

0.2200 g Sbst.: 0.0690 g  $K_2SO_4$ .

$C_8H_4BrN_2O_2K$ . Ber. K 13.98. Gef. K 14.08.

Monobrom-benzoylenharnstoff,  $C_8H_5BrN_2O_2$ , gewinnt man am besten, wenn man das Kaliumsalz in nicht zu wenig Wasser löst und tropfenweise verdünnte Salzsäure hinzusetzt; er fällt dann in Form kleiner Pyramiden aus; durch Lösen in Eisessig und vorsichtiges Fällen mit Wasser erhält man ihn in mikroskopischen, zu Sternchen gruppierten Nadeln. Diese Substanz ist in den gewöhnlichen Lösungsmitteln nicht, etwas in Alkohol löslich. Sie schmilzt bei  $354^{\circ}$  und zeichnet sich ebenfalls durch ihre Sublimationsfähigkeit aus. Durch kochende, konzentrierte Säuren oder Alkalien wird der Monobrombenzoylenharnstoff nicht angegriffen.

0.1729 g Sbst.: 0.2559 g  $CO_2$ , 0.0375 g  $H_2O$ . — 0.1633 g Sbst.: 16.90 ccm N ( $18^{\circ}$ , 747 mm). — 0.2071 g Sbst.: 0.1594 g AgBr.

$C_8H_5BrN_2O_2$ . Ber. C 39.83, H 2.07, N 11.61, Br 33.19.

Gef. » 40.36, » 2.43, » 11.74, » 32.75.

Organisches Laboratorium der Technischen Hochschule zu Berlin.

### 253. Felix Ehrlich: Über eine Synthese des Isoleucins

(Eingegangen am 27. April 1908.)

Gelegentlich meiner Arbeiten über das natürliche Isomere des Leucins habe ich eine Synthese des Isoleucins beschrieben <sup>1)</sup>, die, vom *d*-Amylalkohol resp. *d*-Valeraldehyd ausgehend, mittels der Cyanhydrin-Reaktion zu einem Gemisch von zwei der 4 theoretisch möglichen Stereoisomeren der  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -methyl- $\beta$ -äthylpropionsäure führte, nämlich zu dem *d*-Isoleucin und dem durch sterische Umlagerung am  $\alpha$ -Kohlenstoffatom daraus zu erhaltenden *d*-Allo-Isoleucin, von denen nur die letztere Verbindung durch Hefegärung bisher rein gewonnen werden konnte. Diese Synthese, die für die Konstitutionsaufklärung des Isoleucins sehr wesentliche Dienste geleistet hat, war insofern unvollkommen, als sie von einem bereits aktiven Körper ausging, zu dessen vollständigem Aufbau aus den Elementen überdies der Schlußstein, nämlich die Spaltung des *rac.* Amylalkohols in die optisch-aktiven Komponenten oder die Reduktion der synthetisch dargestellten *d*-Valeriansäure zum *d*-Amylalkohol, immer noch fehlt. Auch bot die künstliche Bereitung des Isoleucins auf diesem Wege gewisse Schwie-

<sup>1)</sup> Ztschr. d. Vereins der Deutsch. Zuckerindustrie **55**, 552—554 [1905]; diese Berichte **40**, 2538 [1907].

rigkeiten, da der käufliche *d*-Amylalkohol stets den strukturisomeren Isoamylalkohol beigemischt enthält, so daß aus dem Endprodukt erst das nebenher entstandene Leucin abgeschieden werden mußte, ehe an eine weitere Trennung der stereoisomeren Isoleucine zu denken war. Ich hatte daher schon früher die Ausarbeitung einer Darstellungsmethode des Isoleucins aus einer Verbindung ohne asymmetrisches Kohlenstoffatom geplant, von diesen Versuchen aber vorläufig Abstand genommen, da die Zerlegung der in diesem Falle zu erwartenden 4 Stereoisomeren noch größere Schwierigkeiten voraussehen ließ.

Unterdes haben nun Bouveault und Locquin<sup>1)</sup> ihre schöne Totalsynthese des Isoleucins durchgeführt, indem sie den von Locquin<sup>2)</sup> aus *sek.* Butyljodid und Acetessigester erhaltenen Methyläthylbrenztraubensäureester mittels Nitrosylsulfat in den Oximino-methyläthylbrenztraubensäureester,  $C_2H_5 \cdot CH(CH_3) \cdot C(:N \cdot OH) \cdot COOC_2H_5$ , verwandelten, der in alkoholischer Salzsäure mit Zinkstaub reduziert und dann verseift  $\alpha$ -Amino-methyläthylpropionsäure lieferte. Durch Spaltung der Formyl-Verbindung dieser Aminosäure über die Brucin-Salze gelang dann R. Locquin<sup>3)</sup> die Darstellung zweier optisch-aktiver Verbindungen, die selbst und in ihren Derivaten bis auf geringe Drehungsunterschiede der freien Aminosäure vollständig mit dem von mir zuerst aus Zuckerrübenmelasse gewonnenen natürlichen *d*-Isoleucin und seinem optischen Antipoden übereinstimmten.

Die interessante Tatsache, daß bei dieser vollständigen Synthese aus Körpern von symmetrischem Bau statt der nach der Theorie zu erwartenden 4 stereoisomeren Verbindungen, nämlich dem *d*- und *l*-Isoleucin und dem *d*- und *l*-Allo-Isoleucin, nur das dem natürlichen Isoleucin entsprechende Antipodenpaar entstanden ist, veranlaßte mich, meine früheren Versuche von neuem aufzunehmen, in der Hoffnung, nunmehr zu einer noch einfacheren ergebnisreichen Darstellungsmethode des Isoleucins mittels Synthese zu gelangen. Eine solche erschien angesichts des Interesses, das diese Aminosäure für die Eiweißforschung und hinsichtlich ihrer eigentümlichen, stereochemischen Verhältnisse bietet, besonders wünschenswert, um so mehr als die Versuche, aus natürlichen Produkten Isoleucin in größeren Mengen zu gewinnen, bisher zu wenig befriedigenden Resultaten geführt haben<sup>4)</sup>.

Bei der weitgehenden chemischen Analogie, die zwischen dem Isoleucin und dem Leucin besteht, lag es auch hier nahe, für die neue Synthese des Isoleucins eine Methode auszuwählen, die bereits beim

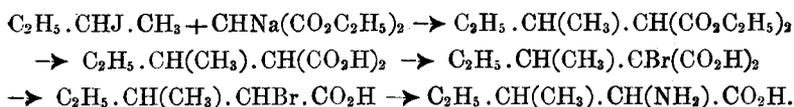
<sup>1)</sup> Bull. soc. chim. Paris [3] 35, 965 [1906].

<sup>2)</sup> Bull. soc. chim. Paris [3] 35, 962 [1906].

<sup>3)</sup> Bull. soc. chim. Paris [4] 1, 595—607 [1907].

<sup>4)</sup> F. Ehrlich und A. Wendel, Biochem. Ztschr. 8, 399 [1908].

Leucin erfolgreich gewesen ist. Am aussichtsreichsten erschien in dieser Beziehung die Bereitung der Aminosäure mittels der Bromfettsäure, die durch Malonestersynthese gewonnen ist. Dies Verfahren wurde von E. Fischer und W. Schmitz<sup>1)</sup> zuerst für Leucin angegeben und hat sich dann für viele andere Aminosäuren bewährt. In der Tat gelingt es nach dieser Methode leicht auch das Isoleucin ausgehend vom Malonester und dem sekundären Butyljodid mit relativ guter Ausbeute entsprechend dem folgenden Schema darzustellen:



Die hierbei entstehende Aminosäure zeigt äußerlich und in ihrem chemischen Verhalten alle Eigenschaften des Isoleucins, sie gibt ein methylalkohollösliches Kupfersalz und scheint mit dem Racemkörper von Bouveault und Locquin identisch zu sein. Definitiv wird hierüber die Spaltung entscheiden, die ich im Begriff bin, mit dem bereits mehrfach bewährten Hefegärverfahren<sup>2)</sup> durchzuführen.

Da man statt des teuren *sek.* Butyljodids auch von dem entsprechenden Bromid ausgehen kann, das sich entweder aus dem Methyläthylketon nach Sabatier und Senderens oder aus Acetaldehyd und Äthylmagnesiumbromid nach Grignard über den *sek.* Butylalkohol verhältnismäßig leicht gewinnen läßt, so ist nicht daran zu zweifeln, daß die im Folgenden vorläufig beschriebene Methode sich für die präparative Darstellung größerer Quantitäten Isoleucin sehr gut eignen wird, auch seiner natürlich vorkommenden Form, wenn man die zuerst erhaltene inaktive Aminosäure mittels der Fischerschen Methode spaltet.

Als Ausgangsmaterial für die Synthese wurde die bereits von van Romburgh<sup>3)</sup> beschriebene *sek.* Butyl-malonsäure benutzt. Ihre Darstellung erfolgte, von einigen kleinen Änderungen abgesehen, im wesentlichen nach den von E. Fischer und Schmitz<sup>4)</sup> für die Malonestersynthese der  $\alpha$ -Brom-isocaprönsäure gemachten Angaben, die auch im übrigen für die folgenden Versuche als Vorbild dienen.

70 g *sek.* Butyljodid (Kahlbaum) und 60 g malonsaures Äthyl wurden zu einer Auflösung von 8.7 g Natrium in 100 g absolutem Alkohol gesetzt und das Gemisch ungefähr 4 Stunden am Rückflußkühler bis zur neutralen Reaktion gekocht. Nach dem Abkühlen wurde

<sup>1)</sup> Diese Berichte **39**, 351 [1906].

<sup>2)</sup> F. Ehrlich, Biochem. Ztschr. **1**, 8 und **8**, 438.

<sup>3)</sup> Rec. trav. chim. **6**, 152.

<sup>4)</sup> l. c.

das Gemisch in ca.  $\frac{1}{2}$  l Wasser gegossen, das ausfallende Öl ausgeäthert und aus dem Ätherextrakt auf dem Wasserbade der Äther vollständig abgetrieben. Der zurückbleibende durch längeres Erhitzen vom Äther befreite Ester wurde ohne weitere Reinigung direkt weiter verarbeitet, indem man ihn sofort mit einer Lösung von 160 g Kalihydrat in 130 g Wasser vermischte. Dabei fiel zunächst eine gallertartige Masse aus, die sich beim Umschütteln unter Selbsterhitzung der Mischung bis auf geringe Mengen eines Öls vollständig löste. Zur Vertreibung des bei der Verseifung entstandenen Alkohols wurde die Lösung dann noch ungefähr 1 Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. Zur Isolierung der Säure wurde nunmehr nach Verdünnung mit 200 ccm Wasser in einer Kältemischung abgekühlt und zu der Lösung schubweise 280 g ebenfalls eiskalte Salzsäure vom spez. Gewicht 1.19 gesetzt. Die in dieser Weise frei gemachte Säure wurde aus der wäßrigen Flüssigkeit mit viel Äther ausgeschüttelt, der Äther ohne weitere Trocknung verdampft und das zurückbleibende bräunliche Öl noch längere Zeit auf dem Wasserbade erhitzt. Beim Abkühlen erstarrt das Öl zu einer gelbbraunen steinharten Masse (51 g). Durch Umkrystallisieren aus Benzol wurden daraus ca. 40 g reine *sek.* Butylmalonsäure erhalten. Die Säure zeigte den Schmp.  $76^{\circ}$ , sowie alle übrigen, von van Romburgh angegebenen Eigenschaften.

Die Bromierung wurde nach der von E. Fischer<sup>1)</sup> bei der Butylmalonsäure angegebenen Vorschrift ausgeführt.

20 g reine *sek.* Butylmalonsäure wurden in 100 g trockenem Äther gelöst und in die Lösung allmählich 26.6 g Brom (entspr.  $1\frac{1}{2}$  Mol.) eingetragen. Nach einstündigem Stehen wurde der noch freies Brom enthaltende Äther vorsichtig verdampft und das rückständige Öl stark abgekühlt. Es erstarrt beim Reiben mit dem Glasstab zu einer gelblichen Masse, die von noch anhaftendem Brom und Bromwasserstoff durch Aufstreichen auf Ton befreit werden konnte. Die trockne, fast weiße Substanz wurde aus Benzol umkrystallisiert. Die Ausbeute an reiner *sek.* Butyl- $\alpha$ -brom-malonsäure betrug 22 g. Für die Analyse diente ein zweimal durch Krystallisation aus Benzol gereinigtes Präparat, das im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet war.

0.1666 g Sbst.: 0.2150 g  $\text{CO}_2$ , 0.0751 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.2057 g Sbst.: 0.1606 g Ag Br.

$\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_4\text{Br}$ . Ber. C 35.15, H 4.60, Br 33.47.

Gef. » 35.20, » 5.04, » 33.23.

Die Substanz schmilzt bei  $114\text{--}115^{\circ}$  unter Schäumen. Sie ist sehr leicht löslich in Wasser, Alkohol, Äther, Essigester und Aceton,

<sup>1)</sup> Diese Berichte 37, 3063 [1904].

leicht löslich in Chloroform. In kaltem Benzol löst sie sich schwer; in Ligroin und Petroläther ist sie fast unlöslich.

$\alpha$ -Brom- $\beta$ -methyl- $\beta$ -äthyl-propionsäure. (Inaktive  $\alpha$ -Brom-capronsäure). 20 g reine, sorgfältig getrocknete *sek.* Butylbrommalonsäure wurden in einem Fraktionierkölbchen aus einem Glycerinbad im Vakuum destilliert. Nach Abspaltung der Kohlensäure ging die entstandene Bromcapronsäure als wasserklare Flüssigkeit in der Hauptmenge bei 139—140° und 22 mm Druck über. Das Destillat wog 15 g.

Bei einem zweiten Versuch wurde das zuerst gewonnene Destillat noch einmal fraktioniert, wobei die Hauptmenge unter 18 mm Druck bei 137.5—138° (Faden im Dampf) sott. Reinausbeute ca. 80 % der Theorie. Die Analyse der Flüssigkeit zeigte folgende Zahlen:

0.2037 g Sbst.: 0.2754 g CO<sub>2</sub>, 0.1096 g H<sub>2</sub>O. — 0.1971 g Sbst.: 0.1906 g AgBr.

C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>2</sub>Br. Ber. C 36.92, H 5.64, Br 41.03.  
Gef. » 36.88, » 6.02, » 41.15.

$\alpha$ -Amino- $\beta$ -methyl- $\beta$ -äthyl-propionsäure. (Inaktives Isoleucin). 15 g der wie beschrieben bei der Destillation erhaltenen rohen  $\alpha$ -Brom- $\beta$ -methyl- $\beta$ -äthylpropionsäure wurden direkt mit 100 ccm 25-prozentigem wäßrigem Ammoniak vermischt bei Zimmertemperatur 5 Tage lang aufbewahrt. Die Lösung wurde darauf zur Trockne verdampft und der Rückstand durch Auskochen mit wenig Alkohol vom Bromammonium befreit. Es hinterblieben ungefähr 5 g farblose, bromfreie Aminosäure, die beim Umkrystallisieren aus Alkohol unter tropfenweisem Zusatz von Wasser sofort reines Isoleucin lieferte. Die Ausbeute an Aminosäure läßt sich noch steigern, wenn man die Bromfettsäure mit konzentriertem, wäßrigem Ammoniak in einer Druckflasche 2 Stunden lang auf 100° erhitzt.

Die Substanz krystallisiert in den typischen, glänzenden, weißen Blättchen, die unter dem Mikroskop als längliche Stäbchen und Platten von rhombischem resp. monoklinem Habitus erscheinen. Sie schmolz bei schnellem Erhitzen in geschlossener Capillare bei 275° unter Schäumen. Zur Analyse wurde die Verbindung bei 110° getrocknet.

0.1818 g Sbst.: 0.3670 g CO<sub>2</sub>, 0.1656 g H<sub>2</sub>O. — 0.1839 g Sbst.: 16.6 ccm N (13°, 754 mm).

C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>. Ber. C 54.96, H 9.92, N 10.69.  
Gef. » 55.07, » 10.19, » 10.63.

Die Substanz stimmt in allen ihren Eigenschaften, abgesehen von der Inaktivität, mit dem Isoleucin überein. Sie löst sich wie dieses im Gegensatz zum racemischen Leucin ziemlich leicht in Wasser.

Die synthetische Aminosäure gibt beim Kochen ihrer wäßrigen Lösung mit Kupfercarbonat ein Kupfersalz von der Zusammensetzung

des Isoleucin-Kupfers. Für die Analyse wurde es bei 110° getrocknet.

0.2330 g Subst.: 0.0579 g CuO.

$C_{12}H_{24}N_2O_4Cu$ . Ber. Cu 19.65. Gef. Cu 19.84.

Das Kupfersalz bildet blaßblaue, beim Befeuchten tiefblaue Blättchen. Es löst sich verhältnismäßig leicht in Wasser mit intensiv blauer Farbe und ist deutlich in Methylalkohol löslich, wenn auch schwerer wie die Kupfer-Verbindung des aktiven Isoleucins.

Über die Spaltung des inaktiven synthetischen Isoleucins mittels Hefe werde ich in einer demnächst folgenden Abhandlung berichten.

Berlin N., Institut für Zuckerindustrie.

---

**254. Richard Willstätter und Jean Piccard:**  
**Über die Farbsalze von Wurster.**

(XV. Mitteilung über Chinoide).

[Aus dem Chem. Laboratorium des Schweizer. Polytechnikums in Zürich.]

(Eingegangen am 13. April 1908).

In der Absicht, einen Beitrag zur Erklärung der Anilinfarben zu geben durch Untersuchung ihrer aromatischen Muttersubstanzen, haben wir vor vier Jahren die Beschreibung der einfachen Chinonimine begonnen. Die Untersuchung hat wenig zur Erklärung der Art und Intensität der chinoiden Farbstoffe beigetragen, da diese Imine der Erwartung entgegen farblos oder wenig gefärbt waren. Das eigentliche Ziel der Arbeit über Chinonimine wird erst jetzt erreicht, indem wir endlich<sup>1)</sup> über die Zusammensetzung der Wursterschen Salze Klarheit schaffen und mit diesen einfachsten Farbstoffen die Anilinfarben vergleichen.

In der Triphenylmethanreihe sind einige den Farbstoffen zugrunde liegende Imine bekannt durch die großen Arbeiten von Baeyer und Villiger und durch die Mitteilungen von Homolka, sowie von Nöling. Diese Imine sind alle mehr oder weniger gelb, und sie ändern sprunghaft und ganz und gar ihr optisches Verhalten bei der Bildung der Farbsalze.

---

<sup>1)</sup> Die vorliegende Arbeit ist eine durch meine Übersiedelung nach Zürich verzögerte Fortsetzung der VI. Mitteilung (mit A. Pfannenstiel, diese Berichte 38, 2244 [1905]); sie steht auch in Beziehung zur VIII. und XIII. Mitteilung (mit L. Kalb, diese Berichte 39, 3474 [1906] und mit Ch. M. Moore, diese Berichte 40, 2665 [1907]).

Willstätter.