

Über Verbindungen von Aminosäuren und Ammoniak.

IV. Mitteilung.

Von

Peter Bergell und Hanns von Wülfing.

(Der Redaktion zugegangen am 20. Januar 1910.)

Theoretischer Teil.

I.

Die Amide der Aminosäuren haben bereits vor 40 Jahren das Interesse der organischen Chemiker erregt. Indessen existierte bis in die neueste Zeit keine Methode, nach der die einfachsten Repräsentanten dieser Gruppe leicht zugänglich waren.

Erst Fischer und Königs¹⁾ und später Königs und Mylo²⁾ haben einen Weg gefunden, diese Stoffe rein darzustellen, indem sie die Ester der Aminosäuren mit flüssigem Ammoniak behandelten. Der entgegengesetzte, ursprünglich naheliegende Weg, von den Amidn oder Estern der Halogenfettsäuren auszugehen, war der ältere, den Heintz,³⁾ Schiff und andere versuchten. Nach den ausführlichen Angaben von Heintz gelingt es aber, auf diesem Wege nur geringe Mengen von salzsaurem Glycinamid darzustellen. Schiff bezeichnet es allerdings als leicht, von den Homologen des Chloracetamids zu den halogenwasserstoffsäuren Salzen einiger Amide von Aminosäuren zu kommen. Da er jedoch seine Produkte nur durch eine Bromanalyse, die für Amid und Säure fast gleiche Werte ergibt, prüfte und seine wenigen Angaben über die Eigenschaften der Präparate für die reinen Stoffe nicht zutreffen, so glauben wir nicht, daß dieser Autor die Aufgabe gelöst hat.

¹⁾ Emil Fischer und Ernst Königs, Chem. Ber., Bd. XXXVII, S. 4599 (1904).

²⁾ Königs und Mylo, Chem. Ber., Bd. XLI, S. 4427 (1908).

³⁾ Heintz, Liebigs Annalen, Bd. CXLVIII, S. 195; Bd. CL, S. 67.

Schiff bezeichnet z. B. bromwasserstoffsäures Alaninamid als sirupöse Masse, die erst nach Verlauf von Monaten krystallin wird. Aus nachfolgender Beschreibung dürfte hervorgehen, daß Schiff das angenommene Produkt nicht in Händen gehabt hat. Dem gegenüber zeigen die Angaben von Heintz die diesem Autor eigene Ausführlichkeit. Seine ungünstigen Resultate scheinen zum Teil wenigstens dadurch bedingt gewesen zu sein, daß er ausschließlich alkoholisches Ammoniak verwandte.

Die Darstellung des salzsauren Glycinamids gelingt nämlich leicht durch vorsichtiges Amidieren des Chloracetamids mit wässrigem Ammoniak in der Kälte, am besten bei 0°. Arbeitet man durchweg unterhalb 50°, so ergibt die Amidierung ungefähr 60% der Theorie an reinem salzsauren Glycinamid. Höheres Erhitzen der wässrigen Lösung schon auf 80° und selbst das Kochen verdünnter alkoholischer Lösung führt Verseifung herbei. Bei der leichten Zugängigkeit des Chloracetamids ist dieses einfachste Amid in jeder Menge erhältlich. Die Herstellung des freien Amids ist gleichfalls leicht durchführbar, wenn man bei tiefer Temperatur in der Lösung des salzsauren Salzes die Salzsäure quantitativ absättigt, sofort im Vakuum unterhalb 40° eindampft und das freie Amid mit Chloroform oder mit absolutem Alkohol aufnimmt.

Bei der analogen Darstellung des Alaninamids ist notwendig, direkt vom brompropionsäuren Äthyl durch Behandeln mit wässrigem Ammoniak in der Kälte ohne Isolierung der Zwischenstufe des Halogenfettsäureamids zum bromwasserstoffsäuren Alaninamid vorzudringen. Da der letztere Körper eine große Krystallisationsfähigkeit hat und sich aus heißem absoluten Alkohol leicht umkrystallisieren läßt, so wird das Salz des Alaninamids leicht analysenrein erhalten. Es ist jedoch unbedingt nötig, bei diesem Stoffe sowie bei dem bromwasserstoffsäuren Aminobuttersäureamid einmal aus Wasser, in dem diese Stoffe leicht löslich sind, umzukrystallisieren, und sinkt hierdurch natürlich die Ausbeute. Dasselbe gilt für das bromwasserstoffsäure Aminobuttersäureamid, das in Wasser und Alkohol bereits wieder etwas schwerer löslich ist als das erstere

Homologe, und daher eine höhere Ausbeute ergibt. Bei der Synthese des Aminobuttersäureamids tritt bereits die Erscheinung auf, daß ein Teil des gebildeten Halogenfettsäureamids sich der Umsetzung mit Ammoniak zum Amid der Aminosäure entzieht. In diesem Falle ist seine Menge noch gering und beeinträchtigt den sonst glatten Reaktionsverlauf wenig, zumal die Krystallisationskraft des bromwasserstoffsäuren Aminobuttersäureamids noch größer ist als die des homologen Alaninkörpers.

Bei dem nächsthöheren Gliede der Reihe, und zwar handelt es sich hier wie bei den natürlichen Aminosäuren um verzweigte Ketten, tritt diese Erscheinung nun viel mehr hervor. Das Halogenfettsäureamid wird schwerer löslich und daher wieder sehr leicht zugänglich. Aber die Resistenz des Halogens gegenüber wässrigem Ammoniak wird so stark, daß die Gefahr der Verseifung der Säureamidgruppe wieder beträchtlicher wird. So fanden wir, daß nach 5stündigem Kochen von 10 g Bromisovaleriansäureamid mit der zehnfachen Menge 25% igen wässrigen Ammoniaks noch 5 g reines Ausgangsmaterial, das sich nach halbstündigem Kochen bereits ganz gelöst hatte, wieder auskrystallisierten. Selbst beim vierstündigen Erhitzen im Einschlußrohr mit alkoholischem Ammoniak auf 100° wurden noch 40% der angewandten Substanz unangegriffen zurückgewonnen. Es zeigte sich aber, daß diese Resistenz beim nächsthöheren Gliede der Reihe, dem Bromisocapronsäureamid, nicht mehr vorhanden ist. Alkoholisches Ammoniak verwandelt dasselbe in guter Ausbeute in bromwasserstoffsäures Leucinamid. Man muß also annehmen, daß diese Sonderstellung des Halogenisovaleriansäureamids gegenüber dem Buttersäure- und dem Isocapronsäurekörper auf der Nähe der beiden Methylgruppen beruht, die hier eine sterische Hinderung bedingen. Ähnliche Verhältnisse bezüglich der Nähe der Isogruppe wurden von Emil Fischer und Scheibler¹⁾ beschrieben. Das Amid der Bromisocapronsäure ist besonders leicht zugänglich, da es einmal schwer löslich ist und sich zweitens aus dem käuflichen Bromid bereiten läßt. Beim vorsichtigen Eintragen des Bromids in eiskaltes Ammoniak unter gutem

¹⁾ E. Fischer u. H. Scheibler, Liebigs Annalen. Bd. CCCLXIII. S. 136—68. Derivate der aktiven Valine.

Rühren scheidet sich das neue Amid ab, das aus heißem Wasser fast ohne Verluste umkrystallisiert wird. Aus dem bromwasserstoffsäuren Leucinamid läßt sich ähnlich wie beim Glycinamidchlorhydrat die freie Base gewinnen.

Aus diesen Gründen ist das Glycinamid und das Leucinamid besonders leicht zugänglich. Geringere Ausbeuten gibt diese Methode beim Alaninamid und Aminobuttersäureamid. Bei der Isovaleriansäure ist die Resistenz des in α -Stellung substituierten Halogens so groß, daß vielleicht der entgegengesetzte Weg, erst die primäre Amingruppe der Aminosäure einzuführen und darauf die Säure über den Ester in das Amid zu verwandeln, vorzuziehen ist. Auch hat Lipp¹⁾ eine brauchbare Methode angegeben, das salzsaure Valinamid durch vorsichtige Verseifung des Nitrils mit Salzsäure zu gewinnen.

Es wurden einige neue Derivate des Glycinamids dargestellt, die für das Verhalten dieser Base interessant sind. Behandlung mit Benzoylchlorid führt zu einem Körper, der die Eigenschaften des Hippuramids zeigt. Im Gegensatz zu Königs und Mylo fanden wir, daß auch Naphthalinsulfochlorid mit der freien Base in analoger Weise wie bei der Benzoylierung reagiert. Erst bei Gegenwart von Alkali reagiert die Base mit einem zweiten Molekül Chlorid, indem noch ein Acylrest an die Säureamidgruppe geheftet wird. Auch läßt sich dieser Dinaphthalinsulfokörper aus dem Mononaphthalinsulfokörper bereiten.

Chloracetylchlorid ergibt analog die analysenreine Verbindung $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}_2$, wenn auch in geringer Ausbeute.

Das Ergebnis dieser unserer präparativen Versuche besteht also darin, daß die Gewinnung der Amide dieser Monoaminosäuren durch Einwirkung von Ammoniak auf die Ester der entsprechenden Halogenfettsäuren in vielen Fällen erfolgreich durchführbar ist, daß aber für jede dieser Synthesen eine bestimmte Vorschrift innegehalten werden muß, die sich aus den Eigenschaften der einzelnen Verbindungen ergibt.

¹⁾ Ann. der Chemie, Bd. CCV, S. 14.

II.

Die Frage, ob die Verbindungen zwischen Monoamino-säuren und Ammoniak für die Eiweißchemie von Bedeutung sind, ist bisher wenig bearbeitet. Es ist nun hierfür jedenfalls von Interesse, daß wir beobachteten, daß das Leucinamid durch das Trypsin fermentativ gespalten wird. Der Verlauf der Fermentspaltung ist auch hier ein asymmetrischer. Das Amid der in der Natur vorkommenden optisch aktiven Komponente des Racemkörpers wird nämlich ungleich schneller durch das Ferment verseift, als das Amid des d-Leucins. Dies konnte dadurch mit Sicherheit erwiesen werden, daß nach der Verdauung ein stark links drehendes Derivat des l-Leucins, nämlich das β -Naphthalinsulfo-l-Leucin analysenrein erhalten wurde. Wir ließen das Trypsin bei schwach alkalischer oder ammoniakalischer Reaktion auf das bromwasserstoffsäure Salz des Leucinamids einwirken. Da das Salz gegen Kongo neutral, gegen Lackmus ganz schwach sauer reagiert, wurde eine geringe Menge Soda hinzugefügt. Das bei der Reaktion entstehende stark rechts drehende Naphthalinsulfo-d-Leucinamid ließ sich bei weiteren Versuchen vom Naphthalinsulfamid völlig trennen und wurde gleichfalls analysenrein isoliert.

Dagegen konnte beim Glycinamid und Alaninamid eine Spaltung durch Trypsin nicht erwiesen werden. Es besteht hier also für das Leucin eine Sonderstellung gegenüber Glykokoll und Alanin, wie es in ähnlicher Weise bei dem Verhalten der Peptide gegenüber dem Pankreasferment beobachtet worden ist. Wir müssen somit mit der Möglichkeit rechnen, daß in den Eiweißkörpern das Ammoniak auch an Leucin gebunden vorkommt.

Eigentümlicherweise besitzt auch das in der Natur vorkommende Halbamid der Asparaginsäure eine beträchtliche Resistenz gegen Trypsin, wovon wir uns durch den Versuch überzeugten. Allerdings sind in neuester Zeit in der Seidenraupe Fermente aufgefunden, die Asparagin glatt in Ammoniak und Asparaginsäure zerlegen, ohne andere Aminosäuren anzugreifen. Diese Versuche sind von T. Takeuchi und R. Inouye¹⁾ aus-

¹⁾ Chem. Zentralblatt, 1909, Nr. 8, S. 635.

geführt worden. Auch will Effront aus der Hefe ein tryptisches Ferment gleicher Wirkung gewonnen haben. Berücksichtigt man das Vorkommen des Asparagins und Glutamins in der Natur, so erscheint es nicht ausgeschlossen, daß die Proteine tierischer Herkunft das Ammoniak vorzugsweise an andere Aminosäuren gebunden zeigen als im Pflanzenreiche.

Experimenteller Teil.

Darstellung von salzsaurem Glycinamid aus Ammoniak und Chloracetamid.



1. 20 g Chloracetamid werden in 180 ccm 25%igem Ammoniak unter Schütteln und schwachem Erwärmen gelöst und die Lösung im Vakuum eingedampft. Dann wird nochmals mit ca. 50 ccm Ammoniak abgedampft und der Rückstand mit 40 ccm H_2O aufgenommen. Es bleibt ein kleiner Rückstand, der abfiltriert wird. Die Lösung wird mit der fünffachen Menge absoluten Alkohols versetzt. Sie bleibt zunächst klar, beim Reiben und Kühlen tritt jedoch eine schnelle Krystallisation ein, die sich bei weiterer Abkühlung in Kältemischung zu einem Brei verdichtet. Die Krystalle werden abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Ausbeute 5½ g. Schmelzpunkt: 186—189° (korr.).

Etwas von dem feuchten Krystallbrei wird in H_2O gelöst. Die Lösung ist gegen Lackmus sauer, gegen Kongo neutral.

2. 50 g Chloracetamid werden bei 40° in der zehnfachen Menge Ammoniaks gelöst und die klare Lösung im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wird mit 50 ccm Wasser aufgenommen und mit absolutem Alkohol gefällt. Die Krystalle werden abgesaugt und getrocknet. Ausbeute 18 g. Schmelzpunkt 180°. Nochmals in 20 ccm H_2O gelöst und mit zirka zehnfacher Menge absoluten Alkohols gefällt, zeigen die Krystalle den Schmelzpunkt 186—189°. Ausbeute 14 g.

3. 50 g Chloracetamid werden unter Eiskühlung 4 bis 5 Stunden lang mit 500 ccm Ammoniak geschüttelt, wobei alles in Lösung geht. Die klare Lösung wird im Vakuum eingedampft. Der trockne Rückstand löst sich leicht bei Zimmertemperatur in 50 ccm Wasser. Dann wird der Körper mit

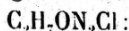
zirka der zehnfachen Menge absoluten Alkohols gefällt und die Lösung zur Vervollständigung der Krystallisation in Kältemischung gesetzt. Die Krystalle wurden abgesaugt und im Vakuum getrocknet.

Schmelzpunkt: 186—189°.

Die Ausbeuten steigen auf diese Weise über 50% der Theorie an reiner Substanz.

Bei späteren Darstellungen haben wir immer 100 g Chloracetamid mit 1000 ccm Ammoniak in der Weise zur Reaktion gebracht, daß beide Substanzen unter starker Kühlung durch ein elektrisch getriebenes Rührwerk durcheinander gebracht wurden.

Die so erhaltenen Substanzen sind krystallwasserfrei und geben bei der Analyse (die Substanz wurde im Vakuumexsikator über Schwefelsäure getrocknet) folgende Zahlen:



a) 0,2206 g Substanz benötigen 40,25 $\frac{n}{10}$ -Schwefelsäure = 25,63% N
Berechnet waren: 25,34% N

b) 0,1715 g Substanz: 0,1347 g CO₂, 0,1020 g H₂O.

Berechnet: C 21,72%, H 6,33%, N 25,34%.

Gefunden: C 21,42%, H 6,66%, N 25,61%.

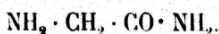
In Krystallform, Löslichkeiten und Fällungsreaktionen zeigt das Salz die in der Literatur angegebenen Eigenschaften.

Ausbeuteversuch.

1 kg chloressigsäures Äthyl gibt 550 g Chloracetamid. Diese Menge ergibt bei der Amidierung 360 g analysenreines salzsaures Glycinamid.

(Hierauf berechnet beträgt der Preis des Ausgangsmaterials (Kahlbaum) für ein Kilo salzsaures Glycinamid M. 56.—.)

Glycinamid.

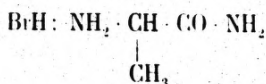


Die freie Base erhält man aus dem Hydrochlorat leicht nach folgender einfacher Methode:

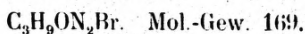
2,2 g Hydrochlorat werden in 4 ccm Wasser gelöst und auf 0° abgekühlt, 19,5 ccm Normalnatronlauge werden auf 0° abgekühlt und beide Flüssigkeiten unter Schütteln und Kühlen

vereinigt. Die Lösung wird sofort im starken Vakuum unterhalb 40° zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird mit heißem Chloroform gründlich extrahiert, die chloroformischen Auszüge im Vakuum eingeengt. Es krystallisiert reines Glycinamid vom Schmelzpunkt 65—66° in mikroskopischen Nadeln aus. Ausbeute 0,7 g.

d-1-Alaninamid.



20 g brompropionsaures Äthyl werden mit 200 ccm 25%igem Ammoniak unter guter Kühlung mehrere Stunden geschüttelt. Die Temperatur soll hierbei 6° nicht überschreiten. Es entsteht eine klare Lösung. Sie wird im Vakuum unter 45° zur Trockne eingedampft, nochmals in 100 ccm Ammoniak gelöst und wieder eingedampft. Da sich die Verbindung auch aus konzentrierter wässriger Lösung nicht durch Alkohol fällen läßt, wird der Rückstand in wenig Wasser gelöst. Beim langsamen Verdunsten bei 40° scheiden sich nach 12 Stunden Krystalle ab, die sich beim Stehenlassen der Lösung bei 4° schnell vermehren, abgesogen und scharf abgepreßt werden. Die ganze Ausbeute beträgt 12 g. Die Substanz ergibt bei der Analyse zwar den Bromgehalt der gesuchten Verbindung, bleibt aber im Stickstoffgehalt wesentlich zurück (12,99% statt 16,56%). Die Kohlenwasserstoffbestimmung der bei 100° getrockneten Substanz gab folgende Zahlen:



0,1899 g Substanz: 0,1393 g CO₂, 0,0935 g H₂O.

0,2000 . . . verbrauchen 18,5 ccm $\frac{1}{10}$ -H₂SO₄, entspr. 25,99 mg N.

Berechnet: C 21,30%, H 5,32%, N 16,56%.

Gefunden: C 20,01%, H 5,52%, N 12,99%.

Krystallform: Kleine spitze Nadeln, rosettenförmig gelagert.

Löslichkeit: Leicht löslich in Wasser. Löslich in heißem absoluten Alkohol, aus dem es beim Erkalten wieder auskrystallisiert. Unlöslich in Äther und Chloroform. Die wässrige Lösung reagiert schwach sauer.

Bei den späteren Darstellungen wurde auch hier zur Vereinfachung des Verfahrens das Schütteln durch Rühren ersetzt.

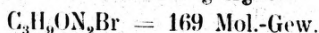
Im Vergleich zum Glycinamid gestaltet sich hier die Synthese komplizierter, da es nicht möglich ist, das Halogenfettsäureamid zu isolieren und erst hieraus das Aminosäureamid zu gewinnen. Die beiden Vorgänge, nämlich die Bildung des Säureamids aus dem Ester und der Ersatz des Halogens durch NH_2 müssen vielmehr in einer Reaktion durchgeführt werden. Es ist hier noch nicht zu bemerken, daß diese letztere Phase, der Ersatz des Br durch NH_2 träger verläuft wie beim Chloracetamid. Dies ist jedenfalls auch der Grund, daß die Reaktion befriedigende Ausbeute gibt, wenn die Salze des Alaninamids auch nicht mit der außerordentlichen Leichtigkeit zugänglich sind wie nach dem geschilderten Verfahren Glycinamid und seine Salze.

Das aus diesem Präparat dargestellte Naphthalinsulfo-d-1-Alaninamid war nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Alkohol von 95% rein. Schmelzpunkt 218° .

Die Substanz selbst war jedoch unrein und enthielt wahrscheinlich bromwasserstoffsäures Alanin beigemischt. Im Kapillarröhrchen erhitzt, sintert sie bei 145° und ist bei 156° (unkorr.) völlig geschmolzen. Umkrystallisieren aus heißem Alkohol ergibt ohne größere Verluste eine wesentlich reinere Substanz, die scharf (bei $174\text{--}176^\circ$ [unkorr.]) — korr. $176\text{--}177^\circ$ — schmilzt. Zur Analyse wurde sie im Vakuumexsikkator getrocknet.

Die Substanz ist krystallwasserfrei.

- a) 0,2018 g Substanz: 0,1652 g CO_2 , 0,0986 g H_2O .
 b) 0,1606 " " : 23,1 ccm N bei 19° und 772 mm.
 c) 0,2001 " " : 0,2200 g AgBr.



Berechnet: C 21,30%, H 5,32%, N 16,56%, Br 47,33%.

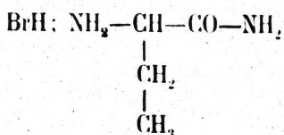
Gefunden: C 22,32%, H 5,48%, N 16,80%, Br 46,78%.

Die Analyse eines bei einer weiteren Darstellung erhaltenen Präparates vom gleichen Schmelzpunkt ergab folgende Werte.

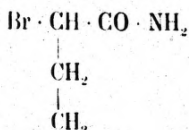
0,2040 g Substanz: 0,1601 g CO_2 , 0,1000 g H_2O .

Berechnet: C 21,30%, H 5,32%.

Gefunden: C 21,40%, H 5,44%.

d-1-Aminobuttersäureamid.

20 ccm brombuttersaures Äthyl werden mit 200 ccm 25% igem wässerigen Ammoniak unter guter Eiskühlung 6—8 Stunden geschüttelt. Es entsteht anfangs ein flockiger Niederschlag, der sich jedoch bei längerem Schütteln wieder löst. Die klare Lösung wird im Vakuum eingedampft. Der trockne Rückstand wird mit wenig kaltem Wasser aufgenommen, wobei ein geringer Teil ungelöst bleibt, der abgesogen und getrocknet wird. Seine Menge beträgt 1 g. Es handelt sich um das Brombuttersäureamid.



Die Verbindung ist krystallwasserfrei und schmilzt, im Kapillarröhrchen erhitzt, bei 110—112° (korr.). Sie kann aus Aceton oder Essigester umkrystallisiert werden und ist in Alkohol und Äther löslich. In heißem Wasser ist sie unlöslich, schwerer in kaltem. Zur Analyse wurde im Vakuumexsikkator getrocknet.

$\text{C}_4\text{H}_9\text{ONBr}$. Mol.-Gew. 166.

0,1703 g Substanz: 0,1796 g CO_2 , 0,0772 g H_2O .

0,2028 » » : 0,2281 » AgBr.

0,1758 » » : 12,6 ccm N (15°, 758 mm).

Berechnet: C 28,91%, H 4,82%, N 8,43%, Br 48,19%.

Gefunden: C 28,77%, H 5,08%, N 8,37%, Br 47,86%.

Die Verbindung wurde bereits einmal von C. A. Bischoff dargestellt durch Einleiten von trockenem Ammoniak in die Benzollösung des Brombuttersäurebromids und darauffolgende Extraktion mit siedendem Benzol. Bischoff bestimmte die Löslichkeiten der Substanz sowie ihren Stickstoff- und Bromgehalt.

Aus dem wässerigen Filtrat von Brombuttersäureamid krystallisierte beim Stehen im Exsikkator eine Krystallmasse aus, die abgesogen und abgepreßt wurde und deren Menge

16 g betrug. Schmelzpunkt: sintert bei 175° stark, ist aber erst bei 183° völlig geschmolzen. Diese Substanz ist noch nicht analysenrein. Im Gegensatz zum bromwasserstoffsäuren Alaninamid wird sie jedoch nicht durch Umkrystallisieren aus heißem Alkohol, sondern durch nochmaliges Umkrystallisieren aus Wasser erhalten, aus dem sie auch viel leichter als das entsprechende Salz des Alaninamids sich wieder abscheidet. Ausbeute 11 g.

Eine nach der ersten Krystallisation aus wässriger Lösung mit Alkohol umkrystallisierte Substanz schmolz bei 185° und ergab folgende Zahlen:

$$\begin{aligned} 0,2133 \text{ g} &= 0,2159 \text{ g CO}_2 = 27,60\% \\ &= 0,1209 \text{ g H}_2\text{O} = 6,35\% \end{aligned}$$

Das reinere Produkt ergab folgende Zahlen. Zur Analyse wurde es im Vakuumexsikkator getrocknet:

$$0,1937 \text{ g Substanz} : 0,1816 \text{ g CO}_2, 0,1088 \text{ g H}_2\text{O}.$$

$$0,2034 \text{ » » } : 0,2096 \text{ » AgBr}.$$

$$0,2001 \text{ » » } : 25,5 \text{ ccm N (18}^{\circ}, 760 \text{ mm)}.$$

$$\text{C}_4\text{H}_{11}\text{ON}_2\text{Br. Mol.-Gew. 183.}$$

$$\text{Berechnet: C } 26,23\%, \text{ H } 6,01\%, \text{ Br } 43,72\%, \text{ N } 15,30\%.$$

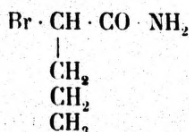
$$\text{Gefunden: C } 25,57\%, \text{ H } 6,29\%, \text{ Br } 43,85\%, \text{ N } 14,72\%.$$

Die Substanz schmilzt bei 185 — 188° (korr.). Sie ist leicht löslich in Wasser. Löslich in heißem Alkohol, aus dem sie beim Erkalten wieder in harten Krystallen auskrystallisiert. Unlöslich in Äther, Chloroform.

Die wässrige Lösung reagiert schwach sauer.

Das Naphthalinsulfoderivat stimmt in seinen Eigenschaften mit dem von Königs und Mylo beschriebenen Körper überein.

Bromvaleriansäureamid.



20 ccm bromisovaleriansaures Äthyl werden mit 200 ccm Ammoniak in Eis gekühlt und darauf mehrere Stunden geschüttelt. Die Substanz wird hierbei nicht verändert. Nach Zugabe von weiteren 100 ccm Ammoniak und 12stündigem Schütteln tritt

noch keine Änderung ein, sondern erst nach dreitägigem Schütteln und nachdem nochmals 100 ccm Ammoniak zugegeben sind, beginnt das Öl zu krystallisieren. Nach Zugabe von abermals 200 ccm Ammoniak tritt langsam Lösung ein, ein geringer Rückstand wird abgesaugt. Das Filtrat wird im Vakuum eingengt, nochmals der Rückstand abgesaugt. Ausbeute an Bromvaleriansäureamid: Erstes Produkt 2 g, zweites Produkt 3,5 g. Das Filtrat, bromwasserstoffsäures Valinamid, wird krystallisieren gelassen.

Bei einem zweiten Versuch wurden 100 ccm bromisovaleriansäures Äthyl und 1000 ccm Ammoniak mit Hilfe eines elektrisch betriebenen Rührers durcheinandergebracht. Es tritt sehr langsam Lösung ein.

Das Filtrat vom Bromvaleriansäureamid und die erste Krystallisation aus Wasser werden mehrere Tage stehen gelassen. Aus der Masse krystallisieren 13—14 g, die abgesogen und gepreßt werden. Davon sind jedoch fast 10 g in Wasser schwer löslich, erst beim Kochen mit Wasser lösen sie sich und krystallisieren schnell in langen Nadeln. Schmelzpunkt 130—132°.

Der lösliche Teil wird wie gewöhnlich krystallisiert, die Krystalle ergeben jedoch kein analysenreines Präparat von bromwasserstoffsäurem Valinamid.

Die vereinigten Bromvaleriansäureamidpräparate (14 g) werden nochmals aus heißem Wasser umkrystallisiert. Man erhält zentimeterlange farnkrautartig gelagerte Krystalle vom Schmelzpunkt 130—132°.

10 g des Körpers werden mit 25%igem Ammoniak am Rückfluß gesiedet. Auch nach mehrstündigem Sieden krystallisiert beim Erkalten fast die ganze Masse als unverändertes Bromvaleriansäureamid.

3 g Bromisovaleriansäureamid werden mit 30 ccm 10%igen alkoholischen Ammoniaks 3 Stunden im Rohr auf 100° erhitzt, und beim Eingießen in Wasser werden ca. 50% als Ausgangsmaterial zurückerhalten. Das Filtrat ergab kein reines bromwasserstoffsäures Valinamid.

Das Bromisovaleriansäureamid krystallisiert aus Benzol

in Blättchen und zeigt die Eigenschaften, die Bischoff angibt (Ber. 31, S. 3236).

$C_5H_{10}ONBr$. Mol.-Gew. 180.

0,2016 g Substanz: 0,2440 g CO_2 , 0,1018 g H_2O .

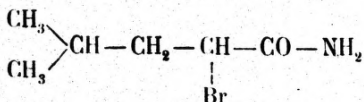
0,1066 » » : 7,1 ccm N (15° , 760 mm).

0,2020 » » : 0,2105 g AgBr.

Berechnet: C 33,33%, H 5,55%, N 7,77%, Br 44,44%.

Gefunden: C 33,01%, H 5,66%, N 7,80%, Br 44,34%.

Bromisocapronsäureamid.



Bromisocapronsäureamid wird dargestellt durch Eintragen von Bromisocapronylbromid in wässriges Ammoniak von 0° . Der sofort entstehende Niederschlag wird aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert.

Zentimeterlange feine Nadeln. Schmelzpunkt $95-97^\circ$ (korr.). Die Substanz ist krystallwasserfrei.

$C_6H_{12}ONBr$. Mol.-Gew. 134.

0,1780 g Substanz: 0,2425 g CO_2 , 0,1021 g H_2O .

0,1880 » » : 11,7 ccm N (17° , 764 mm).

0,1307 » » : 7,9 » » (17° , 758 »).

Berechnet: C 37,11%, H 6,18%, N 7,21%

Gefunden: C 37,15%, H 6,43%, N 7,26 und 6,99%.

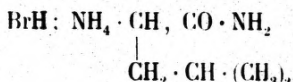
Die Substanz ist in Wasser und wässrigem Ammoniak recht schwer löslich, leichter in kaltem Alkohol und recht leicht löslich in heißem Alkohol, kaltem Aceton und Chloroform.

Da die Verbindung anfangs krystallwasserhaltig erschien, weil Gewichtsabnahmen bei längerem Trocknen auf 100° beobachtet wurden, wurde die Substanz nochmals aus Wasser und Alkohol umkrystallisiert, die großen Krystalle abgepreßt und an der Luft getrocknet. Die Elementaranalyse ergab wiederum auf die krystallwasserfreie Substanz stimmende Zahlen.

0,1700 g Substanz: 0,2296 g CO_2 , 0,0959 g H_2O .

Berechnet: C 37,11%, H 6,18%.

Gefunden: C 36,83%, H 6,32%.

Bromwasserstoffsäures Leucinamid.

Bromwasserstoffsäures Leucinamid entsteht durch Erhitzen von Bromisocaprönsäureamid mit der fünffachen Menge alkoholischem Ammoniak (10%ig) im Einschlußrohr auf 100—105°. Nach drei Stunden wurde die Reaktion unterbrochen. Es wird im Vakuum eingedampft und aus der dreifachen Menge heißen absoluten Alkohols umkrystallisiert. Ausbeute an sofort reiner Substanz 50% der Theorie. Spätere Ausbeuten ergaben nach fünfständigem Erhitzen 68% reiner Substanz. 1 mm lange harte Krystalle, Spieße. Schmelzpunkt 205° (korr.), schmilzt zu einem hellen Öl. Zur Analyse wurde im Vakuumexsikkator getrocknet. Die Substanz ist krystallwasserfrei.

$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{ON}_2\text{Br}$. Mol.-Gew. 211.

0,2073 g Substanz: 0,2623 g CO_2 , 0,1404 g H_2O .

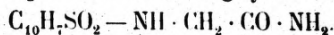
0,1424 » » : 16,0 ccm N (18°, 762 mm).

0,2240 » » : 0,1983 g AgBr.

Berechnet: C 34,12%, H 7,12%, N 13,27%, Br 37,91%.

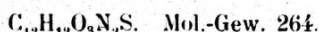
Gefunden: C 34,50%, H 7,52%, N 13,07%, Br 37,68%.

Die Substanz ist spielend löslich in Wasser, recht leicht löslich in heißem Alkohol, schwer löslich in Äther.

Derivate des salzsauren Glycinamids.**I. Naphthalinsulfoglycinamid.**

1,1 g salzsaures Glycinamid werden in 20 ccm Wasser gelöst und mit 10 ccm Normalnatronlauge und 2,3 g β -Naphthalinsulfochlorid in 30 ccm Äther 2 Stunden geschüttelt. Die ausgeschiedene Masse wird vom Äther getrennt, scharf abgesaugt und aus Alkohol umkrystallisiert. Die Ausbeute beträgt 0,33 g. Schmelzpunkt: 168°, nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol steigt derselbe auf 175° (korr.).

Bei einem zweiten Versuch wurden 3,8 g salzsaures Glycinamid in entsprechender Weise verarbeitet. Die Ausbeute betrug 1,24 g. Schmelzpunkt: 175°, nach zweimaligem Umkrystallisieren aus viel Sprit 176—178° (korr.).



0.1716 g Substanz: 0.3409 g CO_2 , 0.0715 g H_2O .

0.1933 „ „ : 0.1653 „ BaSO_4 (nach Carius).

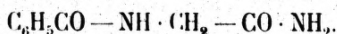
0.2036 „ „ verbrauchen nach Kjeldahl 15.5 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$.

Berechnet: C 54.54%, H 4.54%, S 12.12%, N 10.60%.

Gefunden: C 54.18%, H 4.67%, S 11.72%, N 10.68%.

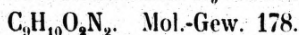
Die obigen 0,33 g wurden mit 15 ccm n_{10} -Natronlauge destilliert, dem Destillat 20 ccm n_{10} -Salzsäure vorgelegt. Beim Titrieren zeigt es sich, daß nur sehr wenig Ammoniak übergegangen war, der Körper also sehr schwer verseifbar ist. Zur vollständigen Verseifung wird er daher am Rückfluß eine Stunde lang mit gewöhnlicher Natronlauge gekocht, wobei viel Ammoniak entweicht. Nach dem Erkalten wird mit Salzsäure gefällt. Geruch nach Schwefelwasserstoff ist wahrnehmbar. Die abgesaugten Krystalle zeigen den Schmelzpunkt 153—154°.

2. Benzoylglycinamid (Hippuramid).



1,1 g salzsaures Glycinamid werden in 15 ccm Wasser gelöst und mit 2,8 g Benzoylchlorid unter Zusatz von 4 g Natriumbicarbonat unter Kühlen und Schütteln umgesetzt. Die ausgeschiedene Masse wird abgesaugt, aus heißem Alkohol umkrystallisiert und mit Wasser gefällt. Es erfolgt sehr langsame Krystallisation. Schmelzpunkt 183—185° (korr.).

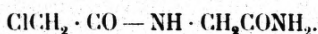
0,2008 g Substanz verbrauchen nach Kjeldahl 22,1 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$.



Gefunden: 15.46 g N. Berechnet: 15.75% N.

Literatur des Hippuramids befindet sich: Emil Fischer, Synthese von Polypeptiden IX und Ber. 38, S. 605 (1905). Schmelzpunkt angegeben 183°.

3. Chloracetylglycinamid.



Es wurde zunächst versucht, diese Verbindung durch partielle Amidierung des Chloracetylglycinesters nach Art der Überführung des chloressigsäuren Äthyls in Chloracetamid zu bereiten. Nach Emil Fischer (vgl. Emil Fischer u. Erich Otto, Chem. Ber. 36, S. 2100, 1903) wurde freier Glycinester (2 Mol.) mit Chloracetylchlorid (1 Mol.) in ätherischer Lösung

zusammengebracht, wobei Salzsäureäthylester ausfällt und die gewünschte Verbindung in Lösung bleibt. Der Chloracetyl-glycinester erwies sich jedoch eigentümlicherweise gegen alkoholisches Ammoniak ziemlich resistent, sodaß nur das Ausgangsmaterial zurückgewonnen wurde, wie Schmelzpunkt ($59-61^{\circ}$) und Elementaranalyse ergaben. Dagegen zeigte es sich, daß Glycinamid mit Chloracetylchlorid in ganz analoger Weise wie mit anderen organischen Säurechloriden, Benzoylchlorid, Naphthalin-sulfochlorid, reagiert.

5,5 g Chloracetylchlorid in 100 ccm Äther wurden mit 11 g salzsaurem Glycinamid, das in 100 ccm Normalnatronlauge gelöst worden war, vereinigt und umgeschüttelt. Darauf wird im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit Aceton extrahiert. Die kalte Acetonlösung wird nochmals von einer geringen Ausscheidung abfiltriert und eingeeengt. Die neue Verbindung ist auch in kaltem Aceton ziemlich löslich und krystallisiert daraus in kleinen spitzen Blättchen, die, im Kapillarröhrchen erhitzt, bei $130-132^{\circ}$ (korr.) schmelzen. Zur Analyse wurde die Substanz im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet.

$C_4H_7O_2N_2Cl$. Mol.-Gew. 150,5.

0,1897 g Substanz: 0,2230 g CO_2 , 0,0801 g H_2O .

0,1605 „ „ : 25,6 ccm N (20° , 759 mm).

Berechnet: C 31,89%, H 4,65%, N 18,60%.

Gefunden: C 32,06%, H 4,73%, N 18,23%.

Die Ausbeute bei diesem ersten Versuch war gering und betrug 1 g.

Eigentümlicherweise gelingt es nicht, diesen Körper darzustellen, wenn man in gewohnter Weise Chlorid, Amid und Bicarbonat reagieren läßt. Nach Eindampfen, Extraktion mit Aceton blieb der Rückstand ölig.

Es scheint bei den meisten Acylierungen dieser Amide richtig zu sein, die freien basischen Amide nicht bei Gegenwart anderer Alkalien zu verwenden.

Fermentspaltungen.

Es wurde das Verhalten verschiedener Verbindungen von Aminosäure und Ammoniak gegen Pankreatin untersucht.

d-l-Leucinamid.

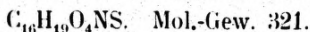
1,0 g analysenreines bromwasserstoffsäures Leucinamid wird in 15 ccm Wasser gelöst, mit 0,2 g Pankreatin und 0,05 g Soda versetzt. Es wird filtriert, zwei Tropfen Toluol hinzugefügt und im 2 dem-Rohr (mit Ausbuchtung versehen, sodaß das Toluol anwesend bleibt) im Brutschrank aufbewahrt. Die anfängliche Linksdrehung beträgt $0,2^\circ$. Nach 20 Stunden beträgt die Drehung $-1,3^\circ$.

In einem zweiten Versuch wurden 3 g bromwasserstoffsäures Leucinamid verwandt und die Soda durch Ammoniak ersetzt. Nach 20 Stunden betrug die Drehung -1° im 2 dem-Rohr, nach weiteren 24 Stunden $-1,8^\circ$.

 β -Naphthalinsulfo-l-Leucin.

Nach der Verdauung wird die Bromwasserstoffsäure genau neutralisiert und die wässrige Lösung mit ätherischer Naphthalinsulfochloridlösung geschüttelt. Es scheiden sich Niederschläge aus. Dieselben werden abgesogen und unter vorsichtiger Zugabe von Normalnatronlauge (je $\frac{1}{2}$ Molekül) weiter geschüttelt, indem die bei alkalischer Reaktion noch entstehenden Niederschläge entfernt werden. Schließlich wird die stark linksdrehende wässrige Schicht mit Salzsäure angesäuert. Es fällt ein weißes Öl, das noch mehrmals umgefällt wird. Nach mehrtägigem Stehen im Eisschrank tritt Krystallisation ein. Die Krystalle enthalten Krystallwasser, das durch vorsichtiges Erwärmen im Vakuum bei 50° entfernt wird. Im Kapillarröhrchen erhitzt, sintert die Substanz bei 93° , schmilzt bei $97-98^\circ$ (korr.). Die ca. 2%ige Lösung (in verdünnter Natronlauge gelöst) dreht im Halbschattenapparat die Ebene des polarisierten Lichtes im 2 dem-Rohr 2° nach links.

Zur Analyse wurde im Vakuum unterhalb 60° getrocknet.



0,1033 g Substanz: 0,2241 g CO_2 , 0,0577 g H_2O .

0,1083 " " : 4,0 ccm N (17° , 761 mm).

Berechnet: C 59,81%, H 5,92%, N 4,36%.

Gefunden: C 59,17%, H 6,26%, N 4,29%.

Es handelt sich demnach um Naphthalinsulfo-l-Leucin (vgl. E. Fischer und P. Bergell, Chem. Ber., Bd. XXXV, S. 3779).

Bei weiteren Versuchen überzeugten wir uns, daß Pankreatin, das 24 Stunden unter Toluolzusatz der Selbstverdauung unterworfen war, gleichfalls imstande ist, das Leucinamid asymmetrisch zu verseifen. Hierbei gelang es uns, auch die restierende, vom Ferment nicht angegriffene Hälfte des Racemkörpers d-Leucinamid in Form ihrer Naphthalinsulfoverbindung zu isolieren.

Naphthalinsulfo-d-Leucinamid.

3,0 g bromwasserstoffsäures Leucinamid mit Pankreatin, das 24 Stunden der Selbstverdauung ausgesetzt war, verdaut unter Zufügung von wenig Soda. Gesamtflüssigkeit 18 ccm. Zunahme der Linksdrehung um $1,9^\circ$ (von $0,9^\circ$ auf $2,8^\circ$) innerhalb von 48 Stunden. Mit 15 ccm Normalnatronlauge versetzt. Starker Ammoniakgeruch. Es wird mit ätherischer Naphthalinsulfochloridlösung 4 Stunden geschüttelt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und sofort aus heißem absolutem Alkohol umkrystallisiert. Es scheiden sich harte Krystalle in Form von Spießen ab. Aus der Verarbeitung des zuerst entstandenen Niederschlages wurden 0,6 g erhalten. Das alkoholische Filtrat ist fast ganz inaktiv. Dagegen zeigt die Lösung der Krystalle in alkalischem 50%igen Alkohol eine starke Rechtsdrehung, wie auch bereits bei den ersten Versuchen beobachtet war. Die 2%ige Lösung (0,4 g in 10 ccm Normalnatronlauge plus 10 ccm Alkohol) dreht im 2 dm-Rohr $2,4^\circ$ nach rechts. Die durch Ansäuern völlig wieder abgeschiedene Substanz schmilzt, im Kapillarröhrchen erhitzt, scharf bei $204\text{--}205^\circ$ und gibt nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure in der Analyse folgende Zahlen:

0,1588 g Substanz: 0,3476 g CO_2 , 0,0889 g H_2O .

0,1683 » » : 12,3 ccm N (15° , 754 mm).

Berechnet: C 60,00%, H 6,25%, N 8,75%.

Gefunden: C 59,69%, H 6,28%, N 8,49%.

Es handelt sich demnach um Naphthalinsulfo-d-Leucinamid. Das alkoholische Filtrat enthält anscheinend neben Verunreinigungen nur Naphthalinsulfamid. Beim Eingießen in Wasser fällt ein Niederschlag, der zunächst bei 190° , nach dem Umkrystallisieren bei 213° schmilzt.

Aufgekochte Fermentlösungen zeigten sich im Kontrollversuch unwirksam.

Bromwasserstoffsäures Alaninamid, in genau analoger Weise verarbeitet, zeigte keine Anzeichen einer asymmetrischen fermentativen Spaltung. Das zurückgewonnene Naphthalinsulfoalaninamid war gleichfalls optisch inaktiv.

Ebenso wird natürliches Asparagin von Pankreatin nicht nachweisbar angegriffen.

1,0 g bromwasserstoffsäures Alaninamid + 10 ccm Wasser + 0,02 g Soda + 0,2 g Pankreatin. Filtrat zeigt eine Drehung $-20'$, welche im Brutschrank zeitweise $10-20'$ zuzunehmen scheint. Angesäuert, gekocht. Naphthalinsulfoderivat dargestellt. Lösung desselben ist inaktiv. Filtrat zeigt $-20'$ Drehung. Auf Naphthalinsulfoderivat verarbeitet, keine Drehung beobachtet. Demnach keine fermentative asymmetrische Spaltung.