

Pyridin wurde mit 4 g Carbobenzoxy-*l*-asparaginsäure-anhydrid 2 Stdn. bei Raum-Temperatur aufbewahrt, dann mit Wasser verdünnt und mit 150 ccm Äther und 40 ccm 5-*n*. Salzsäure kräftig geschüttelt. Beide Schichten schieden bald Krystalle ab, die, aus Alkohol umgelöst, Nadeln vom Schmp. 203° (korr.) in einer Gesamtmenge von 2 g ergaben. Die ätherische Mutterlauge schied weiterhin Krystalle von viel tieferem Schmp. ab, die wir noch nicht untersucht haben.

$C_{23}H_{26}O_8N_2$  (458.2). Ber. C 60.24, H 5.72, N 6.11. Gef. C 60.30, H 5.85, N 6.00.

Die Verseifung der Äthylestergruppen zum freien Carbobenzoxy-dipeptid mit 3 Mol. 2-*n*. Natronlauge während 45 Min. bei 18° ergab beim Ansäuern lange Nadeln in quantitativer Ausbeute vom Schmp. 110°. Sie enthielten 1 Mol. Krystallwasser, das selbst im Hochvakuum bei 78° kaum zu entfernen war.

Zur Analyse diente die luft-trockne Substanz.

$C_{21}H_{21}O_8N_2 + H_2O$  (448.2). Ber. N 6.25. Gef. N 6.19.

Die Verbindung löst sich in den meisten organischen Mitteln leicht, dagegen schwer in kaltem Wasser.

Freies Dipeptid: Aus der eben beschriebenen Carbobenzoxy-Verbindung durch Hydrierung in Gegenwart von Palladiummohr, Filtrieren und Eindampfen. Der Rückstand gab, in sehr wenig Wasser gelöst und mit viel absol. Alkohol versetzt, in quantitativer Ausbeute dicke Tafeln. Das Dipeptid färbt sich gegen 230° dunkel. Es löst sich nur in Wasser und in viel heißem Methanol.

$C_{19}H_{18}O_8N_2$  (296.1). Ber. C 52.68, H 5.45, N 9.46. Gef. C 52.76, H 5.55, N 9.38.

$[\alpha]_D^{18} = +1.43^\circ \times 3.9909/1 \times 1.026 \times 0.0926 = +60.1^\circ$  (in Wasser, das 1 Mol. HCl enthielt).

## 227. Max Bergmann und Leonidas Zervas: Über die Synthese von Glucopeptiden des *d*-Glucosamins (*N*-Glycyl-*d*-glucosamin und *N*-*d*-Alanyl-*d*-glucosamin).

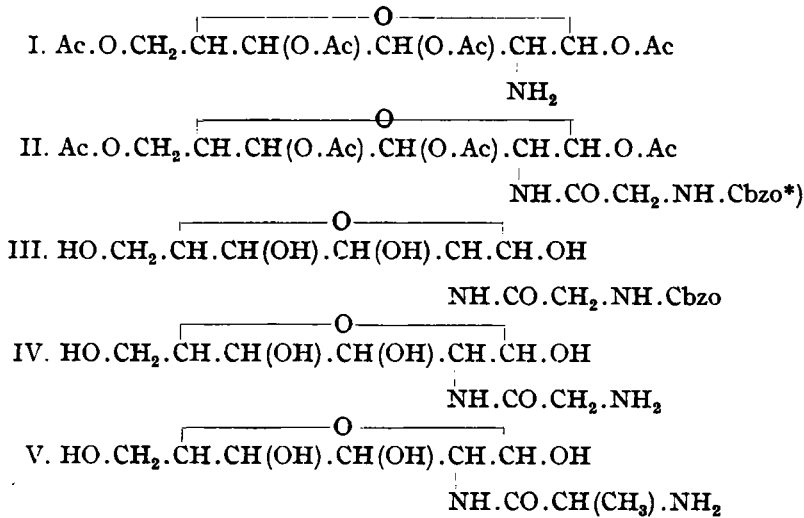
[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Lederforschung in Dresden.]

(Eingegangen am 18. Juni 1932.)

Vor einem Jahr haben wir ein Verfahren mitgeteilt, das zur Synthese von Glucopeptiden dienen sollte, indem es die partielle Substitution der Aminogruppe des Glucosamins ermöglichte. Wir besetzten zunächst die Aminogruppe des Glucosamins mit Anisaldehyd, acetylierten die entstandene Schiffsche Base zur Tetracetylverbindung, spalteten den Anisaldehyd wieder ab und konnten nun in die wieder freigelegte Aminogruppe unschwer verschiedene Acylgruppen einführen. Wenn wir dann hinterher mit Alkalien die *O*-Acetyle abspalteten, blieb das zuletzt eingeführte Acyl am Stickstoff sitzen<sup>1)</sup>. Trotz der verschiedenen erforderlichen Zwischenstufen verliefen derartige Synthesen quantitativ sehr befriedigend.

<sup>1)</sup> B. 64, 975 [1931]. Dort sind die verschiedenen Stufen des Verfahrens durch Formeln veranschaulicht.

Nach diesem Verfahren haben wir vor einiger Zeit Glycyl-*d*-glucosamin<sup>2)</sup> und neuerdings auch *d*-Alanyl-*d*-glucosamin bereitet. Auf das Tetracetylglucosamin<sup>1)</sup> (I) haben wir das Chlorid des Carbobenzoxy-glykoll<sup>3)</sup> wirken lassen und so *N*-[Carbobenzoxy-glycyl]-tetracetyl-*d*-glucosamin (II) erhalten, das mit Alkali in die acetyl-freie Verbindung III verwandelt wurde und bei der katalytischen Hydrierung<sup>3)</sup> in salzsaurer Lösung das Hydrochlorid des Glycyl-*d*-glucosamins (IV) ergab. Die Synthese des salzsauren *d*-Alanyl-*d*-glucosamins (V) wurde ganz analog durchgeführt. Unsere beiden synthetischen Glucopeptide sind schön kristallisierte Stoffe, die Fehlingsche Lösung in der Wärme reduzieren und genau 1 Atom van-Slyke-Stickstoff pro Molekül abgeben. Sie zeigen kräftige Rechtsdrehung, die schnell abfällt; sie gehören also in die  $\alpha$ -Reihe in bezug auf die Konfiguration der Lactolgruppe des Glucosamins. Mit der fermentativen Untersuchung der beiden reinen Glucopeptide sind wir beschäftigt.



\*) Cbzo = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>.CH<sub>2</sub>.O.CO

Fast gleichzeitig mit uns und ebenfalls unter Verwendung unseres Tetracetylglucosamins haben A. Bertho und J. Maier<sup>4)</sup> sich mit der Synthese von Glucopeptiden beschäftigt. Sie verwenden jedoch zur Einführung des Amino-säure-Restes die wenig geeigneten Azido-fettsäuren in racemischem Zustand. Das von Bertho und Maier beschriebene „Alanyl-*d*-glucosamin“ und das weiterhin daraus bereitete „Dialanyl-*d*-glucosamin“ waren nicht kristallisiert, waren in optischer Beziehung uneinheitliche Gemische und gaben im Gegensatz zu unseren Präparaten nur 65–70% van-Slyke-Stickstoff. Die Präparate von Bertho und Maier waren also auf jeden Fall mit großen Mengen von unerwünschten Nebenprodukten verunreinigt, und

<sup>2)</sup> Die Synthese wurde von uns bereits am 31. Oktober 1931 in einer deutschen Patentanmeldung niedergelegt; vergl. ferner Ztschr. angew. Chem. 45, 282 [1932] und Naturwiss. 20, 420 [1932].

<sup>3)</sup> vergl. die voranstehende Mitteilung.

<sup>4)</sup> A. 495, 113 [1932].

das von den genannten Forschern benutzte Azido-Verfahren ist in der bisherigen Form nicht geeignet zur Gewinnung von sterisch und strukturell einheitlichen Glucopeptiden. Vielleicht läßt es sich mit etwas besserem Ergebnis anwenden, wenn man die Hydrierung der Azido- zur Aminogruppe in Gegenwart von 1 Mol. Säure vornimmt, um die bekannte Anhydrid-Bildung<sup>5)</sup> zwischen der entstehenden Aminogruppe und der Aldehydgruppe des Glucosamins zu verhindern. Aber auch dann wird die Azido-Methode noch immer in ihrer Eignung hinter unserem Carbobenzoxy-Verfahren an Bequemlichkeit und einheitlichem Ergebnis zurückstehen.

Will man schnell und ohne Rücksicht auf die Ausbeute in den Besitz von etwas *N*-Glycyl-*d*-glucosamin oder *N*-*d*-Alanyl-*d*-glucosamin gelangen, so kann man auch einfach den Amino-zucker in wäßriger Lösung mit den Carbobenzoxy-aminosäure-chloriden kuppeln und die krystallisierten Zwischenstufen hydrieren. In dem Erfolg dieser Versuche zeigt sich wieder die bequeme Handhabung der Carbobenzoxy-aminosäuren. Trotzdem sind die von uns mitgeteilten umständlicheren Synthesen wegen ihrer Übersichtlichkeit nicht überflüssig, um so weniger, als sie den Weg für die Synthese komplizierterer Glucopeptide ebnen.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danken wir ganz ergebenst für die Gewährung von Mitteln zu dieser Arbeit.

### Beschreibung der Versuche.

#### Synthese von *N*-Glycyl-*d*-glucosamin.

*N*-[Carbobenzoxy-glycyl]-*O*-tetracetyl- $\beta$ -*d*-glucosamin: Die auf  $-10^{\circ}$  abgekühlten Lösungen von Tetracetyl-glucosamin<sup>1)</sup> (1 Mol.) und Carbobenzoxy-glycylchlorid (1 Mol.) (vergl. voranstehende Mitteilung) in trockenem Chloroform wurden nach Zusatz von etwa 4 Mol. trockenem Pyridin vermischt. Nachdem die Lösung noch etwa 1 Stde. bei Zimmer-Temperatur gestanden hatte, wurde sie der Reihe nach mit verd. Salzsäure, Bicarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet, im Vakuum verdampft und der Rückstand in heißem Alkohol gelöst. Beim Abkühlen schied sich das Reaktionsprodukt in Nadeln aus. Ausbeute mindestens 70% d. Th. Schmp.  $165^{\circ}$  (korrt.).

$C_{24}H_{30}O_{12}N_2$  (538.2). Ber. C 53.51, H 5.62, N 5.21. Gef. C 53.69, H 5.79, N 5.14.

Leicht löslich in Chloroform. Essigester, schwer löslich in den anderen organischen Lösungsmitteln.

*N*-[Carbobenzoxy-glycyl]-*d*-glucosamin: Die Lösung des Acetats in trockenem Chloroform (1 Mol.) wurde bei etwa  $-5^{\circ}$  mit 4 Mol. einer *n*-Natriummethylat-Lösung versetzt, 10 Min. bei dieser und noch weitere 10 Min. bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt, dann mit der berechneten Menge *n*-Schwefelsäure versetzt und das Ganze im Vakuum bei etwa  $40^{\circ}$  zur Trockne verdampft. Bei kurzem Auskochen des Rückstandes mit mehreren Portionen absol. Alkohol und weitgehendem Einengen der Auszüge im Vakuum schied sich die Carbobenzoxy-Verbindung in kugeligen Krystall-Aggregaten ab. Sie wurden aus absol. Alkohol umgelöst. War die Lösung

<sup>5)</sup> Ch. Weizmann u. A. Hopwood, Proc. Roy. Soc. London (A) 88, 455 [1913]; A. Bertho, F. Hölder, W. Meiser u. F. Hüther, A. 485, 127 [1931]; M. Bergmann u. L. Zervas, B. 64, 975 [1931].

nicht zu konzentriert, so schieden sich bald lange Nadeln in einer Menge von etwa 75% d. Th. ab. Sie schmolzen bei 181° (korr.) zu einer zähen Flüssigkeit und zersetzten sich gegen 193° unter Aufschäumen.

$C_{16}H_{22}O_8N_2$  (370.2). Ber. C 51.86, H 5.99, N 7.57. Gef. C 51.91, H 6.09, N 7.59.

$[\alpha]_D^{20} = +0.62 \times 3.7250/1 \times 0.800 \times 0.0721 = 40.0^\circ$  (in Methanol, 1 Stde. nach der Auflösung).

Ziemlich löslich in Wasser, schwer löslich in kaltem Alkohol und den anderen organischen Lösungsmitteln.

Zur direkten Darstellung des Carbobenzoxy-glycyl-glucosamins aus Glucosamin-Hydrochlorid wurden 2.1 g Hydrochlorid in 10 ccm *n*-Natronlauge bei 0° portionsweise mit der Lösung von 2.2 g Carbobenzoxy-glycylchlorid in 10 ccm wasserfreiem Äther und 10 ccm *n*-Natronlauge innerhalb von 15 Min. unter Schütteln versetzt, dann mit Salzsäure schwach kongosauer gemacht, zur Trockne verdampft, mit absol. Äthanol ausgekocht und das Carbobenzoxy-peptid analog der oben gegebenen Vorschrift isoliert. 0.6 g vom Schmp. 193° (korr.).

*N*-Glycyl-*d*-glucosamin-Hydrochlorid: Die Lösung der voranstehenden Carbobenzoxy-Verbindung in Wasser-Methanol (1 : 1), welches 1 Mol. Salzsäure enthielt, wurde in offenem Gefäß in Gegenwart von Palladiumschwarz hydriert. Nach etwa 1/4 Stde. hörte die Kohlensäure-Entwicklung auf, und die Hydrierung war beendet. Nach dem Verdampfen im Vakuum (Bad 40°), Lösen des Rückstandes in Wasser und Versetzen mit absol. Alkohol wurde das Glucopeptid mit quantitativer Ausbeute in langen Nadeln erhalten. Es krystallisiert wasserfrei und hat keinen eigentlichen Schmelzpunkt: Gegen 170° fängt es an, sich dunkel zu färben; bei weiterem Erhitzen wird es immer dunkler.

0.1217 g getr. Stbst.: 0.1564 g CO<sub>2</sub>, 0.0688 g H<sub>2</sub>O. — 4.685 mg getr. Stbst.: 0.416 ccm N (20°, 752 mm, nach Pregl). — 14.79 mg getr. Stbst.: 1.45 ccm N nach van Slyke (23°, 746 mm, 1-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). — 9.748 mg getr. Stbst.: 5.155 mg AgCl.

$C_8H_{17}O_4N_2Cl$  (272.6). Ber. C 35.22, H 6.29, N 10.28, Amino-N 5.14, Cl 13.01.  
Gef. „ 35.05, „ 6.33, „ 10.24, „ 5.40, „ 13.08.

Die Lösung von 0.1788 g Stbst. in Wasser vom Gesamtgewicht 3.7474 g und  $d^{18} = 1.036$  zeigte in 1-dcm-Rohr 5 Min., 1 Stde., 2 Stdn., 3 Stdn. nach der Auflösung +3.02°, +1.99°, +1.60°, +1.47° (konstant). Also Enddrehung  $[\alpha]_D^{20} = +29.7^\circ$  (in Wasser).

Das Glucopeptid ist nur in Wasser leicht löslich. Es reduziert Fehling'sche Lösung in der Wärme, ferner gibt es eine starke Biuret-Reaktion.

Das Verhalten dieses und anderer Glucopeptide im freien Zustand (nach Abstumpfen des Chlorwasserstoffs) und insbesondere ihre Neigung zur Anhydrid-Bildung soll demnächst untersucht werden.

#### Synthese von *d*-Alanyl-*d*-glucosamin.

*N*-[Carbobenzoxy-*d*-alanyl]-*O*-tetracetyl-β-*d*-glucosamin: Aus Carbobenzoxy-*d*-alanyl-chlorid und *O*-Tetracetyl-glucosamin auf dieselbe Weise wie die entsprechende Carbobenzoxy-glycyl-Verbindung. Zur Umsetzung gelangten 10 g Tetracetyl-glucosamin<sup>1)</sup> und die Chloroform-Lösung des frisch aus 8.5 g Carbobenzoxy-*d*-alanin nach der in der voranstehenden Mitteilung beschriebenen Methode dargestellten Säurechlorids. Ausbeute 10 g. Nadeln vom Schmp. 172° (korr.).

$C_{35}H_{52}O_{12}N_2$  (552.3). Ber. C 54.34, H 5.84, N 5.07. Gef. C 54.28, H 6.02, N 5.10.

Leicht löslich in Chloroform und Essigester, Pyridin sowie in heißem Alkohol. In den anderen organischen Lösungsmitteln schwer löslich.

*N*-[Carbobenzoxy-*d*-alanyl]-*d*-glucosamin: Aus der eben beschriebenen Acetylverbindung durch Verseifen mit Natriummethylat-Lösung auf dieselbe Weise wie bei der entsprechenden Glycylverbindung beschrieben. Beim Ansäuern mit Essigsäure fiel die Hauptmenge der Substanz sofort aus, ein kleiner Teil wurde durch Verdampfen der Mutterlauge und Aufnehmen des Rückstandes in Wasser gewonnen. Ausbeute fast quantitativ. Nach der Umkrystallisation aus der 100-fachen Menge 50-proz. Methanol wurden lange Nadeln vom Schmp. 232° (korr.) erhalten.

$C_{17}H_{24}O_8N_2$  (384.2). Ber. C 53.10, H 6.30, N 7.29. Gef. C 53.26, H 6.38, N 7.27.

Äußerst schwer löslich in fast allen Lösungsmitteln.

*d*-Alanyl-*d*-glucosamin-Hydrochlorid: Durch katalytische Hydrierung einer Suspension der eben beschriebenen Carbobenzoxy-Verbindung in Methanol-Wasser, das 1 Mol. Salzsäure enthielt, analog wie beim Glycyl-glucosamin. Nach kurzer Zeit war klare Lösung eingetreten, und die Hydrierung war beendet. Beim Verdampfen im Vakuum, Aufnehmen des Rückstandes in sehr wenig Wasser und Versetzen mit absol. Alkohol wurden in quantitativer Ausbeute schöne, würfelförmige Krystalle erhalten, die zur Analyse bei 78° und 0.2 mm über Phosphorpentoxyd bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurden.

0.1245 g getr. Sbst.: 0.1714 g  $CO_2$ , 0.0726 g  $H_2O$ . — 5.280 mg getr. Sbst.: 0.447 ccm N (20°, 749 mm, nach Pregl). — 12.87 mg getr. Sbst.: 1.08 ccm N nach van Slyke (24°, 745.5 mm, 1-proz. Schwefelsäure). — 13.985 mg getr. Sbst.: 7.095 mg AgCl.

$C_8H_{19}O_8N_2Cl$  (286.6). Ber. C 37.68, H 6.68, N 9.78, Amino-N 4.89, Cl 12.37. Gef. „ 37.55, „ 6.53, „ 9.72, „ 4.60, „ 12.55.

Die Lösung von 0.1380 g Glucopeptid in Wasser (Gesamtgewicht = 3.8016,  $d^{18} = 1.031$ ) drehte in 1-dcm-Rohr das polarisierte Licht: 5 Min., 1 Stde., 2, 3, 4 und 5 Stdn. nach der Auflösung  $\alpha = +2.53^\circ$ ,  $+1.88^\circ$ ,  $+1.62^\circ$ ,  $+1.56^\circ$ ,  $+1.53^\circ$  und  $+1.53^\circ$ . Mithin beträgt die Enddrehung:  $[\alpha]_D^{20} = +40.9^\circ$  (in Wasser).

Das Glucopeptid ist nur in Wasser leicht löslich. Beim Erhitzen sintert es stark gegen 150°, schäumt gegen 155° auf unter zunehmender Dunkel-färbung. Es reduziert Fehlingsche Lösung in der Wärme und gibt eine starke Biuret-Reaktion.

## 228. Felix Seidel: Über die Bildung des Triacetyl-essigesters.

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Tübingen.]

(Eingegangen am 13. Juni 1932.)

Während die Existenz und die Konstitution des Mono- und Dibenzoyl-acetessigesters<sup>1), 2), 3), 4)</sup> jederzeit anerkannt wurden, enthält die Literatur über Mono- (I) und Diacetyl-acetessigester (II)<sup>5), 6), 7)</sup> viele und widerspruchsvolle Angaben. Sie stimmen nur soweit überein, daß diese Acetylverbindungen bei der Mehrzahl der angeführten Reaktionen mit auf-

<sup>1)</sup> J. Bonné, A. 187, 1 [1877].

<sup>2)</sup> E. Fischer u. C. Bülow, B. 18, 2131 [1885].

<sup>3)</sup> U. Nef, A. 266, 98 [1891].

<sup>4)</sup> E. Lippmann, Ztschr. Chem. 1869, 29.

<sup>5)</sup> W. James, A. 226, 210 [1884].

<sup>6)</sup> U. Nef, A. 266, 102 [1891].

<sup>7)</sup> H. v. Pechmann, B. 25, 1040 [1892].