

**Spaltung von dl-Aminocaprinsäure (= Norleucin)
in die optisch-aktiven Komponenten mittels der Formylverbindung.
Polypeptide, an deren Aufbau Aminocaprinsäure beteiligt ist.**

Von

Emil Abderhalden, C. Froehlich und Dionys Fuchs.

(Aus dem physiologischen Institute der Universität Halle a. S.)
(Der Redaktion zugegangen am 28. Juni 1913.)

Der Befund einer dem Leucin isomeren Verbindung¹⁾ unter den Spaltprodukten von Eiweißstoffen, die am Aufbau des Nervengewebes beteiligt sind, hat uns veranlaßt, die außer der α -Aminoisobutylessigsäure und der β -Methyl- β -äthyl- α -aminopropionsäure noch möglichen Aminosäuren der allgemeinen Formel $C_6H_{13}NO_2$ darzustellen und vor allem ihre Eigenschaften zu studieren. Wie der eine von uns (A.)¹⁾ mit Weil nachgewiesen hat, kommt der neuen Leucinart höchst wahrscheinlich die Struktur einer α -Aminocaprinsäure zu. Diese Verbindung ist bereits von Emil Fischer²⁾ eingehend studiert worden. Er hat die synthetisch gewonnene dl-Verbindung mittels der Benzoylverbindung und deren Brucinsalz in die optisch-aktiven Komponenten zerlegt.

Wir haben zur Trennung der dl- α -Aminocaprinsäure in ihre beiden optisch aktiven Komponenten einen anderen, von Emil Fischer³⁾ angegebenen und von ihm wiederholt benutzten Weg eingeschlagen. Wir bereiteten die Formylverbindung der dl- α -Aminocaprinsäure und trennten dann die

¹⁾ Emil Abderhalden u. Arthur Weil, Diese Zeitschrift, Bd. 83, S. 425 (1913).

²⁾ Emil Fischer, Berichte der Deutschen chem. Gesellsch., Bd. 33, S. 2370 (1900). — Emil Fischer und Rudolf Hagenbach, Ebenda, Bd. 34, S. 3764 (1901).

³⁾ Emil Fischer und Otto Warburg, Berichte der Deutschen chem. Gesellsch., Bd. 38, S. 3997 (1905).

beiden optisch-aktiven Komponenten durch Darstellung des Brucinsalzes in der bekannten Weise.

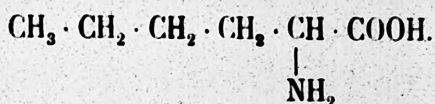
Wir haben die Darstellung der optisch-aktiven α -Aminocaprinsäuren vorgenommen, weil uns das Studium der Eigenschaften von Polypeptiden, an deren Aufbau diese Aminosäure beteiligt ist, aus verschiedenen Gründen erwünscht erschien. Einmal wird zu entscheiden sein, welche Polypeptide von bestimmten Fermenten zerlegt und welche nicht angegriffen werden. Auf diesem Wege wird man entscheiden können, welche von den beiden optisch-aktiven Formen der α -Aminocaprinsäure in der Natur vorkommt. Das bei der Hydrolyse von Nervengewebe aufgefundene Produkt dreht nach rechts. Es ist somit zu erwarten, daß jene Polypeptide, an deren Aufbau d- α -Aminocaprinsäure teilnimmt, dem fermentativen Abbau unterliegen, während solche Verbindungen, die unter den Bausteinen die l-Form der genannten Verbindung aufweisen, unabgebaut bleiben.

Die α -Aminocaprinsäure ist, um zur Bildung der Namen für Polypeptide ein kurzes Wort zur Verfügung zu haben, als Caprin bezeichnet worden. Dieser Name ist jedoch mehrdeutig. Man würde ein Fett, an dessen Aufbau Caprinsäure beteiligt ist, auch Caprin nennen. Es sei deshalb der Name Caprin durch **Norleucin** ersetzt. Norleucin soll zum Ausdruck bringen, daß ein Leucin vorliegt, das die Struktur der normalen, in α -Stellung substituierten Caprinsäure besitzt.

Wir haben die folgenden Polypeptide gewonnen: Glycyl-d-norleucin, Glycyl-l-norleucin, Glycyl-dl-norleucin, dl-Leucyl-glycyl-dl-norleucin.

Experimenteller Teil.

Darstellung von dl- α -Aminocaprinsäure.



200 g käufliche Gärungscaprinsäure wurden der fraktionierten Destillation unterworfen und der zwischen 195—205° übergehende Teil aufgefangen. 188 g des Destillates erwärmten

wir eine Stunde lang mit 26,3 g rotem Phosphor in einem Rundkolben am Wasserbade bei 50°. Dann wurden 661,7 g Brom tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsprodukt erwärmten wir nach Beendigung dieser Operation noch eine Stunde lang im kochenden Wasserbade. Die Lösung wurde nunmehr unter kräftigem Turbinieren in 1000 ccm heißen Wassers eingegossen und das abgeschiedene Öl mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen des Äthers wurde er abdestilliert und der Rückstand der fraktionierten Destillation unterworfen. Bei 17 mm Druck destillierte die α -Bromcapronsäure zwischen 128–136° über.

195 ccm α -Bromcapronsäure wurden mit der fünffachen Menge 25%igen Ammoniaks versetzt und in den Brutschrank gestellt. Am nächsten Tage war die ganze Masse bereits krystallinisch erstarrt. Es wurde abgenutscht. Ausbeute 142,5 g. Die Mutterlauge wurde eingedampft, mit Ammoniak versetzt und wieder in den Brutschrank gestellt. Nach 2tägigem Stehen erfolgte, nach Einengen der Flüssigkeit, wieder eine Krystallisation, welche durch Zugabe von Alkohol sich vervollständigte. Es ließen sich weitere 20,5 g α -Aminocapronsäure gewinnen. Nach einmaliger Umkrystallisation aus heißem Wasser war das Präparat rein und zeigte, im geschlossenen Kapillarrohr erhitzt, den richtigen Schmelzpunkt gegen 297–300°.

0,1356 g Substanz gaben 0,2761 g CO₂ und 0,1226 g H₂O.

Berechnet für C₆N₁₃NO₂: 54,90% C, 9,97% H.

Gefunden: 55,53% C, 10,12% H.

Amino-N nach van Slyke: Ber.: 10,68%, gef.: 11,12%.

Darstellung der Formyl-d,l- α -aminocapronsäure.

159 g d, l- α -Aminocapronsäure wurden mit der 1½fachen Menge wasserfreier käuflicher Ameisensäure 3 Stunden lang auf dem Wasserbade erhitzt. Nun wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck möglichst vollständig verdampft, der Rückstand wieder in Ameisensäure aufgenommen, 3 Stunden auf 100° erhitzt, dann eingedampft und diese Operation noch

¹⁾ Hüfner, Journal f. prakt. Chemie, II. Folge, Bd. 1, S. 6 (1870).

einmal wiederholt. Der feste Rückstand, der durch Absprengen des Kolbens gewonnen werden konnte, wurde zerkleinert, dann im Vakuumexsikkator über Kalihydrat von noch anhaftender Ameisensäure befreit und schließlich fein pulverisiert. Nun wurde, um die unveränderte Caprinsäure zu entfernen, in kleinen Portionen mit der $1\frac{1}{2}$ -fachen Menge eiskalter n-Salzsäure rasch zerrieben, scharf abgenutscht, und mit wenig eiskaltem Wasser bis zur Chlorfreiheit gewaschen. Das Rohprodukt wurde unter Anwendung von Tierkohle aus möglichst wenig Wasser umkrystallisiert. Ausbeute 90 g.

Die Formyl-d-l- α -aminocaprinsäure krystallisiert in glänzenden Nadeln. Beim Erhitzen im offenen Kapillarrohr erweicht die Substanz bei $110\text{--}111^\circ$ und schmilzt bei 114° (unkorr.).

0,2178 g Substanz verbrauchten bei der N-Bestimmung nach Kjeldahl 13,39 ccm n_{10} -n-Schwefelsäure.

Gefunden: N = 8,62%. Berechnet: 8,80%.

Spaltung der Formyl-dl- α -aminocaprinsäure mit Brucin.

50 g Formyl-dl- α -aminocaprinsäure wurden in 2 Liter absoluten Alkohols eingetragen und am Wasserbade erwärmt. Ein Teil der Substanz ging nicht in Lösung. Von diesem wurde abfiltriert. Es stellte sich bei der Prüfung heraus, daß der ungelöste Rückstand, der etwa 4,8 g wog, reine α -Aminocaprinsäure war. Die Formylgruppe war also teilweise abgespalten worden.

112,5 g wasserfreies Brucin wurden in 1600 ccm absoluten Alkohols unter Erwärmen gelöst. Diese Lösung gaben wir zu der alkoholischen Lösung der Formyl-dl- α -aminocaprinsäure. Nach 12 stündigem Stehen in der Kälte begann die Abscheidung von Brucinsalz. Sie nahm nach energischem Reiben plötzlich stark zu. Nach weiteren 12 Stunden wurde die Krystallmasse scharf abgesaugt und mit kaltem absolutem Alkohol gewaschen. Die Krystallmasse wog ca. 95 g. Sie bestand aus dem Brucinsalz der Formyl-d- α -aminocaprinsäure.

Die Substanz wurde in 530 ccm Wasser gelöst, auf 0° abgekühlt und mit 158 ccm n-Natronlauge versetzt. Es fiel

das Brucin aus. Nach einer Viertelstunde wurde abgesaugt und der Rückstand mit wenig kaltem Wasser gewaschen. Die letzten Reste von Brucin wurden durch Ausschütteln mit Chloroform vollständig entfernt. Nun wurden 20 ccm 5fach Normalsalzsäure zugegeben. Dann engten wir die Lösung unter vermindertem Druck ein, übersättigten mit weiteren 14 ccm 5fach n-Salzsäure und stellten das Gemisch in Eiswasser. Nach einer halben Stunde wurde die Krystallmasse abgenutscht und mit eiskaltem Wasser chlorfrei gewaschen. Ausbeute ca. 15 g.¹⁾

Die alkoholische Mutterlauge, welche das Brucinsalz der Formyl-1- α -aminocaprinsäure enthielt, wurde unter vermindertem Druck eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und weiter so behandelt, wie die d-Verbindung. Ausbeute ca. 15 g.

Beide optisch-aktiven Formylkörper wurden aus wenig heißem Wasser umkrystallisiert, abgesaugt, und mit wenig kaltem Wasser gewaschen. Um die Abspaltung der Formylgruppe möglichst zu beseitigen, wurden die Substanzen in einem Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet, welches in einem Gefäß wasserfreie Ameisensäure enthielt.

Die beiden optisch-aktiven Antipoden haben bis auf die Drehung völlig übereinstimmende Eigenschaften. Sie krystallisieren in feinen seidenglänzenden, kürzeren oder längeren Nadeln, welche zu büschelförmigen Gruppen angeordnet sind. Sie lösen sich sehr leicht in Wasser, in Äthyl- und Methylalkohol und in Äther.

Beim Erhitzen im offenen Kapillarrohr erweichen beide bei 111°. Bei 114° findet ein richtiges Schmelzen statt.

Bei der optischen Untersuchung wurden folgende Werte erhalten:

I. 0,3769 g Substanz in 9,7547 g wässriger Lösung drehen im 2 dm-Rohr $- 0,90$, $[\alpha]_D^{20} = - 15,85$.

II. 0,2121 g Substanz in 10,0124 g wässriger Lösung drehen im 1 dm-Rohr $+ 0,33$, $[\alpha]_D^{20} = + 15,53$.

¹⁾ Die Ausbeute läßt sich ohne Zweifel noch erheblich steigern.

Analysen:

I. Formyl-d- α -aminocaprone

6,01 mg Substanz gaben 11,62 mg CO₂ und 4,38 mg H₂O.

(Mikroanalyse nach Pregl.)

0,2040 g Substanz verbrauchten 12,702 ccm n_{10} -H₂SO₄,

Berechnet für C ₇ H ₁₃ O ₃ N (159)		Gefunden
C	52,83%	52,73%
H	8,17%	7,98%
N	8,80%	8,72%

II. Formyl-l- α -aminocaprone

0,1450 g Substanz gaben 0,2830 g CO₂ und 0,1079 g H₂O

0,2722 g Substanz verbrauchten nach Kjeldahl 16,74 ccm n_{10} -H₂SO₄

Berechnet für C ₇ H ₁₃ O ₃ N (159)		Gefunden
C	52,83%	53,22%
H	8,17%	8,27%
N	8,80%	8,61%

Wir haben auch die leichte Abspaltbarkeit der Formylgruppe studiert und zwar 1. bei 37° und 2. in der Siedehitze.

1. 0,1698 g Formyl-d- α -aminocaprone wurden in Wasser gelöst. Das Gewicht der Lösung betrug 12,0317 g. Die Lösung wurde in ein 1 dm-Rohr mit Wassermantel eingefüllt. Das Rohr kam in den Brutschrank. Es wurde in bestimmten Intervallen die Drehung der Lösung festgestellt. Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle I.

Zeit der Ablesung	Drehung
Anfangsdrehung	+ 0,26
Nach 1 Stunde	+ 0,25
» 2 Stunden	+ 0,25
» 3 ¹ / ₂ »	+ 0,25
» 6 »	+ 0,23
» 24 »	+ 0,20
» 28 »	+ 0,19
» 32 »	+ 0,17
» 48 »	+ 0,16

2. 0,5016 g Formyl-d- α -aminocaprönsäure wurden in 50 ccm Wasser gelöst. Die Anfangsdrehung war im 2 dm-Rohr $+0,28$. Jetzt wurde 2 Stunden lang gekocht. Nach vollständigem Erkalten wurde die Lösung wieder auf das ursprüngliche Volumen gebracht und die Drehung wieder bestimmt. Dieselbe Operation wurde 4 mal wiederholt. Die Daten sind aus der folgenden Tabelle zu ersehen.

Tabelle II.

Zeit der Ablesung	Drehung
Anfangsdrehung	$+0,28$
Nach 2 Stunden	$+0,19$
" 4 " 	$+0,08$
" 6 " 	$+0,08$

Darstellung der optisch-aktiven α -Aminocaprönsäuren.

Die optisch-aktiven α -Aminocaprönsäuren wurden durch Hydrolyse mit der 10fachen Menge 10%iger Salzsäure aus den betreffenden Formylverbindungen dargestellt. Es wurde von 15 g der Formylkörper ausgegangen. Nach 1 $\frac{1}{2}$ stündigem Kochen am Rückflußkühler wurde die Lösung im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und wieder eingedampft. Nun wurde der Rückstand in Wasser gelöst, in einen 500 ccm-Meßkolben gebracht, dieser bis zur Marke aufgefüllt und in 1 ccm der Lösung der Chlorgehalt nach Volhard bestimmt. Dann wurde die berechnete Menge einer n-Lithiumhydroxydlösung zugegeben und das Gemisch in einer Porzellschale am Wasserbade eingeeengt. Es erfolgte Krystallisation, welche durch Zugabe von Alkohol sich vervollständigte. Sie wurde abgesaugt, mit kaltem Wasser und kaltem Alkohol chlorfrei gewaschen und mit wenig Tierkohle aus heißem Wasser umkrystallisiert. Ausbeute: 9 bzw. 8 g.

Die beiden optisch-aktiven α -Aminocaprönsäuren krystallisieren in glänzenden schuppenförmigen Blättchen. Sie sind sehr schwer löslich in Wasser und Äthylalkohol. Beim Erhitzen im offenen Kapillarrohr sintert die Substanz bei 275 bis 280° sehr stark und sublimiert teilweise weg. Bei 301°

beobachtet man deutliches Schmelzen, doch ist bis zum Erreichen dieser Temperatur der weitaus größte Teil der Substanz sublimiert.

Die Bestimmung des optischen Drehungsvermögens ergab die folgenden Werte. Es sei bemerkt, daß aus der d-Formyl- α -aminocaprinsäure die l- α -Aminocaprinsäure und von der l-Formylverbindung die d- α -Aminocaprinsäure sich gebildet. Die optisch-aktiven α -Aminocaprinsäuren drehen sowohl in wässriger Lösung, wie in 20%iger Salzsäurelösung in derselben Richtung.

Spaltung I.

I. 0,1079 g Substanz in 17,8865 g wässriger Lösung drehen im 2 dm-Rohr $- 0,05^{01}$)

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = - 4,14^\circ.$$

II. 0,0842 g Substanz in 11,1026 g wässriger Lösung drehen im 2 dm-Rohr $+ 0,095^{01}$)

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = + 6,26^\circ.$$

I. 0,1080 g Substanz in 10,0693 g 20%iger Salzsäurelösung (spez. Gew. = 1,11) drehen im 2 dm-Rohr $- 0,52$

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = - 21,17^\circ;$$

auf HCl-freie Substanz umgerechnet:

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = - 17,00^\circ.$$

II. 0,0720 g Substanz in 10,1526 g 20%iger HCl-Lösung (spez. Gew. = 1,11) drehen im 2 dm-Rohr $+ 0,28^\circ$

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = + 18,56^\circ;$$

auf HCl-freie Substanz umgerechnet:

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = + 15,6^\circ.$$

Spaltung II.

I. 0,1268 g Substanz in 13,7940 g wässriger Lösung drehen im 2 dm-Rohr $+ 0,095^{01}$)

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = + 5,16^\circ.$$

II. 0,1597 g Substanz in 16,4970 g wässriger Lösung drehen im 2 dm-Rohr $- 0,087^{01}$)

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = - 4,49^\circ.$$

¹⁾ Mittelwerte aus mehreren Ablesungen.

I. 0,1120 g Substanz in 11,3896 g 20%iger HCl-Lösung (spez. Gew. = 1,11) drehen im 2 dm-Rohr + 0,45°

$$[\alpha]_D^{20} = + 20,44^\circ;$$

auf die HCl-freie Substanz umgerechnet:

$$[\alpha]_D^{20} = + 16,02^\circ.$$

II. 0,1360 g Substanz im 11,7498 g 20%iger HCl-Lösung (spez. Gew. = 1,11) drehen im 2 dm-Rohr — 0,54°

$$[\alpha]_D^{20} = - 20,82^\circ;$$

auf die HCl-freie Substanz umgerechnet:

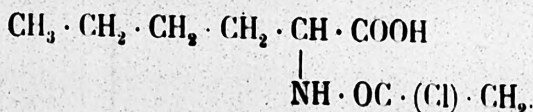
$$[\alpha]_D^{20} = - 16,07^\circ.$$

Die d- α -Aminocapronsäure schmeckt fad süß, die l- α -Aminocapronsäure hat einen bitteren Geschmack.

Emil Fischer fand bei der Spaltung von dl-Aminocapronsäure mittels der Benzoylverbindungen die folgenden Werte für $[\alpha]_{20}^D$:

$$[\alpha]_D^{20} = - 22,4^\circ \text{ und } [\alpha]_D^{20} = + 21,3^\circ.$$

Chloracetyl-d-norleucin.



2,4 g d- α -Aminocapronsäure wurden in 18,5 ccm (1 Mol.) normaler Natronlauge gelöst und zu dieser Lösung 2,5 g (1,25 Mol.) Chloracetylchlorid und 27,7 ccm (1,5 Mol.) normaler Natronlauge im Laufe von $\frac{1}{2}$ Stunde in 10 Portionen unter Kühlung zugegeben. Nach Zufügen von 5,54 ccm fünffach normaler Salzsäure schied sich ein kleine Krystalle enthaltendes dickes Öl aus. Dieses wurde in eine Kältemischung gestellt. Es erstarrte allmählich. Zur Reinigung wurde die amorphe Masse in Essigäther gelöst, die Lösung mit Tierkohle entfärbt und filtriert. Das Filtrat ließen wir bei gewöhnlicher Temperatur langsam eindunsten. Es schieden sich durchsichtige, lamellenförmig angeordnete Krystalle ab. Sie wurden scharf abgesaugt und wieder in Essigäther gelöst. Die Lösung wurde durch Verdampfen der Lösung fraktioniert krystallisiert. Die einzelnen

Krystallfraktionen wurden abgesaugt, mit wenig absolutem Äther gewaschen und im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet. Ausbeute: 1,108 g.

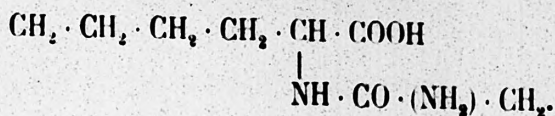
Beim Erhitzen im offenen Kapillarrohr wird die Substanz bei 70° weich und schmilzt bei 104—106° (unkorr.). Sie krystallisiert in farblosen, durchsichtigen Lamellen. Unter dem Mikroskop sieht man lanzettförmige, rhomboide Krystalle.

0,2444 g Substanz verbrauchten bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl 11,702 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Schwefelsäure.

Berechnet für $C_8H_{14}O_3NCl$ (207,5)	Gefunden
N	6,76%
	6,70%

0,1752 g Substanz in 20,7724 g wässriger Lösung drehen im 1 dm-Rohr + 0,03, $[\alpha]_D^{20} = + 3,56^\circ$.

Glycyl-d-norleucin.



Es wurde das Chloracetyl-d-norleucin in bekannter Weise mit 25%igem wässrigem Ammoniak amidiert. Nach dreitägigem Stehen im Brutschrank wurde die Lösung unter vermindertem Druck eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen, mit Tierkohle entfärbt und die auf ein kleines Volumen eingedampfte Lösung mit viel Alkohol gefällt. Es entstand ein Niederschlag, der nach längerem Stehen in der Kälte und nach häufigem Reiben allmählich krystallinisch erstarrte. Der Krystallbrei wurde abgesaugt und der Rückstand in ganz wenig Wasser gelöst und wieder mit absolutem Alkohol gefällt. Diesmal fiel die Substanz schön krystallinisch aus. Sie wurde abgenutscht, mit wenig kaltem absolutem Alkohol gewaschen und im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet. Durch Einengen der Mutterlauge auf dem Wasserbade ließen sich noch weitere Mengen des Dipeptids gewinnen. Ausbeute 1,05 g.

0,1121 g Substanz verbrauchten bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl 12,135 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Schwefelsäure. Daraus ergibt sich für Glycyl-d- α -norleucin N = 15,155% (berechnet 14,89%).

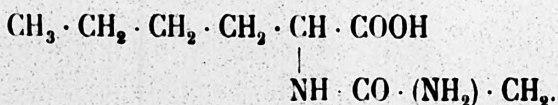
Mikroanalyse nach Pregl: 4,196 mg Substanz gaben 7,825 mg CO₂ und 3,18 mg H₂O, 2,176 mg [716 mm, 21,5°] 0,297 ccm N.

Berechnet für C ₈ H ₁₆ O ₃ N ₂ (188)	Gefunden:
C = 51,06%	50,86%
H = 8,51%	8,48%
N = 14,89%	15,15% und 14,95%

Beim Erhitzen im offenen Kapillarrohr bräunt sich die Substanz bei 220°, sie sintert bei 230° und schmilzt bei 239 bis 240°. Beim Schmelzen wurde die Substanz ganz schwarz. Das Glycyl-d-norleucin krystallisiert in Prismen, welche zu langen Nadeln ausgewachsen und teilweise an einem Ende zusammengewachsen sind.

0,0934 g Substanz in 10,1789 g wässriger Lösung drehen im 2 dm-Rohr — 0,16. Daraus berechnet $[\alpha]_D^{20} = - 8,71^\circ$.

Glycyl-l-norleucin.



3 g l- α -Aminocaprönsäure wurden in 23,1 ccm (1 Mol.) Normalnatronlauge gelöst und zu dieser Lösung 3,24 g (1,25 Mol.) Chloracetylchlorid und 37,6 ccm (1,5 Mol.) Normalnatronlauge im Laufe von 1/2 Stunde in 10 Portionen zugegeben. Nach Zufügung der ersten Portionen bildete sich ein flockiger Niederschlag, welcher aber im weiteren Verlauf der Operation sich teilweise allmählich auflöste und teilweise sich in ein Öl umwandelte. Nun wurden 6,92 ccm fünffach normale Salzsäure zugegeben. Das ausfallende Öl wurde mit Äther ausgeschüttelt und die abgetrennte Flüssigkeit im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde zuerst mit heißem Äther und dann mit heißem Essigäther erschöpfend extrahiert. Alle Extrakte wurden vereinigt, mit geglühtem Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum eingedampft. Das zurückbleibende Öl wurde in eine Krystallisationsschale gebracht. Es wurde in der verschiedensten Weise versucht, dieses Öl in Krystalle umzuwandeln, jedoch vergeblich. Offenbar war das Präparat nicht ganz rein. Wir verzichteten schließlich auf die Isolierung des Chloracetyl-l-

norleucins und amidierten das Öl direkt. Die Ausbeute an Glycyl-d-norleucin betrug 1,8 g.

0,1227 g Substanz verbrauchten bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl 13,058 ccm ¹ 10-n-Schwefelsäure. Daraus ergibt sich für Glycyl-l- α -aminocaprinsäure N = 14,90% (berechnet 14,89%).

Mikroanalyse nach Pregl: 4,407 mg Substanz gaben 8,27 mg CO₂ und 3,34 mg H₂O, 3,092 mg (718 mm, 21°) 0,413 ccm N.

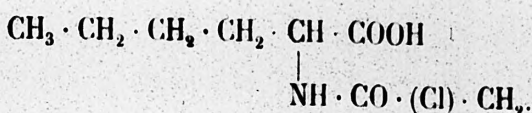
Berechnet für C ₈ H ₁₆ O ₃ N ₂ (188):	Gefunden:
C 51,06%	51,18%
H 8,51%	8,48%
N 14,89%	14,90% u. 14,99%.

Beim Erhitzen im offenen Kapillarrohr bräunt sich die Substanz bei 220°, sie sintert bei 230° und schmilzt bei 239 bis 240°. Beim Schmelzen wurde die Substanz ganz braun. Sie krystallisiert in Prismen, welche zu langen Nadeln ausgewachsen und teilweise an einem Ende zusammengewachsen sind.

0,0979 g Substanz in 10,0784 g wässriger Lösung drehen im 2 dm-Rohr + 0,16. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D^{20} = + 8,24$.

Glycyl-dl-norleucin.

Chloracetyl-dl-norleucin.



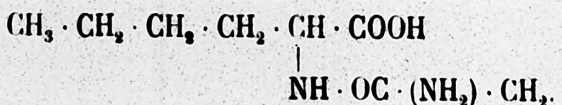
13,1 g Aminocaprinsäure wurden in 100 ccm n-NaOH-Lösung gelöst und in der Kälte abwechselnd mit 150 ccm n-NaOH-Lösung und 11,5 ccm Chloracetylchlorid unter Schütteln versetzt. Die Operation dauerte 1/2 Stunde. Von den sich in geringen Mengen abscheidenden Flocken wurde abfiltriert und das Filtrat zur Fällung der freien Verbindung mit 20 ccm 5-n-Salzsäure tropfenweise versetzt, wobei sich die Substanz teilweise krystallinisch abschied. Nach 12stündigem Stehenlassen in der Kälte wurde abfiltriert (die Mutterlauge kann zur Gewinnung des Restes mit viel Äther extrahiert werden) und der Rückstand auf der Tonplatte getrocknet. Ausbeute 16 g.

Zur Reinigung wurde das Produkt in Aceton bei Zimmertemperatur gelöst und mit Wasser bis zur bleibenden, schwachen Trübung versetzt. Die Verbindung schied sich beim Stehen in langen Prismen aus. Fp. 104—107°. Leicht löslich in Alkohol, Aceton. Äther, unlöslich in Wasser.

0,2450 g Substanz verbrauchten 11,85 ccm $1/10$ -n-Schwefelsäure.

Berechnet für $C_8H_{14}O_3NCl$ (207,5):	Gefunden:
6,76% N	6,77% N.

Glycyl-dl-norleucin.



12 g Chloracetyl-dl-norleucin wurden in 120 ccm NH_3 (25%) gelöst, wobei die Verbindung beim Schütteln langsam in Lösung ging. Die Lösung wurde 3 Tage bei 37° lang in einer verschlossenen Stöpselflasche aufbewahrt. Da sich im Laufe der Zeit keine Krystalle gebildet hatten, wurde die Lösung auf dem Wasserbade bis zur Trockne langsam eingedampft. Das Abdampfen wurde nach Zusatz von Alkohol und Wasser mehrmals wiederholt. Zur Trennung des Dipeptides vom Chlorammonium wurde der Rest mit wenig Wasser und Alkohol verrieben, und die hinterbliebene krystallinische Masse abfiltriert. Sie bestand fast ganz aus reinem Dipeptid. Ausbeute 8 g. Zur Reinigung wurde die Substanz in kochendem Wasser gelöst. Das Dipeptid fiel beim Abkühlen in Form von Blättchen aus. Sie fühlen sich fettig an. Fp. 210—215°; sintert bei 210°, zersetzt sich bei 215°. Eine kleine, verdünntere Probe gab nach längerem Stehen Büschel von Prismen mit dem gleichen F. 210—215°. Das Dipeptid ist bei Zimmertemperatur in Wasser nur wenig löslich; mehr löslich in kochendem Wasser. Durch Zusatz von Alkohol kann die Substanz in besserer Ausbeute abgeschieden werden.

0,2245 g Substanz verbrauchten 24,40 ccm $1/10$ -n-Schwefelsäure.

Berechnet für $C_8H_{16}O_3N_2$:	Gefunden:
14,89% N	15,17% N.

Alkohol versetzt und nochmals eingedampft. Zur Trennung des Tripeptides vom Bromammonium wurde der Rest mit wenig Wasser und Alkohol verrieben und das unlösliche Tripeptid abfiltriert. Ausbeute 1,8 g. Das Tripeptid ist auch in kochendem Wasser sehr wenig löslich. Zwecks Reinigung wurde das Tripeptid in viel kochendem Wasser gelöst, filtriert und die Lösung auf dem Wasserbade eingedampft, wobei sich die Verbindung in krystallinischen Häutchen abschied. F. 230—250°; sintert bei 220°, zersetzt sich bei 250°.

0,1512 g Substanz verbrauchten 15,35 ccm $1/10$ -n-Schwefelsäure.

Berechnet für $C_{14}H_{27}O_4N_3$: 13,95% N.

Gefunden: 14,14% N.

Wir haben versucht, Glycyl-dl-norleucin mit Hefemacerationssaft (nach Lebedew) zu spalten. 0,4220 g des Dipeptids wurden in 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Zu 7 ccm dieser Lösung fügten wir 1 ccm des Macerationssaftes. Die anfänglich optisch inaktive Lösung zeigte im Laufe von ca. 24 Stunden eine Drehung von $-0,05^\circ$. Der Saft selbst blieb inaktiv, wie ein Kontrollversuch ergab.

Daß der Macerationssaft sehr wirksam war, bewies ein Versuch mit dl-Leucyl-glycin. 0,2160 g Dipeptid wurden in 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. 7 ccm der Lösung + 1 ccm Macerationssaft drehten $-0,10^\circ$. Nach einer Stunde betrug die Drehung $-0,50^\circ$.

Ein zweiter Versuch mit Glycyl-dl-norleucin ergab das gleiche Resultat. Bei Verwendung eines Gemisches von Pankreassaft und Darmsaft vom Hunde war ebenfalls das Auftreten einer Drehung zu beobachten. Es kann nach diesen Beobachtungen nicht entschieden werden, ob eine asymmetrische Spaltung des Dipeptids erfolgt ist. Die auftretende Drehung ist zu gering, als daß sich ein bestimmter Schluß ziehen ließe. Die Schwerlöslichkeit des Dipeptids und die geringe Drehung der entsprechenden optisch-aktiven Dipeptide erschwert die Verfolgung der Spaltung auf dem optischen Wege. Aus dem gleichen Grunde ergab der Versuch, dl-Leucyl-glycyl-dl-norleucin mittels Hefemacerationssaftes zu spalten, kein eindeutiges Resultat.