

60. Helmut Zahn, Herbert Zuber, Waldemar Ditscher, Dieter Wegerle und Johannes Meienhofer: Reaktion von *p,p'*-Difluor-*m,m'*-dinitro-diphenylsulfon mit Seidenfibroin¹⁾

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Heidelberg]

(Eingegangen am 30. September 1955)

Herrn Professor Dr. Dr. techn. h. c. Dr. phil. h. c. Karl Freudenberg zum 70. Geburtstag in Dankbarkeit und Verehrung gewidmet

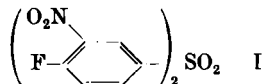
Die Reaktionen zwischen *p,p'*-Difluor-*m,m'*-dinitro-diphenylsulfon und den Tyrosinphenol- sowie den ϵ -Aminogruppen des Lysins in Seidenfibroin verlaufen überwiegend bifunktionell. *O,O'*-[*m,m'*-Dinitro-*p,p'*-diphenylsulfon]-bis-L-tyrosin und *N,N'*-[*m,m'*-Dinitro-*p,p'*-diphenylsulfon]-bis-L-lysin wurden aus dem Hydrolysat der umgesetzten Seide isoliert und mit den synthetischen Verbindungen verglichen.

In einer früheren Arbeit²⁾ war die Darstellung von *p,p'*-Difluor-*m,m'*-dinitro-diphenylsulfon (I), einer neuen reaktionsfähigen, bifunktionellen aromatischen Fluorverbindung, beschrieben worden. In dieser im folgenden kurz FF-Sulfon genannten Verbindung werden die Fluoratome infolge Aktivierung durch die *ortho*-ständige Nitro- und die *para*-ständige Sulfongruppe leicht gegen nucleophile Reaktionspartner ausgetauscht. FF-Sulfon reagiert nicht nur mit Aminosäuren und Phenolen in Lösung bifunktionell, sondern auch mit festen Faserproteinen wie Seidenfibroin³⁾ und Sehnenkollagen⁴⁾. Im Fibroin hatten die Tyrosinphenol- und die ϵ -Aminogruppen des Lysins, im Kollagen die ϵ -Aminogruppen des Lysins und Hydroxylysins reagiert. Das Verhalten der Faserproteine nach der Reaktion mit FF-Sulfon gegenüber Säuren, Kupfer(II)-äthylendiamin, Lithiumbromid und Alkalien sowie der Anstieg der Schrumpfungstemperatur beim Kollagen sprechen für den Einbau von Brücken zwischen die Polypeptidketten der genannten Proteine (interchenare Reaktion⁵⁾).

In der vorliegenden Arbeit werden die entsprechenden präparativen Untersuchungen beschrieben.

1. Umsetzung von FF-Sulfon (I) mit Seidenfibroin

Sorgfältig entbastete Seide, d. h. reines Fibroin, wurde mit einer Lösung von FF-Sulfon in wäßrigem Aceton unter Zusatz von Natriumhydrogencarbonat bei 50° solange umgesetzt, bis die Reaktion zum Stillstand kam. Bei größeren Ansätzen ist hierzu eine Reaktionsdauer von 50–70 Stdn. erforderlich. Das gereinigte, leuchtend gelbe Reaktionsprodukt „Sulfon-Fibroin“



¹⁾ 15. Mitteil. über Reaktionen aromatischer Fluorverbindungen mit Aminosäuren und Proteinen. 14. Mitteil. vergl. H. Zahn u. H. Pfannmüller, Angew. Chem. 68 [1956], im Druck. ²⁾ H. Zahn u. H. Zuber, Chem. Ber. 86, 172 [1953].

³⁾ H. Zahn u. H. Zuber, Textil-Rdsch. [St. Gallen] 9, 119 [1954].

⁴⁾ H. Zahn u. D. Wegerle, Das Leder 5, 121 [1954].

⁵⁾ H. Zahn u. H. Zuber, Mh. Chem. 85, 759 [1954].

enthält nur noch rund 30 % des ursprünglich vorhandenen freien Tyrosins. Somit müssen etwa 70 % der Tyrosinphenolgruppen mit FF-Sulfon reagiert haben*). Es wurde derselbe maximale Umsatz an den Tyrosingruppen von 72 % sowohl in Fibroin aus italienischer Rohseide als auch in Fibroin aus japanischer Rohseide erzielt.

Um festzustellen, ob und wieviel FF-Sulfon bifunktionell reagiert hatte, wurde die Gewichtsbilanz der Reaktion aufgenommen. In Kontrollversuchen ohne FF-Sulfon blieb das ursprüngliche Gewicht des Fibroins fast unverändert. Sulfon-Fibroin (ital.) war um 8.4 % schwerer als unbehandeltes Fibroin. Legt man einen 72-proz. Umsatz der Tyrosinphenole mit beiden Fluoratomen von FF-Sulfon zugrunde, so errechnet man eine Gewichtszunahme von 8.4 % in bester Übereinstimmung mit dem gefundenen Wert. Dies spricht für eine 100-proz. bifunktionelle Reaktion des Reagens.

Eine unabhängige Rechnung beruht auf einem Vergleichsversuch mit dem monofunktionellen *p*-Fluor-*m,m'*-dinitro-diphenylsulfon²⁾ (F-Sulfon). Nach erschöpfender Umsetzung von Seidenfibroin mit dieser Verbindung war gemäß der Tyrosinanalysen etwa derselbe Anteil des Tyrosins in Reaktion getreten. Die Gewichtszunahme lag jedoch bei 15.2 %. Daraus errechnet sich für das bifunktionelle FF-Sulfon wegen seines nur halb so großen Äquivalentgewichts, bei gleichem Tyrosinumsatz, eine Gewichtszunahme von

Tafel I. Umsatzberechnungen

	Fibroin aus ital. Seide	Fibroin aus japan. Seide
Tyrosingehalt (%)	12.5	12.0
Rest-Tyrosingehalt*) nach Reaktion mit		
FF-Sulfon	3.57	3.34
F-Sulfon	3.80	3.63
Tyrosinumsatz (%) nach Reaktion mit		
FF-Sulfon	71	72
F-Sulfon	70	70
gef. Gewichtszunahme (%) nach Reaktion mit		
FF-Sulfon	8.4	10.2
F-Sulfon	15.2	14.8
ber. Gewichtszunahme (%) (Basis Tyrosinumsatz)		
nach Reaktion mit		
FF-Sulfon	8.4	8.2
F-Sulfon	15.7	15.0
aus der Gewichtszunahme errechneter Anteil des bi-		
funktionellen Umsatzes (%)	100	75
Zunahme des S-Gehaltes (%) nach Reaktion mit		
FF-Sulfon	0.92	0.78
F-Sulfon	—	1.28
ber. Gewichtszunahme (%) aus Zunahme des S-Gehaltes		
nach Reaktion mit		
FF-Sulfon	9.0	7.7
F-Sulfon	—	13.0

*) Tyrosingehalt des Sulfon-Fibroins, dividiert durch den Fibroinanteil (unbehandeltes Fibroin = 1.0)

*) Offensichtlich sind nicht alle Tyrosinphenolgruppen in Seidenfibroin zugänglich, da selbst mit dem kleineren Molekül von 1-Fluor-2,4-dinitro-benzol ein größerer Umsatz als 85 % nicht erzielt werden konnte.

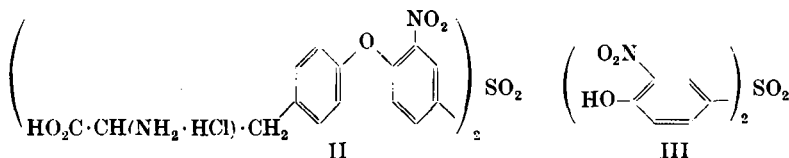
15.2:2 = 7.6%. Auch diese Zahl stimmt mit dem tatsächlich gefundenen Wert von 8.4% hinreichend gut überein, um die Aussage zu ermöglichen, daß FF-Sulfon nahezu restlos bifunktionell reagiert hat.

Dagegen betrug der Anteil der bifunktionellen Reaktion bei japanischem Seidenfibroin nur 75 % und ist somit deutlich niedriger.

Die Unterlagen für diese Umsatzberechnungen finden sich in der Tafel 1. Dort sind auch Schwefelanalysen ausgewertet. Die Erhöhung des Schwefelgehaltes im Sulfon-Fibroin, die ein Maß für die Menge eingebauter Dinitro-diphenylsulfon-Reste darstellt, ist wegen des relativ geringen Schwefelgehaltes des reinen Fibroins gut zu erfassen. Die Rechnung liefert ähnliche Werte für den Anteil der bifunktionellen Reaktion, wobei eine größere Ungenauigkeit durch die Differenzbildung aus mikroanalytischen Werten einer gewissen Fehlerbreite berücksichtigt werden muß. Dagegen ist die Differenz der N-Gehalte zwischen Fibroin und Sulfon-Fibroin bei dem hohen N-Gehalt des Fibroins zu gering, um eine quantitative Beurteilung der Reaktion zu erlauben.

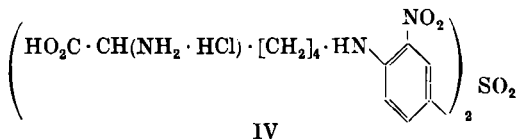
2. Hydrolyse des Sulfon-Fibroins

Nachdem die analytischen Daten am Sulfon-Fibroin einen 75- bis 100-proz. Anteil der bifunktionellen Reaktion ergaben, wurde die Isolierung der erwarteten Brücken-bis-aminosäure, *O,O'*-[*m,m'*-Dinitro-*p,p'*-diphenylsulfon]-bis-L-tyrosin (II), Sulfon-bis-tyrosin genannt, versucht.



Diese gelingt leicht durch Totalhydrolyse von Sulfon-Fibroin mit 6*n* HCl, wobei aus dem Hydrolysat nach dem Erkalten Sulfon-bis-tyrosin als Dihydrochlorid ausfällt. Das Rohprodukt wurde mit 6*n* NaOH in das Diphenol (III) und freies Tyrosin gespalten. Die Ausbeute an III spricht dafür, daß das Rohprodukt zu 70 % aus Sulfon-bis-tyrosin (II) besteht. Die Konstitution des aus dem Rohprodukt in guter Ausbeute durch Umkristallisieren erhaltenen reinen Sulfon-bis-tyrosins wurde durch Vergleich mit der im 3. Abschnitt beschriebenen synthetischen Verbindung in Elementaranalyse und Röntgenogramm sichergestellt.

Bei der Reaktion von FF-Sulfon mit Seidenfibroin reagierte neben den Tyrosinphenolgruppen auch ein Teil der eingebauten Lysinreste mit ihren ε-Aminogruppen. Die anschließende Hydrolyse lieferte gelbes *N_ε,N_ε'*-[*m,m'*-



Dinitro-*p,p'*-diphenylsulfon]-bis-lysin (IV), sog. Sulfon-bis-lysin. Zu Vergleichszwecken wurde die inaktive Form dieser Verbindung aus α-Acetyl-DL-lysin, wie im Versuchsteil beschrieben, synthetisiert.

Aus dem Filtrat des Hydrolysats von Sulfon-Fibroin wurde IV durch Butanol-Extraktion angereichert und durch chromatographischen Vergleich mit der synthetischen inaktiven Verbindung identifiziert. Die Isolierung von Sulfon-bis-lysin in Substanz war uns bisher wegen der geringen Menge – Fibroin enthält nur etwa 0.7 % Lysin, das nur unvollständig reagierte – nicht möglich. Bei der Berechnung der Umsatzzahlen in Abschnitt 1 wurde der Beitrag des Lysins zur Gesamtreaktion von FF-Sulfon mit Fibroin vernachlässigt.

3. Synthese des Sulfon-bis-tyrosins (II)

Die Synthese der Verbindung II ging von *N*-Chloracetyl-L-tyrosin-äthylester und FF-Sulfon aus. Durch Verseifen von Sulfon-bis-[*N*-chloracetyl-L-tyrosin-äthylester] mit 6*n* HCl wurde Sulfon-bis-[L-tyrosin-hydrochlorid] gewonnen und durch Elementaranalyse, Drehung und Röntgenogramm charakterisiert. Das Dihydrochlorid besitzt bis 350° keinen Schmelzpunkt; daher ist die röntgenographische Charakterisierung besonders wertvoll. Zur Kontrolle wurde inaktives Sulfon-bis-tyrosin über *N*-Benzoyl-DL-tyrosin-äthylester und FF-Sulfon dargestellt. Diese Verbindung liefert naturgemäß ein anderes Debye-Scherrer-Diagramm als das L-Derivat. In Tafel 2 werden die charakteristischen Daten des aus Sulfon-Fibroin isolierten Sulfon-bis-L-tyrosins mit denen der synthetischen Verbindung verglichen:

Tafel 2. Charakteristische Daten von aus Sulfon-Fibroin isoliertem und synthetischem Sulfon-bis-[L-tyrosin-hydrochlorid]

Sulfon-bis-[L-tyrosin-hydrochlorid] (II)	Elementaranalyse					Röntgenreflexe					
	C	H	N	S	Cl	in Å					
Synthetisch	49.24	3.90	7.48	4.31	9.31	12.6	8.35	5.52	4.97	3.89	3.60 3.18 2.49
Isoliert	48.38	3.96	7.27	4.55	9.24	12.6	8.30	5.52	5.00	3.90	3.60 3.18 2.49
Ber. für $C_{30}H_{26}O_{12}N_4S \cdot 2HCl$ (739.5)	48.72	3.82	7.58	4.34	9.59						

4. Diskussion

Durch die hier beschriebenen Versuche wurde wohl zum ersten Male die Reaktion von Fibroin mit einem bifunktionellen Reagens durch Isolierung der gebildeten Bis-aminosäuren eindeutig nachgewiesen⁶⁾.

Die Tatsache, daß mehrbasische Sulfonsäuren, z. B. Farbsäuren, sich mit Wollkeratin und Fibroin nach Maßgabe ihrer Äquivalentgewichte verbinden⁷⁾, die früher nur durch komplizierte Annahmen zu erklären war⁸⁾, versteht sich nun einfach deswegen, weil die ϵ -Aminogruppen des Lysins und damit ein großer Teil der basischen Gruppen so nahe beieinander liegen, daß sie sich mit FF-Sulfon sogar kovalent verbinden.

⁶⁾ Über andere Vernetzungsreaktionen an Seide s. z. B. T. Kuwamura, J. chem. Soc. Japan, ind. Chem. Sect. [Kōgyō Kagaku Zasshi] 56, 699 [1953].

⁷⁾ H. Fikentscher u. K. H. Meyer, Melliand Textilber. 7, 605 [1926]; 8, 781 [1927]; E. Elöd u. E. Pieper, Z. angew. Chem. 41, 16 [1928]; E. Elöd, Trans. Faraday Soc. 29, 327 [1933]; 31, 305 [1935].

⁸⁾ Man vergleiche die Diskussion über das Färben von Wolle in P. Alexander u. R. F. Hudson „Wool its Chemistry and Physics“, London 1954, S. 238–240.

Es ist seit langem aus Röntgenanalysen bekannt⁹⁾, daß ein Einbau von Tyrosinresten in den gittermäßig geordneten oder kristallinen Teilen des Seidenfadens aus Platzmangel äußerst unwahrscheinlich ist. Die stark raumbeanspruchenden Aminosäurereste des Tyrosins, Lysins, Arginins u. a. liegen im „amorphen“ Teil. S. G. Smith und Mitarbb.¹⁰⁾ konnten nach Einwirkung von Chymotrypsin auf eine Fibroinlösung ein Polypeptid in Substanz isolieren, das sich, wie von den Röntgenographen vorausgesagt, nur aus Glycin, Alanin und Serin und einem endständigen Tyrosinrest zusammensetzt und ein schärferes Röntgenogramm als Fibroin liefert. Die Aufklärung der Reihenfolge der Aminosäurereste in dem nur ca. 55 Aminosäuren enthaltenden kristallinen Peptid ist im Gange, und abschließende Ergebnisse sind in Kürze zu erwarten. Dagegen wissen wir wenig darüber, wie und wo die übrigen Tyrosinreste, das gesamte Lysin, Arginin sowie Glutaminsäure, Asparaginsäure, Leucin und Phenylalanin eingebaut sind. Nach Einwirkung von Chymotrypsin finden sich diese Aminosäuren überwiegend in Form von Pentapeptiden, die im Spaltansatz gelöst bleiben¹⁰⁾. Die Ausbeute an dieser löslichen tyrosinreichen Fraktion betrug 38 % des Fibroins.

Unsere Versuche lassen sich im Sinne der Ergebnisse von Smith gut verstehen. Der Mittelpunkt Abstand der an der Brückenbildung beteiligten Äthersauerstoffatome bzw. Stickstoffatome beträgt 9.5 bzw. $9.6 \pm 0.1 \text{ \AA}^*$). Der Abstand zwischen den meisten Tyrosinphenolen dürfte daher nicht stark von 10 \AA abweichen, da sonst eine überwiegend bifunktionelle Reaktion von FF-Sulfon nicht verständlich ist. Man hat hierbei eine gewisse Beweglichkeit der Peptidkette und vor allem der Tyrosinseitenketten zu berücksichtigen. Jedenfalls ist die bifunktionelle Reaktion von FF-Sulfon mit Tyrosin und Lysin nur zu erklären, wenn diese Aminosäurereste in bestimmten Bereichen des Fibroins gehäuft vorkommen. Eine Entscheidung über die Frage, ob die Hypothese von durchlaufenden Peptidketten mit einem Molekulargewicht $80\text{--}100\,000$, in welchem kristalline und „amorphe“ Bereiche miteinander abwechseln (Fibroin als segmentiertes Makromolekül) richtig ist, kann jedoch trotz einiger bestechender Eigenschaften des Modells⁵⁾ nicht getroffen werden**).

⁹⁾ Vergl. K. H. Meyer, Die hochpolymeren Verbindungen, S. 417 in K. H. Meyer u. H. Mark, Hochpolymere Chemie, Akad. Verlagsgesellschaft, Leipzig 1940.

¹⁰⁾ B. Drucker u. S. G. Smith, Nature [London] **165**, 197 [1950]; B. Drucker, R. Hainsworth u. S. G. Smith, J. Textile Inst., Trans. **44**, T 420 [1953]; vergl. auch E. Waldschmidt-Leitz u. O. Zeiss, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **300**, 49 [1955]; diese letztgenannten Autoren finden für das kristalline Peptid eine Kettenlänge von 43 bis 44 Aminosäuren.

^{*} Berechnet unter Annahme eines Bindungswinkels am Sulfon-S von $105.7^\circ \pm 1^\circ$ (C. Keil u. K. Plieth, Naturwissenschaften **38**, 546 [1951]).

^{**)} Fibroin könnte aus zwei Komponenten bestehen, einem kristallinen, Glycin, Alanin, Serin und ein Tyrosin enthaltenden Peptid und einem komplexen tyrosinreichen Peptid. Beide Peptide könnten im Fibroin durch nicht-peptidische Bindung verknüpft sein. Eine extreme bisher nicht als unmöglich erwiesene Auffassung wäre, daß die elektronenmikroskopisch beobachteten Fibrillen³⁾ aus den kristallinen Peptiden bestehen, die in einem Zement aus tyrosinreichen Peptiden eingebettet sind. Zement und Fibrillen sind mindestens durch starke Nebenvalenzbindungen miteinander verknüpft.

Wir danken dem Internationalen Wollsekretariat, London und Düsseldorf, der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie dem Verband der Chemischen Industrie für die Unterstützung der Arbeit. Die Tyrosinanalysen wurden von Hrn. Dr. E. R. Fritze und die Elementaranalysen vom Mikrolaboratorium des Forschungsinstituts für die Chemie des Holzes und der Polysaccharide Heidelberg in dankenswerter Weise ausgeführt. Ferner danken wir der Textilausrüstungsgesellschaft Krefeld für die Überlassung der Rohseide.

Beschreibung der Versuche

Fibroin: 90 g ital. Rohseide (Trame 40/44 den) wurden mit Äther und Äthanol jeweils 24 Stdn. im Soxhlet extrahiert. 86.2 g entwachste Rohseide wurden mit einer Lösung von 34 g „medizinischer Seife“ (Merck) in 2 l Wasser zweimal je 20 Min. auf 90° erwärmt. Nach kurzem Auswaschen mit Wasser wurde die Extraktion mit einer 0.8-proz. Lösung derselben Seife wiederholt (85–90°, 20 Min.) und gründlich mit Wasser nachgewaschen. Schließlich wurde das Präparat in 2000 ccm 3-proz. Essigsäure eingelegt, nach 18 Stdn. erneut mit Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet. Ausb. 76% bez. auf entwachste Rohseide.

N 18.4 S 0.38 Tyrosin 12.5 Asche 0.48

In derselben Weise wurden 78.1 g japan. Rohseide (Organzin 26/30 den, Triple extra special) entwachst und entbastet.

N 18.8 S 0.2 Tyrosin 12.0 Asche 0.04

Sulfon-Fibroin: 67.2 g Fibroin (ital. Trame) wurden mit der Lösung von 20 g FF-Sulfon (I) und 12 g Natriumhydrogencarbonat in 5.5 l Aceton und 1.5 l Wasser bei 50° 30 Stdn. unter starkem Rühren (200 U/Min.) umgesetzt. Das gelb gefärbte Faserpräparat wurde nochmals in einer frischen Lösung derselben Zusammensetzung 35 Stdn. bei 50° behandelt.

Das Sulfon-Fibroin wurde mit Aceton und Wasser gründlich gewaschen, 24 Stdn. in Äthanol, 12 Stdn. in 3-proz. Essigsäure und 24 Stdn. in Wasser stehengelassen, an der Luft getrocknet und bei 105° in 2 Stdn. völlig entwässert. Ausb. 73.4 g (109.2%, bez. auf Fibroin).

N 18.1 S 1.3 Tyrosin 3.27

O,O'-[*m,m'*-Dinitro-*p,p'*-diphenylsulfon]-bis-[*L*-tyrosin-hydrochlorid](II)

a) aus Sulfon-Fibroin: 70 g Sulfon-Fibroin wurden mit 600 ccm 6*N*HCl im Glasautoklaven 15 Stdn. auf 105° erhitzt. Nach dem Abkühlen des Hydrolysates fiel ein Rohprodukt in drusenförmigen Kristallaggregaten aus, das gründlich mit Wasser gewaschen und getrocknet wurde. Ausb. 12.5 g. Es wurde aus heißer Ameisensäure unter Zusatz von Tierkohle und einigen Tropfen konz. Salzsäure umkristallisiert.

$C_{30}H_{26}O_{12}N_4S \cdot 2HCl$ (739.5) Ber. C 48.72 H 3.82 N 7.58 S 4.34 Cl 9.59

Gef. C 48.38 H 3.96 N 7.27 S 4.55 Cl 9.24

R_F etwa 1 in 33-proz. wäßriger Ameisensäure. Netzebenenabstände aus Röntgenaufnahmen*) in Å (geschätzte Intensität): 25.8 (5) 12.6 (4) 8.30 (3) 5.52 (5) 5.00 (8) 4.34 (1) 3.90 (10) 3.60 (5) 3.18 (6) 2.80 (2) 2.60 (1) 2.49 (3) 2.20 (1) 1.77 (1).

p,p'-Dihydroxy-*m,m'*-dinitro-diphenylsulfon (III): 508 mg des aus Sulfon-Fibroin isolierten Rohprodukts wurden mit 5 ccm 6*N*NaOH 18 Stdn. auf 105° erhitzt, abgekühlt, mit Wasser verdünnt und mit konz. Salzsäure angesäuert. Dabei fiel das Diphenol III aus. Ausb. 276 mg (theoret. Ausb. aus 508 mg reinem II 230 mg).

b) synthetisch: Die Lösung von 5 g *N*-Chloracetyl-*L*-tyrosin-äthylester in 150 ccm Aceton wurde mit der Lösung von 1 g Natriumhydrogencarbonat in 50 ccm

*) Verwendet wurde eine zylindrische Kammer \varnothing 57.3 mm, Seifert-Hamburg, CuK_{α} ; 20 mA; 32 KV; 90 Min. Belichtung. Für Reflexe, die Netzebenenabständen über 10 Å entsprechen, wurde eine Kratky-Kammer benutzt, welche uns von Hrn. Prof. O. Kratky, Graz, freundlicherweise überlassen wurde.

O. Kratky, Z. Elektrochem., Ber. Bunsenges. physik. Chem. 58, 49 [1954]; O. Kratky u. A. Sekora, Mh. Chem. 85, 660 [1954].

Wasser vereinigt und die Lösung von 1.73 g FF-Sulfon in 75 ccm Aceton zugegeben. Unter Einleiten von Kohlendioxyd ließ man 5 Stdn. bei 60° reagieren. Danach wurde vom anorganischen Bodensatz abfiltriert und angesäuert (p_H 3). Beim Einengen i. Vak. erhielt man *O,O'*-[*m,m'*-Dinitro-*p,p'*-diphenylsulfon]-bis-[*N*-chloracetyl-L-tyrosin-äthylester] in Form grünlich-weißer Kristalle, die aus Aceton/Wasser umkristallisiert wurden. Schmp. 125°; $[\alpha]_{D_{25.2}}^{25} m\mu$: +17.13° (c = 3; Ameisensäure). Ausb. 3.7 g (84% d. Th.).

$C_{38}H_{36}O_{14}N_4Cl_2S$ (875.7) Ber. C 52.12 H 4.14 N 6.40 S 3.66

Gef. C 52.07 H 4.44 N 6.40 S 3.80

Netzebenenabstände aus dem Debye-Scherrer-Röntgenogramm in Å (geschätzte Intensität): 9.80 (3) 8.02 (10) 6.59 (4) 4.83 (7) 4.30 (6) 4.01 (6) 3.67 (9) 3.35 (2) 3.14 (3) 2.92 (2) 2.52 (1) 2.40 (1) 2.25 (2) 2.12 (1) 1.99 (2) 1.80 (1) 1.69 (1) 1.62 (1).

2 g des vorstehenden Chloracetylestere wurden mit 50 ccm 6*N*HCl 12 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Der anfangs auftretende Sirup kristallisierte dabei mit zunehmender Verseifung durch. Die weiße Kristallmasse wurde abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Ausb. 1.6 g (95% d. Th.). Umkristallisieren aus Ameisensäure/konz. Salzsäure. Kein Schmelzen bis 350°. $[\alpha]_{D_{25.2}}^{25} m\mu$: +3.7° (c = 5; Ameisensäure).

$C_{30}H_{26}O_{12}N_4S \cdot 2HCl$ (739.5) Ber. C 48.72 H 3.82 N 7.58 S 4.34 Cl 9.59

Gef. C 49.24 H 3.90 N 7.48 S 4.31 Cl 9.31

Netzebenenabstände aus dem Debye-Scherrer-Röntgenogramm in Å (Intensität): 12.6 (4) 8.35 (3) 5.52 (5) 4.97 (9) 4.34 (1) 3.89 (10) 3.60 (5) 3.18 (7) 2.83 (3) 2.63 (1) 2.49 (3) 2.39 (1) 2.27 (1) 2.22 (2) 2.03 (1) 1.96 (1) 1.87 (1) 1.77 (2) 1.69 (1).

O,O'-[*m,m'*-Dinitro-*p,p'*-diphenylsulfon]-bis-[*N*-benzoyl-DL-tyrosin-äthylester]: Zu einer Lösung von 4.7 g *N*-Benzoyl-DL-tyrosin-äthylester¹¹⁾ und 1 g Natriumhydrogencarbonat in 50 ccm Aceton und 5 ccm Wasser wurde die Lösung von 1.72 g FF-Sulfon in 50 ccm Aceton gegeben. Nach 3stdg. Reaktion bei 50° unter Einleiten eines langsamen Kohlendioxyd-Stromes wurde auf p_H 3 angesäuert und das Aceton i. Vak. abgedampft, wobei ein orangegelber Sirup zurückblieb, der beim Aufbewahren glasig-amorph erstarrte. Aus Aceton-Äthanol-Wasser wurde die Verbindung nach Aufkochen mit Kohle kristallin erhalten. Schwach grünliche Nadeln vom Schmp. 116°.

$C_{48}H_{42}O_{14}N_4S$ (930.9) Ber. C 61.90 H 4.58 N 6.02 S 3.44

Gef. C 61.47 H 4.54 N 5.80 S 3.49

Netzebenenabstände aus dem Debye-Scherrer-Diagramm in Å (geschätzte Intensität): 8.09 (5) 6.69 (1) 4.86 (2) 4.52 (7) 3.79 (3) 3.35 (2) 3.05 (1) 2.22 (1).

O,O'-[*m,m'*-Dinitro-*p,p'*-diphenylsulfon]-bis-[DL-tyrosin-hydrochlorid]: 1 g Bis-benzoyl-ester wurde mit 30 ccm 6*N*HCl 30 Stdn. unter Rückfluß gekocht, das graugrüne Produkt abfiltriert und mit Äther und wenig Aceton digeriert. Zur Reinigung wurde in Ameisensäure gelöst, mit Kohle aufgekocht, filtriert und konz. Salzsäure in der Hitze bis zur schwachen Trübung zugeetropt. Beim längeren Stehenlassen des sirupösen Niederschlages unter der Mutterlauge bei Wasserbadwärme und Reiben mit dem Glasstab trat Kristallisation ein. Schwach graugrünes Kristallpulver. Bis 350° kein Schmelzen.

$C_{30}H_{26}O_{12}N_4S \cdot 2HCl$ (739.5) Ber. C 48.72 H 3.82 N 7.58 S 4.34 Cl 9.59

Gef. C 48.65 H 3.89 N 7.48 S 4.45 Cl 8.41*)

Netzebenenabstände aus dem Debye-Scherrer-Diagramm in Å (geschätzte Intensität): 12.3 (2) 6.17 (3) 5.49 (3) 4.73 (2) 4.12 (1) 3.81 (4) 3.39 (2) 3.16 (2) 2.96 (1) 2.63 (3).

¹¹⁾ E. Erlenmeyer, jun., u. J. T. Halsey, Liebigs Ann. Chem. **807**, 138 [1899]; E. Fischer, Ber. dtsch. chem. Ges. **32**, 3619 [1900]. In Abänderung der von diesen Autoren gegebenen Vorschrift wurde die Hydrierung der α -Benzamino-4-hydroxy-zimtsäure mit Raney-Nickel in natriumcarbonat-alkalischer Lösung ausgeführt. Dieses Verfahren gestattete die Hydrierung größerer Ansätze.

*) Das Präparat verliert langsam HCl.

α -Acetyl- ϵ -Z-DL-lysin: Die Darstellung des N_ϵ -Carbobenzoxy-DL-lysin-Cu-Komplexes erfolgte analog der von A. Neuberger und F. Sanger für das L-Derivat gegebenen Vorschrift¹²⁾.

Das von Neuberger und Sanger¹²⁾ beschriebene Verfahren für die Abspaltung des Kupfers aus dem Komplex durch Behandlung der wäßrigen Lösung mit H_2S lieferte beim Übergang auf größere Ansätze nur minimale Ausbeuten. Wir verwendeten zur Bindung des Kupfers Kaliumcyanid und verfahren im einzelnen folgendermaßen: 25 g des Cu-Komplexes wurden in 250 ccm kaltem Wasser aufgeschlämmt. Nach Zugabe von konz. Kaliumcyanid-Lösung im Überschuß wurde bei Zimmertemperatur bis zur Entfärbung der Lösung gerührt, wobei sich ein feiner weißer Niederschlag bildete. Nach $\frac{1}{2}$ Stde. wurde mit Eisessig angesäuert, die Abscheidung weiteren Niederschlages abgewartet und abgesaugt. Nach gründlichem Waschen mit Eiswasser wurde aus viel Wasser umkristallisiert.

N_ϵ -Carbobenzoxy-DL-lysin bildet silbrig glänzende Kristalle; Schmp. 234°. Ausb. 14.9 g (66% d. Th.).

Die Acetylierung erfolgte analog der für das L-Derivat gegebenen Vorschrift¹²⁾. Aus 10 g ϵ -Z-DL-Lysin wurden 10.6 g α -Acetyl- ϵ -Z-DL-lysin erhalten (= 92% d. Th.). Umkristallisieren aus Wasser. Weiße Kristalle, Schmp. 119–120°.

$C_{18}H_{22}O_5N$ (322.2) Ber. C 59.63 H 6.83 Gef. C 59.71 H 6.80

α -Acetyl-DL-lysin: Der Lösung von 30 g α -Acetyl- ϵ -Z-DL-lysin in 750 ccm unvergälltem Alkohol wurden 2 g Palladiummohr zugesetzt. Unter kräftiger Durchwirbelung mit dem Vibrator*) wurde Wasserstoff eingeleitet, nach 30 Min. nochmals 1 g Palladiummohr zugegeben und solange hydriert, bis die Reaktion mit Barytlauge auf entweichendes Kohlendioxyd negativ war (etwa 3 Stdn.). Der Niederschlag aus Palladium und α -Acetyl-DL-lysin wurde mit wenig Wasser ausgezogen und die Verbindung aus dem Extrakt durch Zugabe von Äthanol in der Wärme ausgefällt. Umkristallisieren aus Wasser/Alkohol. Weiße Kristalle, Schmp. 232° (Zers.). Ausb. 16.5 g (96% d. Th.).

$C_9H_{16}O_3N_2$ (188.2) Ber. C 51.05 H 8.58 N 14.87 Gef. C 50.92 H 8.58 N 14.71

N_ϵ, N_ϵ' -[m, m' -Dinitro- p, p' -diphenylensulfon]-bis-[DL-lysin-hydrochlorid] (IV): In die Lösung von 1.88 g α -Acetyl-DL-lysin und 2 g Natriumhydrogencarbonat in 70 ccm Wasser und 40 ccm Aceton wurde die Lösung von 1.55 g FF-Sulfon in 80 ccm Aceton unter Rühren und Einleiten von Kohlendioxyd bei 60° zugegeben. Nach 6 Stdn. wurde auf p_H 3 angesäuert und der amorphe Niederschlag nach Einengen der Lösung abfiltriert. Zur Abspaltung der Acetylgruppe wurde mit 50 ccm 6*N*HCl 8 Stdn. unter Rückfluß gekocht, auf das doppelte Volumen mit Wasser verdünnt und heiß filtriert. Beim Erkalten fiel das orangegelbe Dihydrochlorid zum größten Teil aus. Aus der Mutterlauge wurde eine weitere Fraktion gewonnen. Umkristallisieren aus 6*N*HCl. Feine gelbe Nadeln. Schmp. über 250° (Zers.).

$C_{24}H_{32}O_{10}N_6S \cdot 2HCl$ (669.5) Ber. N 12.55 S 4.79 Cl 10.59

Gef. N 11.90 S 4.42 Cl 9.94 H_2O 5.29 (Gew. Verlust beim Trocknen über P_2O_5/KOH , 15 Stdn., Vak.)

Gef. N 12.56 S 4.67 Cl 10.49 (umgerechnet auf wasserfreie Substanz)

Netzebenenabstände aus dem Debye-Scherrer-Diagramm in Å (geschätzte Intensität): 15.20 (2) 13.77 (5) 11.16 (1) 7.85 (3) 7.19 (2) 6.27 (3) 4.82 (1) 4.21 (3) 3.86 (1) 3.57 (6) 3.36 (4) 3.19 (2) 2.95 (1).

¹²⁾ Biochem. J. **37**, 515 [1943].

*) Wechselstromvibrator der Firma Bopp & Reuther GmbH., Mannheim-Waldhof.