Lösung bei Gegenwart von Natriumäthylat.

Erhitzt man 1 Theil Ester mit einer Lösung von 0.15 Theilen Natrium in 2 Theilen Alkohol 20 Minuten auf dem Wasserbade, so entsteht eine gelbe Flüssigkeit mit grünlicher Fluorescenz, aus welcher durch Wasser das rohe Leucinimid gefällt wird; seine Menge beträgt ungefähr die Hälfte des angewandten Esters, verringert sich aber auf ungefähr 1/4 beim Umkrystallisiren aus Alkohol. Für die Darstellung des Piperazinderivates ist daher dieses Verfahren nicht zu empfehlen.

Actives Benzolsulfoleucin.

Nachdem ich kürzlich die inactive Verbindung mit dem Schmp. 146° beschrieben hatte¹⁾, sah ich, dass Hedin²⁾ schon vor längerer

¹⁾ Diese Berichte 33, 2370 [1900]. ²⁾ Diese Berichte 23, 3197 [1890].

Zeit ein Benzolsulfocleucin mit dem Schmp. 86° erhalten hat. Da Hedin aller Wahrscheinlichkeit nach ein natürliches, mithin actives Leucin verwandte, so konnte der grosse Unterschied in den Schmelzpunkten dadurch bedingt sein. Immerhin schien eine Wiederholung des Versuches wünschenswerth. Ich habe dafür ein reines Leucin mit dem richtigen Drehungsvermögen, welches aus Casein dargestellt war, benutzt und im übrigen die bei der inactiven Substanz angegebenen Bedingungen innegehalten, nur wurde die Menge des Benzolsulfoclorids unbeschadet der Ausbeute auf die $1\frac{1}{2}$ fache Menge des Leucins beschränkt. Zur Analyse war das Präparat aus Benzol umkrystallisirt.

0.2044 g Sbst.: 0.3961 g CO_2 , 0.1186 g H_2O .

$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_4\text{S}$. Ber. C 53.13, H 6.27.

Gef. » 52.86, » 6.44.

Die Substanz lässt sich auch aus heissem Wasser krystallisiren und bildet dann feine, häufig zu Büscheln gruppirte Nadeln, welche bei $119-120^{\circ}$ (corr.) schmelzen. Aus Benzol krystallisirt sie in flachen, abgestumpften Prismen. Für die optische Bestimmung diente die alkalische Lösung, welche, nebst 4 ccm Normalkalilauge, 1.085 g Substanz in 10.9138 g Flüssigkeit, mithin 9.94 pCt. enthielt und das spec. Gewicht 1.038 hatte. Drehung im 2-Decimeterrohr bei 20° und Natriumlicht 8.05° nach links, also $[\alpha]_D^{20} - 39.0^{\circ}$. Der niedrigere Schmelzpunkt der activen Form beweist, dass die inactive ein wahrer Racemkörper ist. Was endlich die grosse Abweichung von den Angaben Hedin's betrifft, so vermurthe ich, dass der von ihm gefundene niedrige Schmelzpunkt durch die Unreinheit seines Leucins, für dessen Prüfung man erst in neuerer Zeit entscheidende Methoden anwendet, verursacht war.

Inactives Acetylleucin.

Vermischt man den Ester mit der 3-fachen Menge Essigsäureanhydrid, so tritt Erwärmung ein. Zur Vollendung der Reaction wurde noch eine Stunde auf dem Wasserbad erhitzt und dann das Gemisch zur Entfernung des Essigsäureanhydrids mehrmals mit Alkohol auf dem Wasserbade verdampft. Dabei blieb ein Oel, welches offenbar der Acetylleucinester ist. Dasselbe wurde mit verdünnter Natronlauge bis zur Lösung erwärmt und mit Schwefelsäure schwach übersättigt. Beim Abkühlen schied sich das Acetylleucin krystallinisch ab. Die Ausbeute betrug ungefähr $\frac{2}{3}$ des angewandten Leucinesters. Zur Analyse wurde es aus der 5-fachen Menge heissem Wasser umkrystallisirt, woraus es sich in feinen, farblosen Nadeln abschied, und über Schwefelsäure getrocknet.

0.2031 g Sbst.: 0.4126 g CO₂, 0.1591 g H₂O. — 0.2227 g Sbst.: 16.0 ccm N (17°, 764 mm).

C₈H₁₅O₃N. Ber. C 55.50, H 8.67, N 8.09.

Gef. » 55.40, » 8.70, » 8.38.

Die Substanz, welche der Acetursäure entspricht, schmilzt bei 161° (corr.). Sie löst sich leicht in Alkohol, aber recht schwer in Aether. Die Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich.

Aethylester der inactiven α -Aminonormalcapronsäure.

Die Verbindung wird genau so dargestellt, wie der Leucinester. Ihr Siedepunkt ist etwas höher, 90–91° unter 11 mm Druck. D_{17°} = 0.9335.

0.1754 g Sbst.: 0.3872 g CO₂, 0.1692 g H₂O. — 0.1949 g Sbst.: 15.1 ccm N (17°, 751 mm).

C₈H₁₇NO₂. Ber. C 60.38, H 10.69, N 8.80.

Gef. » 60.21, » 10.72, » 8.88.

Der Geruch ist weniger unangenehm wie der des Leucinesters. Die Löslichkeit in Wasser ist aber dieselbe wie dort. Durch Kaliumcarbonat wird der Ester aus der wässrigen Lösung leicht ausgesalzen.

Das Pikrat des Esters wurde aus warmem Wasser in Prismen erhalten, welche den Schmp. 123° (124° corr.) zeigten.

3.6-Dibutyl-2.5-Diacipiperazin.

Die Darstellung ist die gleiche, wie beim Leucinderivat. Die Substanz verlangt ungefähr 80 Theile siedenden Alkohols zur Lösung und krystallisirt daraus in farblosen Blättchen, welche bei 268° (corr.) schmelzen.

0.2035 g Sbst.: 0.4736 g CO₂, 0.1743 g H₂O. — 0.2237 g Sbst.: 24.1 ccm N (16°, 760 mm).

C₁₂H₂₁O₂N₂. Ber. C 63.71, H 9.73, N 12.39.

Gef. » 63.47, » 9.52, » 12.56.

Inactiver Phenylalaninäthylester.

Als Ausgangsmaterial diente das Hydrochlorat des synthetischen Phenyl- α -Alanins. Der wie gewöhnlich isolirte Ester kochte unter 10 mm Druck bei 143°. D_{15°} = 1.065.

0.2241 g Sbst.: 0.5600 g CO₂, 0.1561 g H₂O. — 0.2104 g Sbst.: 12.8 ccm N (18°, 754 mm).

C₁₁H₁₅O₂N. Ber. C 68.39, H 7.77, N 7.25.

Gef. » 68.15, » 7.74, » 6.97.

Das dickflüssige Oel hat nur sehr schwachen Geruch. In Wasser ist es schwer löslich. Sein Pikrat ist schwerer löslich als die Verbindungen der früher beschriebenen Ester. Es krystallisirt in flachen Prismen, welche bei 154° (156.5° corr.) schmelzen.

Zur Umwandlung in das Piperazinderivat wird der Ester 24 Stunden im geschlossenen Rohr auf 180° erhitzt. Die Ausbeute betrug 75 pCt. der Theorie. Das Product war so rein, dass einmaliges Umkrystallisiren aus Alkohol oder Eisessig genügte. Der Schmp. 300° (corr.) sowie die sonstigen Eigenschaften stimmen mit der Beschreibung überein, welche Erlenmeyer und Lipp für das Phenyllactimid gegeben haben.

l-Tyrosinäthylester.

Lilienfeld, der die Verbindung nach Curtius zuerst wieder erwähnt, giebt zwar den Schmp. 108—109° und die äussere Form der Krystalle an, macht aber keine Mittheilung über Analyse und sonstige Eigenschaften. Dasselbe gilt für eine Bemerkung von Röhmann¹⁾, welcher nur den Schmelzpunkt des salzsauren Esters notirt.

Zur Darstellung des Esters werden 5 g Tyrosin mit 35 ccm Alkohol übergossen und gasförmige Salzsäure in raschem Strom eingeleitet, bis Lösung erfolgt ist. Die Ausbeute wird besser, wenn man jetzt noch das doppelte Volumen Alkohol zufügt, mehrere Stunden am Rückflusskühler kocht und dann den Alkohol unter schwachem Druck abdestillirt. Zur Abscheidung des Esters wird der Rückstand mit Wasser verdünnt, die Lösung mit überschüssigem Kaliumcarbonat versetzt und mit Essigester ausgeschüttelt. Beim Verdunsten der Lösung krystallisirt der Tyrosinester, wobei die erste Fraction nahezu farblos, die späteren aber bräunlich gefärbt sind. Die Ausbeute betrug ungefähr 85 pCt. der Theorie. Zur völligen Reinigung wird derselbe aus Essigester unter Zusatz von etwas Thierkohle umkrystallisirt.

0.2014 g Sbst.: 0.4655 g CO₂, 0.1284 g H₂O. — 0.2202 g Sbst.: 13.0 ccm N (19°, 756.5 mm).

C₁₁H₁₅O₃N. Ber. C 63.16, H 7.18, N 6.70.

Gef. » 63.04, » 7.08, » 6.75.

Der Ester bildet farblose flache Prismen vom Schmp. 108—109° (corr.), was mit der Angabe von Lilienfeld übereinstimmt. Er ist in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem etwas leichter löslich, auch in Aether schwer, dagegen sehr leicht in Alkohol löslich. Von kochendem Benzol und Essigester verlangt er ungefähr die dreifache Menge zur Lösung. Als Phenol wird er wohl von Alkali, aber nicht von Alkalicarbonat gelöst.

Für die Bestimmung der specifischen Drehung diente eine Lösung in absolutem Alkohol von 4.85 pCt. Gehalt. Dieselbe drehte im

¹⁾ Diese Berichte 30, 1979 [1897].

2-cm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 1.59° nach rechts und hatte das spezifische Gewicht 0.805. Mithin $[\alpha]_D^{20} + 20.4^\circ$.

Wird der Ester 24 Stunden auf 180° erhitzt, so verwandelt er sich ebenfalls in das Piperazinderivat. Dasselbe bildet zunächst eine gelbe feste Masse, welche in kaltem verdünntem Alkali gelöst und mit Säuren gefällt wird. Die Ausbeute betrug 85 pCt. der Theorie. Das Product ist in allen gewöhnlichen Lösungsmitteln sehr schwer löslich.

Sarkosinäthylester.

Dass auch bei den secundären Aminosäuren die Veresterung leicht erfolgt, beweist das Verhalten des Sarkosins.

Suspendirt man 5 g gepulvertes Sarkosin in 25 ccm Alkohol und leitet, ohne zu kühlen, einen starken Strom von Salzsäure bis zur Sättigung ein, so findet allmählich Lösung statt. Zum Schluss wird noch 1—2 Stunden am Rückflusskühler gekocht, dann die Flüssigkeit unter stark vermindertem Druck zum Syrup verdampft und der Rückstand, wie in früheren Fällen, mit Alkali und Kaliumcarbonat bei niedriger Temperatur auf freien Ester verarbeitet. Derselbe kochte unter 10 mm Druck bei 43°, und die Ausbeute an reinem Product betrug 52 pCt. der Theorie. $D_{15.5} = 0.971$.

0.1811 g Sbst.: 0.3381 g CO₂, 0.1524 g H₂O. — 0.2156 g Sbst.: 23 ccm N (17.5°, 759 mm).

C₅H₁₁O₂N. Ber. C 51.28, H 9.40, N 11.97.

Gef. » 50.92. » 9.34, » 12.33.

Die Verbindung ist in Geruch, Löslichkeit und Siedepunkt dem Glykocollester zum Verwechseln ähnlich.

Das Pikrat des Sarkosinesters schied sich aus Wasser in hübschen centimeterlangen Nadeln ab, deren Schmelzpunkt bei 147° (149.5° corr.) lag.

Activer Asparaginsäurediäthylester.

Das salzsaure Salz des Esters ist schon von Curtius und Koch¹⁾ dargestellt worden. Ferner haben Körner und Menozzi²⁾ durch Erhitzen von Fumarsäure- oder Maleinsäure-Ester mit Ammoniak ein unter vermindertem Druck destillirendes Oel erhalten, welches sie, allerdings ohne Angabe einer Analyse, für den neutralen Asparaginsäureester erklären. Unzweifelhaft ist aber ihr Product optisch inactiv gewesen.

¹⁾ Diese Berichte 18, 1294 [1885]. ²⁾ Gaz. chimica Ital. 17, 226.

Zur Darstellung des activen Esters wurden 10 g Asparaginsäure, welche aus dem käuflichen Präparat durch Umkrystallisiren gewonnen war, in 50 ccm absolutem Alkohol suspendirt, bis zur Lösung gasförmige Salzsäure eingeleitet, dann die Flüssigkeit eine Stunde am Rückflusskühler gekocht und schliesslich unter stark vermindertem Druck bei möglichst niedriger Temperatur eingedampft, wobei das Chlorhydrat in seideglänzenden Nadeln sich abscheidet. Den Rückstand löst man in wenig Wasser, isolirt daraus den Ester bei möglichst niedriger Temperatur mit Kaliumcarbonat und Aether und trocknet mit Natriumsulfat. Der Siedepunkt lag unter 11 mm Druck bei 126.5° und die Ausbeute betrug 62 pCt. der Theorie.

$D_{17}^{\circ} = 1.089$. Spec. Dreh. $[\alpha]_D^{20} = -9.46^{\circ}$.

0.2379 g Sbst.: 0.4416 g CO_2 , 0.1693 g H_2O . — 0.2796 g Sbst.: 18.5 ccm N (18° , 757 mm).

$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{O}_4\text{N}$. Ber. C 50.79, H 7.94, N 7.41.

Gef. » 50.63, » 7.97, » 7.61.

Der Ester bildet eine farblose, etwas dickliche Flüssigkeit, welche sich mit Alkohol, Aether, Benzol in jedem Verhältniss mischt und auch in Ligroin noch leicht löslich ist. Aus der Lösung der Salze wird er schon durch Alkalicarbonat in Freiheit gesetzt.

Auch in Wasser löst er sich noch sehr leicht, wird aber schon durch wenig Kaliumcarbonat wieder ausgesalzen.

Im Gegensatz zu den Estern der einbasischen Aminosäuren wird er durch mehrstündiges Kochen mit Wasser nicht in Asparaginsäure zurückverwandelt, sondern erleidet eine etwas complicirtere Verwandlung. In geringer Menge entsteht dabei ein angenehm riechendes Oel und als Hauptproduct eine in Wasser sehr leicht lösliche Säure, welche beim Verdampfen zunächst als Syrup zurückbleibt, dann aber eine salbenartige Consistenz annimmt und vielleicht ein Gemisch der beiden Estersäuren ist.

Leicht und glatt erfolgt dagegen die Rückbildung der Asparaginsäure aus dem neutralen Ester bei 1—2-stündigem Erhitzen mit überschüssigem Barytwasser auf dem Wasserbade. Wird dann der Baryt in der Hitze genau mit Schwefelsäure ausgefällt, so bleibt die Asparaginsäure beim Verdampfen des Filtrats in fast quantitativer Menge und nahezu reinem Zustande zurück. Ich führe das ausdrücklich an, weil die Estermethode auch zur Isolirung der Asparaginsäure aus complicirten Gemischen zu verwenden ist.

Activer Glutaminsäurediäthylester.

Für den Versuch diente reine active Glutaminsäure aus Casein. Die Operation war die gleiche wie bei der Asparaginsäure; nur wurde etwas mehr Alkohol genommen, auf 10 g Säure 75 ccm, und nachdem die Lösung mit Salzsäure gesättigt war, wurde noch das doppelte Volumen

Alkohol zugefügt und 3 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Das Hydrochlorat des Esters scheint viel schwerer zu krystallisiren als dasjenige des Asparaginsters, denn beim Eindampfen der salzsauren, alkoholischen Lösung schieden sich keine Krystalle ab. Die Ausbeute an reinem Glutaminsäureester betrug 66 pCt. der Theorie. Siedepunkt bei 10 mm Druck 139—140°.

$$D_{17}^0 = 1.0737. \quad [\alpha]_D^{20} = + 7.34^0.$$

0.2184 g Sbst.: 0.4258 g CO₂, 0.1667 g H₂O. — 0.1957 g Sbst.: 11.6 ccm N (18°, 756 mm).

C₉H₁₇O₄N. Ber. C 53.20, H 8.37, N 6.89.

Gef. » 53.17, » 8.48, » 6.81.

Die übrigen Eigenschaften sind denen des Asparaginsters sehr ähnlich; besondere Erwähnung verdient auch hier die grosse Löslichkeit in Wasser.

Zum Schluss sage ich Hrn. Dr. O. Wolfes für die vortreffliche Hilfe, welche er mir bei diesen Versuchen leistete, besten Dank.

68. Emil Fischer: Synthese der α, δ -Diaminovaleriansäure¹⁾.

[Aus dem I. Berliner Universitätslaboratorium.]

(Eingegangen am 12. Februar.)

Ausser den längst bekannten Monaminosäuren enthalten die meisten Proteinstoffe nach den Beobachtungen von Drechsel, [E. Schulze, Hedin, Kossel auch wechselnde Mengen von Diaminosäuren, und in überwiegender Menge sind die Letzteren nach den wichtigen Beobachtungen von Kossel und seinen Schülern in den Protaminen enthalten.

Genauer untersucht hat man bisher die drei Verbindungen: Ornithin, Lysin und Arginin.

Das Erste wurde entdeckt von M. Jaffé²⁾ als Spaltungsproduct der Ornithursäure, welche sich in den Excrementen der mit Benzoesäure gefütterten Hühner findet. Nach den Beobachtungen von Ellinger³⁾, dem die Aufspaltung in Tetramethyldiamin und Kohlensäure durch Fäulnisbakterien gelang, ist es als eine 1.4-Diaminovaleriansäure zu betrachten, in welcher nur noch die Stellung des Carboxyls zweifelhaft bleibt.

¹⁾ Der Berliner Akademie vorgelegt am 13. December 1900. Vergl. Sitzungsberichte 1900, 1111.

²⁾ Diese Berichte 10, 1925 [1877], 11, 406 [1878].

³⁾ Zeitschr. für physiolog. Chem. 29, 334 [1900].