

Abbildungen dieser ungereinigten Kohlenstoffe mit den X-Carbid-Linien können wir leider noch nicht bringen, da auf den sehr dunklen Aufnahmen die Linien nach der Reproduktion kaum mehr zu erkennen sein würden.

Aufnahmen von dem bei 900° aus Benzin ohne Kontakt abgeschiedenen Glanzkohlenstoff gaben das bekannte Röntgen-Bild in bester Übereinstimmung mit früheren Aufnahmen, wie sie bei der Arbeit über Glanzkohlenstoff<sup>24)</sup> reproduziert wurden.

### 181. Leonidas Zervas und Max Bergmann:

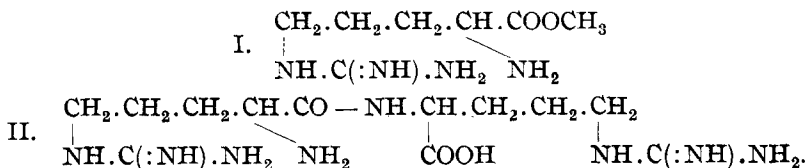
Das sogen. Arginyl-arginin von E. Fischer, ein  $\alpha, \delta$ -Bisguanido-*n*-valeriansäure-anhydrid. (25. Mitteilung über Umlagerungen peptid-ähnlicher Stoffe.

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

(Eingegangen am 23. April 1928.)

Bei der Selbstkondensation des *d*-Arginin-methylesters (I), die bei Zimmer-Temperatur leicht von statten geht, erhielten E. Fischer und U. Suzuki<sup>1)</sup> ihr „Arginyl-arginin“, das sie durch ein Pikrat vom Schmp. 218° und durch ein Nitrat kennzeichneten. Sie sprachen allerdings ihre Vermutung, daß es sich um ein Dipeptid des Arginins handele, nur mit Vorbehalt aus, und zwar deshalb, weil sie ihr Präparat auch bei längerem Verköchen mit Säuren nicht wieder zu Arginin aufspalten konnten. Ferner ergab die Stickstoff-Analyse des Nitrats nach Dumas stets viel zu hohe Werte.

Wegen der überragenden Bedeutung, welche einem arginin-haltigen Peptid für die Erforschung der Proteine und insbesondere der Protamine zukommen würde, haben sich in den letzten Jahren verschiedene Forscher wieder mit dem „Arginyl-arginin“ beschäftigt. S. Edlbacher und P. Bonem<sup>2)</sup> glaubten, die Hydrolyse des „Arginyl-arginins“ zu Arginin durch 14-stdg. Einwirkung von 25-proz. Schwefelsäure in der Hitze erzwungen zu haben, wobei sie das Arginin mit nahezu quantitativer Ausbeute als Pikrolonat vom Schmp. 226° isoliert haben wollten. Damit schien die größte Schwierigkeit beseitigt, welche der Auffassung des Präparates von Fischer und Suzuki als echtes Arginyl-arginin entgegenstand. Weiter entfernten Edlbacher und Bonem aus dem Pikrat des „Arginyl-arginins“ die Pikrinsäure und fanden dann gegen 14% des Stickstoffs formol-titrierbar. Ferner konnten sie durch Spaltung mit Arginase 20–21% des Gesamtstickstoffs als Harnstoff abspalten, den sie nach Zusatz von Urease als Ammoniak bestimmten. Auch diese Befunde wurden im Sinne der Formel II eines Arginyl-arginins gedeutet.



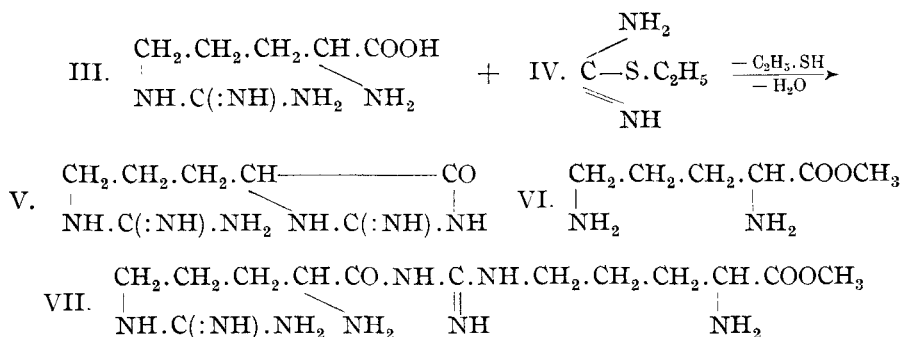
<sup>24)</sup> B. 59, 2433 [1926].

<sup>1)</sup> B. 38, 4173 [1905].

<sup>2)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 145, 69 [1925].

In Übereinstimmung mit Fischer und Suzuki konnten A. Kossel und W. Staudt<sup>3)</sup> bei der Hydrolyse des „Arginyl-arginins“ kein Arginin erhalten, auch nicht, wenn sie tagelang mit Schwefelsäure auf hohe Temperatur erhitzen. Das von Edlbacher und Bonem beschriebene Pikrolonat ist nach Kossel und Staudt kein Salz des Arginins, sondern das Salz des ungespaltenen „Arginyl-arginins“ von Fischer. In jüngster Zeit haben schließlich E. Waldschmidt-Leitz, A. Schöffner, H. Schlatter und W. Klein<sup>4)</sup> an einem Originalpräparat Fischers festgestellt, daß das „Arginyl-arginin-Nitrat“ weder durch Darm-Erepsin, noch durch Trypsin-Kinase gespalten wird. Dies bestärkte die vorhandenen Zweifel an der einfachen Peptid-Natur des Fischerschen Präparates, um so mehr, als dieselben Forscher die bemerkenswerte Feststellung von Kossel und Staudt bestätigten, daß die „Dioxo-piperazin-Reaktion“ mit Pikrinsäure beim „Arginyl-arginin“ stark positiv ausfällt.

Die bisherigen Unklarheiten über die Natur des „Arginyl-arginins“ werden beseitigt durch unsere Feststellung, daß es sich nicht um ein Anhydrid, Peptid oder Peptid-anhydrid des Arginins handelt, sondern um ein  $\alpha, \delta$ -Bisguanido-*n*-valeriansäure-anhydrid (V), das in racemisiertem Zustand vorliegt. Das Pikrat von Fischer und Suzuki mit dem Schmp. 218<sup>0</sup> besteht zum größeren Teil aus dem Pikrat dieses Anhydrids; das nach Fischers Vorschrift bereitete Nitrat ist das reine Dinitrat desselben Anhydrids. Wir belegen unsere Auffassung erstens durch wiederholte Elementaranalysen des nach Fischer bereiteten Nitrates und des daraus gewonnenen Pikrates, sowie durch den negativen Ausfall der Probe auf Formol-Stickstoff und van-Slyke-Stickstoff. Zweitens konnten wir das Bisguanido-valeriansäure-anhydrid synthetisieren, indem wir in *d*-Arginin (III) mit Hilfe von *S*-Äthyl-*i*-thioharnstoff-Hydrobromid (IV) nach dem bekannten Verfahren einen zweiten Guanidinrest einführten. Hierbei erhielten wir zuerst das optisch-aktive Dinitrat des Bisguanido-valeriansäure-anhydrids V, das nach der sehr leicht erreichbaren Racemisation völlig identisch mit dem nach Fischer bereiteten Nitrat wurde.



Drittens können wir für die auf den ersten Blick überraschend erscheinende Bildung einer Bisguanidosäure bei der Selbstkondensation des Arginin-esters das folgende einfache Schema geben, das wir in seinen

<sup>3)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **170**, 91 [1927].

<sup>4)</sup> B. **61**, 299 [1928].

wesentlichsten Punkten experimentell bestätigen konnten: Sobald man den Arginin-ester aus seinem Chlorhydrat unter den von Fischer und Suzuki angegebenen Bedingungen in Freiheit setzt, tritt die Guanidogruppe eines Ester-Moleküls mit der Estergruppe eines zweiten Ester-Moleküls unter Guanidid-Bildung zusammen. Dabei entsteht primär der Methylester eines Arginyl-arginins VII, das sich von dem bisher unbekanntem Typus der Arginin-peptide mit Peptid-Bindung an der Guanidogruppe ableitet. Die Verbindung VII ist allerdings nicht faßbar, weil sie sich schnell weiter verändert. Im zweiten Stadium des Prozesses reagiert nämlich die Peptid-guanidogruppe mit der benachbarten  $\alpha$ -Aminogruppe unter Ringschluß. Dabei entsteht das  $\alpha, \delta$ -Bisguanido-*n*-valeriansäure-anhydrid V und daneben wird Ornithin-methylester (VI) bzw. ein ihm nahestehendes Umwandlungsprodukt (vielleicht freies Ornithin oder Amino-piperidon) abgespalten.

Ohne zu entscheiden, in welcher spezielleren Form das Ornithin abgespalten wird, haben wir zunächst den Hauptwert darauf gelegt, seine reichliche Entstehung sicherzustellen. Es muß bei der Arbeitsweise Fischers in die Mutterlauge des Pikrats vom Schmp. 218<sup>0</sup> gehen. Diese haben wir nach Entfernung der darin vorhandenen Pikrinsäure direkt benzoylet und *d*-Ornithursäure erhalten, deren Menge (über 30% d. Th.) ungefähr der Ausbeute an dem reinen Nitrat des Bisguanidosäure-anhydrids entspricht. Die Selbstkondensation des Arginin-methylesters führt also zu einer Disproportionierung von Arginin zu Ornithin und Bisguanido-valeriansäure.

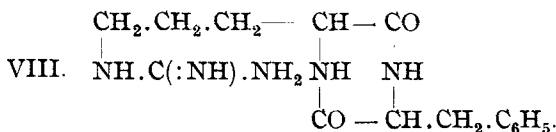
Die Erkenntnis, daß im „Arginyl-arginin“ das Anhydrid der Bisguanido-valeriansäure vorliegt, erklärt die vergeblichen Bemühungen verschiedener Forscher, durch Säure-Hydrolyse Arginin zu regenerieren oder überhaupt eine Aufspaltung in kleinere Bruchstücke zu erreichen. Auch das negative Verhalten gegen Trypsin und Erepsin wird ohne weiteres verständlich. Die starke Rotfärbung mit alkalischer Pikrinsäure-Lösung entspringt der strukturellen Ähnlichkeit mit dem Kreatinin, an welchem bekanntlich die Pikrinsäure-Reaktion entdeckt wurde.

Die von uns nicht bestätigten Befunde von Kossel und Staudt, sowie von Edlbacher und Bonem über positiven van-Slyke- und Formol-Stickstoff erklären sich daraus, daß jene Forscher von einem Pikrat mit dem Schmp. 218<sup>0</sup> ausgegangen sind; dieses Pikrat ist aber bestimmt nicht einheitlich, obwohl es auch nach wiederholtem Umkrystallisieren seinen Schmelzpunkt nicht ändert. Reinigt man es jedoch über das Nitrat, so erhält man, wie wir feststellen konnten, einen um 10<sup>0</sup> höheren Schmelzpunkt. Auch die Literatur-Angabe, daß „Arginyl-arginin“ durch Arginase unter Harnstoff-Bildung gespalten werden soll, bezieht sich auf ein Präparat, das aus dem niedrig schmelzenden Pikrat gewonnen wurde. Sie muß an reinem Bisguanido-valeriansäure-anhydrid erneut geprüft werden.

Merkwürdigerweise ist allen bisherigen Untersuchern entgangen, daß reines „Arginyl-arginin-Nitrat“ optisch völlig inaktiv ist<sup>5)</sup>. Wie aber schon erwähnt wurde, ist es uns gelungen, von *d*-Arginin ausgehend, ein optisch-

<sup>5)</sup> Wenn Kossel und Staudt eine beträchtliche optische Aktivität angeben, so gilt dies offenbar für eine Base, die aus dem niedrig schmelzenden Pikrat gewonnen war, was wieder nur dessen mangelnde Einheitlichkeit beweist.

aktives Dinitrat des Bisguanido-valeriansäure-anhydrids zu gewinnen, das als Dinitrat nach links dreht, das wir aber trotzdem wegen seiner genetischen Beziehung zum *d*-Arginin *d*-Form nennen. Bemerkenswert ist nun die außerordentlich schnelle Autoracemisation, welche das freie Bisguanidosäureanhydrid erleidet, sobald man es aus dem Nitrat durch Zugabe der entsprechenden Menge Alkalilauge in Freiheit setzt. Unter diesen Umständen ist bei 20° und in verdünnter wäßriger Lösung schon nach etwa 1½ Stdn. jede Aktivität verschwunden. Diese Erscheinung verdient um so mehr Interesse, als sie nicht vereinzelt dasteht. Bergmann und Köster haben schon früher in einer unveröffentlichten Untersuchung festgestellt, daß *d*-Phenylalanyl-*d*-arginin-anhydrid von der Formel VIII als freie Base ebenfalls und ebenso schnell autoracemisiert wird.



Der Vergleich der Formeln V und VIII zeigt, daß in beiden Fällen das Carboxyl und das benachbarte asymmetrische Kohlenstoffatom mit seiner Stickstoffgruppe in einem Ring sitzen und unter dem Einfluß einer Guanidogruppe stehen. Die Versuche von Bergmann und Köster sprechen dafür, daß die Ringbildung des Asymmetrie-Zentrums eine Vorbedingung der Autoracemisation ist. Diese wird dann durch die Basizität der Guanidogruppe ausgelöst und mit überraschender Schnelligkeit zu Ende geführt. Sollte Arginin in den Protaminen an ähnlichen Ringsystemen beteiligt sein, so müßte unter geeigneten Umständen leichte Autoracemisation eintreten. Wir werden diese Frage prüfen.

Da die leichte Autoracemisation des Bisguanido-valeriansäure-anhydrids im sauren Medium ausbleibt, schließen wir, daß sie beim Arbeiten nach Fischer und Suzuki schon in direktem Anschluß an die Selbstkondensation des Arginin-esters eingetreten sein muß. Darum ist auch die Disproportionierung des Arginins schon in diesem Stadium erfolgt.

Unsere Erklärung der Selbstkondensation des Arginin-esters erinnert an die schöne Synthese des Glykocyamins (X) aus Glykokoll-ester und Guanidin durch W. Traube und R. Ascher<sup>6)</sup>. Dort reagiert freies Guanidin mit der Estergruppe unter Bildung von Aminoacetyl-guanidin (IX), das dann unter Abspaltung von Ammoniak den Glyoxalinring zu X schließt:



Nach E. Abderhalden und H. Sichel treten auch bei anderen  $\alpha$ -Aminosäure-estern mit Guanidin ähnliche Reaktionen ein. Das abgespaltene Ammoniak stammt aus dem Guanidinrest<sup>7)</sup>.

In unserem Fall ist sowohl das Guanidin wie der Aminosäure-ester erheblich komplizierter gebaut (beide Rollen spielt der Arginin-ester), und an Stelle von Ammoniak wird ein ganzer Ornithinrest abgespalten. Es liegt

<sup>6)</sup> B. 46, 2077 [1913].

<sup>7)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 173, 51 [1927] und 175, 68 [1928].

nahe, auch andere Aminosäure-ester mit Arginin-ester umzusetzen. Beim Glykokoll-ester haben wir aber bisher nur eine starke Beschleunigung der Bildung von Glycin-anhydrid feststellen können.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft sprechen wir für die Gewährung von Mitteln ehrerbietigsten Dank aus.

### Beschreibung der Versuche.

Umwandlung von *d*-Arginin-ester in *d, l*- $\alpha, \delta$ -Bisguanido-*n*-valeriansäure-anhydrid und *d*-Ornithin.

Die von E. Fischer und U. Suzuki für die Darstellung des sog. Arginyl-arginins gegebene Vorschrift verläuft nach den Angaben der Literatur mit wechselndem Ergebnis. Die folgende Arbeitsweise führt mit Sicherheit zum Ziel:

5 g *d*-Arginin-methylester-Dihydrochlorid<sup>8)</sup> wurden unter dauernder Kühlung<sup>9)</sup> mit Eis-Kochsalz-Mischung mit 37 ccm methylalkoholischer *n*-Natriummethylat-Lösung (ber. 38.3 ccm) versetzt, einige Minuten geschüttelt, bis alles Ester-Chlorhydrat umgesetzt ist, dann mit 110 ccm wasser-freiem Äther versetzt, einige Minuten bei derselben Temperatur aufbewahrt, bis das gebildete Kochsalz abgesetzt war, dann möglichst schnell filtriert und unter geringem Druck und Ausschluß von Wasser und Kohlensäure bis zum dünnen Sirup eingedampft und 24 Stdn. bei etwa 5<sup>0</sup> aufbewahrt. Jetzt wurde der Sirup, der stark pyrrolidin-artig roch, in 75 ccm Wasser gelöst und mit 7 g reiner Pikrinsäure 1 Stde. auf dem siedenden Wasserbade erwärmt. Die anfänglich starke Rotfärbung schlug bald in reines Gelb um, ohne daß alles in Lösung ging. Nachdem noch 24 Stdn. bei 0<sup>0</sup> aufbewahrt war, wurde das Pikrat abgesaugt, mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und aus kochendem Wasser umkrystallisiert. Die Mutterlaugen von der Herstellung und Umkrystallisation dieses „Roh-Pikrates“ haben wir vereinigt aufgearbeitet, andererseits das Roh-Pikrat in das reine Nitrat des Bisguanido-valeriansäure-anhydrids umgewandelt und aus diesem das reine Pikrat gewonnen.

Mutterlaugen: Sie wurden mit etwas verd. Salzsäure versetzt, mit Äther ausgeschüttelt, um die Pikrinsäure zu entfernen und unter geringem Druck verdampft. Der sirupöse Rückstand wurde wieder in 50 ccm Wasser aufgenommen, mit Tierkohle entfärbt und unter Eiskühlung und Schütteln portionsweise mit 15 ccm Benzoylchlorid und 25 ccm 33-proz. Natronlauge versetzt. Der beim Ansäuern mit Salzsäure erhaltene Niederschlag vermehrte sich bei 0<sup>0</sup> langsam. Er wurde schließlich in trockenem Zustand mit einem Gemisch von Äther-Petroläther von Benzoesäure befreit und war dann ein Gemisch von *d*-Ornithursäure und Dibenzoyl-*d*-arginin. Um letzteres zu gewinnen, wurde mit 75 ccm Alkohol von 96% 15 Min. gekocht und dann 12 Stdn. bei 0<sup>0</sup> aufbewahrt. Hierbei wurde das Dibenzoyl-*d*-arginin in feinen, farblosen Nadelchen vom Schmp. 244<sup>0</sup> (korr.) erhalten. 0.75 g.

<sup>8)</sup> Für die Bereitung des Arginins hat uns Hr. Kommerzienrat G. Meißner in Stadtilm wieder eine Quantität Gelatine überlassen, wofür wir auch hier bestens danken.

<sup>9)</sup> Wenn man nicht kühlt, beginnt alsbald die Selbstkondensation; es scheidet sich Sirup ab, der die Filtration des Kochsalzes erschwert, mit diesem abgesaugt wird und darum bei der Aufarbeitung des Filtrats nicht erfaßt wird.

0.1037 g Sbst. (bei 0.5 mm und 78° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getr.): 0.2378 g CO<sub>2</sub>, 0.0539 g H<sub>2</sub>O. — 3.180 mg Sbst.: 0.406 ccm N (20°, 750 mm, nach Pregl).

C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub> (382.2). Ber. C 62.79, N 5.80, N 14.66.

Gef. „ 62.54, „ 5.82, „ 14.68.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{+0.70^\circ \times 3.6386}{1 \times 1.014 \times 0.2483} = +10.12^\circ \text{ (in } n/5\text{-Natronlauge).}$$

Die Entstehung des Dibenzoyl-*d*-arginins macht es wahrscheinlich, daß bei der zuvor beschriebenen Selbstkondensation ein Teil des Arginin-esters unverändert geblieben ist. Wir fanden auf diese Weise gegen 10% wieder.

Die alkoholische Mutterlauge des Dibenzoyl-arginins gab beim Verdampfen und Aufnehmen in 25 ccm heißem Alkohol von 40%, Zusatz einiger Tropfen starker Salzsäure, langsamen Abkühlen und 24-stdg. Stehen bei 0° 1–1.1 g *d*-Ornithursäure vom Schmp. 187–188° (korr.).

0.1264 g Sbst. (bei 0.5 mm und 78° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getr.): 0.3104 g CO<sub>2</sub>, 0.0663 g H<sub>2</sub>O. — 4.570 mg Sbst.: 0.332 ccm N (20°, 751 mm, nach Pregl).

C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>(340.2). Ber. C 67.02, H 5.92, N 8.23.

Gef. „ 66.97, „ 5.87, „ 8.36.

Zur optischen Untersuchung wurde die 10-proz. Lösung des Kaliumsalzes in Wasser verwendet.

$$[\alpha]_D^{18} = \frac{+0.82^\circ \times 3.2320}{1 \times 1.025 \times 0.2936} = +8.81^\circ.$$

Sörensen<sup>10)</sup> erhielt unter diesen Bedingungen  $[\alpha]_D = +8.87^\circ$ .

Dinitrat: Da das Roh-Pikrat des Bisguanido-valeriansäure-anhydrids seinen Schmelzpunkt auch bei häufigem Umkrystallisieren nicht änderte, und da wir es aus verschiedenen Gründen trotzdem nicht für rein hielten, haben wir es direkt in das Nitrat verwandelt, wobei wir uns eng an die Vorschrift von Fischer und Suzuki anschlossen. Jedoch setzten wir bei der Umkrystallisation aus Wasser zur Vorsicht einige Tropfen verd. Salpetersäure zu.

0.1925 g Sbst. (bei 78° und 0.5 mm über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getr.): 0.1836 g CO<sub>2</sub>, 0.0848 g H<sub>2</sub>O. — 2.215 mg Sbst.: 0.665 ccm N (20°, 751 mm, nach Pregl). — 0.1376 g Sbst. (anderes Präparat): 0.1313 g CO<sub>2</sub>, 0.0628 g H<sub>2</sub>O. — 2.042 mg Sbst.: 0.618 ccm N (20°, 743 mm).

C<sub>7</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub>N<sub>8</sub>(324.2). Ber. C 25.91, H 4.98, N 34.57.

Gef. „ 26.01, 26.02, „ 4.93, 5.11, „ 34.56, 34.47.

Wie die etwas abweichenden und schwankenden Analysen-Ergebnisse von Fischer und Suzuki:

C 26.14–26.91, H 5.14–5.43, N (Dumas) 33.64–33.75

entstanden, vermögen wir nicht zu sagen. Wir sind bei der Elementaranalyse aller in dieser Arbeit beschriebenen Stoffe keinerlei Schwierigkeiten begegnet. Wir erwähnen dies, weil die Analysen des „Arginyl-arginins“ manchmal zu ungunsten des Dumas-Verfahrens ins Feld geführt werden.

Unser Nitrat zeigte in wäßriger Lösung keine wahrnehmbare Drehung bei Bedingungen, unter welchen die weiter unten beschriebene *d*-Form  $\alpha = -0.93^\circ$  aufwies.

Das Dinitrat des Bisguanido-valeriansäure-anhydrids schmilzt im Capillarrohr bei 189° (korr.), wie schon Fischer und Suzuki angeben. Es enthält keinen formol-titrierbaren Stickstoff und keinen van-Slyke-Stickstoff (gef. 0.6%, statt 4.3% für eine Aminogruppe). Mit Kalium-wismutjodid gibt es auch in ziemlich verdünnter Lösung einen Niederschlag gut

<sup>10)</sup> C. 1905, II 461.

ausgebildeter, carminroter Kryställchen. Sublimat erzeugt in Gegenwart von Natriumacetat eine farblose, allmählich krystallisierende Fällung, die sich in Mineralsäuren löst. Silbernitrat und Natronlauge erzeugen wie beim Arginin eine farblose Färbung, ebenso Neßlers Reagens. Die tiefrote Färbung mit alkalischer Pikrinsäure-Lösung wurde bereits erwähnt.

Reines Dipikrat: Man erhält es aus dem Dinitrat mit einer wäßrigen Lösung von Natriumpikrat in fast quantitativer Ausbeute. Nach 1-maliger Krystallisation aus Wasser schmilzt es bei 228° (korr.). Es enthält 2 Moleküle Pikrinsäure.

0.1332 g Sbst. (bei 78° und 0.5 mm über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getr.): 0.1705 g CO<sub>2</sub> und 0.0384 g H<sub>2</sub>O.  
— 2.555 mg Sbst.: 0.568 ccm N (19°, 745 mm, nach Pregl).

C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>15</sub>N<sub>12</sub>(656.3). Ber. C 34.74, H 3.07, N 25.62.  
Gef. „ 34.91, „ 3.23, „ 25.48.

*d*- $\alpha, \delta$ -Bisguanido-*n*-valeriansäure-anhydrid.

5 g *d*-Arginin gingen beim Schütteln mit 5 g Wasser und 5 g *S*-Äthylisothioharnstoff-Hydrobromid allmählich zum größten Teil in Lösung, während sich gleichzeitig Mercaptan entwickelte. Die Kohlensäure der Luft wurde dabei sorgfältig ausgeschlossen. Nach 15 Stdn. wurde mit 20 ccm konz. Salzsäure versetzt, 10 Min. auf dem siedenden Wasserbade erhitzt, unter geringem Druck verdampft, wiederholt in Wasser aufgenommen und wieder verdampft, bis die Säure möglichst entfernt war. Schließlich wurde nochmals in Wasser gelöst und mit einer warmen, alkoholisch-wäßrigen Lösung von 20 g Natriumpikrat versetzt, wieder unter geringem Druck verdampft, mit 400 ccm Wasser verrieben und alsbald abgesaugt. Das so erhaltene, nicht ganz reine Dipikrat des *d*-Bisguanido-anhydrids wurde sofort in das Dinitrat übergeführt. Hierfür wurde es in 50-proz. Alkohol gelöst, mit Salpetersäure zerlegt, 2-mal mit Äther ausgeschüttelt, um die Pikrinsäure zu entfernen, und die wäßrige Schicht verdampft. Der noch etwas gelb gefärbte Rückstand wurde mit 96-proz. Alkohol verrieben, abgesaugt, in salpetersäurehaltigem Wasser gelöst, mit Tierkohle gekocht, erneut verdampft und mit heißem 96-proz. Alkohol aufs Filter gebracht, gut mit heißem Alkohol derselben Konzentration und dann mit absolutem gewaschen. Nach weiterer Umkrystallisation aus verd. Salpetersäure wurden mindestens 1.4 g *d*-Dinitrat erhalten.

0.1600 g Sbst.: 0.1526 g CO<sub>2</sub>, 0.0742 g H<sub>2</sub>O. — 1.955 mg Sbst.: 0.593 ccm N (20°, 742 mm, nach Pregl).

C<sub>7</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>N<sub>8</sub>(324.2). Ber. C 25.91, H 4.98, N 34.57.  
Gef. „ 26.01, „ 5.19, „ 34.50.

$$[\alpha]_D^{19} = \frac{-0.93^{\circ} \times 4.4469}{1 \times 1.0015 \times 0.1444} = -28.6^{\circ} \text{ (in Wasser).}$$

Wir weisen darauf hin, daß man einen solchen Drehungswert nur erhält, wenn man die vorstehende Anweisung genau einhält. Anderenfalls sind mehr oder weniger große Mengen der *d, l*-Form beigemischt.

Das optische aktive Nitrat schmilzt bei 189° (korr.) und gleicht auch in allen analytischen Merkmalen der *d, l*-Form. Auch hier verlief die Probe auf van-Slyke-Stickstoff negativ.

Auf dem Umweg über das eben beschriebene Nitrat haben wir uns das reine Dipikrat der *d*-Form bereitet. Es krystallisiert zum Unterschied

von der *d, l*-Form in gut ausgebildeten, langen, gelben Blättchen oder Stäbchen, die aber, wie die Krystalle des reinen *d, l*-Pikrats, bei 228° (korr.) schmelzen.

0.1055 g Sbst.: 0.1345 g CO<sub>2</sub> und 0.0310 g H<sub>2</sub>O. — 2.538 mg Sbst.: 0.573 ccm N (20°, 738 mm, nach Pregl).

C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>15</sub>N<sub>12</sub>(656.3). Ber. C 34.74, H 3.07, N 25.62.

Gef. „ 34.77, „ 3.29, „ 25.54.

Der folgende Versuch zeigt die überaus leichte Autoracemisation, welche das aktive Bisguanido-valeriansäure-anhydrid in freiem Zustand erleidet, d. h., wenn in seinen Säure-Salzen die Säure gebunden wird:

0.1439 g *d*-Nitrat ( $[\alpha]_D = -28.6^\circ$ ) wurden in 4.4 ccm *n*/<sub>5</sub>-Natronlauge (ber. für 2 Mol. 4.44 ccm) bei 20—21° gelöst. Nach 3 Min. war die Drehung im 1-dm-Rohr für die D-Linie noch —0.83°. Nach 60 Min. war sie auf —0.15° gesunken, und nach im ganzen 90—100 Min. war sie nicht mehr erkennbar.

Wir haben von diesen Ergebnissen Gebrauch gemacht, um unser *d*-Dinitrat zum Vergleich mit Fischers „Arginyl-arginin“ zu racemisieren. 0.8 g *d*-Dinitrat wurden mit 24.7 ccm *n*/<sub>5</sub>-Lauge 2 Stdn. bei 20° aufbewahrt, dann mit 5 ccm *n*-Salzsäure versetzt und zuerst ins *d, l*-Dipikrat verwandelt. Dieses war sofort analysenrein (Schmp. 228°; gef. C 34.73, H 3.24, N 25.81). Weiter bereiteten wir hieraus das Dinitrat (gef. C 26.13, H 5.10, N 34.54). Es schmolz bei 189° (korr.), war optisch völlig inaktiv, zeigte keinen van-Slyke-Stickstoff und ließ auch sonst keinerlei Unterschied von dem sog. „Arginyl-arginin-Trinitrat“ von Fischer und Suzuki erkennen. An ihrer Identität ist damit nicht zu zweifeln.

#### Dibenzoyl-*d*-arginin.

Für Dibenzoyl-*d*-arginin haben wir weiter oben den Schmp. 244° (korr.) angegeben. Gulewitsch<sup>11)</sup> fand 217—217.5°. Um die Ursache dieser Verschiedenheit aufzuklären, haben wir 5 g *d*-Arginin in 100 ccm Wasser mit 30 ccm Benzoylchlorid und 55 ccm Natronlauge von 33% in der üblichen Weise benzoyliert. Die beim Ansäuern mit Salzsäure entstandene, reichliche, farblose Fällung enthielt neben der gesuchten Dibenzoylverbindung einen sehr großen Überschuß von Benzoesäure. Diese wurde mit einem Gemisch von Äther-Petroläther entfernt und der Rückstand aus heißem Wasser krystallisiert. Er schmolz dann in Übereinstimmung mit Gulewitsch bei 218° (korr. 223°), enthielt aber noch reichlich Chlorwasserstoff, der nur durch wiederholtes Umkrystallisieren aus heißem Wasser einigermaßen zu entfernen war<sup>12)</sup>. Bequemer lösten wir in heißem Wasser und fügten so lange vorsichtig tropfenweise Ammoniak-Lösung zu, als noch eine Fällung entstand. Ausbeute 5.7 g chlor-freies Dibenzoyl-*d*-arginin, das jetzt bei 244° (korr.) schmolz und sehr schwer in Wasser und Alkohol löslich war. Lange, farblose Prismen, die 1½ Mol. Krystallwasser enthielten (ber. H<sub>2</sub>O 6.6, gef. 6.25).

Für das wasser-freie Produkt finden wir C 62.67, H 5.92, N 14.44; für C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub> (382.2), ber. C 62.80, H 5.80, N 14.66.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{+0.71^\circ \times 1.6242}{1 \times 1.014 \times 0.1107} = +10.27^\circ \text{ (in } n_5\text{-Natronlauge).}$$

<sup>11)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **27**, 212 [1899].

<sup>12)</sup> Nach K. Felix und H. Müller, Ztschr. physiol. Chem. **171**, 7 [1927], bindet Dibenzoyl-arginin Salzsäure.



Das stimmt alles völlig überein mit den Konstanten unseres weiter oben beschriebenen Präparates. Beim Krystallisieren aus 50-proz. Alkohol erfolgte Umwandlung in lange, dünne Nadeln einer Dibenzoylverbindung mit 1 Mol. Krystallwasser (ber.  $H_2O$  4.5, gef. 4.2). Die getrocknete Substanz ergab C 62.71, H 5.99, N 14.61.

Wir vermuten, daß Gulewitsch den Schmelzpunkt eines chlorwasserstoffhaltigen Dibenzoyl-ornithins bestimmt hat. Auf jeden Fall schmilzt die reine, halogen-freie Verbindung erheblich höher.

---

**182. Heinz Ohle und Ladislaus von Vargha:**  
**Über die Aceton-Verbindungen der Zucker und ihre Umwandlungs-**  
**produkte, 9. Mitteil.: Umwandlung der Monoaceton-glucose.**

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

(Eingegangen am 19. April 1928.)

Durch Umsetzung von Monoaceton-glucose mit einer äquimolekularen Menge *p*-Toluol-sulfochlorid haben Ohle und Dickhäuser<sup>1)</sup> eine *p*-Toluolsulfo-monoaceton-glucose vom Schmp. 108° erhalten. Ein exakter Beweis für die Konstitution dieser Verbindung ist bisher nicht erbracht worden. Um diese Lücke auszufüllen, haben wir zunächst die Frage zu beantworten gesucht, ob dieses Derivat noch die gleiche Ringstruktur enthält wie das Ausgangsmaterial. Zu diesem Zwecke unterwarfen wir es der alkalischen Verseifung. Unter der Einwirkung von wäßrig-methylalkoholischer Kali- oder Natronlauge wird zwar die Toluolsulfo-Gruppe leicht abgelöst, jedoch entstehen nur Spuren von Monoaceton-glucose. Das Hauptprodukt bildete ein Sirup, der nur zum Teil im Hochvakuum destillierte. Aber auch dieses Destillat war bisher nicht zur Krystallisation zu bewegen. Wir haben daher zunächst auf die weitere Untersuchung dieser Substanzen verzichtet, zumal uns die ammoniakalische Verseifung der Toluolsulfo-monoaceton-glucose zu einer schnellen Lösung der Frage verhalf.

Methylalkoholisches Ammoniak spaltet schon in der Kälte auffällig leicht Toluol-*p*-sulfonsäure ab<sup>2)</sup>. Dabei bilden sich zwei Produkte. Das eine entsteht in untergeordneter Menge, enthält keinen Stickstoff, ist in Äther leicht löslich und konnte bisher nicht zur Krystallisation gebracht werden. Mit seiner Untersuchung sind wir noch beschäftigt. Die zweite Verbindung läßt sich auf Grund ihrer Unlöslichkeit in Äther leicht abtrennen. Sie wird von Wasser spielend aufgenommen und hat Salz-Charakter. Es handelt sich um nichts anderes als das *p*-toluol-sulfonsaure Salz einer Amino-monoaceton-glucose, das noch mit toluol-sulfonsaurem Ammonium verunreinigt ist.

Die Isolierung der freien Base, die gleichfalls in Wasser leicht löslich ist, in krystallisierter Form glückte bisher nicht. Sie besitzt stark basische

---

<sup>1)</sup> B. 58, 2602 [1925].

<sup>2)</sup> Im allgemeinen geht der Ersatz der  $.O.SO_2C_7H_7$ -Gruppe durch  $NH_2$  sehr schwer meist erst bei oder oberhalb 100° vor sich. In vielen Fällen findet der Ersatz überhaupt nicht statt, z. B. bei der Toluolsulfo- $\alpha$ -diaceton-fructose (vergl. Freudenberg, B. 59, 714 [1926]). Das Gleiche gilt für die Toluolsulfo- $\beta$ -diaceton-fructose. Ein weiteres Beispiel wird in der 11. Mitteilung (S. 1211 ff.) genannt.