

hatten sich Krystalle abgeschieden, die aus Alkohol umkrystallisiert wurden. Ausbeute 61 % d. Th.

0.2005 g Sbst.: 0.0984 g PbSO_4 . — 0.1994 g Sbst.: 0.0982 g PbSO_4 .

$\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{Pb}$. Ber. Pb 33.68. Gef. Pb 33.53, 33.65.

Der Triphenyl-blei-benzyl-essigester bildet weiße Krystalle, die nach 1-maligem Umlösen aus Alkohol bei 82–84° schmelzen. Sehr leicht löslich in Benzol, Chloroform, leicht in Petroläther, mäßig in Äther und Äthylacetat. In Methyl- und Äthylalkohol in der Kälte schwer, in der Hitze etwas leichter löslich. Unlöslich in Wasser.

106. Emil Abderhalden und Kurt Heyns: Die Synthese von α -Amino- β -oxy-*n*-buttersäure, α -Amino- β -oxy-isovaleriansäure (β -Oxy-valin) und α -Amino- β -oxy-*n*-valeriansäure (β -Oxy-norvalin), zugleich ein Beitrag zur Frage des Vorkommens dieser Oxy-amino-säuren als Bausteine von Eiweißstoffen.

[Aus d. Physiol. Institut d. Universität Halle a. S.]

(Eingegangen am 21. Februar 1934.)

Zu den längst bekannten Oxy-amino-säuren Tyrosin und Serin fügte Emil Fischer (1902) das Oxy-prolin. Es folgte dann die Entdeckung der β -Oxy-glutaminsäure durch Dakin (1915). Während die drei zuerst genannten Oxy-amino-säuren in ihrem Vorkommen und in ihrer Struktur sichergestellt sind, so ist das bei der zwei asymmetrische Kohlenstoffatome aufweisenden β -Oxy-glutaminsäure nicht der Fall. C. R. Harington und S. S. Randall¹⁾, die *inakt.*- β -Oxy-glutaminsäure synthetisch dargestellt haben, fanden bei diesen Eigenschaften, die nicht mit denjenigen der von Dakin beschriebenen Amino-säure übereinstimmten. Dieser Umstand kann durch stereochemische Unterschiede des synthetischen und des natürlichen Produktes bedingt sein. Die genannten Forscher konnten jedoch die genannte Oxy-amino-säure aus Casein nach dem Verfahren von Dakin auch nicht feststellen. Das Problem des Vorkommens und der Struktur der β -Oxy-glutaminsäure bedarf somit dringender Bearbeitung. In der Folge sind weitere Oxy-amino-säuren als Bausteine von bestimmten Eiweißstoffen beschrieben worden. So haben S. B. Schryver, H. W. Buston und D. H. Mukherjee²⁾ vier neue Oxy-amino-säuren beschrieben, nämlich ein Oxy-lysin, eine Base von der Zusammensetzung $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{O}_3\text{N}_3$ (Protoktin), Oxy-amino-buttersäure und Oxy-valin (aus Hafer-Proteinen). Oxy-amino-buttersäure wollen ferner Gortner und Hoffmann³⁾ im Teozein festgestellt haben. Ferner nimmt Rimington⁴⁾ in dem von ihm aus Casein gewonnenen „Phosphopepton“ die genannte Amino-säure als Baustein an. Agnes Brazier⁵⁾ hat in Anlehnung an die von Schryver und Buston benutzte Methode Oxy-valin bei der Hydrolyse von Zein aufgefunden. Endlich geben Czarnetzky

¹⁾ Biochem. Journ. **25**, 1917 [1931].

²⁾ Proc. Royal Soc. London (B) **98**, 58 [1925]; Schryver u. Buston, ebenda **99**, 476 [1926], **100**, 360 [1926], **101**, 519 [1927].

³⁾ Journ. Amer. chem. Soc. **47**, 580 [1925].

⁴⁾ Biochem. Journ. **21**, 1187 [1927].

⁵⁾ Ebenda **24**, 1188 [1930].

und Carl L. A. Schmidt⁶⁾ an, die gleiche Amino-säure nach dem Verfahren von Schryver und Buston isoliert zu haben. Sie verwendeten das gewonnene Produkt zur Feststellung seiner physikalischen Konstanten. Das Vorkommen der genannten Oxy-amino-säuren als Bausteine von Proteinen ist bereits als feststehend in die Literatur übergegangen, obwohl der Beweis für ihre Struktur nicht erbracht ist.

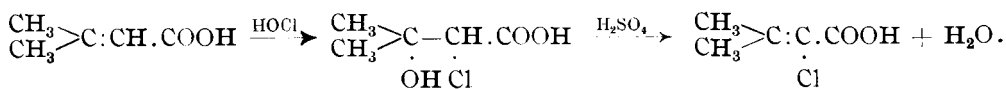
Das Vorkommen von weiteren Oxy-amino-säuren in Proteinen ist in mehr als einer Hinsicht von denkbar größtem Interesse⁷⁾. Seitdem bekannt ist, daß Serin sich sehr leicht zersetzt, wurde der Verdacht des Vorhandenseins weiterer Oxy-amino-säuren allein schon dadurch geweckt, daß in der Regel bei der Aufarbeitung der Hydrolysenprodukte von Eiweißstoffen in mehr oder weniger großen Mengen undefinierbare Sirupe übrig bleiben. Der gegebene Weg zur Prüfung der Frage, ob die oben genannten Forscher β -Oxy- α -amino-buttersäure und β -Oxy-valin in Händen hatten, war die synthetische Darstellung dieser Amino-säuren und der Vergleich mit den entsprechenden, durch Eiweiß-Abbau erhaltenen Verbindungen. Leider stand uns kein Material aus der Schule von Schryver zur Verfügung. Hr. Buston hatte die Liebenswürdigkeit, uns mitzuteilen, daß im Nachlaß des Genannten die erwähnten Amino-säuren nicht aufzufinden sind. Dagegen hatte Hr. Kollege Schmidt (Berkeley) die Freundlichkeit, uns das von ihm verwendete Oxy-valin zu überlassen. Es zeigte sich, daß nicht Oxy-valin, vielmehr Leucin vorlag. Die Tatsache, daß beide Amino-säuren annähernd den gleichen Stickstoffgehalt aufweisen, hatte zu der Täuschung geführt, in Verbindung mit dem Umstand, daß nach dem Verfahren von Schryver und Buston gearbeitet worden war. Wir waren infolgedessen zunächst auf die Synthese angewiesen. Die von uns dargestellten Verbindungen, nämlich Oxy-amino-buttersäure, Oxy-valin und Oxy-norvalin, welche letztere Verbindung wir der Vollständigkeit halber mit in die Untersuchungen einbezogen, unterscheiden sich in ihren physikalischen Eigenschaften, wie aus der auf S. 536 mitgeteilten Übersicht hervorgeht, ganz erheblich von denjenigen der von den oben erwähnten Autoren beschriebenen Oxy-amino-säuren. Da die aus Eiweiß dargestellten Verbindungen optisch-inaktiv waren, war der Vergleich mit den von uns synthetisch gewonnenen Verbindungen erleichtert. Insbesondere ist bemerkenswert, daß die synthetisch dargestellten Oxy-amino-säuren, deren Struktur wir durch Überführung in die zugehörigen reduzierten Amino-säuren festlegten, sich bei der Benzoylierung ganz anders verhielten als von Schryver und seinen Schülern für seine Produkte angegeben worden ist. Wir erhielten bei Anwendung des von ihm angegebenen Verfahrens ausschließlich monobenzoylierte Produkte (vergl. weiter unten).

Leider existieren keine allgemein anwendbaren einfachen Methoden zur Gewinnung von aliphatischen α -Amino- β -oxy-carbonsäuren. An sich wäre es naheliegend, Verfahren, die sich z. B. für die Gewinnung von Serin bewährt haben, auf homologe Verbindungen zu übertragen. Dieser Weg scheitert jedoch am Nicht-vorhandensein des homologen Ausgangsmaterials. Wir haben mannigfache Wege versucht, um zum Ziel zu gelangen. Um

⁶⁾ Journ. biol. Chem. **90**, 170 [1931], **91**, 453 [1931]; Ztschr. physiol. Chem. **204**, 129 [1932].

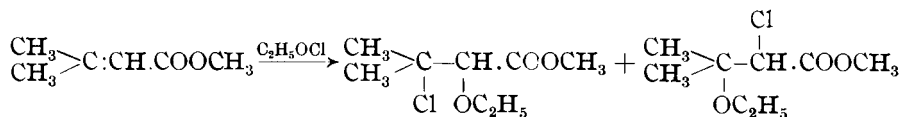
⁷⁾ Emil Abderhalden u. H. Brockmann, Biochem. Ztschr. **225**, 426 [1930], **226**, 209 [1931].

anderen Forschern gemachte Erfahrungen zu ersparen, seien die wichtigsten Versuche kurz erwähnt. Einwirkung von unterchloriger Säure auf β, β -Dimethyl-acrylsäure liefert in glatter Anlagerung α -Chlor- β -oxy-isovaleriansäure⁸⁾, deren Konstitution als α -Halogen-Verbindung daraus hervorgeht, daß mit konz. Schwefelsäure 1 Mol. Wasser abgespalten wird, wobei Monochlor-dimethyl-acrylsäure entsteht:



Bei der Einwirkung von wäßrigem oder alkohol. Ammoniak auf die genannte Verbindung wurde Chlorwasserstoff abgespalten unter Bildung eines stark hygroskopischen, nicht einheitlichen Produktes. Schon beim Stehen der wäßrigen Lösung tritt Chlorwasserstoff aus. Er kann durch etwa 1-stdg. Kochen mit $n/_{10}$ -Silbernitrat-Lösung quantitativ abgespalten werden. Umsetzung mit flüssigem Ammoniak führt zum Ammoniumsalz der Dimethyl-glycidsäure $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} > \text{C} \cdots \underset{\text{O}}{\text{CH}} . \text{CO} . \text{O} . \text{NH}_4$, einer weißen, gut kristallisierenden Verbindung, die mit Oxy-valin isomer ist und ihr Ammoniak im Laufe der Zeit unter Bildung klebriger Massen abgibt.

Vorhergehende Substitution des Wasserstoffs der Hydroxylgruppe mit dem Ziele, diese Gruppe unangreifbar zu machen (z. B. Kupplung mit Carbo-benzoxychlorid, Dimethylsulfat oder Diazo-methan) hatte keinen Erfolg (weder bei der freien Säure noch beim Methylester), da zumeist vorher Zersetzung eintrat oder eine Reaktion ausblieb. Weiter zeigte sich, daß die von Melikoff⁹⁾ benutzte Aufspaltung der Sauerstoff-Bindung in Glycidsäuren mittels Ammoniaks nicht zu einheitlichen Oxy-amino-säuren, sondern zu Gemischen Isomerer führt. Austausch des Halogens im Chlor-oxy-isovaleriansäure-ester durch die Azidogruppe in der von Freudenberg bzw. Bertho angegebenen Weise glückte ebenfalls nicht¹⁰⁾. Anlagerungs-Versuche an ungesättigte Säuren mit dem Äthylester der unterchlorigen Säure¹¹⁾ in Tetrachlorkohlenstoff führten teilweise zur Anlagerung des Esters. Der größte Teil ging jedoch auch bei mildesten Bedingungen durch Oxydationswirkung verloren, außerdem war die Anlagerung nicht einheitlich:



Wir haben weiterhin an die β, β -Dimethyl-acrylsäure Brom angelagert und α, β -Dibrom-isovaleriansäure erhalten. Bei der Aminierung entstand daraus weder Diamino-, noch Oxy-amino-isovaleriansäure, vielmehr

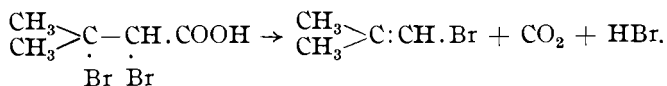
⁸⁾ Prentice, A. **292**, 272 [1896]; Darzens, Compt. rend. Acad. Sciences **151**, 883 [1910], ferner Bloomfield, Farmer u. Hose, Journ. chem. Soc. London **1933**, 800.

⁹⁾ A. **234**, 197 [1896].

¹⁰⁾ Freudenberg, B. **61**, 1084 [1928], **63**, 2380 [1930]; Bertho u. Maier, A. **495**, 114 [1931]; vergl. ferner Forster u. Fierz, Journ. chem. Soc. London **93**, 1862 [1908].

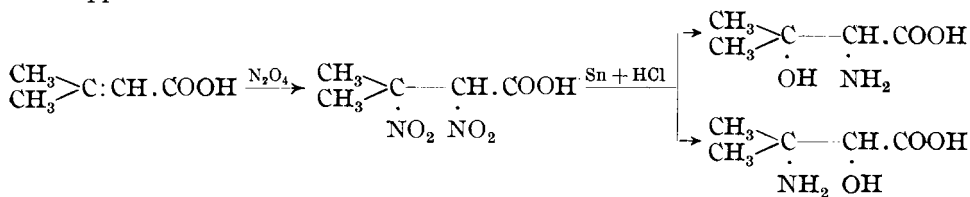
¹¹⁾ Sandmeyer, B. **18**, 1768 [1885], **19**, 858 [1886].

erfolgte unter Abspaltung von Bromwasserstoff und Decarboxylierung Bildung von 1-Brom-2-methyl-propen-(1)¹²⁾:



Von der α, β -Dibrom-buttersäure gelangt man dagegen bei der Aminierung glatt zur α, β -Diamino-buttersäure und einem Nebenprodukt, das als α -Oxy- β -amino-buttersäure angesehen worden ist¹³⁾. Dieses auffallend verschiedenartige Verhalten homologer Verbindungen ist ein interessanter Beitrag zum Problem der Änderung der Stabilitäts-Verhältnisse im Molekül durch Substitution.

Ferner haben wir N_2O_4 an ungesättigte Carbonsäuren oder deren Ester angelagert. So lieferten Crotonsäure und β, β -Dimethylacrylsäure (Reaktion in Petroläther durchgeführt) in glatter Weise α, β -Dinitro-Verbindungen, die durch Zinn und Salzsäure reduzierbar sind¹⁴⁾. Gleichzeitig kommt es zum Austausch einer Aminogruppe gegen eine OH-Gruppe:



Das so erhaltene Produkt erwies sich aber als ein Gemisch der beiden isomeren α -Amino- β -oxy- und α -Oxy- β -amino-carbonsäuren. Sie ließen sich weder durch Destillation der Ester, noch durch fraktionierte Krystallisation, noch über die Kupfer- oder Zinksalze trennen.

Die Stellung der Hydroxylgruppe kann man einwandfrei durch Reduktion mittels Jodwasserstoffsäure und roten Phosphors feststellen¹⁵⁾. Die dabei entstehenden Amino-säuren lassen sich dann direkt oder durch Überführung in Derivate mit den in Frage kommenden Aminosäuren vergleichen. Es ist bedauerlich, daß Schryver und seine Schüler, sowie Rimington dieses einfache Verfahren nicht zur Identifizierung der von ihnen gewonnenen Verbindungen angewandt haben. Ferner gibt der Ausfall der Ninhydrin-Reaktion einen Hinweis darauf, ob die Aminogruppe sich in α - oder β -Stellung befindet (im letzteren Fall ist sie negativ).

Wir gelangten schließlich zu den drei oben erwähnten Oxy-amino-säuren, indem wir auf zwei verschiedene, in der Literatur angegebene Methoden zurückgriffen. Sörensen und Mitarbeiter haben den Natrium-phthalimido-malonsäure-diäthylester zur Synthese von Oxy-amino-säuren vorgeschlagen¹⁶⁾. Die zum Oxy-norvalin führende Reaktionsfolge geht vom

¹²⁾ Massot, B. **27**, 1226 [1894].

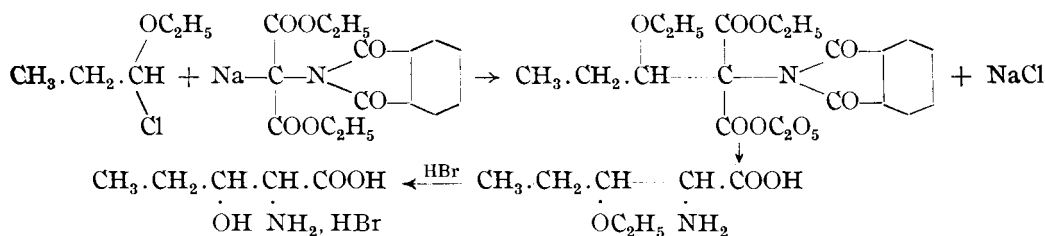
¹³⁾ C. Neuberg u. Federer, Biochem. Ztschr. **1**, 296 [1906].

¹⁴⁾ J. Egoroff, C. **1903**, II 554.

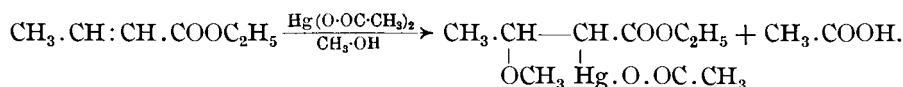
¹⁵⁾ Emil Fischer, B. **35**, 3787 [1902].

¹⁶⁾ vergl. z. B. Ztschr. physiol. Chem. **44**, 454 [1905], **56**, 250 [1908]; vergl. auch Osterberg, Journ. Amer. chem. Soc. **49**, 538 [1927], u. Mitra, Journ. Indian chem. Soc. **7**, 799 [1930], (Serin-Synthese).

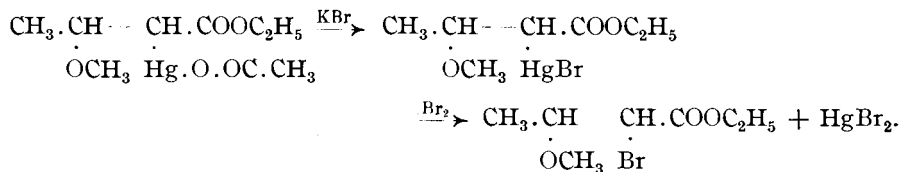
[α -Chlor-*n*-propyl]-äthyl-äther aus, der mit Natrium-phthalimidomalonsäure-diäthylester in Benzol (peinlichster Ausschluß von Wasser) umgesetzt wird und nach Verseifung, Decarboxylierung und Abspaltung von Phthalsäure die α -Amino- β -äthoxy-*n*-valeriansäure liefert, aus der durch Kochen mit Bromwasserstoffsäure das Hydrobromid des β -Oxy-norvalins hervorgeht:



Ein gänzlich anderer Weg zum Aufbau von α -Amino- β -oxy-carbonsäuren ist von Schrauth und Geller¹⁷⁾ angegeben worden, der sich auf Erfahrungen bei der Anlagerung von Quecksilbersalzen an Zimtsäure in alkohol. Lösung aufbaut¹⁸⁾. Wir wandten die erwähnte Methode auf Crotonsäure an und gelangten so zu α -Amino- β -oxy-buttersäure. Die Reaktionsfolge: Anlagerung von Quecksilberacetat an Crotonsäure-ester in methylalkohol. Lösung ergibt sich aus den folgenden Formeln:



Aus dem Anlagerungsprodukt fällt mit Kaliumbromid ein krystalliner Niederschlag, in dem der Acetat-Rest durch Brom ersetzt ist. Er läßt sich mit Brom in Chloroform unter Abscheidung von Quecksilberbromid in α -Brom- β -methoxy-buttersäure-ester überführen:



Nach Verseifung, Aminierung und Freilegung des Hydroxyls erhält man α -Amino- β -oxy-buttersäure-Hydrobromid, aus dem dann die freie Oxy-amino-säure leicht darstellbar ist. Bei Verwendung von β , β -Dimethyl-acrylsäure gewinnt man ebenso Oxy-valin. Beide angeführten Methoden führen zum Ziele. Man wird die Synthese nach der letzteren Art dann anwenden, wenn die ungesättigte Säure leichter zugänglich ist als der gemischte Halogen-äther und umgekehrt.

¹⁷⁾ B. 55, 2783 [1922].

¹⁸⁾ Schrauth, Schöller u. Struensee, B. 43, 696 [1910].

Die drei oben erwähnten, synthetisch bereiteten Oxy-amino-säuren haben wir in der S. 533 angeführten Weise zu den entsprechenden Aminosäuren reduziert, wobei α -Amino-buttersäure, Valin und Nor-valin entstanden, die als Phenyl-isocyanat-Derivate und Phenyl-hydantoine identifiziert wurden. Es ergab sich, daß die dargestellten Verbindungen einheitlich waren, und zwar lagen vor: α -Amino- β -oxy-buttersäure, α -Amino- β -oxy-isovaleriansäure und α -Amino- β -oxy-*n*-valeriansäure. Die Eigenschaften der drei Oxy-amino-säuren sind ähnliche: Weiße, gut krystallisierende Verbindungen, in Wasser leicht löslich, schwach süß schmeckend. Auf Grund dieser wenig charakteristischen Eigenschaften war eine Identifizierung mit den von Schryver und Buston als Oxy-amino-buttersäure und Oxy-valin angesprochenen Stoffen nicht möglich. Schmelz- bzw. Zersetzungspunkte haben Schryver und Buston nicht angegeben. Dagegen haben sie die Phenylisocyanat- und Benzoylverbindungen dargestellt. Wir haben die von uns gewonnenen Oxy-amino-säuren mit Phenylisocyanat und Benzoylchlorid unter denselben Bedingungen gekuppelt, die von den genannten Autoren angegeben worden sind. Bei den Phenylisocyanat-Verbindungen zeigte sich, daß diese Derivate, wie bei anderen Oxy-amino-säuren auch, in Wasser leicht löslich sind und deshalb beim Ansäuern der Kupplungsflüssigkeit, im Gegensatz zu den Angaben von Schryver und Buston, nicht ausfallen, vielmehr aus der Lösung durch Eindampfen zur Trockne und Ausziehen des Rückstandes mit Äther oder Alkohol gewonnen werden müssen. Weiterhin zeigten unsere Verbindungen in den Schmelzpunkten derart beträchtliche Unterschiede gegenüber denjenigen der von Schryver und Buston gewonnenen Produkte, daß eine Identität ausgeschlossen ist. Leider haben die genannten Forscher die Phenylisocyanat-Verbindungen nicht in die Phenylhydantoine übergeführt und damit nicht eine weitere Vergleichsmöglichkeit geschaffen.

Besonders überraschend ist, daß die genannten Forscher bei der Benzoylierung der von ihnen als Oxy-amino-säuren angesprochenen Verbindungen ohne besondere Vorsichts-Maßnahmen zu Dibenzoylprodukten gelangten. Bekanntlich haben S. P. L. Sörensen und A. C. Andersen¹⁹⁾ in vorbildlichen Untersuchungen die Bedingungen ausfindig gemacht, bei denen neben der *N*-Benzoylgruppe eine weitere, viel lockerer sitzende in die OH-Gruppe eintritt. Unsere Erfahrungen bestätigen die von den genannten Forschern gemachten Erfahrungen in vollem Umfang. Bei dem in üblicher Weise durchgeführten Verfahren der Benzoylierung in alkalischer Lösung wird die Oxygruppe nicht benzoyliert. Es bleibt aufzuklären, wieso Schryver und Buston und ferner Brazier und auch Rimington ohne irgendwelche Vorsichts-Maßnahmen zu Dibenzoylverbindungen gelangt sind. Die von uns dargestellte *O, N*-Dibenzoyl- α -amino- β -oxy-buttersäure schmilzt überdies mehr als 60° höher als die von Schryver, Buston und Rimington beschriebene Verbindung. Während wir bei der α -Amino- β -oxy-buttersäure je nach den eingehaltenen Bedingungen eine mono- oder dibenzoylierte Verbindung erhalten konnten bzw. durch Nach-benzoylierung der monobenzoylierten Verbindung zu einer dibenzoylierten gelangten, waren alle Bemühungen, aus Oxy-valin ein Dibenzoylprodukt zu gewinnen, vergeblich. Schon die

¹⁹⁾ Ztschr. physiol. Chem. **56**, 230 [1908]; vergl. ferner Emil Abderhalden u. F. Broich, Biochem. Ztschr. **262**, 321 [1933].

Ausbeute an Monobenzoyl-Derivat ließ zu wünschen übrig. Wahrscheinlich erschwert die am tertiären Kohlenstoff befindliche Hydroxylgruppe den Eintritt des Benzoylradikals.

In der folgenden Tabelle sind die Schmelzpunkte der verschiedenen Derivate der von den oben genannten Autoren aus Eiweiß erhaltenen Verbindungen und der von uns synthetisch gewonnenen zusammengestellt. Außerdem haben wir noch die entsprechenden Derivate von α -Amino- γ -oxy-buttersäure, α -Amino- γ -oxy-valeriansäure und α -Amino- δ -oxy-valeriansäure mit aufgeführt.

Oxy-amino-säuren	Phenyl- isocyanat- Verbindung	Phenyl- hydantoin	Mono- benzoyl- Verbindung	Di- benzoyl-
Oxy-valin (Schryver, Buston) .	145 ⁰	—	—	117 ⁰
Oxy-valin (Brazier)	145 ⁰	—	—	117 ⁰
Oxy-amino-buttersäure (Schry- ver, Buston)	143 ⁰ ab 120 ⁰ Dunkel- färbung	—	—	112 ⁰
Oxy-amino-buttersäure (Riming- ton)	—	—	—	109 ⁰ ohne Analyse
Oxy-amino-buttersäure (Gortner, Hoffmann)	141 ⁰	—	—	—
Oxy-valin, synthetisch	182 ⁰	125 ⁰	153 ⁰	—
Oxy-norvalin, synthetisch	156 ⁰	153—155 ⁰	170 ⁰	—
Oxy-amino-buttersäure, syn- thetisch	177—178 ⁰	164—165 ⁰	176 ⁰	174 ⁰
α -Amino- γ -oxy-buttersäure ²⁰⁾	—	—	-lacton 145 ⁰	210—211 ⁰
α -Amino- γ -oxy-valeriansäure ²¹⁾	-lacton 164 ⁰	—	—	—
α -Amino- δ -oxy-valeriansäure ²⁰⁾	—	—	170 ⁰	164—165 ⁰
<i>d, l</i> -Serin	165—166 ⁰	166—167 ⁰	171 ⁰	124 ⁰
Oxy-prolin	175 ⁰ ²²⁾	123—124 ⁰	—	92 ⁰

Von allgemeinen Erfahrungen sei noch erwähnt, daß das Kupfersalz des Oxy-valins sich in Alkohol löste. Die entsprechenden Salze der übrigen Oxy-amino-säuren waren dagegen in diesem unlöslich. Schryver und Buston geben an, daß das von ihnen dargestellte „Oxy-valin-Kupfer“ in Alkohol löslich war. Hervorgehoben sei noch, daß bei der Darstellung der Derivate der Oxy-amino-säuren die Ausbeute häufig schlechter war als das bei Verwendung von Amino-säuren in der Regel der Fall ist. Wiederholt mußte zur Reinigung umgefällt und umkrystallisiert werden, um nicht-krystallisierende, zum Teil harzige Verunreinigungen zu entfernen. Es entstehen offenbar bei der Kupplung ähnliche Zersetzungsprodukte, wie sie Bergmann und Delis²³⁾ beim Serin-hydantoin nachgewiesen haben (Abspaltung der Hydroxylgruppe).

²⁰⁾ S. P. L. Sørensen u. A. C. Andersen, Ztschr. physiol. Chem. **56**, 250 [1908].

²¹⁾ Emil Fischer u. H. Leuchs, B. **35**, 3787 [1902].

²²⁾ Emil Fischer, B. **35**, 2660 [1902].

²³⁾ A. **458**, 76 [1927]; vergl. auch J. C. Andrews u. K. C. Andrews, Journ. biol. Chem. **102**, 253 [1933].

Auf Grund der von uns ermittelten Eigenschaften der synthetisch dargestellten, in ihrer Struktur eindeutig aufgeklärten Oxy-amino-säuren: α -Amino- β -oxy-*n*-buttersäure, Oxy-valin und Oxy-norvalin und ihrer Derivate erscheint es ausgeschlossen, daß die von Schryver und seinen Schülern und ferner von Rimington durch Hydrolyse von Eiweiß gewonnenen Verbindungen die von ihnen angenommene Struktur hatten. Wir haben alle Möglichkeiten durchdacht, die für eine Erklärung der Struktur der als Oxy-amino-buttersäure und Oxy-valin beschriebenen Verbindungen in Betracht kommen könnten, ohne jedoch eine solche zu finden. Alle bis jetzt aus Eiweiß gewonnenen Amino-säuren sind α -Amino- bzw. Imino-säuren. Eine Methoxylgruppe kommt nicht in Frage. Bei der Annahme einer Ringstruktur fallen die von den erwähnten Forschern angegebenen Analysen-Ergebnisse ganz heraus. Wir dachten z. B. an Oxyprolin, das zwei Wasserstoffatome weniger als Oxy-valin aufweist. Wir haben Oxyprolin benzoyliert und erhielten die dibenzoylierte Verbindung, aus der wir die *O*-Benzoylgruppe mittels verd. Natronlauge abspalteten. Wir gewannen so die Monobenzoylverbindung, die wir bisher nicht in krystallisierter Form gewinnen konnten. Um festzustellen, ob die Iminogruppe an sich leicht benzoylierbar ist, haben wir ferner das bisher noch nicht bekannte Benzoyl-*l*-prolin dargestellt. Es gelang ohne Schwierigkeiten, diese Verbindung in Krystallform zu erhalten.

Beschreibung der Versuche.

Darstellung der α -Chlor- β -oxy-isovaleriansäure und des Methyl-esters.

25 g β, β -Dimethyl-acrylsäure (aus Mesityloxyd durch Oxydation mit Hypochlorit nach Barbier und Léser²⁴)) wurden in etwa 2 l Wasser suspendiert und portionsweise unter guter Kühlung mit einer Lösung von unterchloriger Säure versetzt (hergestellt durch Einleiten von 18 g Chlor in eine Aufschlämmung von 34 g Quecksilberoxyd in $\frac{1}{2}$ l Wasser). Die Reaktion wurde auf dem Wasserbade in Gang gebracht. Kontrolle ihrer Beendigung mit Kaliumjodat-Stärke-Lösung. Nach Entfernung des Quecksilbers und des Überschusses an unterchloriger Säure mit H_2S wurde das Filtrat vom Niederschlag auf ein geringes Volumen eingedampft und 5–6-mal ansgeäthert. Nach dem Trocknen über Na_2SO_4 wurde der Äther unter vermindertem Druck abgedampft; es blieb ein zähes Öl zurück, das im Vakuum über P_2O_5 nach häufigem Anreiben krystallisierte. Durch Lösen in wenig Äther, Zusatz von Petroläther bis zur Trübung und Stehenlassen erhält man unregelmäßige Platten. Schmp. 70^0 . Ausbeute 25 g. Beim Kochen mit Wasser wird HCl abgespalten.

73.30 mg Subst.: 69.34 mg AgCl.

$C_6H_9O_3Cl$ (M.-G. 152.5). Ber. Cl 23.25. Gef. Cl 23.40.

10 g Chlor-oxy-isovaleriansäure in 200 ccm Methylalkohol gelöst. Unter Eiskühlung Chlorwasserstoff bis etwa zur Halbsättigung eingeleitet und nach 24-stdg. Stehen bei $15-20^0$ 3 Stdn. auf dem Wasserbade unter Rückfluß gekocht. Überschuß von Methylalkohol, sowie der größte Teil der Salzsäure im Vakuum abgedampft; Rückstand wiederholt mit Methylalkohol aufgenommen und abgedampft, schließlich mit 80 ccm Wasser ver-

²⁴) Bull. Soc. chim. France [3] 33, 815 [1905].

setzt, wobei ein Teil des Esters ausfiel. Die Lösung mehrfach mit Äther ausgeschüttelt, Äther nach Trocknen mit Natriumsulfat abdestilliert. Ester ging bei 12 mm und 89–90° über. Ausbeute 8 g.

3.627 mg Sbst.: 5.735 mg CO₂, 2.185 mg H₂O.

C₆H₁₁O₃Cl (M.-G. 166.5). Ber. C 43.24, H 6.66. Gef. C 43.14, H 6.74.

Aminierungsversuche: Die beiden Chlorkörper mit wäßrigem und alkoholischem Ammoniak in bekannter Weise behandelt, wobei jedoch kein einheitliches Produkt erhalten wurde; gleiche Erfahrung mit Ammoniak in Chloroform. Natriumazid setzte sich mit dem Ester in methylalkohol. Lösung nicht um (er konnte quantitativ zurückgewonnen werden). Beim Zusatz der berechneten Menge 10-proz. alkohol. Kalilauge zur alkohol. Lösung von Chlor-oxy-isovaleriansäure fiel Kaliumchlorid aus. Aus der Lösung wurde beim Verdampfen des Alkohols β , β -Dimethyl-glycidsäure als sirupöse Masse erhalten; sie lieferte mit wäßrigem oder alkohol. Ammoniak gleichfalls nicht krystallisierende sirupöse Reaktionsprodukte, die in ihrer Konstitution nicht aufzuklären waren. Dagegen ließ sich β -Monomethyl-glycidsäure leichter aminieren. Es entstand dabei jedoch ein Gemisch von α -Amino- β -oxy- und α -Oxy- β -amino-buttersäure.

Bei Aminierung der Chlor-oxy-isovaleriansäure mit flüssigem Ammoniak entstand das Ammoniumsalz der Dimethyl-glycidsäure. 20 g reine Säure wurden im Rohr (Kohlensäure-Äther-Kältemischung –80°) mit flüssigem Ammoniak überschichtet. Das geschlossene Rohr wurde nach 4–5-tägigem Stehen bei 15–20° nach Wiederholung der Abkühlung geöffnet. Es hinterließ eine krystallisierte weiße Masse. Reaktionsprodukt mehrmals mit Äther aufgerührt und abgesaugt. Rückstand mit Amylalkohol verrieben, kurz zum Sieden erhitzt, in Eis gekühlt, mit wenig Äther versetzt und abgesaugt. Darauf sofort mit der 50-fachen Menge Äther-Petroläther 1:1 vermischt und nach 3–5-stdg. Stehen abgesaugt. Operation bis zur völligen Entfernung des Ammoniumchlorids wiederholt (2–3-mal genügt in der Regel). Das Ammoniumsalz der Dimethyl-glycidsäure krystallisiert in 6-seitigen Plättchen. Leicht löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Äther und Chloroform, gegen 115° Erweichen und bei 123–125° Schmelzen unt. Zers.

3.621 mg Sbst.: 5.974 mg CO₂, 2.695 mg H₂O. — 37.7 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.86 ccm n/10-H₂SO₄.

C₆H₁₁O₃N (M.-G. 133.1). Ber. C 45.11, H 8.27, N 10.53.

Gef. „ 45.00, „ 8.32, „ 10.63.

Darstellung von α , β -Dibrom-isovaleriansäure und Aminierung.

10 g β , β -Dimethyl-acrylsäure in 1/2 l Chloroform gelöst und mit 16 g Brom versetzt. Nach 2-tägigem Stehen am Licht war die Lösung entfärbt. Rückstand nach Abdampfen des Lösungsmittels mit Äther ausgezogen, dieser abgedampft und das zurückbleibende Öl mit Petroläther bis zur Krystallisation verrieben. Ausbeute 26 g farblose Prismen. Schmp. 107–108°.

26.24 mg Sbst.: 38.01 mg AgBr.

C₅H₈O₂Br₂ (M.-G. 259.90). Ber. Br 61.50. Gef. Br 61.64.

Aminierung: 26 g α , β -Dibrom-isovaleriansäure mit 250 ccm 30-proz. Ammoniak bei 37° aufbewahrt. Im Laufe einiger Stdn. schied sich ein Öl ab, das im Scheidetrichter isoliert wurde und unter 760 mm

Druck bei 92° siedete. Die Flüssigkeit bestand aus 1-Brom-2-methylpropen-(1) und war nach 2-maliger Destillation rein.

42.30 mg Sbst.: 58.67 mg AgBr.

C_4H_7Br (M.-G. 134.98). Ber. Br 59.21, Gef. Br 59.03.

Anlagerung von N_2O_4 an Olefin-carbonsäuren und Reduktion der entstandenen Produkte.

10 g β , β -Dimethyl-acrylsäure in 200 ccm Petroläther gelöst und mit 10–12 g N_2O_4 in 100 ccm Petroläther allmählich unter guter Kühlung versetzt. Nach 24-stdg. Stehen bei 15–20° wurde die Lösung von dem ausgefallenen Öl abgegossen, das dann zur Reinigung mehrfach mit Petroläther verrieben wurde. Das Produkt wurde gleich weiter verarbeitet, indem zu der Lösung etwa 100 ccm konz. Salzsäure und nach und nach ungefähr 20 g Zinnfolie zugesetzt wurden. Nach 2–3-stdg. Stehen auf dem siedenden Wasserbade wurde der Überschuß an Salzsäure durch Abdampfen unter vermindertem Druck entfernt. Das in der Lösung noch vorhandene Halogen wurde mit Silberoxyd abgeschieden. Zinn und Silber wurden als Sulfide ausgefällt. Beim Eindampfen des Filtrates im Vakuum verblieb ein gelber Sirup, der über P_2O_5 langsam lack-artig erstarrte. Nach Pulvern der Substanz und Erhitzen mit absol. Alkohol zum Sieden wurden süß schmeckende Krystalle erhalten. Reinigung durch Umlösen aus verd. Alkohol (+ Tierkohle). Die Substanz bräunt sich bei 240° und schmilzt bei 255° unt. Zers. Ausbeute 5–6 g.

3.326 mg Sbst.: 5.490 mg CO_2 , 2.405 mg H_2O . — 39.7 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 3.01 ccm n_{10}^{20} - H_2SO_4 .

$C_5H_{11}O_3N$ (M.-G. 133.1). Ber. C 45.11, H 8.27, N 10.53.

Gef. „ 45.02, „ 8.09, „ 10.62.

Ganz analog verlief die Anlagerung von N_2O_4 , sowie die nachfolgende Reduktion bei der Crotonsäure. — Bei der Reduktion der so erhaltenen Oxy-amino-isovaleriansäure und Oxy-amino-buttersäure mit Jodwasserstoff (1 g Oxy-amino-säure mit 15 ccm HJ ($d = 2.00$) und 0.5 g rotem Phosphor 5 Stdn. im Rohr bei 140° gehalten und Aufarbeitung mit Ag_2O-H_2S) stellte sich heraus, daß die Oxy-amino-isovaleriansäure zu einem Gemisch von α - und β -Amino-isovaleriansäure und die Oxy-amino-buttersäure zu einem solchen von α - und β -Amino-buttersäure reduziert worden war. Darstellung der Phenyl-hydantoine gab keine Übereinstimmung mit den entsprechenden Derivaten der reinen α - oder β -Amino-säuren. Versuche, eine Trennung der genannten isomeren Oxy-amino-säuren über die Zinn- oder Kupfersalze, sowie durch Ester-Destillation oder fraktionierte Krystallisation zu erreichen, schlugen fehl.

Ergebnislos verlaufene Versuche, wie die Anlagerung von Unterchlorigsäure-äthylester in Tetrachlorkohlenstoff an Crotonsäure, Dimethyl-acrylsäure und deren Ester, sowie Versuche, die Hydroxylgruppe in Halogen-oxy-carbonsäuren durch Umsetzung mit Carbobenzoxychlorid, Dimethylsulfat oder Diazo-methan zu besetzen, seien übergangen, da sie nichts prinzipiell Neues ergeben haben.

Synthese von β -Oxy-norvalin.

1) [α -Chlor-*n*-propyl]-äthyl-äther: Zu einer Lösung von 50 ccm Propionaldehyd in 100 ccm absol. Alkohol wurde nach Abkühlung in Kältemischung trockener Chlorwasserstoff in kräftigem Strome bis zur

Sättigung eingeleitet. Bereits während des Einleitens schied sich die Flüssigkeit in zwei Schichten, von denen die obere im Scheidetrichter abgenommen wurde. Das Einleiten des Chlorwasserstoffs darf nicht allzu lange fortgesetzt werden, da die Flüssigkeit sich schnell dunkel färbt und es dann nicht mehr möglich ist, die Schichten zu trennen. Das erhaltene Rohprodukt (obere Schicht) wurde zunächst bei 12 mm destilliert, wobei die zwischen 40–45° übergelenden Anteile für sich isoliert wurden (gute Kühlung der Vorlage!). Diese Fraktion wurde mindestens 2-mal unter gewöhnlichem Druck destilliert, wobei der Chlorpropyl-äthyl-äther unter 750 mm Druck bei 111–113° unzersetzt übergel. Die wasserklare, farblose Flüssigkeit ist innerhalb weniger Tage weiter zu verarbeiten, da unter Dunkelfärbung leicht Zersetzung eintritt. Ausbeute 65 %.

24.81 mg Sbst.: 29.36 mg AgCl.

$C_5H_{11}OCl$ (M.-G. 122.55). Ber. Cl 28.93. Gef. Cl 29.28.

2) Umsetzung mit Natrium-phthalimido-malonsäure-diäthylester: 60 g Chlorpropyl-äthyl-äther wurden in 200 ccm über Natrium getrocknetem Benzol gelöst und mit 120 g frisch bereitetem und trockenem Natrium-phthalimido-malonsäure-diäthylester bei etwa 20° 3 Tage unter häufigem Umschwenken stehen gelassen. Den Endpunkt der Reaktion erkennt man daran, daß die Flüssigkeit mit feuchtem Lackmuspapier nicht mehr alkalisch reagiert. Ist dies nach 3 Tagen nicht der Fall, so setzt man nochmals etwa 5–10 g Chlorpropyl-äthyl-äther zu und läßt einen weiteren Tag stehen, wobei in der Regel die gesamte Natriumverbindung umgesetzt ist. Zur Entfernung des Kochsalzes wird 3-mal mit Wasser ausgeschüttelt, die benzolische Lösung mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wird mit einem Gemisch von 200 g Natriumhydroxyd, 150 ccm Wasser und 350 ccm absol. Alkohol aufgenommen, wobei unter Erwärmung Verseifung eintritt. Der größte Teil des Alkohols wird im siedenden Wasserbade bei gewöhnlichem Druck abgedampft und der Rückstand mit etwa 300 ccm konz. Salzsäure versetzt, wobei CO_2 entweicht. Nach einigen Stunden wird unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft und wieder mit etwa 150–200 ccm konz. Salzsäure aufgenommen. Durch eine Glasfilterplatte wird von der Phthalsäure abgesaugt und diese mehrfach mit kalter Salzsäure ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate werden zur Trockne verdampft. Es folgt Aufnahme in Wasser, wobei ein Teil ungelöst bleibt (Zersetzungsprodukte?). Man entfernt aus der Lösung das Halogen mittels Silberoxyds, das Silber mittels Schwefelwasserstoffs und dampft das Filtrat unter vermindertem Druck zur Trockne ein. Der Rückstand wird in absol. Alkohol aufgeschlämmt und filtriert, wobei die α -Amino- β -äthoxy-*n*-valeriansäure, vermischt mit etwas Glykokoll, zurückbleibt. Dieses Gemisch wird aus 80-proz. Alkohol umkrystallisiert und zugleich in mehrere Fraktionen aufgeteilt, wodurch sich das Glykokoll leicht abtrennen läßt. Die reine α -Amino- β -äthoxy-*n*-valeriansäure bildet weiße, glänzende Plättchen mit bitterem Geschmack; Schmp. 258°. Ausbeute etwa 12–15 g.

3.047 mg Sbst.: 5.831 mg CO_2 , 2.562 mg H_2O . — 30.1 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 1.90 ccm $n_{10}^{20}H_2SO_4$.

$C_7H_{15}O_3N$ (M.-G. 161.1). Ber. C 52.14, H 9.39, N 8.70.
Gef. „ 52.19, „ 9.41, „ 8.84.

3) α -Amino- β -oxy-*n*-valeriansäure: Abspaltung des Äthylrestes durch 2-stdg. Kochen unter Rückfluß von 4 g α -Amino- β -äthoxy-*n*-valeriansäure mit 40 ccm Bromwasserstoffsäure ($d = 1.49$). Die Lösung wird dann unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft und der Rückstand wiederholt mit Wasser abgedampft, um den Überschuß an HBr zu entfernen. Schließlich wird in etwa 50 ccm absol. Alkohol gelöst und in die Lösung bei 50° Ammoniak eingeleitet, bis Geruch nach diesem auftritt. Es scheiden sich dabei Krystalle ab, die sich beim Stehen über Nacht im Eisschrank noch vermehren. Das Oxy-norvalin wird abgesaugt und bis zur Entfernung des Ammoniumbromids mit absol. Alkohol gewaschen. Nach Umkrystallisieren aus 50-proz. Alkohol wurden 2.5 g weiße, süß schmeckende Plättchen erhalten, die sich bei 215° braun färbten und bei 230–231° unt. Zers. schmolzen. Ninhydrin-Reaktion positiv.

3.340 mg Sbst.: 5.520 mg CO₂, 2.510 mg H₂O. — 34.0 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.59 ccm n_{10}^2 -H₂SO₄.

C₅H₁₁O₅N (M.-G. 133.1). Ber. C 45.11, H 8.27, N 10.53.

Gef. „ 45.07, „ 8.41, „ 10.67.

Synthese von α -Amino- β -oxy-buttersäure.

1) α -Bromquecksilber- β -methoxy-*n*-buttersäure-äthylester: Eine Lösung von 114 g Crotonsäure-äthylester in 1 l Methylalkohol wird unter Zusatz von 320 g Mercuriacetat und zeitweiligem Umschwenken 3 Tage stehen gelassen. Von den geringen Abscheidungen wird abgesaugt und das Filtrat im Laufe von 2 Stdn. mit einer Lösung von 120 g Kaliumbromid in 400 ccm Wasser versetzt. Hierbei fällt bereits ein dicker, weißer, krystalliner Niederschlag aus (Blättchen). Durch Zugabe von 1 l Wasser vervollständigt man die Fällung und saugt nach 2–3-stdg. Stehen in Eiswasser ab. Ausbeute 390 g = 90% d. Th. Umkrystallisiert wird aus 50-proz. Alkohol. Schmp. 78–79°.

3.345 mg Sbst.: 2.445 mg CO₂, 0.960 mg H₂O.

C₇H₁₃O₃BrHg (M.-G. 425.5). Ber. C 19.74, H 3.08. Gef. C 19.93, H 3.21.

2) α -Brom- β -methoxy-buttersäure-äthylester: 380 g α -Bromquecksilber- β -methoxy-buttersäure-äthylester werden in 1 l Chloroform gelöst und mit 142 g Brom (2 Mol.) versetzt. Unter starker Erwärmung, die man durch wiederholtes Einstellen in Wasser vermindert, ist nach 1 Stde. alles Quecksilberbromid abgespalten und die Lösung vollständig entfärbt. Man saugt ab und verdampft das Chloroform unter vermindertem Druck, wobei erneut Abscheidung von HgBr₂ stattfindet, von dem man abfiltriert. Man destilliert jetzt bei 12 mm, wobei der Ester nach vollständiger Entfernung des Chloroforms bei 94–95° unzersetzt übergeht. Ausbeute 108 g = 90% d. Th.

3.148 mg Sbst.: 4.285 mg CO₂, 1.575 mg H₂O. — 4.828 mg Sbst.: 4.035 mg AgBr.

C₇H₁₃O₃Br (M.-G. 225.02). Ber. C 37.33, H 5.82, Br 35.52.

Gef. „ 37.12, „ 5.60, „ 35.57.

3) α -Brom- β -methoxy-buttersäure: 25 g Äthylester wurden mit 440 ccm n_{10}^2 -NaOH auf der Schüttelmaschine verseift. Da hierbei leicht größere Verluste durch Zersetzung eintreten können, wird abgebrochen, sobald der Ester in Lösung gegangen ist; dies ist nach etwa 3 Stdn. der Fall. Man setzt nunmehr 220 ccm *n*-H₂SO₄ zu und destilliert unter vermindertem Druck das Lösungsmittel bis auf etwa 50 ccm ab, wobei ein Öl ausfällt; man

schüttelt mehrmals mit Äther aus, trocknet mit Natriumsulfat und dampft den Äther unter vermindertem Druck ab. Dabei bleibt ein gelbes Öl zurück, das nach längerem Stehen über P_2O_5 im Vakuum-Exsiccator in langen, zu Büscheln vereinigten Spießen krystallisiert. Schmp. 59–60°.

5.340 mg Sbst.: 5.965 mg CO_2 , 2.280 mg H_2O . — 6.598 mg Sbst. (Mikro-methoxylbestimmung): 8.010 mg AgJ.

$C_5H_9O_3Br$ (M.-G. 197). Ber. C 30.46, H 4.61, OCH_3 15.73.

Gef. „ 30.47, „ 4.78, „ 16.04.

4) α -Amino- β -oxy-buttersäure: 20 g α -Brom- β -methoxy-buttersäure werden mit der 10-fachen Menge 25-proz. Ammoniaks 2 Stdn. in der Druckflasche im siedenden Wasserbade erhitzt. Die Flüssigkeit wird darauf unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und zur möglichst restlosen Entfernung des Ammoniaks nochmals eingedampft. Der Rückstand wird in 100 ccm Bromwasserstoffsäure ($d = 1.49$) gelöst und 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Darauf wird wiederum zur Trockne verdampft, zur völligen Entfernung des überschüssigen Bromwasserstoffs noch mehrmals mit Wasser abgedampft und schließlich in 150 ccm absol. Alkohol aufgenommen. Nunmehr leitet man trocknes Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion der Flüssigkeit ein, wobei ein etwas harziger Niederschlag entsteht. Man läßt über Nacht im Eisschrank sorgfältig verschlossen stehen. Die Flüssigkeit wird abgegossen oder abgesaugt, der Rückstand in Wasser gelöst und durch Aufkochen mit 1–2 g Tierkohle entfärbt. Beim Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum bleibt die Oxy-amino-buttersäure als Rohprodukt zurück. Nach dem Umkrystallisieren aus 70–75-proz. Alkohol wird sie in Form von weißen, an den Enden zugespitzten Säulen erhalten, die sich bei 225° braun färben und bei 239° unt. Zers. und Aufschäumen schmelzen. Ninhydrin-Reaktion positiv.

3.163 mg Sbst.: 4.710 mg CO_2 , 2.115 mg H_2O . — 42.4 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 3.53 ccm $n/_{10}H_2SO_4$.

$C_4H_9O_3N$ (M.-G. 119). Ber. C 40.34, H 7.60, N 11.76. Gef. C 40.61, H 7.48, N 11.66.

Darstellung von Oxy-valin.

Die Synthese erfolgte in gleicher Weise wie die oben beschriebene. Ausgegangen wurde vom β , β -Dimethyl-acrylsäure-äthylester (Sdp.⁷⁶⁰ 150°). Die Ausbeuten waren hier schlechter, da bei der Verseifung ein größerer Teil verloren ging. Der Versuch, den Ester direkt zu aminieren und das zu erwartende Dioxo-piperazin aufzuspalten, gelang nicht. — Das Oxy-valin krystallisiert in weißen Plättchen, die scharf bei 218° unt. Zers. schmelzen. Das Kupfersalz war, wie Valinkupfer, in Methylalkohol löslich.

2.906 mg Sbst.: 4.798 mg CO_2 , 2.115 mg H_2O . — 32.5 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.45 ccm $n/_{10}H_2SO_4$.

$C_5H_{11}O_3N$ (M.-G. 133.1). Ber. C 45.11, H 8.27, N 10.53.

Gef. „ 45.03, „ 8.14, „ 10.56.

Reduktion von Oxy-amino-buttersäure, Oxy-valin und Oxy-norvalin zu den entsprechenden Amino-säuren.

0.8 g Oxy-amino-säure wurden mit 15 ccm Jodwasserstoffsäure ($d = 2.00$) und 0.3 g rotem Phosphor 5 Stdn. im Bombenrohr auf 140–150° erhitzt. Der farblose Inhalt des Rohres wurde dann mit etwa 200 ccm Wasser

verdünnt, wobei sich das gebildete Phosphoniumjodid zersetzte. Nach dem Verdampfen zur Trockne unter vermindertem Druck wurde wieder mit Wasser aufgenommen und das noch in Lösung befindliche Halogen nach dem Silbersulfat-Baryt-Verfahren entfernt. Die verbleibende Lösung der bei der Reduktion entstandenen freien Amino-säure wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft, der erhaltene Rückstand mit Alkohol aufgerührt und filtriert. Umkrystallisiert wurde aus 50–60-proz. Alkohol. Es kann vorkommen, daß das Produkt durch geringe Beimengungen von $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ verunreinigt ist, von denen jedoch durch Krystallisation leicht getrennt werden kann. Bei der Darstellung der Derivate stört diese Verunreinigung nicht.

Oxy-amino-buttersäure. Bei der Reduktion der Oxy-amino-buttersäure entstand *d, l*- α -Amino-buttersäure.

28.8 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.78 ccm n_{10}° - H_2SO_4 .

$\text{C}_4\text{H}_9\text{O}_2\text{N}$. Ber. N 13.59. Gef. N 13.52.

Phenylisocyanat-Verbindung, Schmp. 169°; Phenyl-hydantoin, Schmp. 126° (nach Mouneyrat²⁵): 170° bzw. 126–127°).

35.5 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 3.47 ccm n_{10}° - H_2SO_4 .

α -Amino-buttersäure-Phenyl-hydantoin, $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ (M.-G. 204).

Ber. N 13.72. Gef. N 13.70.

Oxy-valin: Das bei der Reduktion von Oxy-valin erhaltene Produkt stimmte in seinen Eigenschaften völlig mit denen des *d, l*-Valins überein.

33.5 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.85 ccm n_{10}° - H_2SO_4 . Ber. N 11.95. Gef. N 11.92.

Phenylisocyanat-Derivat, Schmp. 164°; Phenyl-hydantoin, Schmp. 125° in Übereinstimmung mit den entsprechenden Derivaten des *d, l*-Valins, die bei 163° bzw. 125° schmelzen.

23.5 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.16 ccm n_{10}° - H_2SO_4 .

Valin-Phenyl-hydantoin, $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ (M.-G. 218). Ber. N 12.84. Gef. N 12.89.

Oxy-norvalin: Bei der Darstellung des Reduktionsproduktes vom Oxy-norvalin waren die Ausbeuten schlechter als gewöhnlich, da offenbar ein Teil des Oxy-norvalins bei der Reduktion in Prolin oder Oxy-prolin übergegangen war, worauf der auftretende, für diese Amino-säuren typische Geruch hinwies. Die isolierte Amino-säure war *d, l*-Norvalin:

21.0 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 1.78 ccm n_{10}° - H_2SO_4 .

$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$. Ber. N 11.96. Gef. N 12.04.

Phenylisocyanat-Verbindung, Schmp. 117°, Phenyl-hydantoin, Schmp. 103° (nach M. Slimmer²⁶): 119° bzw. 102°).

31.1 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.84 ccm n_{10}° - H_2SO_4 .

Norvalin-Phenyl-hydantoin, $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ (M.-G. 218).

Ber. N 12.84. Gef. N 12.79.

Darstellung der Phenylisocyanat-Verbindungen, sowie der zugehörigen Phenyl-hydantoine.

Oxy-amino-buttersäure. 0.7 g Säure wurden in 15 ccm *n*-Natronlauge gelöst und unter Kühlung portionsweise mit 1 ccm Phenylisocyanat versetzt und geschüttelt. Nachdem alles umgesetzt und der Geruch nach Phenylisocyanat verschwunden war, wurde filtriert. Das klare Filtrat wurde

²⁵) B. 33, 2395 [1900].

²⁶) B. 35, 400 [1902].

mit verd. Salzsäure kongo-sauer gemacht, wobei jedoch das Kupplungsprodukt auch nach 24-stdg. Stehen im Eisschrank nicht ausfiel. Beim Einengen unter vermindertem Druck auf etwa $\frac{1}{4}$ des ursprünglichen Volumens fiel ein Teil des Derivates amorph und unrein aus. Es wurde mehrfach ausgeäthert, der ätherische Auszug mit Calciumchlorid getrocknet und der Äther abgedampft. Das zurückbleibende Produkt war zunächst stark verunreinigt, wurde aber nach Lösen in wenig Äther-Alkohol und Ausfällen mit Petroläther und mehrmaligem Wiederholen dieser Operation in Form von zu Büscheln vereinigten, lanzett-förmigen Krystallen erhalten. Schmp. 177 bis 178°. Die Substanz ist in Wasser, Alkohol und Äther löslich, in Petroläther unlöslich.

2.748 mg Sbst.: 5.610 mg CO₂, 1.460 mg H₂O. — 29.7 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.47 ccm n_{10}° -H₂SO₄.

Phenylisocyanat-Oxy-amino-buttersäure, C₁₁H₁₄N₂O₄ (M.-G. 238).

Ber. C 55.46, H 5.88, N 11.77. Gef. C 55.68, H 5.94, N 11.65.

Zur Überführung in das Phenyl-hydantoin wurden 0.25 g Phenylisocyanat-Oxy-amino-buttersäure mit 30 ccm konz. Salzsäure versetzt. Die Lösung wurde langsam auf etwa $\frac{1}{3}$ des ursprünglichen Volumens eingedampft. Der Rest wurde unter vermindertem Druck mehrfach mit Wasser und schließlich absol. Alkohol abgedampft, um alles HCl und Wasser zu entfernen. Schließlich wurde in wenig Alkohol gelöst und mit über Natrium getrocknetem Petroläther bis zur starken Trübung versetzt. Nach 24 Stdn. hatten sich zu Büscheln vereinigte Nadelchen abgesetzt, die nach nochmaliger Reinigung aus Alkohol und Petroläther reines Phenyl-hydantoin waren. Schmp. 164—165°.

31.11 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.83 ccm n_{10}° -H₂SO₄.

3 - Phenyl - 5 - [α - oxy - äthyl] - hydantoin (Oxy - amino - buttersäure - Phenyl-hydantoin).

C₁₁H₁₂O₃N₂ (M.-G. 220). Ber. N 12.72. Gef. N 12.75.

Oxy-valin: 0.4 g Oxy-valin wurden in 5 ccm Wasser gelöst, mit 5 ccm *n*-Natronlauge versetzt und unter Eiskühlung mit 0.5 g Phenylisocyanat in Portionen gekuppelt. Beim Ansäuern mit Salzsäure fiel das Produkt nicht aus, weshalb die Lösung mehrmals mit Äther ausgeschüttelt wurde. Nach dem Trocknen der Lösung mit Natriumsulfat wurde der größte Teil des Äthers abgedampft und der Rest schließlich mit viel Petroläther versetzt, wobei sich die Phenylisocyanat-Verbindung abschied. Nach mehrmaligen Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther wurden lange, seidenglänzende Nadeln vom Schmp. 182° erhalten, die in Wasser löslich sind.

2.449 mg Sbst.: 5.145 mg CO₂, 1.460 mg H₂O. — 32.7 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.59 ccm n_{10}° -H₂SO₄.

Phenylisocyanat-Oxy-valin, C₁₂H₁₆O₄N₂ (M.-G. 252).

Ber. C 57.28, H 6.67, N 11.12. Gef. C 57.15, H 6.35, N 11.09.

Die Darstellung des Hydantoins geschah in der gleichen Weise wie bei der Oxy-amino-buttersäure beschrieben ist. Nadeln, die bei 117° sintern und bei 125° schmelzen.

32.3 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.78 ccm n_{10}° -H₂SO₄.

3 - Phenyl - 5 - [α - oxy - isopropyl] - hydantoin (Oxy-valin-Phenyl-hydantoin).

C₁₂H₁₄N₂O₃ (M.-G. 234). Ber. N 11.96. Gef. N 12.06.

Oxy-norvalin: Die Kupplung mit Phenylisocyanat wurde in der oben beschriebenen Weise vorgenommen. Beim Ansäuern fiel auch hier das Kupplungsprodukt nicht aus. Erst bei starkem Einengen unter vermindertem Druck fiel ein Öl aus, das mit Äther ausgeschüttelt wurde. Nach dem Trocknen, Abdampfen des Äthers und häufigem Verreiben mit Petroläther erstarrte das Öl. Es wurde nach mehrfachem Umfällen aus Äther-Petroläther schließlich in Form lanzett-förmiger Stäbchen rein erhalten, die in Wasser löslich waren. Schmp. 156°.

2.613 mg Subst.: 5.515 mg CO₂, 1.490 mg H₂O. — 32.5 mg Subst. (nach Kjeldahl): 2.57 ccm n_{10} -H₂SO₄.

Phenylisocyanat-Oxy-norvalin, C₁₂H₁₈O₄N₂ (M.-G. 252).

Ber. C 57.28, H 6.67, N 11.12. Gef. C 57.56, H 6.38, N 11.08.

Die Darstellung des Phenyl-hydantoin geschah ähnlich wie bei der Oxy-amino-buttersäure. Beim Ausfällen aus wenig Äther mit Petroläther wurde das Hydantoin in Form von mikroskopischen Nadelchen erhalten. Schmp. 154–155°. Misch-Schmp. des Hydantoin mit der Phenylisocyanat-Verbindung 115°.

30.8 mg Subst. (nach Kjeldahl): 2.67 ccm n_{10} -H₂SO₄.

3-Phenyl-5-[α -oxy-*n*-propyl]-hydantoin, (Oxy-norvalin-Phenyl-hydantoin).

C₁₂H₁₄N₂O₃ (M.-G. 234). Ber. N 11.96. Gef. N 12.14.

Das Phenyl-hydantoin des *l*-Oxy-prolins wurde aus der nach E. Fischer²²⁾ dargestellten Phenylisocyanat-Verbindung durch Kochen mit konz. Salzsäure in bekannter Weise dargestellt. Beim Einengen auf etwa $\frac{1}{3}$ des ursprünglichen Volumens und Abkühlen der Lösung schied sich das Hydantoin in Form von Nadeln ab. Nach Umkrystallisieren Schmp. 123–124°.

78.1 mg (nach Kjeldahl): 6.7 ccm n_{10} -H₂SO₄.

C₁₂H₁₂O₃N₂ (232,11). Ber. N 12.07. Gef. N 12.01.

Benzoylierungs-Versuche.

N-Benzoyl- α -amino- β -oxy-buttersäure: 1 g Oxy-amino-buttersäure wurde mit 6 g Benzoylchlorid und 15 ccm 5-*n*. NaOH in kleinen Anteilen gekuppelt. Beim Übersäuern mit HCl fiel ein Niederschlag aus, der getrocknet sich in Petroläther (Sdp. 60–70°) völlig löste (Benzoesäure). Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck zur Trockne gebracht, dann mehrfach mit Wasser und schließlich mit Alkohol abgedampft. Der Rückstand wurde in wenig absol. Alkohol gelöst, vom Kochsalz abfiltriert und mit viel Petroläther versetzt. Nach 12 Stdn. hatten sich wetzstein-förmige Krystalle abgeschieden, die nochmals mit Alkohol-Petroläther gereinigt wurden. Schmp. 176°.

46.05 mg Subst. (nach Kjeldahl): 2.02 ccm n_{10} -H₂SO₄.

C₁₁H₁₃O₄N (M.-G. 223.1). Ber. N 6.27. Gef. N 6.15.

O,N-Dibenzoyl- α -amino- β -oxy-buttersäure. 0.75 g *N*-Monobenzoyl-Derivat wurden in 1.67 ccm 2-*n*. NaOH gelöst, mit 2 ccm Wasser versetzt und unter Eiskühlung 4-mal mit je 0.4 ccm Benzoylchlorid und 3.1 ccm 2-*n*. NaOH nach-benzoyliert, wobei die Lösung jedesmal nur vorübergehend schwach alkalisch wurde. Nach Beendigung der Umsetzung wurde mit 2.5 ccm 5-*n*. HCl angesäuert, der Niederschlag nach 2 Stdn. abgesaugt, mit

Wasser ausgewaschen und auf Ton getrocknet. Das Gemisch von Benzoesäure und Dibenzoylverbindung wurde mit Petroleum-Benzin (Sdp. 70–80°) mehrfach ausgekocht. Dabei hinterblieb ein amorpher Rückstand, der nach wiederholtem Umlösen aus 30-proz. Alkohol in Form von kurzen Prismen kristallisierte, die an den Enden zugespitzt waren. Schmp. 174°, Misch-Schmp. von Mono- und Dibenzoylverbindung 145°.

2.860, 3.321 mg Sbst.: 6.925, 8.005 mg CO₂, 1.325, 1.525 mg H₂O. — 47.65 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 1.50 ccm n_{10} -H₂SO₄.

C₁₈H₁₇O₅N (M.-G. 327.13).

Ber. C 65.92, H 5.19, N 4.28. Gef. C 66.04, 65.74, H 5.18, 5.14, N 4.41.

Dieselbe Dibenzoylverbindung wurde in einem anderen Versuch beim Kuppeln von 1 g Oxy-amino-buttersäure in 4.5 ccm *n*-NaOH mit 4.3 g Benzoylchlorid und 32 ccm 2-*n*. NaOH in 10 Portionen beim Ansäuern erhalten, während aus der Mutterlauge etwa dieselbe Menge als Monobenzoylverbindung, wie oben, isoliert werden konnte.

O, *N*-Dibenzoyl-oxy-amino-buttersäure, Schmp. 174°. 40.1 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 1.24 ccm n_{10} -H₂SO₄. Ber. N 4.28. Gef. N 4.33.

N-Monobenzoyl-oxy-amino-buttersäure, Schmp. 176°. 34.9 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 1.54 ccm n_{10} -H₂SO₄. Ber. N 6.27. Gef. N 6.18.

N-Benzoyl-β-oxy-valin. Beim Kuppeln von Oxy-valin mit Benzoylchlorid unter den verschiedensten Bedingungen wurde bisher immer nur Monobenzoyl-oxy-valin erhalten. 1 g Oxy-valin wurde in 10 ccm Wasser mit 0.9 ccm 5-*n*. NaOH versetzt und unter Kühlung 9-mal mit je 1.5 ccm 5-*n*. NaOH und 0.5 ccm Benzoylchlorid gekuppelt. Der beim Übersäuern mit HCl entstehende Niederschlag bestand nur aus Benzoesäure. Aus der Mutterlauge wurde das Monobenzoylderivat entweder durch Einengen auf ein geringes Volumen und 24-stdg. Stehen oder durch Eindampfen unter vermindertem Druck, Aufnehmen in Alkohol und Fällen mit Petroläther gewonnen. Umkristallisiert wurde aus Benzol-Petroleum-Benzin. Lange Nadeln, Schmp. 153°.

48.35, 41.45 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.06, 1.76 ccm n_{10} -H₂SO₄.

Monobenzoyl-oxy-valin, C₁₂H₁₅O₄N (M.-G. 237.13). Ber. N 5.91. Gef. N 5.96, 5.95.

Dibenzoyl-oxy-valin, C₁₉H₁₉O₅N (M.-G. 341.16). Ber. N 4.11.

Beim Kuppeln in neutraler Lösung (1 g Oxy-valin, gelöst in 7.5 ccm Wasser, und 10-maliger Zusatz von je 0.35 ccm Benzoylchlorid und 2.85 ccm 2-*n*. NaOH), sowie beim Nach-benzoylieren von Monobenzoyl-oxy-valin (1.1 g in 4.6 ccm *n*-NaOH gelöst, 10-mal mit je 0.32 ccm Benzoylchlorid und 1.72 ccm 2-*n*. NaOH gekuppelt) wurde gleichfalls nur die Monobenzoylverbindung (Schmp. 153°) aus der Lösung isoliert, während beim Ansäuern nur Benzoesäure ausfiel.

N-Benzoyl-β-oxy-norvalin: 0.7 g Oxy-norvalin wurden in 5 ccm Wasser gelöst, 10-mal mit je 0.34 ccm Benzoylchlorid und 1.9 ccm 2-*n*. NaOH unter Eiskühlung gekuppelt. Der mit Salzsäure ausgefällte Niederschlag bestand in allen Versuchen nur aus Benzoesäure. Das Reaktionsprodukt wurde, wie oben, aus dem Filtrat erhalten: Zu Sternen vereinigte Prismen aus Alkohol-Petroläther, die bei 170–171° schmolzen.

46.8 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.01 ccm n_{10} -H₂SO₄.

C₁₂H₁₅O₄N (M.-G. 237.13). Ber. N 5.91. Gef. N 6.02.

O, *N*-Dibenzoyl-*l*-oxy-prolin: 0.8 g Oxy-prolin wurden in 5 ccm Wasser gelöst und 12-mal mit je 0.23 ccm Benzoylchlorid und 1.9 ccm 2-*n*.

NaOH unter Eiskühlung gekuppelt. Es wurde dann mit der entsprechenden Menge 5-*n*. HCl angesäuert, nach 2 Stdn. abgesaugt, gut ausgewaschen und der Niederschlag über P_2O_5 im Hochvakuum getrocknet. Mit Petroleum-Benzin wurde solange ausgekocht, bis alle Benzoesäure entfernt war, wobei ein Öl zurückblieb, das erst nach mehrmaligem Umlösen aus Alkohol-Wasser und schließlichem Umfällen aus Benzol-Petroläther in rein weiße Nadelchen übergang. Schmp. 92^0 .

4.950 mg Sbst.: 12.180 mg CO_2 , 2.340 mg H_2O . — 50.8 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 1.55 ccm n_{10}^{20} - H_2SO_4 .

$C_{19}H_{17}O_5N$ (M.-G. 339.14).

Ber. C 67.23, H 5.06, N 4.13. Gef. C 67.11, H 5.29, N 4.27.

Abspaltung einer Benzoylgruppe aus *O*. *N*-Dibenzoyl-*l*-oxyprolin: 0.6 g Sbst. wurden mit 4.6 ccm *n*-NaOH und 18 ccm Wasser versetzt. Nach 3-stdg. Stehen auf dem siedenden Wasserbade wurde mit 5 ccm *n*-HCl angesäuert, wobei die auf die Abspaltung einer Benzoylgruppe berechnete Menge Benzoesäure ausfiel (etwa 0.2 g). Nach einigen Stdn. wurde abgesaugt, unter vermindertem Druck zur Trockne abgedampft, mit Alkohol ausgekocht und nach dem Einengen der alkohol. Lösung mit viel Petroläther versetzt. Es fiel dabei ein farbloses, zähes Öl aus, das nach mehrmaligem Verreiben mit Petroläther über P_2O_5 im Vakuum lack-artig erstarrte. Nach der Analyse lag Monobenzoyl-oxy-prolin vor. Es gelang nicht, ein krystallisiertes Produkt zu erhalten. Schmp. gegen 100^0 .

47.5 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.05 ccm n_{10}^{20} - H_2SO_4 .

$C_{12}H_{13}O_4N$ (M.-G. 235.12). Ber. N 5.96. Gef. N 6.05.

Benzoyl-*l*-prolin: 2.22 g *l*-Prolin wurden in 5 ccm Wasser gelöst, mit 10 ccm 2-*n*. NaOH versetzt und 10-mal mit je 0.75 ccm Benzoylchlorid und 7.5 ccm 2-*n*. NaOH gekuppelt. Während des ganzen Versuches war die Alkalität der Lösung etwa halbnormal. Nach dem Ansäuern mit der entsprechenden Menge 5-*n*. HCl wurde der Niederschlag abgesaugt, auf Ton getrocknet, pulverisiert und mit Petroleum-Benzin ausgekocht. Der dabei nicht gelöste Anteil wurde in wenig Alkohol aufgenommen und mit viel Petroläther versetzt. Nach 24 Stdn. war das Benzoyl-prolin in Form von derben Prismen auskrystallisiert. Aus der salzsauren Mutterlauge wurde ein weiterer Anteil isoliert, indem zur Trockne verdampft und dann mit Alkohol ausgezogen wurde. Beim Abdampfen des Alkohols unter vermindertem Druck wurde ein Öl erhalten, das nach 12-stdg. Stehen krystallisierte. Schmp. 156^0 , Sintern ab 145^0 .

50.2 mg Sbst. (nach Kjeldahl): 2.36 ccm n_{10}^{20} - H_2SO_4 .

$C_{12}H_{13}O_3N$ (M.-G. 219.11). Ber. N 6.42. Gef. N 6.59.