

## **Derivate von Aminosäuren.**

### **I. Mitteilung.**

#### **1. Verbindungen mit Glycerin.**

Von

**Emil Abderhalden und Markus Guggenheim.**

(Aus dem physiologischen Institute der tierärztlichen Hochschule, Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. Januar 1910.)

Von den bei der totalen Hydrolyse der Proteine auftretenden Spaltprodukten ist bis jetzt im allgemeinen nur ein verhältnismäßig kleiner Teil isoliert und identifiziert worden. Es unterliegt keinem Zweifel, daß dieser Umstand zum Teil auf die uns zur Verfügung stehenden Methoden zurückzuführen ist. Wir besitzen nur für einige wenige Aminosäuren annähernd quantitative Methoden. Viele Beobachtungen sprechen jedoch dafür, daß außer den bis jetzt aus Proteinen isolierten Aminosäuren noch andere Bausteine an deren Aufbau beteiligt sind. Es fehlen uns zurzeit Methoden, um das Problem, möglichst alle Bausteine der Proteine kennen zu lernen, mit Erfolg bearbeiten zu können. Als Beitrag zu dieser Fragestellung haben wir versucht, eine größere Anzahl von Verbindungen von Aminosäuren mit verschiedenartigen Komponenten der aliphatischen und aromatischen Reihe darzustellen. Wir hofften auf diesem Wege Körper mit typischen Eigenschaften kennen zu lernen, die uns dann begleitend bei der Untersuchung der Abbauprodukte der Proteine werden könnten. Vor allem interessierte uns das Verhalten derartiger Verbindungen bei der totalen Hydrolyse unter den beim Abbau der Proteine gewählten Bedingungen.

Die ganze Reihe der im folgenden mitgeteilten Versuche ist noch aus anderen Gesichtspunkten heraus in Angriff genommen

worden. Es ist wohl möglich, daß in den Geweben des tierischen und pflanzlichen Organismus Verbindungen vorkommen, an deren Aufbau neben Vertretern der Fett- und Kohlenhydratreihe auch Aminosäuren oder doch diesen nahestehende Verbindungen beteiligt sind. Wir denken z. B. an die heterogene Klasse der Lipoide und speziell an die der Phosphatide. Auch hier könnte die Kenntnis bestimmter, nach ihrer Struktur genau bekannter Verbindungen der weiteren Forschung förderlich sein.

Es sei gleich erwähnt, daß vorläufig unsere Untersuchungen nicht zu dem Ziel geführt haben, das wir anstrebten. Bei der folgenden Reihe von Versuchen verfolgten wir die Absicht, Glycerin und Glycerinphosphorsäure mit Aminosäuren zu kombinieren, und zwar einerseits esterartig mit dem Carboxyl und andererseits mit der Aminogruppe. Im ersteren Fall gingen wir zum Teil von den Halogenacylchloriden aus. Beim Versuch, die entstandenen Verbindungen zu amidieren, trat stets Spaltung ein, und wir erhielten das Amid der angewandten Säure zurück. Es sind noch andere Wege eingeschlagen worden, um das gesteckte Ziel zu erreichen. Die Versuche seien im folgenden kurz skizziert.

### **Darstellung von Kondensationsprodukten aus Glycerin und Aminosäuren.**

#### **Vorversuche.**

1. In analoger Weise wie bei der Veresterung der Aminosäuren mit den einwertigen Alkoholen wurde Glykokoll mit der berechneten Menge Glycerin erhitzt und gleichzeitig trockenes Salzsäuregas eingeleitet. Bei 185° (Glycerinbad) löst sich das Glykokoll unter lebhaftem Aufschäumen und Braunfärbung. Das Reaktionsprodukt ist eine zähe durchsichtige Masse, von brauner, grünlich fluoreszierender Farbe, die in Wasser und Alkohol leichtlöslich, in Äther unlöslich ist. Das erwartete Triglycylglycerin sollte über das Phosphorwolframat gewonnen werden. Nach der Zersetzung des in verdünnter Lösung mit Phosphorwolframsäure reichlich ausfallenden Niederschlages mit Baryt wurde nur Glykokoll erhalten.

Durch die Verwendung des Baryts war eine Verseifung des eventuell gebildeten Esters nicht ausgeschlossen. Deshalb wurde ein in ähnlicher Weise bei 185° erhaltenes Reaktionsprodukt aus Tyrosin und Glycerin und Salzsäuregas folgendermaßen aufgearbeitet. Die opake glasige Masse wurde in absolutem Alkohol gelöst, der Salzsäuregehalt der Lösung bestimmt und mit der berechneten Menge Natriumalkoholat als Kochsalz abgeschieden. Gleichzeitig fiel Tyrosin aus. Die alkoholische Mutterlauge enthielt eine geringe Menge eines hygroskopischen Produktes, das Natrium enthielt, Millons Reaktion gab und wahrscheinlich Tyrosinnatrium war.

2. Es wurde versucht, Glycerinschwefelsäure mit Glykokoll zur Reaktion zu bringen, in Analogie zu A. Grüns<sup>1)</sup> Kondensationen von Glycerinschwefelsäure mit Fettsäuren.

Erhitzen der Komponenten auf verschiedene Temperaturen, 60°, 70°, 80 und 100°, bewirkte keine Reaktion im gewünschten Sinne. Nach Entfernung der Schwefelsäure mit Baryt konnte Glykokoll wieder gewonnen werden.

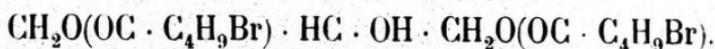
3. Es wurde versucht, die Silbersalze der Aminosäuren (Ag-Glykokoll, Ag-Alanin) mit den Monohalogenhydrinen (Monochlorhydrin, Monojodhydrin, Siedepunkt 0,3 mm 94°) zur Umsetzung zu bringen. Diese tritt beim Erhitzen in Benzol oder Alkoholsuspension nicht ein. Beim Erhitzen der Komponenten ohne Lösungsmittel im geschlossenen Rohr auf 100° schwärzt sich das Reaktionsprodukt. Ein Kondensationsprodukt konnte nicht isoliert werden.

4. Durch Erhitzen von Glycerin mit den Halogenacylchloriden sollten Halogenacylglycerine dargestellt werden, die

<sup>1)</sup> Ad. Grün, Beitrag zur Synthese der Fette. Vorläufige Mitteilung. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXVIII (1905), S. 2284—87; Ad. Grün und E. Thömer, Zur Synthese der Fette. II. Mitteilung: Unsymmetrische Glyceride und deren Abbau. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XL (1907), S. 1792—1801; Ad. Grün und P. Schacht, Zur Synthese der Fette. I. Mitteilung: Symmetrische Glyceride. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XL, S. 1778—98; Ad. Grün und A. von Skopnik, Synthese der dreifach gemischten Glyceride. (3. Mitteilung über die Synthese der Fette. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XLII [1900], S. 3750—59.)

durch nachherige Amidierung in die entsprechenden Aminosäurederivate übergeführt werden sollten. Wurde Glycerin mit Chloracetylchlorid in Benzollösung oder direkt auf 80—100° erhitzt, so entstand ein bei 15 mm zwischen 200 und 250° siedendes Reaktionsprodukt. Dieses war wahrscheinlich nicht einheitlich und enthielt ein Gemenge verschiedener Reaktionsprodukte. Um einheitliche Reaktionsprodukte zu erhalten, wurden nach dem Verfahren von Ad. Grün (l. c.) Bromisovaleriansäure und Glycerinschwefelsäure in Reaktion gebracht. Man gelangt so zum

### Bis-Bromisovalerylglycerin.



18,2 g Bromisovaleriansäure (2 Äquivalente) wurden in 27 ccm konzentrierter  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1,84) gelöst und in eine Lösung von 4,5 g Glycerin (1 Äquivalent) in 18,4 g  $\text{H}_2\text{SO}_4$  eingegossen und auf 70—80° erwärmt. Das braungefärbte Reaktionsprodukt wurde in 500 ccm absolutem Äther aufgenommen und auf 200 g gepulverte krystallisierte Soda gegossen. Die ätherische Lösung wurde mehrmals mit gesättigter Sodalösung, dann mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Es hinterblieben 6 bis 8 g eines bräunlich gefärbten Öles. Dieses wurde im Vakuum bei 0,3 mm Druck und 185—200° destilliert. Farbloses, bitter-schmeckendes, zähflüssiges Öl. Leicht löslich in Alkohol, Äther, Benzol usw., unlöslich in Wasser, kalter wässriger Kalilauge und verdünnter Schwefelsäure. In wässriger Lauge löst es sich beim Erwärmen. In konzentrierter Schwefelsäure sublimiert beim Erwärmen Bromisovaleriansäure.

#### Analysen:

0,1558 g Substanz gaben 0,1407 g AgBr.

0,1806 » » » 0,0974 »  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,2413 g  $\text{CO}_2$ .

Berechnet für  $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{Br}_2\text{O}_5$  (420):

Gefunden:

Br 38,09 %

38,43 %

C 37,14 %

36,39 %

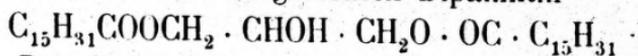
H 5,71 %

6,03 %

Die Amidierung der Halogenacylderivate, die mit wässrigem, alkoholischem und flüssigem Ammoniak vorgenommen wurde, führte nicht zum gewünschten Ziel, indem durch das Ammoniak

sofort Lösung der ätherartigen Bindung und Bildung von Halogenacylamiden erfolgte. So wurde im einen Falle Chloracetylamid, im andern Fall Bromisovalerylamid (Schmelzpunkt 130°) isoliert. Bei längerem Stehen der ammoniakalischen Lösung verändern sich die Amide weiter, indem wahrscheinlich die  $\alpha$ -ständigen Halogenatome substituiert werden.

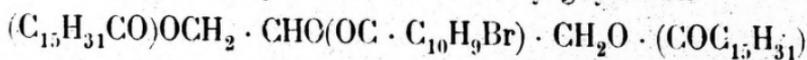
5. Da der Umweg über die Halogenacylderivate aussichtslos erschien, wurde versucht, das Aminosäurechlorid direkt mit Glycerin zu kuppeln. Um ein möglichst einheitliches Monoderivat zu erhalten, wurde Glycerinnatrium mit Glycylchlorid in Chloroformlösung erhitzt. Es konnte keine merkliche Reaktion beobachtet werden; das gewünschte Kondensationsprodukt wurde nicht erhalten. Da die Ursache des Mißlingens in den ungünstigen Löslichkeitsverhältnissen vermutet wurde, wurde ein günstigeres Resultat von der Kondensation des Glycylchlorids mit dem von Ad. Grün dargestellten Dipalmitin



erwartet. Das (6,26 g) Dipalmitin wurde in absolut trockenem Chloroform gelöst, 2 Moleküle feingepulvertes Glycylchlorid zugegeben und auf 60°, bis zum Aufhören der HCl-Entwicklung, erwärmt. Die Lösung wurde mit verdünnter Soda gewaschen, getrocknet und eingedampft. Nach 2 maligem Umkrystallisieren aus Alkohol enthielt das Produkt nur Spuren von Stickstoff und zeigte den Schmelzpunkt des Dipalmitins.

Dasselbe negative Resultat wurde erhalten, als das feingepulverte Glycylchlorid in das geschmolzene Dipalmitin eingetragen wurde. Hingegen gelang es sehr leicht, Dipalmitin und Bromisovalerylbromid in dieser Weise zu kuppeln und so zum

#### Dipalmityl-Bromisovalerylglycerin



zu gelangen. Dipalmitin wurde mit überschüssigem Bromisovalerylbromid auf dem Wasserbad bis zum Aufhören der Salzsäureentwicklung erwärmt. Das Reaktionsprodukt wurde, nach dem Erkalten in Äther aufgenommen, und die Lösung mehrmals mit gesättigter Sodalösung durchgeschüttelt, mit Wasser gewaschen und mit entwässertem Natriumsulfat getrocknet. Der

Rückstand der ätherischen Lösung wurde einmal aus heißem Alkohol umkrystallisiert und zur Analyse bei 50° über Phosphorpentoxyd getrocknet. (Die Substanz schmilzt dabei.) Aus Alkohol krystallisiert das Produkt in Drusen mikroskopischer Nadelchen, die bei 51° zu einer trüben Flüssigkeit schmelzen, die bei 60° klar wird. Wenig löslich in kaltem, leicht löslich in heißem Alkohol, leicht löslich in Äther und Essigäther. Acroleinreaktion positiv.

#### Analysen.

0,4006 g gaben 0,1119 g BrAg.

Berechnet für  $C_4H_6O_6Br$ :

Br = 11,40%

Gefunden:

Br = 11,89%

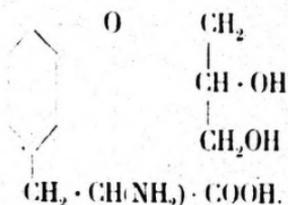
Es sind noch Versuche im Gange, um das von Gabriel<sup>1)</sup> dargestellte Diaminohydrin  $NH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(OH) \cdot CH_2 \cdot NH_2$  mit Chloracetylchlorid resp. Glycylchlorid zu kuppeln.

Mehr Erfolg als die beiden besprochenen Versuche hatte die Darstellung von Glycerinderivaten des Tyrosins, bei denen das Phenolhydroxyl des Tyrosins mit den Hydroxylgruppen des Glycerins ätherartig gebunden ist. Wir haben das Glycerinmonotyrosin:  $C_9H_{10}O_3N \cdot CH_2 \cdot CH \cdot OH \cdot CH_2OH$  in reinem Zustande gewonnen und ferner auch die Kondensationsprodukte aus Tyrosinnatrium und Di- resp. Trichlorhydrin dargestellt, in der Absicht Glycerin-di- und -trityrosin zu gewinnen. Die beiden letzteren wurden durch Erhitzen von Di- resp. Trichlorhydrin und Natriumtyrosinat in der gleichen Weise gewonnen, wie das unten eingehender beschriebene Glycerinmonotyrosin. Die große Schwerlöslichkeit dieser Körper erschwert ihre Reinigung außerordentlich.

Bemerkt sei noch, daß Tyrosinase das Glycerinmonotyrosin angreift. Nach einigem Stehen tritt Rotfärbung auf. Nach einiger Zeit erfolgt Abscheidung schwarzer Flocken. Die Reaktion erfolgt viel langsamer, als bei Verwendung von Tyrosin. Versuche, mit Ricinuslipase und mit Hefepreßsaft eine Hydrolyse herbeizuführen, hatten keinen Erfolg.

<sup>1)</sup> Gabriel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Jg. XXII, S. 225, 1889.

## Glycerinmonotyrosinäther.



In eine Lösung von 2,3 g Natrium (2 Äquivalente) in 100 ccm absolutem Alkohol werden 9 g feingepulvertes Tyrosin (1 Äqv.) in kleinen Portionen unter Erwärmen eingetragen. Das Tyrosin löst sich ziemlich leicht. Die Lösung wird dabei zuerst rötlichviolett, zuletzt braun. Nach dem Erkalten wird die Lösung unter Umrühren in 600 ccm absoluten, über Natrium getrockneten Äther eingegossen, wobei sich das Natriumtyrosinat als pulverige, sehr hygroskopische Masse abscheidet. Diese wird rasch filtriert und mit absolutem Äther gewaschen, dann in 150 ccm Alkohol mit 15 g  $\alpha$ -Monochlorhydrin (etwas mehr als 1 Äquivalent) 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Aus der zuerst klaren Lösung scheidet sich beim Erwärmen Kochsalz ab. Nach beendeter Reaktion wird die alkoholische Lösung im Vakuum eingedampft. Es hinterbleibt ein dicker Sirup, der beim Ansäuern mit verdünnter Essigsäure zu einem Krystallbrei erstarrt. Die abgesaugten Krystalle werden mit verdünntem Alkohol, absolutem Alkohol und Äther gewaschen und aus wenig heißem Wasser umkrystallisiert. Farblose Nadeln. Bräunen sich bei  $235^\circ$  und schmelzen bei  $245^\circ$  (unkorr.) unter Zersetzung. In kaltem Wasser ziemlich löslich, unlöslich in Alkohol, Äther usw., leicht löslich in heißem Wasser, verdünnten Säuren und Alkalien.

Millons Reaktion positiv; sie erfolgt in der Kälte erst nach einiger Zeit. In wässriger Lösung ist die Substanz optisch inaktiv.

1 g Glycerinmonotyrosinäther wurde 6 Stunden mit rauchender Salzsäure gekocht. Die Lösung färbte sich dabei bräunlich. Die zur Trockne verdampfte Lösung hinterließ eine braune, harzige Masse. Sie wurde mit 10 ccm n-NaOH versetzt, dann mit Essigsäure angesäuert, zur Trockne gedampft und mit Alkohol extrahiert. Der Rückstand (0,71 g) war unverändertes Ausgangsmaterial.

## Analysen:

0,1724 g Substanz gaben 0,3571 g  $\text{CO}_2$  und 0,1065 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

0,1660 > > brauchten nach Kjeldahl 6,2 ccm  $\frac{1}{10}$ -n-  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

	C	H	N
Berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_5\text{N}$ (252):	56,62	6,75	5,55
Gefunden:	56,49	6,91	5,24

Glycerinmonotyrosinäthylesterchlorhydrat. 1 g Glycerinmonotyrosinäther wurde mit der 5fachen Menge absolutem Alkohol übergossen und ein Salzsäurestrom eingeleitet, wobei die Substanz in Lösung ging. Beim Eindampfen im Vakuum hinterblieb ein dicker Sirup, der beim Zerreiben mit Äther und bei mehrwöchentlichem Stehen über konzentrierter Schwefelsäure nicht fest wurde. Das Produkt wurde nicht weiter untersucht.