

# Derivate von Aminosäuren.

Von

**Emil Abderhalden und Paul Blumberg.**

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

(Der Redaktion zugegangen am 10. März 1910.)

Es sind bereits eine ganze Reihe von Derivaten von Aminosäuren bekannt und manche von ihnen haben eine Bedeutung zur Identifizierung und auch zur Isolierung und Reinigung von Aminosäuren erlangt. Die meiste Verwendung fand in letzter Zeit wohl das  $\beta$ -Naphthalinsulfochlorid. Manche der damit gewonnenen Derivate haben sehr gute Eigenschaften, wie z. B. das  $\beta$ -Naphthalinsulfo-glycin, andere dagegen erschweren die Untersuchung — besonders, wenn kleine Mengen vorliegen — dadurch, daß sie schwerer krystallisieren und oft krystallwasserhaltig sind. Dazu kommt, daß es fast unmöglich ist, die  $\beta$ -Naphthalinsulfoderivate zur Trennung von Gemischen von Aminosäuren zu verwenden. Vielleicht geben diese Verbindungen nach erfolgter Veresterung bessere Resultate. Es erschien uns jedenfalls nicht als überflüssig, nach Derivaten zu suchen, die geeignet sind, aus Harn, aus Körperflüssigkeiten (Blut) usw. Aminosäuren abzuscheiden und eventuell Gemische zu trennen. Wir haben vorläufig Verbindungen mit Dinitrochlorbenzol dargestellt und ihre Eigenschaften studiert und ferner auch das Dinitro-dichlorbenzol in den Kreis unserer Untersuchung gezogen. Letzteres scheint keine Vorzüge gegenüber dem ersteren zu besitzen. Die mit Dinitrochlorbenzol gewonnenen Derivate zeigen gute Eigenschaften und lassen sich leicht in analysenreinem Zustande gewinnen. Das gilt jedoch nur für den Fall, daß man von analysenreinen Aminosäuren ausgeht. Versuche, Gemische zu trennen und Aminosäuren aus Harn zu gewinnen, ergaben keine wesentlichen Vorteile gegenüber dem  $\beta$ -Naphthalinsulfochlorid.

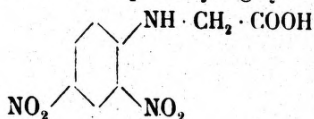
## Experimenteller Teil.

Man bringt 1 Molekül der Aminosäure in fein gepulvertem Zustande zusammen mit 2 Molekülen Natrium- oder Kaliumbicarbonat und etwa 10 ccm Wasser in einen Rundkolben und

erwärmt bis zur Lösung. Hierauf setzt man 1 Molekül 1-Chlor-2,4-dinitrobenzol, in der 10—15fachen Menge Alkohol warm gelöst, hinzu und kocht 2 Stunden am Rückflußkühler. Bleibt ein Rückstand, so filtriert man heiß ab, wäscht mit Alkohol und verdampft das Filtrat auf dem Wasserbade. Wenn die nach dem Vertreiben des Alkohols übrig bleibende Masse völlig erkaltet ist, übergießt man sie mit kaltem Wasser und läßt die Auflösung ohne Zerreiben vor sich gehen. Dann filtriert man durch ein Faltenfilter und prüft in einer Probe des Filtrates, ob beim Zusatz von Salzsäure zu der erhitzten Flüssigkeit eine ölige Fällung erfolgt oder nicht. Wenn auch in der Hitze der Niederschlag fest ist, versetzt man die Flüssigkeit kochend mit einem kleinen Überschuß von verdünnter Salzsäure, läßt erkalten und saugt ab; schließlich wird mit Wasser gewaschen und auf Ton abgepreßt. Die weitere Reinigung geschah meist in der Weise, daß die Substanz warm in ziemlich viel Eisessig gelöst, und die Lösung mit soviel Wasser versetzt wurde, bis bei mäßiger Wärme eine Trübung zu erscheinen begann. Diese wurde durch schwaches Erwärmen zum Verschwinden gebracht und die klare Lösung 1—4 Tage sich selbst überlassen. Die abgetrennten Krystalle wurden dann abgesaugt, mit Essigsäure und Wasser gewaschen, auf Ton abgepreßt und im Vakuum im Dampf von siedendem Aceton oder Toluol getrocknet.

Einwirkung von Dinitrochlorbenzol auf Glykokoll.

2,4-Dinitrophenyl-glycin.<sup>1)</sup>



Schöne goldgefärbte Krystalle vom Schmelzpunkt 205°. In kaltem Wasser wenig, in heißem gut löslich, in Aceton sehr leicht, in Methyl-, Äthylalkohol und Eisessig in der Kälte bedeutend, in der Hitze sehr gut löslich. Aus Methylalkohol mit Wasserzusatz in guten Krystallen zu erhalten. Ausbeute ca. 70%, roh 85%.

<sup>1)</sup> Diese Verbindung ist bereits von M. Guggenheim, Über Ortho-Nitrophenylglycine und ihre Reduktionsprodukte, Inaug.-Diss., Basel 1907; beschrieben worden.

0,1745 g Substanz: 0,2537 g CO<sub>2</sub>, 0,0477 g H<sub>2</sub>O.

0,1609 „ „ 24,0 ccm N (18°, 760 mm).

C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub> (241). Berechnet: C 39,83%, H 2,90%, N 17,42%.

Gefunden: C 39,65%, H 3,03%, N 17,13%.

### Einwirkung von Dinitrochlorbenzol auf Glykokollester.

#### 2,4-Dinitrophenyl-glycinester.<sup>1)</sup>

6,85 g Glykokollesterchlorhydrat werden mit 8,4 g Natriumbicarbonat und 10,1 g Dinitrochlorbenzol in ca. 100 ccm Alkohol 2 Stunden lang gekocht. Nach dem Erkalten ist der Alkohol ganz von Krystallen erfüllt. Die Flüssigkeit wird abgesaugt und der Rückstand mit kaltem Alkohol gewaschen. Aus Alkohol grünlichgelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 144°. Ausbeute 85%.

| Löslichkeit in: | kalt       | heiß   |
|-----------------|------------|--|
| Wasser          | sehr wenig | wenig  |
| Methylalkohol   | wenig      | mäßig  |
| Äthylalkohol    | wenig      | gut  |
| Aceton          | leicht     | leicht durch Wasserzusatz kurze dicke Prismen. |

Eisessig ziemlich leicht leicht.

0,1679 g Substanz: 0,2775 g CO<sub>2</sub>, 0,0653 g H<sub>2</sub>O.

0,1675 „ „ 22,2 ccm N (18°, 760 mm).

C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub> (269). Berechnet: C 44,61%, H 4,08%, N 15,23%.

Gefunden: C 45,07%, H 4,31%, N 15,51%.

### Einwirkung von Dinitrochlorbenzol auf dl-Alanin.

#### 2,4-Dinitrophenyl-dl-alanin.

3 Stunden am Rückflußkühler zu kochen. Schöne goldgelbe Blättchen. Schmelzpunkt 178°. Aus absolutem Alkohol mit Wasserzusatz umkrystallisiert. Löslichkeitsverhältnisse ganz ähnlich wie beim Glykokollderivat. Ausbeute 60%.

0,1663 g Substanz: 0,2590 g CO<sub>2</sub>, 0,0547 g H<sub>2</sub>O.

0,1620 „ „ 22,5 ccm N (16°, 758 mm).

C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub> (255). Berechnet: C 42,35%, H 3,53%, N 16,47%.

Gefunden: C 42,47%, H 3,65%, N 16,36%.

### Einwirkung von Dinitrochlorbenzol auf dl-Valin.

#### 2,4-Dinitrophenyl-dl-valin.

Prachtvolle goldgelbe Blättchen. Aus Methylalkohol oder Eisessig mit Wasserzusatz umkrystallisiert. Schmelzpunkt 185° nach vorhergehendem Sintern. Ausbeute: 85%.

<sup>1)</sup> M. Guggenheim, l. c.

|                 |                 |         |
|-----------------|-----------------|---------|
| Löslichkeit in: | kalt            | heiß    |
| Wasser          | wenig           | gering  |
| Methylalkohol   | ziemlich leicht | leicht  |
| Äthylalkohol    | leicht          | leicht  |
| Eisessig        | mäßig leicht    | leicht. |

0,1705 g Substanz: 0,2922 g CO<sub>2</sub>, 0,0724 g H<sub>2</sub>O.

0,1632 » » 20,6 ccm N (16°, 755 mm).

C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub> (283). Berechnet: C 46,64%, H 4,59%, N 14,84%.  
Gefunden: C 46,73%, H 4,46%, N 14,81%.

Einwirkung von Dinitrochlorbenzol auf dl-Leucin.

### 2,4-Dinitrophenyl-dl-leucin.

Gelbe Krystalle mit grünlichem Schimmer. Erst aus Eisessig und Wasser, dann aus Alkohol und Wasser umkrystallisiert. Schmelzpunkt 203°. (Rotfärbung.) Ausbeute: 170%.

Löslichkeitsverhältnisse: In Wasser schwer, in Methyl- und Äthylalkohol und Eisessig in der Kälte ziemlich leicht, in der Wärme sehr leicht löslich, in Aceton und Methyläthylketon leicht löslich.

0,1753 g Substanz: 0,3127 g CO<sub>2</sub>, 0,0810 g H<sub>2</sub>O.

0,1545 » » 18,3 ccm N (17,5°, 763 mm).

C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub> (297). Berechnet: C 48,48%, H 5,05%, N 14,14%.  
Gefunden: C 48,65%, H 5,13%, N 13,71%.

Einwirkung von Dinitrochlorbenzol auf Asparagin.

Gelbe Krystalle vom Schmelzpunkt 191—192° aus Eisessig mit Wasserzusatz. Aus Alkohol kommt die Substanz in kleinen Prismen heraus. Ausbeute: 60%.

0,1654 g Substanz: 0,2438 g CO<sub>2</sub>, 0,0523 g H<sub>2</sub>O.

0,1691 » » 27,6 ccm N (18°, 749 mm).

C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>N<sub>4</sub> (298). Berechnet: C 40,27%, H 3,36%, N 18,79%.  
Gefunden: C 40,20%, H 3,51%, N 18,68%.

Einwirkung von Dinitrochlorbenzol auf Histidin.

Histidin liefert nebeneinander zwei Reaktionsprodukte, von denen das eine ein Mono-, das andere ein Biderivat vorstellt.

1 Molekül Histidinchlorhydrat wird mit 4 Molekülen Natriumbicarbonat und 2 Molekülen Dinitrochlorbenzol in 100 ccm Alkohol 4 Stunden gekocht. Der Alkohol wird verdampft, der Rückstand in etwa 500 ccm Wasser gelöst und heiß mit verdünnter Salzsäure gefällt.

I. Der Niederschlag gibt, aus Eisessig mit Wasserzusatz umkrystallisiert, grünlich-gelbe Krystalle, welche sich im Kapillarrohr bei 250° zersetzen.

Wie die Analyse beweist, haben sich hier 2 Moleküle Dinitrochlorbenzol mit einem Molekül Histidin vereinigt.

0,1660 g Substanz: 0,2700 g CO<sub>2</sub>, 0,0456 g H<sub>2</sub>O.

0,1601 „ „ 27,6 ccm N (18°, 749 mm).

C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>O<sub>10</sub>N<sub>7</sub>. Berechnet: C 44,35%, H 2,66%, N 20,12%.

Gefunden: C 44,35%, H 3,05%, N 19,73%.

II. Das Filtrat gibt nach längerem Stehen lange, prachtvoll rote Nadeln, welche schon an der Luft und noch schneller beim Trocknen im Vakuum gelb werden. In heißem Wasser sind sie ziemlich löslich und lassen sich daraus umkrystallisieren.

0,1545 g Substanz: 0,2541 g CO<sub>2</sub>, 0,0506 g H<sub>2</sub>O.

0,1636 „ „ 30,5 ccm N (16°, 758 mm).

C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>O<sub>8</sub>N<sub>5</sub> (321). Berechnet: C 44,86%, H 3,42%, N 21,80%.

Gefunden: C 44,85%, H 3,63%, N 21,96%.

Das Mengenverhältnis der Produkte hängt von der Reaktionsdauer ab; nach 8stündigem Erhitzen ist fast ausschließlich das Biderivat vorhanden.

Einwirkung von Dinitro-dichlorbenzol auf dl-Leucin.

1 Molekül Leucin wird mit 2 Molekül Natriumbicarbonat und 1 Molekül Dinitro-dichlorbenzol, wie früher angegeben, zur Reaktion gebracht. Beim Fällen mit Salzsäure in der Hitze schied sich ein Öl ab, das beim Abkühlen halbfest wurde. Bringt man es mit warmem Eisessig durch Schütteln in Lösung, setzt Wasser bis zur Trübung zu und erwärmt, bis alles klar gelöst ist, so erhält man beim Abkühlen schöne kleine, grünlich-gelbe Blättchen. Diese schmelzen nach vorherigem Sintern bei 169° zu einer klaren, wenig gefärbten Flüssigkeit. Der Schmelzpunkt ändert sich nicht, wenn dieselbe Behandlung wiederholt wird. Ausbeute ca. 60%.

0,1587 g Substanz: 0,2517 g CO<sub>2</sub>, 0,0615 g H<sub>2</sub>O.

0,1528 „ „ 16,8 ccm N (17°, 767 mm).

C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub>Cl (331). Berechnet: C 43,50%, H 4,23%, N 12,69%.

Gefunden: C 43,49%, H 4,26%, N 12,81%.