

170. Emil Fischer: Ueber einige Derivate des Glykocolls, Alanins und Leucins.

[Aus dem I. chem. Institut der Universität Berlin.]

(Eingegangen am 5. März 1902.)

In der ersten Mittheilung<sup>1)</sup> wurde gezeigt, dass der aus dem Glycinanhydrid durch alkoholische Salzsäure entstehende Glycylglycinester,  $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2 \text{C}_2\text{H}_5$ , ähnlich den Estern der gewöhnlichen Aminosäuren ein recht reactionsfähiger Körper ist und sich deshalb vorzüglich zum Aufbau complicirter Derivate des Glykocolls eignet. Bei dem Interesse, welches diese Synthesen mit Rücksicht auf die Proteinstoffe bieten, habe ich sie nach verschiedener Richtung fortgesetzt und zunächst einige der früher beschriebenen Producte näher untersucht.

Bei der Einwirkung von Ammoniak auf den Carboxäthylglycylglycinester wurde ein Product gewonnen, welches an Stelle einer Estergruppe die Amidgruppe enthielt, und deshalb vorläufig als der Carbamidoglycylglycinester,  $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2 \text{C}_2\text{H}_5$ , bezeichnet wurde, obschon die Gleichberechtigung der Formel  $\text{C}_2\text{H}_5 \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$ , anerkannt werden musste. Die weitere Untersuchung hat in der That ergeben, dass letztere die richtige ist; denn der wahre Carbamidoglycylglycinester, welcher aus salzsaurem Glycylglycinester und Kaliumcyanat nach der Wöhler'schen Synthese entsteht, ist von dem früheren Producte ganz verschieden. Für dieses ist mithin auch der Name zu ändern. Ich bezeichne es jetzt als Carboxäthylglycylglycinamid.

Durch vorsichtige Behandlung mit Alkalien lässt sich in der Verbindung die Estergruppe verseifen, und es entsteht die Säure  $\text{COOH} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$ , die man Glycylglycinamidcarbonsäure nennen kann. Etwas complicirter liegen die Verhältnisse beim Carboxäthylglycylglycinester selbst. Denn hier führt die Verseifung zunächst zu einer Estersäure und schliesslich zu einer zweibasischen Säure. Die Structur der Letzteren die ich Glycylglycin-carbonsäure nenne, ist ohne Weiteres klar, für die einbasische Säure bleibt dagegen die Wahl zwischen folgenden beiden Formeln:  $\text{C}_2\text{H}_5 \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$  und  $\text{COOH} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2 \text{C}_2\text{H}_5$ . Ich bevorzuge die erstere, denn es ist wahrscheinlich, dass bei der Wirkung des Alkalis zuerst die Estergruppe angegriffen wird, welche auch durch Ammoniak in die Amidgruppe verwandelt wird.

In der ersten Mittheilung ist bereits eine Verbindung  $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{O}_6\text{N}_3$  kurz erwähnt, welche aus dem Carboxäthylglycylglycinester durch

<sup>1)</sup> E. Fischer und E. Fournéau, diese Berichte 34, 2868 [1901].

Erhitzen mit Leucinester entsteht. Da ihre Bildung und ihre Eigenschaften denjenigen des Carboxäthylglycylglycinamids genau entsprechen, so zweifle ich nicht daran, dass sie auch eine ähnliche Structur hat. Ich gebe ihr deshalb die Formel  $C_2H_5CO_2.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH.CH(C_4H_9).CO_2C_2H_5$  und den Namen Carboxäthylglycylglycylleucinester. Wie man sieht, sind hier schon 3 Moleküle Aminosäuren anhydridartig verkuppelt, und es ist recht wahrscheinlich, dass man auf diesem Wege fortfahrend schliesslich zu Formen gelangen wird, die mit den Peptonen schon manche Aehnlichkeit besitzen. Ein noch complicirteres Gebilde wurde aus dem Glycylglycinester durch Phosgen erhalten. Es hat die Structur:  $CO(NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO_2C_2H_5)_2$  und kann als Carbonyl-di-glycylglycinester bezeichnet werden. Durch Ammoniak entsteht daraus das Carbonyl-di-glycylglycinamid, und bei der Verseifung mit Alkali liefert der Ester die zugehörige Säure  $CO(NH.CH_2.CO.NH.CH_2.COOH)_2$ , Carbonyl-di-glycylglycin.

Dieselbe Reaction, welche vom Glycinanhydrid zum Glycylglycin führt, lässt sich, wie früher schon kurz erwähnt wurde, auch auf die Anhydride der kohlenstoffreicheren Aminosäuren übertragen, aber die Isolirung der Producte macht hier etwas grössere Schwierigkeiten. Genauer untersucht wurde der Vorgang beim Alanin und Leucin.

Das Anhydrid des Alanins wird beim Kochen mit alkoholischer Salzsäure fast ebenso schnell wie das Glycinanhydrid verändert, und es entsteht dabei ein Product, das zweifellos dem Glycylglycinester entspricht. Da es aber weder selbst, noch sein Hydrochlorat Neigung zum Krystallisiren hat und ausserdem auch sehr leicht in Alaninanhydrid zurückverwandelt wird, so musste auf seine Analyse verzichtet werden: dagegen gelang es, daraus durch Combination mit Chlorkohlensäureester den schön krystallisirenden Carboxäthylalanylalaninester,  $C_2H_5CO_2.NH.CH(CH_3).CO.NH.CH(CH_3).CO_2C_2H_5$ , zu gewinnen.

Das Anhydrid des Leucins, das sogenannte Leucinimid, bietet der aufspaltenden Wirkung der Säuren einen grösseren Widerstand als die kohlenstoffärmeren Diacipiperazine.

Mit Hülfe von rauchendem Bromwasserstoff ist es aber doch möglich gewesen, daraus das Leucylleucin,  $NH_2.CH(C_4H_9).CO.NH.CH(C_4H_9).COOH$ , in leidlicher Ausbeute zu gewinnen.

#### Carboxäthylglycylglycin, $C_2H_5CO_2.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.COOH$ (?).

Diese Säure, deren Structur im Vorhergehenden discutirt wurde, ist das erste Verseifungsproduct des Carboxäthylglycylglycinesters. Für ihre Bereitung wurden 5 g Ester in 20 ccm Wasser gelöst, bei gewöhnlicher Temperatur mit 23 ccm Normalnatronlauge (etwas mehr

als 1 Molekül) versetzt, die Flüssigkeit nach einstündigem Stehen mit 23 ccm Normalsalzsäure vermischt und unter stark vermindertem Druck auf etwa 20 ccm eingedampft. Beim starken Abkühlen fiel die Säure als dicker Krystallbrei aus. Sie wurde abfiltrirt und aus wenig warmem Wasser umkrystallisirt. Da sie aber noch eine geringe Menge Asche enthielt, so wurde sie nochmals aus heissem Alkohol krystallisirt und für die Analyse im Vacuum getrocknet.

0.1993 g Subst.: 0.3003 g CO<sub>2</sub>, 0.1077 g H<sub>2</sub>O. — 0.1400 g Subst.: 16.5 ccm N (17.5°, 767.5 mm).

C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>. Ber. C 41.17, H 5.88, N 13.72.

Gef. » 41.09, » 6.00, » 13.75.

Die Säure ist in Wasser, besonders in der Wärme, sehr leicht löslich, viel schwerer wird sie von Alkohol aufgenommen. Sie krystallisirt aus beiden Flüssigkeiten in sehr kleinen, biegsamen Nadeln, welche bei 140° (corr.) schmelzen und sich gegen 200° unter Gasentwicklung und Bräunung zersetzen. Das Kupfersalz ist in Wasser ziemlich leicht löslich und krystallisirt in dünnen, hellgrünen Prismen. Das schwerer lösliche Silbersalz fällt aus der Lösung des Ammoniumsalzes mit Silbernitrat in feinen biegsamen Nadeln aus.

Die Verbindung reagirt sauer und zersetzt Carbonate. Sie reducirt bei Gegenwart von freiem Alkali beim Kochen die ammoniakalische Silberlösung recht stark.

Uebrigens tritt diese Reaction auch bei dem Ester und allen anderen, in dieser Arbeit beschriebenen Verbindungen ein. Da sie ferner, wenn auch in etwas abgeschwächtem Maasse, bei dem Glykocoll beobachtet wurde, so dürfte es sich hier um eine allgemeine Eigenschaft der α-Aminosäuren handeln.

#### Glycylglycincarbonsäure, COOH.NH.CH<sub>2</sub>.CO.NH.CH<sub>2</sub>.COOH.

Werden 3 g Carboxäthylglycylglycinester mit 30 ccm Normalnatronlauge 5 Stunden am Rückflusskühler gekocht, so sind an Stelle von 26 ccm Normalalkali, welche sich für 2 Moleküle berechnen, 24.5 ccm verbraucht. Man versetzt nun mit 30 ccm Normalsalzsäure, um das Alkali ganz zu binden, verdampft auf dem Wasserbade und kocht den Rückstand 2 Mal mit je 50 ccm Alkohol aus. Die alkoholische Lösung wird unter vermindertem Druck verdampft und der Rückstand in etwa 15 ccm warmem Wasser gelöst. Beim Abkühlen auf 0° fällt der grösste Theil der Säure in feinen, meist sternförmig gruppirten Nadeln aus. Die Mutterlauge giebt nach dem Eindampfen eine zweite, aber viel kleinere Krystallisation. Die Gesamtausbeute betrug 64 pCt. der Theorie. Für die Analyse wurde im Vacuum getrocknet.

0.1442 g Sbst.: 0.1869 g CO<sub>2</sub>, 0.0613 g H<sub>2</sub>O. — 0.1562 g Sbst.: 17.98 ccm  $\frac{1}{10}$  n.-Ammoniak (Kjeldahl).

C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>. Ber. C 34.09, H 4.55, N 15.91.

Gef. » 34.27, » 4.58, » 16.12.

Die Substanz schmilzt bei raschem Erhitzen im Capillarrohr gegen 208° (corr.) unter stürmischer Gasentwicklung. Sie löst sich in warmem Wasser, erheblich schwerer in Alkohol, in Aether ist sie fast unlöslich.

Das grüne, ziemlich schlecht krystallisirende Kupfersalz ist in Wasser leicht löslich. Das Silbersalz fällt aus der Lösung des Ammoniumsalzes durch Silbernitrat als farbloser, körniger, aber nicht deutlich krystallisirter Niederschlag aus. Es löst sich in überschüssigem Ammoniak leicht auf. Die alkalische Lösung der Säure nimmt kein Kupferhydroxyd auf und giebt mit Fehling'scher Flüssigkeit eine rein blaue Färbung, welche beim Kochen nicht verschwindet.

Glycylglycinamidcarbonsäure,  
COOH.NH.CH<sub>2</sub>.CO.NH.CH<sub>2</sub>.CO.NH<sub>2</sub>.

Sie entsteht aus ihrem Ester, dem Carboxäthylglycylglycinamid, welches in der ersten Mittheilung irrthümlich als Carbamidoglycylglycinester angeführt wurde, durch vorsichtige Verseifung mit Alkali.

5 g des Esters werden in 35 ccm warmem Wasser gelöst, rasch auf Zimmertemperatur abgekühlt, mit 26 ccm Normalnatronlauge versetzt und so lange geschüttelt, bis die ausgeschiedenen Krystalle wieder in Lösung gegangen sind. Nach 2½-stündigem Stehen wird die Flüssigkeit mit 26 ccm Normalsalzsäure vermischt, unter stark vermindertem Druck zur Trockne verdampft, das Kochsalz durch Auslaugen mit wenig eiskaltem Wasser entfernt und der Rückstand zweimal aus wenig warmem Wasser umkrystallisirt.

In Folge der grossen Löslichkeit traten dabei allerdings erhebliche Verluste ein, sodass die Ausbeute an reiner Säure nur 56 pCt. der Theorie betrug.

Für die Analyse wurde sie bei 100° getrocknet.

0.2000 g Sbst.: 0.2515 g CO<sub>2</sub>, 0.0930 g H<sub>2</sub>O. — 0.2842 g Sbst.: 4.83 ccm Normalsäure (Kjeldahl).

C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 34.29, H 5.14, N 24.00.

Gef. » 34.30, » 5.12, » 23.80.

Die Verbindung schmilzt unter Zersetzung gegen 195° (corr.). Sie löst sich etwa in der gleichen Menge siedendem Wasser und krystallisirt daraus in kleinen, farblosen Blättchen oder flachen Prismen.

In Alkohol, Aceton, Chloroform, Benzol ist sie nur wenig löslich. Die wässrige Lösung reagirt sauer und löst Calciumcarbonat beim Kochen. Mit viel überschüssigem Alkali und Kupfersalzen giebt sie, im Gegensatz zu ihrem Ester, nicht die Färbung des Biurets, sondern eine rein blaue Lösung, welche beim Kochen Kupferoxydul abscheidet.

Carbamidoglycylglycinester,  
 $\text{NH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2 \text{C}_2 \text{H}_5$ .

Löst man 3 g salzsauren Glycylglycinester in 6 ccm Wasser und fügt 1.25 g reines Kaliumcyanat bei gewöhnlicher Temperatur hinzu, so löst es sich beim Schütteln rasch auf, und nach etwa 10 Minuten beginnt die Krystallisation des neuen Harnstoffderivats. Nach  $1\frac{1}{2}$ -stündigem Stehen wird die Masse auf  $0^\circ$  abgekühlt, dann abgesaugt, und zur Entfernung der Mutterlauge scharf abgepresst. Die Ausbeute an Rohproduct war recht befriedigend. Zur völligen Reinigung wurde dasselbe zweimal aus je 3 ccm Wasser umkrystallisirt und jedes Mal abgepresst.

Da die Substanz in Wasser recht leicht löslich ist, so entstehen hierbei grosse Verluste, denn die Menge des analysenreinen Präparats betrug nur 1.2 g. Es ist deshalb zweckmässig, alle wässrigen Mutterlaugen zu verdampfen und den Rückstand mit absolutem Alkohol auszukochen, wobei die Carbamidoverbindung, nur von einer geringen Menge anorganischer Substanz begleitet, in Lösung geht. Für die Analyse war das Präparat im Vacuum getrocknet.

0.2007 g Sbst.: 0.3048 g  $\text{CO}_2$ , 0.1160 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.2741 g Sbst.: 39.57 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normal-Ammoniak.

$\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_4\text{N}_3$ . Ber. C 41.38, H 6.40, N 20.69.  
 Gef. » 41.41, » 6.41, » 20.21.

Die Substanz schmilzt bei  $163^\circ$  ( $165^\circ$  corr.). Sie krystallisirt sowohl aus Wasser wie aus Alkohol in feinen, farblosen, biegsamen Nadeln, die häufig zu kugeligen Aggregaten vereinigt sind. Sie löst sich äusserst leicht in warmem Wasser, dann stufenweise schwerer in Alkohol, Aceton, Chloroform, Benzol, Aether. Sie giebt keine Biuretfärbung und unterscheidet sich dadurch ebenso, wie durch den niedrigeren Schmelzpunkt von dem isomeren Carboxäthylglycylglycinamid.

#### Einwirkung von Guanidin auf Carboxäthylglycylglycinester.

In der Hoffnung, ein dem Amid entsprechendes Guanidinderivat zu erhalten, wurden 2 g des Esters mit 25 g einer alkoholischen Guanidininlösung, welche 4.85 pCt. Base enthielt, in geschlossenem Rohre 15 Stunden auf  $100^\circ$  erhitzt. Die gelbe Lösung schied beim Erkalten eine gelbe krystallinische Masse ab, deren Menge beim Einengen noch grösser wurde. Nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Methylalkohol betrug die Ausbeute 1 g. Durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus der 30-fachen Menge heissen Methylalkohols unter Zusatz von Thierkohle wurden farblose, kurze Prismen erhalten, welche nach dem Trocknen im Vacuum die Zusammensetzung  $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N}_5$  zeigten.

0.1948 g Sbst.: 0.2357 g CO<sub>2</sub>, 0.0892 g H<sub>2</sub>O. — 0.2057 g Sbst.: 47.48 ccm <sup>1</sup>/<sub>10</sub>-Normal-Ammoniak.

C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>4</sub>N<sub>3</sub>. Ber. C 33.18, H 5.07, N 32.26.

Gef. » 33.04, » 5.08, » 32.31.

Die Verbindung, welche bei 224° schmilzt, sich in Wasser leicht löst und alkalisch reagirt, zeigt das Verhalten eines Guanidinsalzes. Denn wenn man ihre wässrige Lösung vorsichtig in der Kälte mit Salzsäure ansäuert und mit Goldchlorid versetzt, so fällt sofort das Aurochlorat des Guanidins aus.

0.2507 g Sbst.: 0.0284 g CO<sub>2</sub>, 0.0451 g H<sub>2</sub>O. — 0.2362 g Sbst.: 0.1163 g Au.

CH<sub>5</sub>N<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>. Ber. C 3.01, H 1.50, Au 49.00.

Gef. » 3.09, » 1.99, » 49.24.

Demnach würde man die Verbindung aufzufassen haben als das Guanidinsalz einer Säure C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>, die nach der Formel das Anhydrid der Glycylglycincarbonsäure sein könnte. Es muss aber bemerkt werden, dass die Säure bisher nicht isolirt wurde.

Carboxäthyl-glycyl-glycyl-leucinester,

C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>CO<sub>2</sub>.NH.CH<sub>2</sub>.CO.NH.CH<sub>2</sub>.CO.NH.CH(C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>).CO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.

Die Wechselwirkung zwischen Carboxäthylglycylglycinester und Leucinester erfolgt erst bei höherer Temperatur und verläuft deshalb keineswegs glatt, denn nebenher entstehen Leucinimid und andere, amorphe, nicht näher untersuchte Producte. Die besten Resultate gab folgendes Verfahren: Je 10 g beider Ester werden im geschlossenen Rohr 36 Stunden auf 130—135° erwärmt, dann die Masse vor dem völligen Erkalten mit 100 ccm Aether rasch durchgerührt und das unlösliche Leucinimid, dessen Menge etwa 1.7 g beträgt, sofort abfiltrirt. Die braun gefärbte, ätherische Lösung scheidet beim Stehen die neue Verbindung als gelbe, krystallinische Masse ab. Nach 24 Stunden betrug ihre Menge 4.2 g oder 28 pCt. der Theorie. Sie wird zuerst aus heissem Essigester umkrystallisirt, wobei sie nahezu farblos wird. Zur völligen Reinigung löst man aber schliesslich noch in der 20-fachen Menge kochendem Wasser, behandelt mit Thierkohle und lässt in der Kälte krystallisiren. Der Carboxäthylglycylglycylleucinester scheidet sich in schönen, farblosen, meist zu Büscheln verwachsenen Prismen ab, welche für die Analyse im Vacuum getrocknet wurden:

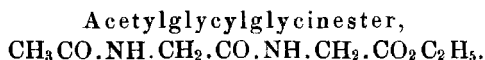
0.1888 g Sbst.: 0.3603 g CO<sub>2</sub>, 0.1333 g H<sub>2</sub>O. — 0.2512 g Sbst.: 22.00 ccm <sup>1</sup>/<sub>10</sub>-Normal-Ammoniak.

C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub>. Ber. C 52.18, H 7.82, N 12.18.

Gef. » 52.04, » 7.84, » 12.26.

Da in der Mutterlauge eine erhebliche Menge gelöst bleibt, so empfiehlt es sich, dieselbe unter stark vermindertem Druck einzudampfen.

Der Ester schmilzt bei 109.5° (corr.). Er löst sich in Alkohol und Aceton sehr leicht, von heissem Benzol oder Essigester verlangt er die 4—5-fache Menge. In kalter, wässriger Lösung giebt er mit Alkali und Kupfersalz recht hübsch die Biuretfärbung und gleicht darin vollkommen dem Carboxäthylglycylglycinamid.



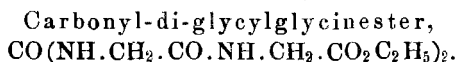
Trägt man 1 Theil Glycylglycinester in 2 Theile Essigsäureanhydrid ein, so erwärmt sich das Gemisch, und wenn man zum Schluss noch etwa 5 Minuten auf dem Wasserbade erhitzt, so ist die Reaction beendet, obschon keine völlige Lösung eintritt. Zur Entfernung des überschüssigen Essigsäureanhydrids wird mit Alkohol vermischt, auf dem Wasserbade verdampft, diese Operation mehrmals wiederholt und schliesslich der Rückstand aus kochendem Alkohol umkrystallisirt. Die Ausbeute beträgt etwa 80 pCt. der Theorie. Für die Analyse war das Präparat bei 100° getrocknet:

0.2009 g Sbst.: 0.3480 g  $\text{CO}_2$ , 0.1250 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.2837 g Sbst.: 23.45 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normal-Ammoniak.

$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_4\text{N}_2$ . Ber. C 47.52, H 6.33, N 13.86.

Gef. » 47.24, » 6.91, » 14.04.

Schmp. 152° (corr.). In Wasser recht leicht, und dann successive schwerer löslich in Alkohol, Chloroform und Aether.



Zu einer stark gekühlten Lösung von 10 g salzsaurem Glycylglycinester in 20 ccm Wasser fügte man 2 ccm einer 6-fach normalen Natronlauge, dann 1 ccm einer Lösung von Phosgen in Toluol, welche in 100 ccm 15 g  $\text{COCl}_2$  enthielt. Beim kräftigen Umschütteln verschwand der Geruch des Phosgens sehr rasch. Jetzt wurde unter dauernder Kühlung und Schütteln immer je 1 ccm der Natronlauge und der Phosgenlösung zugefügt, bis 20 ccm der Letzteren verbraucht waren. Die Menge des Alkalis war so gewählt, dass sie ausreichte, um alles Chlor zu binden. Während der Operation fiel der schwer lösliche Carbonylkörper krystallinisch aus. Er wurde abfiltrirt, aus heissem Wasser umkrystallisirt und zur Analyse bei 100° getrocknet.

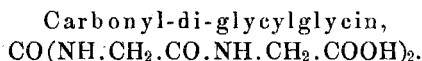
0.1804 g Sbst.: 0.2981 g  $\text{CO}_2$ , 0.1038 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.2196 g Sbst.: 30.4 ccm N (19°, 773 mm).

$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_7\text{N}_4$ . Ber. C 45.09, H 6.36, N 16.18.

Gef. » 45.07, » 6.39, » 16.17.

Die Ausbeute an analysenreinem Material betrug 5 g oder 57 pCt. der Theorie. Die Verbindung schmilzt beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 233° (corr.) unter Gasentwicklung. Sie löst sich in ungefähr 90 Theilen kochendem Wasser und fällt beim Erkalten in

sehr feinen, farblosen Stäbchen aus. In Alkohol und Aceton ist sie schwerer löslich als in Wasser, und in Aether oder Benzol fast unlöslich. Dagegen wird sie von heissem Eisessig ziemlich leicht aufgenommen und krystallisirt daraus beim Erkalten ebenfalls in Nadelchen. In verdünntem kaltem Alkali ist sie nicht löslich.



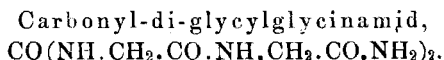
Zur Verseifung wurden 2 g Carbonyldiglycylglycinester mit 100 ccm Wasser und 12 ccm Normalnatronlauge (statt der auf 2 Mol. berechneten 11.6 ccm) am Rückflusskühler gekocht. Nach 10 Minuten war Lösung eingetreten, und nach 2½ Stunden war die alkalische Reaction der Flüssigkeit verschwunden. Sie wurde mit 12 ccm Normalsalzsäure versetzt und auf dem Wasserbade bis zu etwa 15 ccm eingedampft. Beim Abkühlen schied sich das Carbonyldiglycylglycin ab; es wurde aus 8 ccm siedendem Wasser umkrystallisirt und für die Analyse im Vacuum getrocknet. Die Ausbeute an analysenreiner Substanz betrug 0.8 g oder 47 pCt. der Theorie.

0.1528 g Sbst.: 0.2078 g CO<sub>2</sub>, 0.0684 g H<sub>2</sub>O. — 0.2380 g Sbst.: 33.04 ccm 1/10-Normal-Ammoniak.

C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>N<sub>4</sub>. Ber. C 37.24, H 4.83, N 19.31.

Gef. » 37.09, » 4.97, » 19.43.

Die Säure schmilzt beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 232° (corr.) unter Aufschäumen und Dunkelfärbung. Sie löst sich in etwa 10 Theilen heissem Wasser, schwerer in Alkohol, Aceton und Eisessig und noch schwerer in Chloroform, Benzol oder Aether. Sie reagirt und schmeckt sauer. Die Lösung des Ammoniumsalzes giebt mit Silbernitrat einen weissen, in der Kälte sehr schwer löslichen Niederschlag, der aus heissem Wasser in sehr kleinen Prismen krystallisirt. Mit Kupfersulfat oder Baryumchlorid giebt das Ammoniumsalz keine Niederschläge. Die alkalische Lösung der Säure löst Kupferhydroxyd mit stark blauer Farbe, und diese Lösung scheidet beim Kochen, wenn genügend Alkali zugegen ist, langsam Kupferoxydul ab.



Schliesst man den fein gepulverten Carbonyl di-glycylglycinester mit einem Ueberschuss von flüssigem Ammoniak in ein Rohr ein, so erfolgt die Amidbildung bei gewöhnlicher Temperatur, bleibt aber unvollständig, weil die Substanz sich nicht löst. Es ist deshalb nöthig, nach mehrtägiger Einwirkung des Ammoniaks das Rohr zu öffnen, die Masse sorgfältig zu zerreiben und nochmals in der gleichen Weise mit Ammoniak zu behandeln. Schliesslich wird das Product nach



dem Verdunsten des Ammoniaks aus der 50-fachen Menge heissem Wasser, dem etwas Ammoniak zugesetzt ist, umkrystallisirt. Die Ausbeute beträgt dann 77 pCt. der Theorie. Für die Analyse wurde im Vacuum getrocknet:

0.1802 g Sbst.: 0.2468 g CO<sub>2</sub>, 0.0939 g H<sub>2</sub>O. — 0.2138 g Sbst.: 44.36 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normal-Ammoniak.

C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>N<sub>6</sub>. Ber. C 37.50, H 5.55, N 29.17.

Gef. » 37.35, » 5.80, » 29.05.

Das Amid schmilzt im Capillarrohr gegen 270° (corr.) unter Gasentwicklung und Schwärzung. Es krystallisirt aus heissem Wasser in sehr kleinen, meist zu Büscheln vereinigten Nadelchen, die beim Abfiltriren eine silberglänzende Masse bilden.

Die wässrige Lösung giebt mit Alkali und wenig Kupfersalz die Biuretfärbung. Dagegen erzeugt Phosphorwolframsäure weder in der wässrigen, noch in der schwefelsauren Lösung einen Niederschlag.

#### Carboxäthyl-alanyl-alaninester,



Uebergiesst man 2 g gepulvertes Alaninanhydrid mit 20 ccm Alkohol und sättigt unter mässiger Kühlung mit Salzsäuregas, so erfolgt Lösung. Dieselbe wird zur Vervollständigung der Spaltung  $\frac{1}{2}$  Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, und dann rasch in einer Platinschale verdampft. Dabei bleibt ein Syrup zurück, der zweifellos das Hydrochlorat des Alanylalaninesters enthält, aber bisher nicht krystallisirte. Ebenso erfolglos war der Versuch, die entsprechende Methylverbindung fest zu erhalten. In letzterem Falle wurde auch der freie Ester mit Kaliumcarbonat hergestellt und mit Chloroform extrahirt. Er war ebenfalls ein Syrup, der sich leicht in Alaninanhydrid zurückverwandelte.

Schönere Eigenschaften besitzt, wie schon erwähnt, die Carboxäthylverbindung. Für ihre Bereitung wurde der oben erwähnte Syrup, welcher den salzsauren Alanylalaninäthylester enthielt, 12 Stunden im Vacuum über Aetzkalk zur Entfernung der Salzsäure aufbewahrt, dann in 5 ccm Wasser gelöst, gut gekühlt, 1.4 ccm Natronlauge (33-proc.), ferner 2 g Natriumcarbonat (trocken), welches in möglichst wenig Wasser gelöst war, endlich 2 g Chlorkohlensäureester zugefügt und tüchtig geschüttelt, bis nach einigen Minuten der Geruch des Letzteren verschwunden war. Jetzt wurde mit Chloroform ausgeschüttelt und die filtrirte Chloroformlösung verdampft.

Der zurückbleibende Syrup erstarrte über Nacht zum grossen Theil krystallinisch. Die Masse wurde abgepresst, dann in Aether gelöst und durch Zusatz von Ligroin wieder abgeschieden. Die so erhaltenen farblosen Nadeln schmolzen bei 70° (corr.) und wurden für die Analyse im Vacuum getrocknet.

0.1823 g Sbst.: 0.3373 g CO<sub>2</sub>, 0.1253 g H<sub>2</sub>O. — 0.2420 g Sbst.: 18.95 ccm  
 1/10-Normal-Ammoniak.

C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>. Ber. C 50.77, H 7.69, N 10.77.

Gef. » 50.46, » 7.64, » 10.97.

Die Ausbeute an reiner Substanz betrug 1.2 g aus 2 g Alanin-anhydrid.

Der Ester wird von den üblichen Lösungsmitteln, mit Ausnahme des Ligroins, leicht aufgenommen. Bei Gegenwart von überschüssigem Alkali löst er Kupferhydroxyd mit tief blauer Farbe.

### Leucylleucin,



Das in Wasser äusserst schwer lösliche Leucinimid löst sich in Mineralsäuren um so leichter, je concentrirter sie sind. Die Sprengung des Piperazinrings erfolgt jedoch erst bei höherer Temperatur und führt bei längerer Dauer des Erhitzens bis zum Leucin. Um das Zwischenproduct in erheblicher Menge zu gewinnen, empfiehlt es sich deshalb, die Operation zu unterbrechen, bevor alles Leucinimid zerlegt ist. Dem entspricht folgende Vorschrift:

3 g reines Leucinimid werden mit 10 ccm Bromwasserstoff, welcher bei 0° gesättigt ist, im geschlossenen Rohr 1/2 Stunde auf 100° erhitzt, dann die schwach braune Flüssigkeit unter 10 mm Druck verdampft, nach Zusatz von Wasser wieder in der gleichen Weise verdampft und der Rückstand mit kaltem Wasser aufgenommen, wobei das unveränderte Leucinimid, etwa ein Drittel der angewandten Menge, zurückbleibt. Man verdünnt das Filtrat auf etwa 250 ccm, schüttelt zur Entfernung des Bromwasserstoffs mit Silbercarbonat und befreit die Mutterlauge mit Schwefelwasserstoff vom Silber. Wird die filtrirte Lösung dann unter vermindertem Druck stark eingedampft, so fällt das Leucylleucin als farblose, krystallinische Masse aus. Es wurde in 45 ccm kochendem Wasser gelöst und durch Abkühlung auf 0° in kleinen, farblosen Nadeln wieder abgeschieden. Die Ausbeute an diesem reinen Präparat betrug 1 g. Aus der Mutterlauge wurden noch 0.4 g eines weniger reinen Productes gewonnen.

Für die Analyse wurde das erste Präparat nochmals aus warmem Wasser umkrystallisirt. Die glänzenden Krystalle enthalten Wasser, verlieren dasselbe aber schon im Vacuumexsiccator und zerfallen dabei zu einem lockeren Pulver. Die Menge des Wassers beträgt für die lufttrocknen Krystalle 1 1/2 Moleküle.

0.3513 g Sbst. bei 109°: 0.0341 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> + 1 1/2 H<sub>2</sub>O. Ber. H<sub>2</sub>O 9.96. Gef. H<sub>2</sub>O 9.71.

Die trockne Substanz gab folgende Zahlen:

0.1920 g Sbst.: 0.4143 g CO<sub>2</sub>, 0.1720 g H<sub>2</sub>O. — 0.1829 g Sbst.: 17.8 ccm N (18°, 766 mm).

$C_{12}H_{24}O_3N_2$ . Ber. C 59.02, H 9.84, N 11.47.

Gef. » 58.85, » 9.95, » 11.23.

Das Leucylleucin hat keinen scharfen Schmelzpunkt. Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr sintert es bei  $260^{\circ}$  und schmilzt etwas über  $270^{\circ}$ . Unter Abspaltung von Wasser wird dabei Leucinimid zurückgebildet.

Es löst sich in ungefähr 30 Theilen kochendem Wasser, ziemlich leicht auch in wasserfreiem Methylalkohol. Von Aethylalkohol und Aceton wird es nur sehr wenig gelöst, von Aether garnicht.

Es schmeckt schwach bitter.

Das Kupfersalz ist, wie bei den anderen Aminosäuren, tiefblau gefärbt und unterscheidet sich von dem Leucinkupfer durch die viel grössere Löslichkeit in Wasser und die geringe Neigung zum Krystallisiren.

#### Biuretreaction.

Von den neuen Verbindungen, welche in dieser und der früheren Mittheilung beschrieben wurden, zeigen nur drei in alkalischer Lösung mit Fehling'scher Flüssigkeit oder auf Zusatz von gewöhnlichen Kupfersalzen die Rothviolett-färbung des Biurets.

Das sind Carboxäthylglycylglycinamid,  $C_2H_5CO_2.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH_2$ , Carboxäthylglycylglycylleucinester,  $C_2H_5CO_2.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH.CH(C_4H_9).CO_2C_2H_5$ , und Carbonyldi-glycylglycinamid,  $CO(NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH_2)_2$ .

Alle drei können, wie leicht ersichtlich, mit dem Glycinamid,  $NH_2.CH_2.CO.NH_2$ , verglichen werden, von dem schon H. Schiff<sup>1)</sup> gezeigt hat, dass es die Biuretfärbung giebt. Bemerkenswerth ist aber, dass die dem ersten, oben erwähnten Amid entsprechende freie Säure  $COOH.NH.CH_2.CO.NH.CH_2.CO.NH_2$ , obgleich sie den Rest des Glycinamids in derselben Form enthält, die Biuretfärbung nicht mehr giebt; es scheint demnach, dass saure Gruppen im Molekül die Biuretreaction aufheben können.

Einer Verallgemeinerung dieses Schlusses steht aber das Verhalten des  $\alpha$ -Asparagins,  $COOH.CH_2.CH(NH_2).CO.NH_2$ , entgegen, welches nach der Beobachtung von H. Schiff<sup>1)</sup> die rothe Biuretfärbung zeigt. Im Gegensatz dazu giebt das gewöhnliche Asparagin,  $COOH.CH(NH_2).CH_2.CO.NH_2$ , mit Alkali und wenig Kupfersalz eine blaviolette Farbe, welche durch mehr Kupfer in blau übergeht. Schiff nannte das »blaviolette Biuretreaction«, nach meinem Gefühl ist aber der Stich in's Violette hier so gering, dass man kaum noch von einer Aehnlichkeit mit dem Biuret reden kann. Recht stark wird dagegen die violetrothe Farbe wieder bei dem Diamid der

<sup>1)</sup> Ann. d. Chem. 310, 37 [1900].

Asparaginsäure,  $\text{NH}_2\text{CO}\cdot\text{CH}(\text{NH}_2)\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{NH}_2$ , welches Hr. Ernst Koenigs auf meine Veranlassung aus dem Asparaginsäure-ester mit Ammoniak dargestellt hat und welches bei  $131^\circ$  schmilzt.

Diese Beobachtung steht mit der Ansicht von Schiff über die Ursache der Biuretreaction in guter Uebereinstimmung.

Bei der Ausführung obiger Versuche habe ich mich der werthvollen Hülfe des Hrn. Dr. Otto Wolfes erfreut, wofür ich demselben besten Dank sage.

### 171. Henry Moissan und Walther Diltthey: Ueber das Calciumsilicid, $\text{CaSi}_2$ .

[Mittheilung aus dem Laboratoire de chimie générale. Paris. Sorbonne.]

(Eingegangen am 12. März 1901.)

Durch Erhitzen von geschmolzenem Chlorcacium und Silicium mit Natrium hat Wöhler<sup>1)</sup> als Erster ein Calciumsilicid erhalten, welches zum Theil in Folge der Unreinheit der Materialien wechselnde Mengen von Magnesium, Natrium, Aluminium und Eisen enthielt, nach der Analyse jedoch annähernde Werthe für Calciumsilicid gab. Dieses Silicid wurde durch Wasser nur sehr langsam angegriffen.

Viel später hat Chalmot<sup>2)</sup> durch Erhitzen einer Mischung von Kieselsäure, Kalk und Kohle im elektrischen Ofen ein Gemenge von Calciumcarbid und Calciumsilicid erhalten, welches ausserdem freies Silicium und beträchtliche Mengen von Eisensilicid enthielt.

Endlich hat vor Kurzem Jacobs<sup>3)</sup> durch Erhitzen von Kalk oder kohlensaurem Calcium mit Kieselsäure und Kohle im elektrischen Ofen die Darstellung eines Calciumsilicids beschrieben, welches wie das Calciumcarbid durch Wasser zersetzt wird unter Bildung von Calciumoxyhydrat, Kieselsäure und Wasserstoff und welches mit allen verdünnten Säuren, auch den Oxysäuren, Silicoacetylen bildet.

Die bei diesen Angaben auffälligen Widersprüche haben uns zu der folgenden Untersuchung veranlasst.

Da, wie der Eine von uns gezeigt hat<sup>4)</sup>, geschmolzener Kalk im Ueberschuss eine kleine Menge Silicium vollständig unter Bildung von Calciumsilicat oxydirt, haben wir möglichst mit einem Ueberschuss von Silicium gearbeitet, um zu einem Product von constanter Zu-

<sup>1)</sup> Wöhler, Ann. d. Chem. 125, 255; 127 255.

<sup>2)</sup> Chalmot, Am. chem. Journ. 18, 319 [1896].

<sup>3)</sup> British Association 1900, 699.

<sup>4)</sup> Sur quelques propriétés de la Chaux en fusion. Compt. rend. 134, 136 [1902].