

141. **Emil Abderhalden und Josef Schuler:**  
**Synthese von Polypeptiden: Derivate des Isoleucins.**

(II. Mitteilung.)

[Aus dem Physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Berlin.]

(Eingegangen am 17. März 1910.)

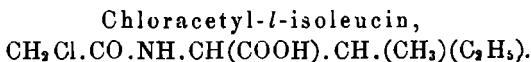
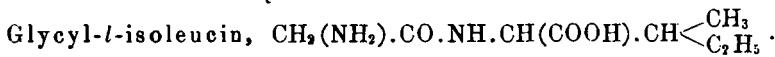
Im Anschluß an die frühere Mitteilung<sup>1)</sup> seien einige weitere Polypeptide des Isoleucins beschrieben. Zunächst gewannen wir das Glycyl-*l*-isoleucin. Wir verglichen das Verhalten dieses Dipeptids gegen Hefepreßsaft mit demjenigen des Glycyl-*d*-isoleucins. Wir setzten zu 6 ccm einer  $1/1000$  Mol. des Dipeptids enthaltenden Lösung 1 ccm aktiven Hefepreßsaft und verfolgten das Drehungsvermögen der Lösung während mehrerer Stunden. Während das aus den in der Natur vorkommenden Komponenten bestehende Glycyl-*d*-isoleucin gespalten wurde, war das beim Glycyl-*l*-isoleucin nicht der Fall. Es entspricht diese Beobachtung den früheren Befunden, wonach im allgemeinen die peptolytischen Fermente nur Polypeptide spalten, an deren Aufbau die in der Natur vorkommenden Aminosäuren beteiligt wird. Eine von Hans Fischer<sup>2)</sup> kürzlich mitgeteilte Beobachtung, wonach *d*-Leucyl-*l*-tryptophan von zerhackter Leber und von Pankreatin gespalten werden soll, bedarf der Nachprüfung, weil dem Nachweis des frei gewordenen Tryptophans mittels Bromwasser (Violettfärbung) entgegen gehalten werden muß, daß das Pankreatin resp. die zerhackte Leber an und für sich mit Bromwasser Tryptophanreaktion gibt (autolytischer Abbau der in den angewandten Produkten enthaltenen Proteine). Da die Bromreaktion sehr empfindlich ist, muß auch mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß ein positiver Ausfall der Probe ein Hinweis auf das Vorhandensein von Spuren von Racemkörper sein kann. Nach eigenen Beobachtungen, die wir mit Hefepreßsaft gemacht haben, läßt sich die Reinheit von optisch-aktiven, tryptophanhaltigen Polypeptiden, an deren Aufbau Komponenten beteiligt sind, die nicht in der Natur vorkommen, mit Hilfe von peptolytischen Fermenten prüfen. Tritt eine Abspaltung von Tryptophan ein, dann ist das Vorhandensein von Racemkörper wahrscheinlich.

Wir stellten ferner *l*-Leucyl-*l*-isoleucin und *l*-Leucyl-glycyl-*d*-isoleucin dar.

<sup>1)</sup> Emil Abderhalden, Paul Hirsch und Josef Schuler, Synthese von Polypeptiden: Derivate des Isoleucins, diese Berichte **42**, 3394 [1909].

<sup>2)</sup> Hans Fischer, *d*-Leucyl-*l*-tryptophan, diese Berichte **42**, 4320 [1909].

## Experimenteller Teil.



13.1 g (1 g-Mol.) *l*-Isoleucin wurden in 100 ccm *n*-Natronlauge (1 Mol.) gelöst, mit Kältemischung gekühlt und in 5 Portionen aus der Bürette mit je 5 ccm einer Lösung von 20 g (1.8 Mol.) Chloracetylchlorid in über Natrium getrocknetem Äther versetzt. Während der ganzen Operation wurde bis zum jeweiligen Verschwinden des Chloridgeruches geschüttelt. Nach Vertreiben des Äthers wurde die Reaktionsflüssigkeit mit 40 ccm 5-fachnormaler Salzsäure schwach übersättigt, was, wie gewöhnlich, zunächst milchige Trübung und dann Abscheidung schwerer öliger Tropfen zur Folge hatte. Diese wurden nach 12-stündigem Stehen im Eisschrank fest. Das erhaltene Produkt erwies sich als ziemlich rein. Gewicht 9 g (44%). Nach Einengung der Mutterlauge auf etwa  $\frac{1}{4}$  ihres Volumens schieden sich weitere 6 g halbfest ab, die sich absaugen ließen und im Vakuumexsiccator völlig erstarrten. Das Filtrat enthielt noch vereinzelte Öltropfen. Dieselben wurden samt dem gelösten Rest mit Äther ausgezogen und der Äther verdampft. Gesamtausbeute an Rohprodukt 16 g (80%).

Das Chloracetyl-*l*-isoleucin ist leicht löslich in Äther, absolutem Alkohol, Chloroform, Aceton, etwas schwerer in Benzol, schwer in Wasser, unlöslich in Petroläther. Es wurde durch Lösen in wenig Chloroform und Zusatz von Petroläther bis zur schwachen Trübung umkristallisiert, worauf nach einigem Reiben der Gefäßwände Kristallisation eintrat. Das langsam auskristallisierte Produkt zeigt die Form feiner Nadelchen.

Es beginnt, im Capillarröhrchen erhitzt, bei  $74^\circ$  zu erweichen und ist bei  $81^\circ$  zu einer klaren Flüssigkeit geschmolzen. Es zeigt also in dieser Eigenschaft gute Übereinstimmung mit dem Chloracetyl-*d*-isoleucin, das etwas schärfer bei  $74-75^\circ$  schmolz.

Zur Analyse wurde das Produkt bei  $60^\circ$  über Phosphorpentoxid getrocknet:

0.1686 g Sbst.: 0.2848 g  $\text{CO}_2$ , 0.1017 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.2016 g Sbst.: 0.1387 g  $\text{AgCl}$ .  
 $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{NO}_3\text{Cl}$ . Ber. C 46.26, H 6.75, Cl 17.07.  
 Gef. » 46.07, » 6.70, » 17.01.

Zur optischen Bestimmung wurden 0.1855 g Substanz in absolutem Alkohol zu 3.9497 g Gesamtgewicht gelöst; spez. Gewicht 0.794; Drehung im 1-dm-Rohr bei filtriertem Glühlicht —  $0.82^\circ$ . Mithin:

$$[\alpha]_D^{20} = -22.03^\circ (\pm 0.2^\circ).$$

Das Chloracetyl-*d*-isoleucin hatte etwas mehr nach rechts gedreht: +  $25.0^\circ$ .

Glycyl-*l*-isoleucin.

12 g Chloracetyl-*l*-isoleucin wurden in der 5-fachen Menge 25-prozentigen Ammoniaks gelöst und 4 Tage im Brutschrank stehen gelassen. Die Lösung wurde dann unter verminderter Druck eingedengt. Die Menge des zunächst mit Alkohol ausgefällten chlorfreien Produkts betrug 4 g. Aus der Mutterlauge entfernten wir das Chlor mit Silbersulfat und konnten darnach noch 2.9 g krystallisierten Produkts isolieren; ein kleiner Rest blieb ölig zurück. Ausbeute an krystallisiertem Produkt 6.9 g (63%). Zur Reinigung wurde das Rohprodukt in wenig Wasser gelöst und mit Alkohol ausgefällt. Bei langsamer Krystallisation schied sich das Dipeptid in derben, an den Enden verjüngten, balkenförmigen Krystallen ab. Es löst sich in Wasser etwas schwerer als das Glycyl-*d*-isoleucin, schwer in Alkohol und ist in Äther unlöslich.

Beim Erhitzen im Capillarröhrchen beginnt das Glycyl-*l*-isoleucin bei 239° (korrig. 245°) zu sintern und ist bei 251° (korrig. 257°) zu einer braunen Flüssigkeit geschmolzen.

Für das Glycyl-*d*-isoleucin war in der ersten Veröffentlichung der Schmelzpunkt bei 262° angegeben worden. Ein neuerdings erhaltenes (analysenreines) Produkt ergab einen etwas niedrigeren Schmelzpunkt bei ca. 246° (korrig.) Sinterung und bei 256° (korrig.) Schmelzung. Es ist also auch hier gute Übereinstimmung der Antipoden vorhanden.

Zur Analyse wurde das Glycyl-*l*-isoleucin bei 100° über Phosphorpentoxid getrocknet:

0.1665 g Sbst.: 0.3086 g CO<sub>2</sub>, 0.1294 g H<sub>2</sub>O. — 0.1518 g Sbst.: 16.50 ccm <sup>n/10</sup>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Kjeldahl).

C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 50.56, H 8.51, N 14.92.  
Gef. > 51.06, • 8.69, > 15.09.

Zur optischen Bestimmung wurden 0.1892 g in Wasser zu 5.5611 g Gesamtgewicht gelöst. Spez. Gewicht 1.007. Abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei filtriertem Glühlicht: + 0.45°. Also:

$$[\alpha]_D^{20} = + 13.14^\circ (\pm 0.1^\circ).$$

Das Glycyl-*d*-isoleucin hatte — 14.7° gedreht.

Glycyl-*l*-isoleucin-anhydrid,  $\text{CH}_2 \cdot \text{NH} \cdot \text{CO}$   
 $\text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH} \cdot \text{CH}(\text{CH}_3)(\text{C}_2\text{H}_5)$

1 g umkristallisiertes Glycyl-*l*-isoleucin wurde in 10 ccm absolutem Methylalkohol suspendiert und gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung eingeleitet. Die Lösung wurde dann nach einigem Stehen unter verminderter Druck eingedampft. Der Rückstand wurde mit dem gleichen Volumen Methylalkohol versetzt und die Lösung zur möglichst vollständigen Entfernung der überschüssigen Salzsäure noch-

mals verdampft. Das in Form eines grünlichgelben Öles zurückbleibende Esterchlorhydrat wurde mit der ca. 10-fachen Menge 25-prozentigen Ammoniaks versetzt, worauf bald reichliche Krystallabscheidung eintrat. Die Ausbeute entsprach derjenigen des Glycyl-*d*-isoleucin-anhydrids (ca. 75 %). Das rein weiße Produkt wurde für die Analyse nochmals aus der ca. 30-fachen Menge Wasser umkristallisiert, wobei sich die ebenfalls vom Antipoden her bekannten, feinen, kugelförmigen Krystallaggregate bildeten, die ziemlich rasch allseitig sich auswachsend, schließlich das ganze Gefäß ausfüllten. Der Schmelzpunkt des so gewonnenen Produkts liegt gleich hoch wie der des Antipoden: 255° (262° korr.). Es zersetzt sich dabei zu einer braunen Masse, nachdem es bei 254° (unkorr.) gesintert hat.

Für die Analyse wurde das Anhydrid bei 105° über Phosphorsäureanhydrid getrocknet:

0.1552 g Sbst.: 0.3190 g CO<sub>2</sub>, 0.1161 g H<sub>2</sub>O. — 0.1142 g Sbst.: 13.60 ccm  $\frac{v}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nach Kjeldahl.

C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> Ber. C 56.47, H 8.05, N 16.49.  
Gef. • 56.12, • 8.31, • 16.69.

Für die optische Bestimmung wurden 0.1964 g Sbst.<sup>1)</sup> in 7 ccm Eisessig zu 7.4874 g Gesamtgewicht gelöst; spez. Gewicht 1.047. Abgelesen im 1-dm-Rohr bei 20° und filtriertem Gasglühlicht — 0.48° (± 0.01°). Mithin:

$$[\alpha]_D^{20} = -17.48^\circ \pm (0.3^\circ).$$

*l*-Leucyl-*l*-isoleucin,  
(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH.CH<sub>2</sub>.CH(NH<sub>2</sub>).CO.NH.CH(COOH).CH(CH<sub>3</sub>)(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>).  
*d*-*α*-Bromisocapronyl-*l*-isoleucin,  
(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH.CH<sub>2</sub>.CHBr.CO.NH.CH(COOH).CH(CH<sub>3</sub>)(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>).

1.5 g *l*-Isoleucin wurden in 11.3 ccm *n*-Natronlauge (1 Mol.) gelöst und dazu unter Schütteln und Kühlung in Kältemischung abwechselnd eine Lösung von 2.5 g *d*-*α*-Bromisocapronylchlorid (1 Mol.), das in der gewohnten Weise aus *d*-Leucin dargestellt worden war, in 15 ccm Äther und 17 ccm *n*-Natronlauge (1.5 Mol.) zugegeben. Nach Vertreiben des Äthers wurde die Lösung mit 3.4 ccm 5-fachnorm. Salzsäure schwach übersättigt. Das Kuppelungsprodukt schied sich hierbei als zäher Klumpen ab, der nach 12-stündigem Stehen im Eisschrank krystallinisch erstarrt war. Die Menge des so gewonnenen, ziemlich reinen Rohproduktes betrug 2.6 g (73 %). Durch Ausäthern der Mutterlauge und Abdampfen des mit Natriumsulfat getrockneten Auszuges ließen sich noch 0.3 g isolieren (Gesamtausbeute 80 %).

<sup>1)</sup> Da die optische Bestimmung nicht mit Analysensubstanz ausgeführt werden konnte, ist der etwas niedrige Wert der Drehung nur als ein vorläufiger zu betrachten. (Der Antipode dreht + 26.05°).

Das Produkt löst sich leicht in Alkohol, Ather, Chloroform, Aceton, schwer in Wasser und ist in Petroläther unlöslich. Es ließ sich durch Lösen in Chloroform und Abscheiden mit Petroläther umkristallisieren. Die feinen Krystallaggregate ließen unter dem Mikroskop zum Teil oktaedrische Formen erkennen.

Beim Erhitzen im Capillarröhrchen sinterte der Bromkörper bei 104° (korrig.) und war bei 113° (korrig.) klar geschmolzen.

0.1087 g Sbst.: 0.0638 g AgBr.

$C_{12}H_{22}O_3NBr$ . Ber. Br 25.95. Gef. Br 24.99.

Zur optischen Bestimmung wurden 0.0595 g Substanz in absolutem Alkohol zu 3.1072 g Gesamtgewicht gelöst; spez. Gew. 0.799 g; abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei filtriertem Glühlicht: + 0.29°. Also

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = + 18.95^\circ (\pm 0.6^\circ).$$

#### *l*-Leucyl-*l*-isoleucin.

1.6 g *d*- $\alpha$ -Bromisocapronyl-*l*-isoleucin wurden, in ca. der 5-fachen Menge 25-prozentigen Ammoniaks gelöst, 3 Tage im Brutschrank und 2 Tage bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Die Lösung wurde bei verminderter Druck auf ein kleines Volumen gebracht und mit der mehrfachen Menge Alkohol versetzt. Nach mehrstündigem Stehen hatten sich prächtige, lange Nadeln und Platten ausgeschieden, die schon bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuumexsiccator Krystallwasser verloren (verwitterten).

Das Dipeptid löst sich mittelschwer in Wasser, schwer in Alkohol, nicht in Äther.

Zur genauen Bestimmung des Krystallwassergehaltes wurde das reine Produkt nochmals durch Auflösen in ziemlich viel Wasser, Eindampfen der Lösung und Aufnehmen mit Alkohol umkristallisiert.

Das lufttrockene Dipeptid sintert bei 271° (korrig. 278°) und schmilzt bei 276° (korrig. 283.5°) zu einer braunen Masse.

Zur Krystallwasserbestimmung und Analyse wurde das Dipeptid bei 100° über  $P_2O_5$  getrocknet.

0.1598 g Sbst. verloren 0.0167 g  $H_2O$ . — 0.1431 g Sbst.: 0.3085 g  $CO_2$ , 0.1291 g  $H_2O$ .

$C_{12}H_{24}N_2O_3 + 1\frac{1}{2}H_2O$ . Ber. C 59.00, H 9.84, N 11.47,  $H_2O$  9.96.  
Gef. » 58.80, » 10.09, » 11.86, » 10.45.

Zur optischen Bestimmung wurden 0.1175 g lufttrockene Sbst. (= 0.1059 g wasserfreie) in  $H_2O$  zu 5.6057 g Gesamtgewicht gelöst; spez. Gew. 1.007 g; abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei filtriertem Glühlicht: + 1.01°. Also auf wasserfreie Substanz berechnet:

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = + 58.11^\circ (\pm 0.3^\circ).$$

*l*-Leucyl-glycyl-*d*-isoleucin,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CO} \cdot \text{NII} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}(\text{COOH}) \cdot \text{CH}(\text{CH}_3)(\text{C}_2\text{H}_5)$ .

*d*-*α*-Bromisocapronyl-glycyl-*d*-isoleucin,  
 $(\text{CH}_3)_2\text{CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CHBr} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}(\text{COOH}) \cdot \text{CH}(\text{CH}_3)(\text{C}_2\text{H}_5)$ .

5 g Glycyl-*d*-isoleucin wurden in 27 ccm (1 Mol.) *n*-Natronlauge gelöst. Dazu gaben wir unter Schütteln und Kühlung in Kältemischung abwechselnd eine Lösung von 5.6 g *d*-*α*-Bromisocapronylchlorid in 40 ccm über Natrium getrockneten Äthers und 40.7 ccm (1.5 Mol.) *n*-Natronlauge hinzu. Zuletzt wurde der Äther abgetrieben und die Lösung mit 10 ccm 5-*n*. Salzsäure übersättigt. Der Bromkörper hatte sich zum Teil beim Vertreiben des Äthers schon abgeschieden und setzte sich nach der Zugabe der Salzsäure als dicker Klumpen zu Boden. Nachdem er über Nacht in Kältemischung gestanden hatte, war er krystallinisch geworden. Das Rohprodukt wog 6.1 g (64%). Durch Ausäthern der Mutterlauge wurde noch 1 g erhalten (Gesamtausbeute 74%).

Der Bromkörper ist in Äther, Alkohol, Chloroform, Aceton leicht, in Wasser schwer, in Petroläther nicht löslich.

Zur Reinigung wurde das Produkt in wenig absolutem Alkohol gelöst, mit etwas Tierkohle gekocht und das noch heiße Filtrat mit Wasser bis zur beginnenden Trübung versetzt. Beim Abkühlen schieden sich hübsche Krystallblättchen ab. Diese beginnen bei mäßig schnellem Erhitzen im Capillarröhrchen bei  $138^\circ$  zu sintern und sind bei  $147^\circ$  klar geschmolzen.

Zur Analyse wurde die Substanz bei  $80^\circ$  über Phosphorpentoxid getrocknet.

0.1658 g Sbst.: 0.2821 g  $\text{CO}_2$ , 0.1044 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.1271 g Sbst.: 0.0641 g AgBr.

$\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_4\text{Br}$ . Ber. C 46.03, H 6.85, Br 21.89.  
Gef. » 46.44, » 7.00, » 21.46.

Zur optischen Bestimmung wurden 0.0848 g Substanz in absolutem Alkohol zu 2.8078 g Gesamtgewicht gelöst; spez. Gew. 0.799 g; abgelesene Drehung im  $\frac{1}{2}$ -dm-Rohr bei filtriertem Glühlicht: +  $0.45^\circ$ . Also

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = + 37.3^\circ (\pm 0.5^\circ).$$

### *l*-Leucyl-glycyl-*d*-isoleucin.

6.2 g *d*-*α*-Bromisocapronyl-glycyl-*d*-isoleucin wurden in der 5-fachen Menge 25-prozentigen Ammoniaks 4 Tage im Brutschrank stehen gelassen und dann die Lösung unter vermindertem Druck bis fast zur Trockne verdampft. Durch Zugabe von Alkohol ließen sich zunächst nur 1.1 g Tripeptid abscheiden. Aus der Mutterlauge wurden nach Entfernung des Chlors mit Silbersulfat noch 2.7 g reine Substanz

erhalten. Gesamtausbeute 75%. — Das Tripeptid löst sich in Wasser ziemlich gut, schwerer in Alkohol und ist in Äther unlöslich. Zur Reinigung wurde es in Wasser gelöst, die Lösung stark eingegengt und mit Alkohol und Äther gefällt. Das Produkt bräunte sich bei schnellem Erhitzen im Capillarröhrchen bei 215° (218.5° korrig.), sinterte bei 222° (226° korrig.) und zersetzte sich unter Schäumen bei 225—226° (229—230° korrig.). Es zeigte deutliche Biuretreaktion.

Zur Analyse wurde es bei 80° über Phosphorpentoxid getrocknet.

0.1615 g Sbst.: 0.3298 g CO<sub>2</sub>, 0.1327 g H<sub>2</sub>O. — 0.1233 g Sbst. verbrauchten 12.35 ccm 1/10-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Kjeldahl).

C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 55.81, H 8.97, N 13.95.

Gef. » 55.69, » 9.19, » 14.02.

Zur optischen Bestimmung wurden 0.1482 g Substanz in Wasser zu 4.3013 g Gesamtgewicht gelöst; spez. Gew. 1.008; abgelesene Drehung im 1-dm-Rohr bei filtriertem Glühlicht: + 0.52°. Also

$$[\alpha]_D^{20} = + 14.97^\circ (\pm 0.2^\circ).$$

---

#### 142. Carl G. Schwalbe und W. Schulz: Der Abbau der Baumwoll-Cellulose.

[Vorläufige Mitteilung.]

(Eingangen am 29. März 1910.)

Für eine vergleichende Charakteristik der wichtigsten Zellstoffarten, wie Baumwoll-Cellulose, Holz-Zellstoff, Leinen, Ramie usw., die wir begonnen haben, erwies es sich notwendig, auch die Abbaureaktion der Baumwoll-Cellulose mit starker Schwefelsäure erneut zu studieren. Die sehr mühsamen und umfangreichen, für diesen Zweck bei einem kolloiden Stoff, wie die Cellulose es ist, erforderlichen Experimentalarbeiten rechtfertigen wohl, daß wir die bisher gewonnenen Ergebnisse in einer vorläufigen Mitteilung zusammenfassen.

Von den Abbauprodukten der Baumwoll-Cellulose, soweit solche durch starke Schwefelsäure entstehen, sind verhältnismäßig eingehend studiert die Schwefelsäureester (Hönig und Schubert<sup>1</sup>), Stern<sup>2</sup>), die Cellulose-Dextrine (Hönig und Schubert<sup>1</sup>) und die Bildung von Traubenzucker (Flechsig<sup>3</sup>) u. a. m.); wenig bekannt sind

---

<sup>1</sup>) Hönig und Schubert, Monatshefte 6, 708 [1885]; 7, 455 [1886].

<sup>2</sup>) Stern, Journ. Chem. Soc. 67, 75 [1895].

<sup>3</sup>) Flechsig, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 524 [1882].