

Der angefeuchtete Mörtel reagirte deutlich alkalisch. Es ist also nach einem so langen Zeitraume noch etwa ein Drittel des Kalkes ätzend geblieben; ob derselbe als Calciumhydroxyd vorhanden oder mit dem Carbonat zu basischem Salze verbunden ist, muss dahingestellt bleiben. — In der Literatur finden sich ähnliche Fälle dieser Art¹⁾, während in anderen Fällen vollständige Carbonisirung festgestellt wurde. Es müssen jedenfalls besondere Umstände obwalten, um das Eindringen der Kohlensäure während so langer Zeiträume in solchem Maasse zu erschweren.

6. Gypsgehalt von Asphaltstein.

Bei Gelegenheit eines technischen Gutachtens wurden eine Anzahl von Asphaltsteinen auf einen Gehalt an Gyps untersucht. In der Literatur scheint hierüber nichts bekannt zu sein. Berechnet man die von Hrn. O. Spengler ausgeführten Ca- und SO₃-Bestimmungen auf CaCO₃ und CaSO₄, so ergibt sich:

	I	II	III	IV	V	VI	VII
CaCO ₃ . . .	86.8	84.3	88.0	70.2	80.8	55.5	54.7 pCt.
CaSO ₄ . . .	2.0	2.1	2.4	1.9	1.4	2.7	2.2 »

I Asphaltstein, gebrochen in der Nähe von Eschershausen i. Braunschweig; II desgl.; III Sicilianischer Asphaltfelsen; IV desgl.; V Asphaltfelsen von The Neuchatel Asphalt Co.; VI desgl. der Asphalt-Gesellschaft San Valentino; VII desgl. von The French Asphalte-Co., London.

Braunschweig. Technische Hochschule, Laboratorium für analytische und technische Chemie.

505. Emil Fischer: Synthese von Polypeptiden.

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

(Eingegangen am 7. August 1903.)

Sieht man ab von den Dipeptiden wie Glycylglycin oder Leucylleucin, die durch Aufspaltung der Diacipiperazine mit Säuren erhalten werden, so liefern die bisher bekannten Synthesen nur Derivate der Polypeptide, von denen die Carbäthoxyl- und Carboxyl-Verbindungen am ausführlichsten untersucht sind. Da die Abspaltung von Kohlensäure aus ihnen ohne tiefer gehende Zersetzung nicht gelungen ist, so war zum Aufbau der höheren Polypeptide eine neue Methode erforderlich.

¹⁾ Vergl. z. B. A. Bauer, Dingler's polyt. Journ. 150, 62 [1858]; 162, 366 [1859].

Wie bereits in der Mittheilung von Erich Otto und mir¹⁾ kurz erwähnt ist, hat sich diese gefunden in der Combination folgender Reactionen: Der Ester eines Dipeptids, z. B. der Glycylglycinester, wird mit einem halogenisirten Säurechlorid, wie Chloracetylchlorid, zusammen gebracht. Aus dem so resultirenden Chloracetylglycylglycinester lässt sich durch vorsichtige Verseifung mit Alkali die entsprechende Säure $\text{Cl} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NHCH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NHCH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{OH}$ bereiten; wird Letztere mit starkem, wässrigem Ammoniak erwärmt, so entsteht das Diglycylglycin von der Structurformel $\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NHCH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NHCH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{OH}$, der erste Repräsentant der einfachen Tripeptide. Diese Verbindung ist dem Glycylglycin sehr ähnlich, sie bildet ein schwer lösliches, blaues Kupfersalz, lässt sich mit Salzsäure und Alkohol verestern und wird durch Chlorkohlensäureester in das früher²⁾ beschriebene, auf ganz anderem Wege gewonnene Carbäthoxyldiglycylglycin verwandelt. Auf die gleiche Art lassen sich gemischte Tripeptide erzeugen. So wurde durch Verwendung von α -Brompropionylbromid ein Alanylglycylglycin und mittels α -Bromisocapronylchlorid ein Leucylglycylglycin dargestellt. Eine für die praktische Ausführung wesentliche Vereinfachung hat die Methode durch die Beobachtung erfahren, dass man in den beiden letzten Fällen das Säurechlorid oder Bromid auch direct mit dem Glycylglycin in alkalischer Lösung combiniren kann.

Ich zweifle nicht daran, dass sich durch diese bequeme Synthese auch die verschiedenartigsten gemischten Dipeptide, Tetrapeptide usw. gewinnen lassen, und ich glaube, dass man mit der Erzeugung dieser reinen Polypeptide der Synthese der natürlichen Peptone um ein gutes Stück näher gekommen ist.

Diglycylglycin, $\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NHCH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NHCH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{OH}$.

2 g des früher beschriebenen Chloracetylglycylglycins werden mit 8 ccm wässrigem Ammoniak von 25 pCt. eine halbe Stunde auf 100° erhitzt, dann die Flüssigkeit auf dem Wasserbade verdampft, um das Ammoniak zu verjagen, und der Rückstand in 10 ccm Wasser gelöst. Fügt man zur warmen Flüssigkeit 50 ccm absoluten Alkohol, so scheidet sich in der Regel zuerst eine ölige Masse ab, die aber bald zu einem krystallinischen Pulver erstarrt. Sie wurde zur Reinigung 2 Mal in der 10-fachen Menge Wasser gelöst und jedes Mal durch Zufügen des anderthalbfachen Volumens Alkohol in Form von mikroskopisch kleinen Nadelchen wieder abgeschieden. Dabei blieb nicht allein alles Chlorammonium, sondern auch eine organische Verun-

¹⁾ Diese Berichte 36, 2107 [1903].

²⁾ E. Fischer, diese Berichte 36, 2100 [1903].

reinigung in der Mutterlauge. Die Menge des reinen Körpers betrug 0.8 g oder 44 pCt. der Theorie.

Für die Analyse wurde bei 100° getrocknet:

0.1798 g Sbst.: 0.2495 g CO₂, 0.0975 g H₂O. — 0.1489 g Sbst.: 23.7 ccm $\frac{1}{10}$ -n.-NH₃ (Kjeldahl).

C₈H₁₁O₄N₃. Ber. C 38.08, H 5.87, N 22.22.

Gef. » 37.85, » 6.08, » 22.29.

Im Capillarrohr färbt sich die Substanz von 215° an gelb, bei höherer Temperatur braun, entwickelt gegen 240° (corr. 246°) Gas und schmilzt gleichzeitig. Sie löst sich leicht in heissem Wasser, krystallisirt aber noch aus der 10-procentigen Lösung in der Kälte aus. In absolutem Alkohol ist sie unlöslich, desgleichen in Aether. Die wässrige Lösung reagirt neutral und schmeckt nicht süß. Sie löst gefälltes Kupferoxyd in der Hitze mit blauer Farbe. Versetzt man die Lösung des Tripeptids in der für 1 Mol. berechneten Menge Normal-Natronlauge mit Kupfersulfat, so entsteht sofort ein krystallinischer grünlicher Niederschlag, der selbst in heissem Wasser schwer löslich ist.

Das in kaltem Wasser relativ schwer lösliche Tripeptid löst sich sofort auf Zusatz von Salzsäure. Das Hydrochlorat ist auch in rauchender Salzsäure ziemlich leicht löslich, krystallisirt aber bei genügender Concentration.

Die nicht zu verdünnte schwefelsaure Lösung wird durch Phosphorwolframsäure gefällt und zwar zunächst als amorphe, zähe Masse. In der Hitze löst sich der Niederschlag leicht, fällt aber beim Erkalten wieder; ebenso löst er sich im Ueberschuss der Phosphorwolframsäure.

Von alkoholischer Salzsäure wird das Tripeptid ausserordentlich leicht in den Ester verwandelt, der sich in Form seines schwer löslichen Hydrochlorats abscheidet. In Folge dessen findet bei der Reaction nur dann klare Lösung statt, wenn eine sehr grosse Menge von alkoholischer Salzsäure zur Anwendung kommt (etwa die 100-fache Menge). Ist das nicht der Fall, so merkt man den Verlauf der Veresterung nur an dem veränderten Aussehen der festen Masse. Die Analyse des im Vacuum getrockneten Hydrochlorats gab folgende Zahlen:

0.1818 g Sbst.: 0.2520 g CO₂, 0.1032 g H₂O. — 0.2850 g Sbst.: 11.4 ccm $\frac{1}{10}$ -n.-Cl.

C₈H₁₆O₄N₃Cl. Ber. C 37.87, H 6.31, Cl 14.00.

Gef. » 37.81, » 6.30, » 14.20.

Das Salz schmilzt im Capillarrohr unter Braunfärbung bei 210—215° (corr. 214—219°); es ist in Wasser leicht, in Alkohol aber selbst in

der Hitze sehr schwer löslich und krystallisirt daraus beim Abkühlen in sehr kleinen, anscheinend rechtwinkligen Tafeln.

Verwandlung des Diglycylglycins in die Carbäthoxyl-
verbindung.

0.75 g des Tripeptids wurden bei 0° in 4.1 ccm Normal-Natronlauge gelöst und nach Zusatz von 0.5 g Chlorkohlensäureester 10 Minuten lang geschüttelt. Dann wurde eine Lösung von 0.2 g Natriumcarbonat in 3 ccm Wasser zugesetzt und abermals etwa $\frac{1}{2}$ Stunde geschüttelt, bis die Entwicklung von Kohlensäure aufhörte. Gegen Ende der Reaction trübte sich die Flüssigkeit, und nach Zusatz von 4.1 ccm Normal-Salzsäure begann die Krystallisation des Carbäthoxylderivates. Seine Menge betrug nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Stehen bei 0° 0.9 g oder 86 pCt. der Theorie. Einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt, war die Substanz rein. Sie zeigte den Schmp. 208—210° (corr. 212—214°) und die sonstigen Eigenschaften des früher¹⁾ beschriebenen Carbäthoxyldiglycylglycins.

Für die Analyse wurde im Vacuum getrocknet.

0.1865 g Sbst.: 0.2816 g CO₂, 0.0988 g H₂O. — 0.1748 g Sbst : 20.05 ccm $\frac{1}{10}$ -n.-NH₃.

C₉H₁₅O₆N₃. Ber. C 41.35, H 5.82, N 16.08.
Gef. » 41.11, » 5.93, » 16.06.

α -Brompropionyl-glycylglycinester.

Vermischt man eine Lösung von 30 g Glycylglycinester in 120 ccm Chloroform mit 25 g käuflichem α -Brompropionylbromid in 100 ccm Chloroform, so findet Erwärmung statt, und es fällt alsbald ein Gemisch des neuen Esters und des bromwasserstoffsäuren Glycylglycinesters als krystallinische Masse aus. Sie wird filtrirt, die Mutterlauge stark eingedampft und mit Aether versetzt, wobei von neuem krystallinische Fällung eintritt. Die gesammte Menge des festen Productes beträgt etwa 50 g. Es wird zuerst mit 250 ccm und dann mit 100 ccm Chloroform ausgekocht, wobei nur der Brompropionylglycylglycinester in Lösung geht. Er wird aus dem Filtrat durch Verdampfen des Chloroforms und Fällen mit Aether leicht gewonnen. Die Ausbente betrug 22 g, während nach der Menge des Glycylglycinesters, der zur Hälfte als Salz der Reaction entzogen wird, 27.2 g zu erwarten waren. Zur völligen Reinigung wurden die 22 g Ester aus 100 ccm heissem Wasser umkrystallisirt. Bei 0° war die Abscheidung so vollständig, dass der Verlust nur 3 g betrug. Für die Analyse wurde im Vacuum getrocknet.

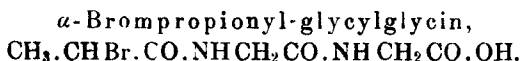
¹⁾ E. Fischer, diese Berichte 36, 2100 [1903].

0.1846 g Sbst.: 0.2481 g CO₂, 0.0850 g H₂O. — 0.3948 g Sbst.: 26.5 ccm $\frac{1}{10}$ -n.-NH₃.

C₉H₁₅O₄N₂Br. Ber. C 36.61, H 5.08, N 9.49.

Gef. » 36.65, » 5.12, » 9.40.

Der Ester sintert gegen 130° und schmilzt bei 133—134° (corr. 135—136°). Er ist in heissem Chloroform, Alkohol und Aceton leicht, in der Kälte erheblich schwerer löslich, noch schwerer wird er von Aether und Petroläther aufgenommen. Er krystallisirt aus Wasser und Alkohol in vierseitigen, schiefen Tafeln. Beim Kochen mit Wasser spaltet er langsam Bromwasserstoff ab.



Übergiesst man 14 g des fein gepulverten Esters mit 52 ccm n.-Natronlauge (1.1 Mol.), so erfolgt nach einigen Minuten klare Lösung und wenn nach einer Viertelstunde 52 ccm n.-Säure zugesetzt werden, so beginnt alsbald die Abscheidung der neuen Säure in kleinen, schief abgeschnittenen Prismen. Ihre Menge betrug nach einstündigem Stehen der auf 0° abgekühlten Flüssigkeit 10.2 g oder 80 pCt. der Theorie, und durch Concentration der Mutterlauge konnten noch 2 g gewonnen werden, sodass die Ausbeute fast quantitativ ist. Für die Analyse wurde die Säure aus heissem Wasser umgelöst und im Vacuum getrocknet.

0.1807 g Sbst.: 0.2069 g CO₂, 0.0695 g H₂O. — 0.3784 g Sbst.: 28.0 ccm $\frac{1}{10}$ -n.-NH₃.

C₇H₁₁O₄N₂Br. Ber. C 31.46, H 4.12, N 10.49.

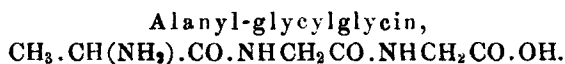
Gef. » 31.23, » 4.16, » 10.36.

Sie schmilzt bei 163—164° (corr. 166—167°) unter schwacher Gelbfärbung; sie löst sich in weniger als der doppelten Menge kochendem Wasser und in etwa 35 Theilen Wasser von Zimmertemperatur. Schwerer löslich ist sie in Aceton und Alkohol, und noch schwerer in Aceton und Aether.

Die Darstellung der Säure auf dem Umwege über den Ester ist etwas umständlich und hat auch den Nachtheil, dass die Hälfte des Glycylglycinesters als Salz der Reaction entzogen wird. Es ist deshalb erfreulich, dass man die bromhaltige Säure direct aus dem Glycylglycin auf folgende Art bereiten kann:

5 g salzsaures Glycylglycin (krystallwasserhaltig) werden in 27.4 ccm Doppel-n.-Natronlauge (2 Mol.) gelöst, dann auf 0° abgekühlt und mit einer Lösung von 6 g Brompropionylbromid in 20 ccm Chloroform geschüttelt. Zu dieser Mischung werden dann noch 21 ccm Doppel-n.-Natronlauge (1½ Mol.) in Portionen zugegeben und das

Schütteln etwa 10–15 Minuten fortgesetzt. Jetzt wird die wässrige Lösung von der Chloroformschicht getrennt, mit 35 ccm n -Salzsäure angesäuert und unter stark vermindertem Druck auf 20 ccm eingeengt. Nach dem Abkühlen auf 0° betrug die Menge des auskrystallisirten α -Brompropionylglycylglycins 5.2 g oder 73 pCt. der Theorie.



10 g Brompropionylglycylglycin werden mit 50 ccm Ammoniak (25 pCt.) eine halbe Stunde im Rohr auf 100° erhitzt, dann die Lösung auf dem Wasserbade zum Syrup verdampft und mit viel absolutem Alkohol, etwa 200 ccm, vermischt. Während das Bromammonium in Lösung bleibt, fällt das Tripeptid als Syrup aus, wird aber beim Reiben allmählich fest. Dieses Product wird nach dem Filtriren in 15 ccm warmem Wasser gelöst und abermals mit viel Alkohol gefällt. Seine Menge beträgt dann 5.8 g. Wiederholung dieses Reinigungsverfahrens gab 5 g reines, aber krystallwasserhaltiges oder 4.3 g trocknes Tripeptid, was 57 pCt. der Theorie entspricht. Das an der Luft getrocknete Präparat enthält Wasser, welches bei 100° völlig entweicht. Der Verlust betrug 13.8 pCt., und an der Luft nahm das getrocknete Präparat wieder 12.8 pCt. an Gewicht zu. Da aus diesen Zahlen sich kein einfaches Molekularverhältniss für das Wasser berechnen lässt, so scheint das krystallinische Material in Bezug auf das Krystallwasser nicht ganz einheitlich zu sein. Im Uebrigen aber ist es reines Tripeptid, denn das bei 100° getrocknete Präparat gab folgende gut stimmende Werthe:

0.1842 g Sbst.: 0.2791 g CO_2 , 0.1070 g H_2O . — 0.2333 g Sbst.: 34.2 ccm $\frac{1}{10}n$ - NH_3 .

$\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_4\text{N}_3$. Ber. C 41.38, H 6.40, N 20.69.
 Gef. » 41.33, » 6.46, » 20.52.

Das Tripeptid färbt sich von 200° an gelblich und schmilzt gegen 210° (corr. 214°) unter Zersetzung. Es ist in Wasser viel leichter löslich als das Diglycylglycin, in Alkohol aber so gut wie unlöslich. Bei der Fällung mit Alkohol krystallisirt es in mikroskopischen, gekrümmten Nadeln. In den sonstigen Eigenschaften gleicht es durchaus dem Diglycylglycin. Aber das Kupfersalz ist auch viel löslicher. Versetzt man z. B. die Lösung in der berechneten Menge Normal-Lauge mit Kupfersulfat, so färbt sie sich tiefblau, scheidet aber keinen Niederschlag ab. Selbstverständlich ist das Alanyl-glycylglycin als Derivat der inactiven α -Brompropionsäure ebenfalls optisch inactiv. Ich glaube aber, dass man aus activer Brompropionsäure nach demselben Verfahren ein actives Tripeptid erhalten würde.

Carbäthoxylalanyl-glycylglycin,
 $C_2H_5CO_2.NH.CH(CH_3).CO.NHCH_2CO.NHCH_2CO.OH.$

Um die bisher unbekante Verbindung zu gewinnen, werden 2.2 g wasserhaltiges Tripeptid in 10.4 ccm *n*-Natronlauge gelöst und bei 0° etwa 10 Minuten mit 1.3 g chlorkohlensaurem Aethyl geschüttelt. Dann werden 0.5 g trocknes Natriumcarbonat zugefügt und wiederum geschüttelt, bis die Entwicklung von Kohlensäure beendet ist. Nach Zusatz von 10.4 ccm *n*-Säure wird die Flüssigkeit unter stark vermindertem Druck verdampft und der feste Rückstand mit 100 ccm Aceton ausgekocht. Beim Verdampfen des Acetons bleibt ein dicker Syrup, der beim Verreiben mit Petroläther fest wird. Die Menge dieses Productes betrug 1.8 g oder 70 pCt. der Theorie. Es wurde für die Analyse zweimal aus je 5 ccm heissem, absolutem Alkohol umkrystallisirt und bestand dann aus kleinen, schief abgeschnittenen Prismen vom Schmp. 158—159° (corr. 161—162°). Für die Analyse wurde im Vacuum getrocknet:

0.1842 g Sbst.: 0.2942 g CO₂, 0.1005 g H₂O. — 0.2300 g Sbst.: 24.6 ccm $\frac{1}{10}$ -*n*-NH₃.

$C_{10}H_{17}O_6N_3.$ Ber. C 43.63, H 6.18, N 15.25.
 Gef. » 43.56, » 6.06, » 15.00.

Die Verbindung ist in Wasser sehr leicht, in kaltem Alkohol und in Aceton ziemlich schwer, in Aether, Petroläther und Chloroform recht schwer löslich.

α -Bromisocapronyl-glycylglycinester,
 $C_4H_9.CHBr.CO.NHCH_2CO.NHCH_2CO.O.C_2H_5.$

Beim Vermischen einer gekühlten Lösung von 30 g Glycylglycinester in 120 ccm Chloroform und von 25 g α -Bromisocapronylchlorid¹⁾ in 100 ccm Chloroform tritt Erwärmung ein, und nach einigen Minuten

¹⁾ Als Material für die Bereitung des Chlorides diente die von Kahlbaum bezogene Isocaprone Säure, die synthetisch aus Isoamylcyanid bereitet ist. Entsprechend der Vorschrift von Volhard-Hell-Zelinsky wurden 150 g der Säure mit 15 g rothem Phosphor vermischt und 450 g Brom im Laufe von 4 Stunden zutropft, wobei die Masse zuletzt auf dem Wasserbade erwärmt wurde. Die über der phosphorigen Säure stehende, braun gefärbte Flüssigkeit enthält zweifellos das Bromcapronylbromid, welches für die Synthese ebenfalls brauchbar wäre. Da es sich aber schwer von dem Phosphorbromid trennen lässt, so schien es besser, erst die Säure und daraus dann das Chlorid zu bereiten. Zu diesem Zweck giesst man die Flüssigkeit in Wasser, wobei unter Erwärmung Bromphosphor und Säurebromid zerlegt werden. Nach einiger Zeit wird die als Oel ausgeschiedene Bromisocaprone Säure vom Wasser getrennt, der Rest mit wenig Aether ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und nach dem Verdunsten des Aethers bei 13 mm

fällt salzsaure Glycylglycinester aus. Nach etwa einer Stunde wird filtrirt, die Mutterlauge stark eingedampft, bis der gebromte Ester krystallinisch ausfällt, und dann zur völligen Abscheidung Aether zugegeben.

Die Ausbeute an rohem Ester betrug 30 g. Wird das Product in der doppelten Menge Chloroform gelöst und durch Zusatz von Aether wieder abgeschieden, so ist es für die weitere Verarbeitung rein genug.

Für die Analyse wurde es aus verdünntem Alkohol umgelöst, bis der Schmelzpunkt bei $123-124^{\circ}$ (corr. $124-125^{\circ}$) lag, und im Vacuum getrocknet:

0.1807 g Sbst.: 0.2839 g CO_2 , 0.1037 g H_2O . — 0.3538 g Sbst.: 20.5 ccm $\frac{1}{10}$ -n.- NH_3 .

$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}_2\text{Br}$. Ber. C 42.73, H 6.23, N 8.31.
Gef. » 42.86, » 6.38, » 8.11.

Die Substanz ist selbst in heissem Wasser ziemlich schwer löslich, dagegen löst sich 1 g in weniger als 2 ccm heissem Alkohol. Beim Erkalten fällt sie, auch wenn die Lösung doppelt so verdünnt ist, in reichlicher Menge als Nadeln aus. Auch von Aceton und Chloroform wird sie leicht, dagegen schwer von Aether und Benzol und noch schwerer von Petroläther gelöst.

α -Bromisocapronyl-glycylglycin.

Uebergießt man 23 g des gepulverten Esters mit 75 ccm n.-Natronauge, o findet bald klare Lösung statt, und wird dann nach etwa $\frac{1}{4}$ Stunde mit 75 ccm n.-Säure angesäuert, so fällt die neue Säure krystallinisch aus. Die Ausbeute (20.5 g) ist fast quantitativ. Zur Reinigung wurde aus 100 ccm kochendem Wasser umgelöst und für die Analyse im Vacuum getrocknet:

0.1780 g Sbst.: 0.2545 g CO_2 , 0.0890 g H_2O . — 0.2480 g Sbst.: 15.7 ccm $\frac{1}{10}$ -n.- NH_3 .

$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{N}_2\text{Br}$. Ber. C 38.84, H 5.50, N 9.06.
Gef. » 38.99, » 5.55, » 8.86.

Die Säure schmilzt bei $142-143^{\circ}$ (corr. $144-145^{\circ}$) sie ist leicht löslich in Alkohol, Aceton, Essigester und heissem Wasser, dann

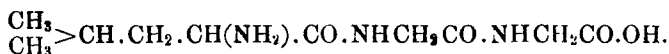
Druck fractionirt. Nach einem geringen Vorlauf von unveränderter Isocapronsäure ging fast die ganze Menge bei $125-135^{\circ}$ über. Bei der zweiten Fractionirung unter 12 mm Druck gingen 205 g von $128-131^{\circ}$ (Thermometer ganz im Dampf) über, während theoretisch 260 g Monobromisocapronsäure entstehen konnten. Zur Bereitung des Chlorids wurde die Säure in der üblichen Weise mit überschüssigem Phosphortrichlorid erwärmt und bei der Fractionirung unter 11—12 mm Druck das α -Bromisocapronylchlorid bei $68-71^{\circ}$ (Thermometer ganz im Dampf) aufgefangen.

successive schwerer löslich in Chloroform, kaltem Wasser, Aether und Petroläther. Sie krystallisirt aus Wasser in kleinen Nadeln.

Viel bequemer ist die directe Bereitung der Säure aus Glycylglycin. 10 g wasserhaltiges, salzsaures Glycylglycin werden bei 0° in 107 ccm *n*-Natronlauge (2 Mol.-Gew.) gelöst, dann eine Lösung von 13 g α -Bromisocapronylchlorid in 50 ccm Aether zugefügt und unter fortwährendem Umschütteln allmählich noch 78 ccm *n*-Natronlauge (1½ Mol.-Gew.) eingegossen. Die Temperatur soll durch Kühlung stets unter 20° gehalten sein.

Die Operation lässt sich in ½ Stunde ausführen. Nachdem das unzersetzte Chlorid, welches in kleinem Ueberschuss angewandt ist, durch Ausäthern entfernt ist, wird die wässrige Lösung mit 24 ccm 5-fach *n*-Säure versetzt, wobei das α -Bromisocapronylglycylglycin sofort ausfällt. Nach mehrstündigem Stehen bei 0° betrug seine Menge 13.4 g oder 81 pCt. der Theorie, berechnet auf salzsaures Glycylglycin. Nach Einengen der Mutterlauge auf 100 ccm schieden sich noch 0.8 g derselben Säure ab, sodass die Gesamtausbeute etwa 85 pCt. betrug.

Leucyl-glycylglycin,



10 g α -Bromisocapronylglycylglycin werden mit 30 ccm bei 0° gesättigtem, wässrigem Ammoniak im Rohr ½ Stunde auf 100° erwärmt, dann die Flüssigkeit verdampft und der zurückbleibende, schwach grün gefärbte Syrup in heissem, absolutem Alkohol gelöst. Beim Verdampfen dieser Lösung auf dem Wasserbade scheidet sich das neue Tripeptid schon in der Wärme krystallinisch ab und ist dann in absolutem Alkohol fast unlöslich. Es kann deshalb zur völligen Entfernung des Bromammoniums mit etwa 150 ccm absolutem Alkohol ausgekocht werden. Die Ausbeute betrug 5 g oder 63 pCt. der Theorie. Zur Analyse wurde die Substanz wiederholt in wenig Wasser gelöst und durch Alkohol wieder abgeschieden. Das farblose, aus sehr kleinen, wetzsteinartigen Kryställchen bestehende Präparat wurde für die Analyse über Schwefelsäure getrocknet.

0.1806 g Sbst.: 0.3257 g CO₂, 0.1237 g H₂O. — 0.2667 g Sbst.: 32.8 ccm ½₁₀-*n*-NH₃.

C₁₀H₁₉O₄N₃. Ber. C 48.98, H 7.75, N 17.12.
Gef. » 49.19, » 7.72, » 17.22.

Das Leucylglycylglycin färbt sich im Capillarrohr gegen 215° und schmilzt gegen 230° (corr. 235°) unter Zersetzung. Es löst sich in weniger als der 2½-fachen Menge kaltem Wasser und unterscheidet sich dadurch, ebenso wie das Alanyl-glycylglycin, von dem viel

schwerer löslichen Diglycylglycin. Diese Zunahme der Wasserlöslichkeit bei den gemischten Polypeptiden verdient hervorgehoben zu werden, denn sie werden dadurch den natürlichen Peptonen, die ja auch aus den verschiedenen Aminosäuren zusammengesetzt sind, ähnlicher.

Das Tripeptid bildet ein leicht lösliches blaues Kupfersalz und verhält sich gegen Phosphorwolframsäure wie das Diglycylglycin. Es reagirt auch leicht in alkalischer Lösung mit Chlorkohlensäureester, aber die hierbei entstehende Verbindung konnte bisher nicht krystallisirt erhalten werden. Schöner ist die Verbindung mit Phenylisocyanat.

Phenylcarbamido-leucylglycylglycin,
 $C_6H_5.NH.CO.NH.CH(C_4H_9).CO.NHCH_2CO.NHCH_2CO.OH.$

2 g Leucylglycylglycin werden in 8.7 ccm *n*-Natronlauge gelöst und nach dem Abkühlen auf 0° 1 g Phenylisocyanat unter kräftigem Schütteln im Laufe einer Viertelstunde zugetropft. Zuletzt scheidet sich Diphenylharnstoff ab. Aus der filtrirten Flüssigkeit fällt dann beim Ansäuern eine halbfe-te, fadenziehende Masse aus. Sie wird nach Abgiessen der Mutterlauge mit Essigester behandelt, wobei sie sich rasch in eine feste, leicht zerreibliche Masse umwandelt. Die Menge dieses Productes betrug 2.6 g oder 90 pCt. der Theorie. Sie wurde zur völligen Reinigung aus der 40-fachen Menge heissem Wasser umgelöst und bei 100° getrocknet.

0.1887 g Sbst.: 0.3862 g CO₂, 0.1089 g H₂O. — 0.1660 g Sbst.: 18.1 ccm $\frac{1}{10}$ -*n*-NH₃.

$C_{17}H_{24}O_5N_4$. Ber. C 56.05, H 6.59, N 15.39.
 Gef. » 55.82, » 6.41, » 15.27.

Der Körper krystallisirt aus heissem Wasser in mikroskopisch kleinen, meist sechseckigen Täfelchen und aus Aceton in schiefen, vierseitigen Tafeln oder vierseitigen, schief abgeschnittenen Prismen. Er ist leicht löslich in Alkohol, schwerer in Aceton und fast unlöslich in Aether, Chloroform und Benzol. Er schmilzt bei 178—179° (corr. 182—183°).

Leucylglycylglycin-äthylester.

Uebergiesst man 1 g Leucylglycylglycin mit 10 ccm Alkohol, der mit gasförmiger Salzsäure gesättigt ist, so findet alsbald Lösung statt. Erwärmt man dann etwa 1 Minute zum Sieden und kühl jetzt stark ab, so scheidet sich das Hydrochlorat des Äthylesters als Krystallbrei ab. Seine Menge betrug 90 pCt. der Theorie. Für die Analyse

wurde das Salz aus der 9-fachen Menge heissem, absolutem Alkohol umgelöst und im Vacuum getrocknet.

0.1921 g Sbst.: 0.3264 g CO₂, 0.1374 g H₂O. — 0.1908 g Sbst.: 6.2 ccm $\frac{1}{10}$ -n.-AgNO₃.

C₁₂H₂₃O₄N₂.HCl. Ber. C 46.53, H 7.75, Cl 11.47.
Gef. » 46.35, » 7.95, » 11.54.

Das Salz ist in Wasser sehr leicht löslich und schmilzt gegen 220° (corr. 225°) unter Zersetzung.

Zur Darstellung des freien Esters wurden 4.5 g des Hydrochlorats mit 50 ccm Chloroform übergossen, in einer Kältemischung gekühlt und unter starkem Schütteln erst 7.5 ccm Doppelnatronlauge und dann trocknes Kaliumcarbonat zugefügt, bis das Wasser vollständig davon absorbiert war. Nach dem Abgiessen des Chloroforms wurde noch mehrmals mit demselben Lösungsmittel ausgelaugt, dann die vereinigten Auszüge mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel verdampft. Der zurückbleibende Ester war ein dickes Oel, dessen Krystallisation bisher nicht gelang. Er ist in Alkohol, Wasser, Aceton leicht, dagegen in Aether und Petroläther äusserst schwer löslich und reagiert stark alkalisch.

Wird dieser Ester mit einem Ueberschuss von alkoholischem Ammoniak, das bei 0° gesättigt ist, 2 Stunden auf 100° erhitzt, so bleibt beim Verdampfen der Flüssigkeit wiederum ein öliges Product, das ich nach seinen Reactionen für das entsprechende Amid halte. Es ist äusserst leicht löslich in Wasser, reagiert alkalisch, giebt mit Kupfersalzen und Alkali eine sehr starke Biuretreaction und mit Phosphorwolframsäure auch in schwefelsaurer Lösung einen dicken, amorphen Niederschlag. In allen diesen Eigenschaften ist es den natürlichen Peptonen so ähnlich, dass mir seine genauere Untersuchung, insbesondere auch die Prüfung des Verhaltens gegen Enzyme, wünschenswerth erscheint.

Bei vorstehenden Versuchen habe ich mich ebenfalls der werthvollen Hülfe des Hrn. Dr. H. Leuchs erfreut, wofür ich ihm auch hier besten Dank sage.