

5. Friedrich Weygand und Manfred Reiher: N-Trifluoracetyl-aminosäuren, III. Mittel.¹⁾: Zwei neue Peptidsynthesen

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Tübingen]

(Eingegangen am 21. Oktober 1954)

Konstitutionsbeweise für das aus *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid mit Anilin und Verseifung des *N*-TFA-Restes erhaltliche *L*-Glutaminsäure-*l*-anilid und *L*-Glutaminsäure-*5*-anilid werden gegeben. — Von der Beobachtung der Bildung von DL-Pyrrolidonicarbonsäure aus *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid und Dicyclohexylamin ausgehend, wurde eine neue Peptidsynthese aus *symm.* *N*-TFA-Aminosäure-anhydriden entwickelt. So ergibt das *symm.* *N*-TFA-Glycin-anhydrid mit 1 Mol. Base in absol. Alkohol bei Zimmertemperatur in über 85-proz. Ausbeute das Dicyclohexylaminsalz des *N*-TFA-Glycyl-glycins neben Trifluoressigsäure-äthylester. — Eine weitere Peptidsynthese wurde in der Kondensation von 5-Oxo-2-phenyl-3-trifluoracetyl-oxazolidin mit Aminosäureestern oder Aminosäureamiden gefunden, die glatt unter Abspaltung von Benzaldehyd verläuft. — Einige neue *N*-TFA-Verbindungen werden beschrieben.

Die in der I. Mittel. dieser Reihe²⁾ ausgesprochene Vermutung, daß sich die *N*-trifluoracetylierten Aminosäuren (*N*-TFA-Aminosäuren) infolge der in alkalischem Medium äußerst leicht erfolgenden Verseifung des *N*-TFA-Restes für Peptidsynthesen heranziehen lassen, konnte mit E. Leising¹⁾ bestätigt werden.

Unter all den Resten, die zum Schutz der Aminogruppe bei Peptidsynthesen bisher vorgeschlagen wurden, ist der Trifluoracetylrest der einzige, der leicht einführbar und alkalisch leicht abspaltbar ist, ohne daß die Peptidbindung hydrolysiert wird. Von dieser Eigenschaft haben inzwischen A. Taurog, S. Abraham und I. L. Chaikoff³⁾ bei der Synthese von *O*-Glucuroniden und *O*-Glucosiden von phenolischen Aminosäuren Gebrauch gemacht und auch Calvin und Mitarbb.⁴⁾ verwenden neuerdings die *N*-TFA-Aminosäuren zu Peptidsynthesen.

Infolge der leichten alkalischen Verseifbarkeit kann man *N*-TFA-Aminosäureverbindungen auf Papierchromatogrammen durch Besprühen mit verd. Natronlauge, Trocknen an der Luft, anschließendes Besprühen mit essigsaurer Ninhydrinlösung und Erwärmen sichtbar machen. Die *N*-TFA-Aminosäuren selbst erkennt man auf Papierchromatogrammen infolge ihrer Säurenatur sehr gut mit Acridin⁵⁾. Zur präparativen Abspaltung des *N*-TFA-Restes haben sich n_{10} NaOH oder verd. Ammoniak bewährt, besonders weil Natrium-trifluoracetat und Ammonium-trifluoracetat in Alkohol löslich sind. Man kann daher nach der Verseifung mit verd. Natronlauge mit Trifluoressig-

¹⁾ II. Mittel.: F. Weygand u. E. Leising, Chem. Ber. 87, 248 [1954].

²⁾ F. Weygand u. E. Csendes, Angew. Chem. 64, 136 [1952].

³⁾ J. Amer. chem. Soc. 75, 3473 [1953].

⁴⁾ M. Calvin, Priv. Mittel.

⁵⁾ D. Jerchel u. W. Jacobs, Angew. Chem. 66, 298 [1954].

säure neutralisieren, eindampfen und mit Alkohol die Aminosäure oder das Peptid fällen. Nach der Verseifung mit verd. Ammoniak bringt man i. Vak. zur Trockne und behandelt mit Alkohol⁶⁾.

Verseifungsversuche am *N*-TFA-Alanyl-glycin-äthylester mit $n/_{10}$ NaOH im Überschuß zeigen, daß der *N*-TFA-Rest bevorzugt abgespalten wird. Doch findet auch Esterspaltung statt, noch bevor der *N*-TFA-Rest vollständig entfernt ist. Von präparativem Interesse ist, daß sich der *N*-TFA-Rest auch durch absol. alkoholische Salzsäure entfernen läßt, wobei die Estergruppe unverändert bleibt. In der gleichen Weise läßt sich bekanntlich die Carbobenzoylgruppe von einem Carbobenzoylpeptidester entfernen⁷⁾. Zur Abspaltung des *N*-TFA-Restes von *N*-TFA-Aminosäure- oder Peptid-amiden braucht man nur in wäßr. Lösung mit Dowex 2-Austauscher (Basenform) zu behandeln. Die Lösung wird schnell alkalisch, das freigesetzte Trifluoressigsäure-Ion wird vom Austauscher gebunden und das Aminosäure- oder Peptid-amid bleibt in Lösung.

Aus den *N*-TFA-Aminosäuren lassen sich in verschiedener Weise Peptide gewinnen. Die klassische Säurechlorid-Methode ist ohne weiteres, auch bei optisch aktiven *N*-TFA-Aminosäuren anwendbar¹⁾. Ebenso kann die Azid-Methode verwandt werden. Zur Gewinnung eines *N*-TFA-Aminosäure-azids setzen wir das Säurechlorid mit Dicyclohexylamin-azid⁸⁾ in Tetrahydrofuran um. Beim Versuch, die Methode der gemischten Anhydride mit Benzoesäure oder Essigsäure nach Th. Wieland⁹⁾ heranzuziehen, hatten wir nur geringe Erfolge. So reagierte das gemischte Anhydrid von *N*-TFA-Alanin und Benzoesäure mit Anilin nach beiden möglichen Richtungen, wobei sich das Gemisch von *N*-TFA-Alanin-anilid und Benzanilid schwer trennen ließ, und das aus *N*-TFA-Alanin und Essigsäure lieferte nur 6% *N*-TFA-Alanin-anilid.

Von den in den letzten Jahren angegebenen Methoden zur Aktivierung der Aminogruppe hat sich die Phosphorazo-Methode von St. Goldschmidt¹⁰⁾ auch bei den *N*-TFA-Aminosäuren bewährt und dasselbe ist von der Diäthylphosphorigsäureamid-Methode¹¹⁾ zu erwarten.

Die Trifluoressigsäure kann aber nicht nur zum Schutz der Aminogruppe dienen, sie kann auch zur Aktivierung der Carboxygruppe herangezogen werden²⁾. Dies kann in Form der gemischten oder symmetrischen Anhydride geschehen, wobei zur Herstellung dieser Verbindungen aus Aminosäuren bzw.

⁶⁾ Siehe Chem. Ber. 87, 248 [1948], u. zwar S. 252, Versuch 3. Hier wurde gezeigt, daß durch Trifluoracetylierung von L-Alanin und Verseifung keine Racemisierung eintritt.

⁷⁾ A. E. Barkdoll u. W. F. Ross, J. Amer. chem. Soc. 66, 951 [1944]. Vergl. hierzu auch St. Goldschmidt u. C. Jutz, Chem. Ber. 86, 1116 [1953].

⁸⁾ Dicyclohexylamin-azid ist in Tetrahydrofuran etwas löslich. Es reagiert schnell mit Säurechloriden unter Ausscheidung des schwerlöslichen Dicyclohexylamin-hydrochlorids. An Stelle von Natriumazid kann man das Dicyclohexylamin-azid auch zur Herstellung von anderen Carbonsäure-aziden verwenden.

⁹⁾ Th. Wieland, W. Kern u. R. Sehring, Liebigs Ann. Chem. 569, 117 [1950].

¹⁰⁾ St. Goldschmidt u. H. Lautenschlager, Liebigs Ann. Chem. 580, 68 [1953].

¹¹⁾ G. W. Anderson, J. Blodinger, R. W. Young u. A. D. Welcher, J. Amer. chem. Soc. 74, 5304 [1952]; G. W. Anderson u. R. W. Young, J. Amer. chem. Soc. 74, 5307 [1952].

N-TFA-Aminosäuren keine Base zugesetzt werden muß¹²⁾. Diese Aktivierung ist jedoch meist mit einer Racemisierung verbunden, mit Ausnahme einiger besonders gelagerter Fälle, so bei der *L*-Glutaminsäure, die mit 2 Moll. Trifluoressigsäure-anhydrid das *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid²⁾ ergibt, bei der *L*-Asparaginsäure und beim *L*-Prolin¹³⁾.

Aus dem erwähnten *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid hatten wir mit Anilin das *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-1-anilid von Schmp. 160–162° und daraus das *L*-Glutaminsäure-1-anilid (Schmp. 187°) erhalten. Aus den Mutterlaugen isolierten wir inzwischen noch nach Abspaltung des *N*-TFA-Restes das *L*-Glutaminsäure-5-anilid (Schmp. 216°). Die Ringöffnung erfolgt somit nach beiden Richtungen hin. Die Konstitution der beiden Anilide ergibt sich durch folgende Beobachtungen. Nur das 5-Anilid gibt beim Kochen mit Kupfercarbonat in wäßr. Lösung einen schwach blauen, schwerlöslichen Kupferkomplex. Weiterhin cyclisiert sich das 1-Anilid bei 160° zum bekannten *L*-Pyrrolidoncarbonsäure-1-anilid¹⁴⁾, das 5-Anilid spaltet hingegen bei 180° Anilin ab und geht in *DL*-Pyrrolidoncarbonsäure über. Ferner kann das *N*-TFA-1-Anilid mit Hilfe des gemischten Anhydrids mit Trifluoressigsäure ohne Racemisierung in das *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-1.5-dianilid¹⁾ verwandelt werden. Läge das 5-Anilid vor, so sollte dabei Racemisierung eintreten. Das *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-1.5-dianilid erhält man auch über das Säurechlorid. Schließlich wurde das *L*-Glutaminsäure-5-anilid zum Vergleich auch noch aus dem bekannten *N*-Phthalyl-*L*-glutaminsäure-anhydrid¹⁵⁾ dargestellt und nach Schmp., Misch-Schmp., Löslichkeit und optischer Drehung als identisch mit unserem 5-Anilid gefunden¹⁶⁾. Erwähnt sei noch, daß das *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-1-anilid beim Erhitzen auf 160° unter Abspaltung von Trifluoracetanilid in *DL*-Pyrrolidoncarbonsäure übergeht.

Das Glutaminsäure-5-anilid kann auch noch auf folgende Weise gewonnen werden. Erwärmt man *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid mit absol. Alkohol, so erhält man nach dem Einengen einen Sirup, in dem hauptsächlich der *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-1-äthylester vorliegt. Er wurde als krist. Dicyclohexylaminsalz charakterisiert. Aus ihm entsteht über das Säurechlorid und Verseifung mit verd. Natronlauge das *L*-Glutaminsäure-5-anilid. Es soll noch geprüft werden, ob sich diese Ergebnisse für eine Glutathionsynthese verwerten lassen. Aus dem Halbester wurde analog der *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure- γ -glycin-äthylester erhalten.

¹²⁾ Die nähere Untersuchung der Beziehungen zwischen den gemischten Anhydriden aus *N*-TFA-Aminosäuren und Trifluoressigsäure, den symm. *N*-TFA-Aminosäureanhydriden und den Azlactonen²⁾ ist in Arbeit. Darüber soll später eingehend berichtet werden.

¹³⁾ F. Weygand u. I. Eigen, vergl. eine nachfolgende Veröffentlichung.

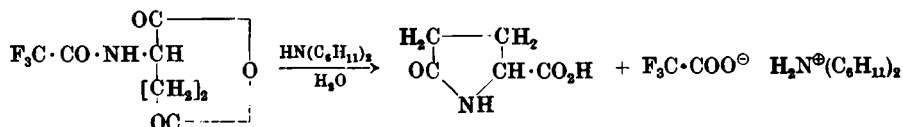
¹⁴⁾ W. H. Gray, J. chem. Soc. [London] 1928, 1264.

¹⁵⁾ F. E. King u. D. A. A. Kidd, J. chem. Soc. [London] 1949, 3315. *N*-Phthalylglutaminsäure-anhydrid gibt nach diesen Autoren mit Anilin nur das *N*-Phthalylglutaminsäure-5-anilid.

¹⁶⁾ O. K. Behrens u. M. Bergmann (J. biol. Chemistry 129, 594 [1939]) erhielten die gleiche Verbindung mit dem Schmp. 193–194° auf enzymatischem Wege und W. Voss u. R. Guttman (Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 204, 1 [1932]) gewannen sie aus *L*-Glutaminsäurechlorid-hydrochlorid mit dem Schmp. 209°. Der Konstitutionsbeweis wurde durch Abbau mit Hypobromit zum Succinanil erbracht.

Neue Peptidsynthese

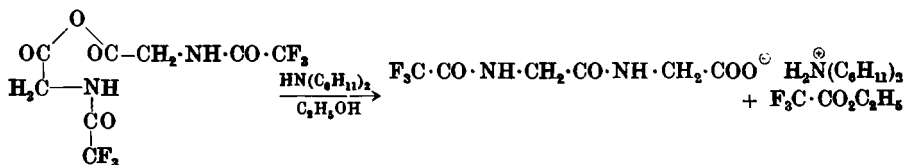
Am *N*-TFA-L-Glutaminsäure-anhydrid wurde von Hrn. Dr. F. Schäfer eine wichtige Beobachtung gemacht. Beim Lösen in Tetrahydrofuran und Versetzen mit 1 Mol. Dicyclohexylamin entsteht nicht ein Dicyclohexylamid, sondern eine Verbindung, die beim Waschen mit Wasser das schwerlösliche trifluoressigsäure Dicyclohexylamin hinterläßt, während sich in der wäßr. Lösung DL-Pyrrolidoncarbonsäure befindet, die als Dicyclohexylaminsalz charakterisiert wurde. Diese Reaktion kann zur Darstellung von cyclischen Säureamiden von allgemeinem Interesse sein.



Man kann annehmen, daß infolge des starken elektronegativen induktiven Effektes der CF_3 -Gruppe der Imid-Wasserstoff zur Salzbildung mit dem Dicyclohexylamin befähigt ist. Dadurch wird auch der Wasserstoff am Kohlenstoffatom 2 beweglich, und es tritt Racemisierung ein. Nun bildet sich am Kohlenstoffatom 5 unter Öffnung des Anhydridringes die Säureamidgruppe aus, und die negative Ladung befindet sich nunmehr an der Carboxygruppe des Kohlenstoffatoms 1. Bei der Behandlung mit Wasser wird der am Stickstoff noch haftende TFA-Rest hydrolytisch entfernt, weil *N,N*-Diacyl-Verbindungen gegen Wasser sehr unbeständig sind¹⁷⁾.

Die soeben beschriebene Reaktion ist nicht auf die Bildung eines cyclischen Amids beschränkt. Das krist. *symm.* *N*-TFA-Glycin-anhydrid (verbesserte Darstellungsweise s. Versuchsteil) setzt sich in absol. Alkohol mit 1 Mol. Dicyclohexylamin bei Zimmertemperatur schnell zum Dicyclohexylaminsalz von *N*-TFA-Glycyl-glycin um. Gleichzeitig bildet sich Trifluoressigsäure-äthylester. Man erhält das gleiche krist. Salz in Tetrahydrofuranlösung mit 2 Moll. Base nach Zusatz von etwas Wasser. Nach Entfernung der Base aus dem *N*-TFA-Glycyl-glycin-dicyclohexylaminsalz mit Dowex 50-Ionenaustauscher gewinnt man das krist. *N*-TFA-Glycyl-glycin.

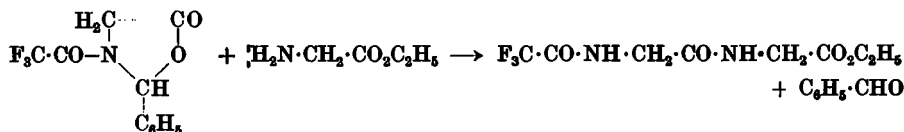
Die Reaktion verläuft intramolekular, da die Ausb. über 85% d.Th. beträgt. Sie könnte höchstens 50% sein, wenn die Kondensation intermolekular vor sich ginge. Die räumliche Nachbarschaft einer *N*-TFA-Gruppe mit einer CO-Gruppe, die zur Säureamidgruppe wird, scheint die Reaktion zu ermöglichen. Nach orientierenden Versuchen gelingt die gleiche Reaktion mit dem *symm.* *N*-TFA-DL-Alanin-anhydrid.



¹⁷⁾ S. z. B. L. Birkofer, Ber. dtsh. chem. Ges. 76, 769 [1943].

Weitere Peptidsynthese

Eine weitere, neuartige Peptidsynthese hat sich durch Verwendung des in der II. Mitteil. beschriebenen 5-Oxo-2-phenyl-3-trifluoracetyl-oxazolidins¹⁾ ergeben. Diese aus Glycin, Benzaldehyd, Trifluoressigsäure-anhydrid und Natriumtrifluoracetat erhaltliche Verbindung reagiert unter Abspaltung von Benzaldehyd glatt mit Glycin-äthylester zu *N*-TFA-Glycyl-glycin-äthylester, mit Ammoniak zu *N*-TFA-Glycin-amid und mit Glycin-amid zu *N*-TFA-Glycyl-glycin-amid. Entfernt man aus diesen Verbindungen die *N*-TFA-Gruppe, so kann man die gleiche Reaktion erneut anwenden und auf diese Weise gewisse Peptide stufenweise aufbauen, und zwar in ähnlicher Weise, wie es nach A. H. Cook¹⁸⁾ mit Mercaptothiazolen möglich ist.



Der in dieser Arbeit häufiger verwendete Glycin-äthylester wurde aus dem Hydrochlorid in über 90-proz. Ausbeute durch Vermischen mit Dicyclohexylamin und anschließendes Abdestillieren i. Vak. gewonnen.

Die Untersuchungen über *N*-TFA-Aminosäuren werden fortgesetzt.

Der Research Corporation, New York, und dem deutschen Komitee danken wir bestens für die Unterstützung dieser Arbeit. Den Farbwerken Hoechst danken wir für Überlassung von Natriumtrifluoracetat.

Beschreibung der Versuche

Peptidsynthese mit *N*-Trifluoracetyl-glycin-anhydrid

symm. *N*-Trifluoracetyl-glycin-anhydrid¹⁾ (verbesserte Darstellungsweise): 1g Glycin wird mit 4.2 ccm Trifluoressigsäure-anhydrid durch kurzes Erwärmen unter Rückfluß (50° Badtemperatur) in Lösung gebracht. Nach dem Abkühlen scheidet sich innerhalb 1 Stde. das Anhydrid in Form von Nadeln aus. Man entfernt die gebildete Trifluoressigsäure i. Vak. und krist. den Rückstand aus Tetrahydrofuran + Benzol (1:1 Vol.) um. Schmp. 158°²⁾; Ausb. nahezu quantitativ.

53 mg Subst. verbrauchen bei der Titration mit 0.1 *n* NaOH (Phenolphthalein) 3.2 ccm, ber. 3.2 ccm.

N-Trifluoracetyl-glycyl-glycin-dicyclohexylaminsalz: 0.64 g *N*-TFA-Glycin-anhydrid werden mit einer Mischung von 10 ccm absol. Alkohol und 0.43 ccm (1 Mol.) Dicyclohexylamin übergossen. Vorübergehend entsteht eine klare Lösung und innerhalb 1 Min. fällt das Reaktionsprodukt aus. Nach dem Absaugen und Waschen mit etwas absol. Alkohol liegen 0.71 g (85% d.Th.) vom Schmp. 242° (Zers.) vor.

$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_4\text{N}_2\text{F}_3 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (418.5) Ber. C 51.72 H 7.40 N 10.03 Gef. C 51.66 H 7.12 N 10.03
Destilliert man nach der Reaktion das Lösungsmittel i. Vak. bei 30° in eine mit Aceton-Trockeneis gekühlte Vorlage und titriert das Destillat mit $n/_{10}$ NaOH (Phenolphthalein), so findet man, daß sich 85% d.Th. an Trifluoressigsäure-äthylester darin befinden.

N-Trifluoracetyl-glycyl-glycin aus dem Dicyclohexylaminsalz: 2.7 g des Salzes werden in 40 ccm Wasser gelöst und mit 10 g Dowex 50 5 Min. geschüttelt. Man saugt den Ionenaustauscher ab, wäscht ihn mit 10 ccm Wasser und dampft die Filtrate

¹⁸⁾ A. H. Cook u. A. L. Levy, J. chem. Soc. [London] 1950, 646, 651.

i. Vak. bei 25° Badtemperatur zur Trockne ein. Der krist. Rückstand wird in Aceton gelöst, mit Tierkohle kurz behandelt und mit Benzol versetzt. Blättchen vom Schmp. 185°; Ausb. 1.08 g (74% d.Th.).

$C_6H_7O_4N_2F_3$ (228.1) Ber. C 31.63 H 3.09 N 12.29 Gef. C 31.17 H 3.15 N 12.32

Glycyl-glycin: 0.42 g *N*-TFA-Glycyl-glycin-dicyclohexylaminsalz werden in 10 ccm halbkonz. Ammoniak 30 Min. stehengelassen, anschließend wird das Dicyclohexylamin mit Petroläther ausgeschüttelt. Die wäbr. Schicht wird i. Vak. eingedampft und das Glycyl-glycin wird mit 5 ccm 96-proz. Alkohol in Form farbloser Blättchen gefällt. Schmp. und Mischschmp. 220° (Zers.). Ninhydrinreaktion: gelb. R_F -Wert in Phenol-Wasser gleich dem einer authentischen Probe von Glycyl-glycin. Ausb. 116 mg (85% d. Th.).

Peptidsynthese mit 5-Oxo-2-phenyl-3-trifluoracetyl-oxazolidin

N-Trifluoracetyl-glycyl-glycin-äthylester: 0.108 g des Oxazolidins werden in 5 ccm absol. Tetrahydrofuran mit 0.052 g Glycin-äthylester 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Eindampfen i. Vak. krist. man den Rückstand, der nach Benzaldehyd riecht, aus Benzol um. Ausb. 96 mg (90% d.Th.); Schmp. und Mischschmp. 145°¹⁾.

Peptidsynthese nach der Azid-Methode

Dicyclohexylamin-azid: Eine Lösung von Stickstoffwasserstoffsäure in Benzol wird mit einem Überschuß an Dicyclohexylamin versetzt. Das Salz fällt aus. Es wird mit Benzol gewaschen und i. Vak. bei Zimmertemperatur getrocknet; Schmp. 192°. Die Verbindung ist gut haltbar und verbrennt ruhig in der Flamme.

N-Trifluoracetyl-DL-alanyl-glycin-äthylester: 1.85 g *N*-TFA-DL-Alanin werden mit Thionylchlorid in das Säurechlorid¹⁾ verwandelt. Es wird in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran mit 2.24 g Dicyclohexylamin-azid einige Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach der Abtrennung des Dicyclohexylamin-hydrochlorids (Schmp. 320° unter Zers.) wird die Lösung mit 1.28 g Glycin-äthylester 15 Min. auf 60° unter einem Abzug erhitzt. Es entweicht Stickstoffwasserstoffsäure. Beim Stehenlassen scheidet sich noch eine geringe Menge Dicyclohexylamin-azid aus. Nach dem Einengen der Lösung i. Vak. wird in Benzol gelöst, mit etwas Tierkohle behandelt und mit Petroläther versetzt. Das ausgefallene Produkt wird aus viel Wasser umkristallisiert. Schmp. und Mischschmp. 115–116°²⁾. Ausb. 1.92 g Rohprodukt (71% d.Th.).

DL-Alanyl-glycin: Die Verseifung von *N*-TFA-DL-Alanyl-glycin-äthylester mit 0.1*n* NaOH im Überschuß 16 Stdn. lang bei 25° liefert nach der Neutralisation mit Trifluoressigsäure, Eindampfen i. Vak. und Fällen mit Alkohol 72% d.Th. an DL-Alanyl-glycin; Schmp. und Mischschmp. 234–235°.

Peptidsynthese nach der Phosphorazo-Methode

N-Trifluoracetyl-DL-alanyl-glycin-äthylester: Aus 2.5 g Glycin-äthylester in 15 ccm absol. Toluol und 0.4 ccm über Dimethylanilin dest. Phosphortrichlorid in 5 ccm absol. Toluol stellt man nach Goldschmidt und Lautenschlager¹⁰⁾ die Phosphorazoverbindung her. Vom ausgeschiedenen Glycin-äthylester wird abgesaugt. Zum Filtrat gibt man 1.83 g *N*-TFA-DL-Alanin und erhitzt 3 Stdn. unter Rückfluß. Im Eisschrank kristallisiert der *N*-TFA-DL-Alanyl-glycin-äthylester aus, nach dem Einengen i. Vak. erhält man noch eine geringe Menge. Ausb. 2.15 g (82% d.Th.); Schmp. und Mischschmp. 115°.

Glutaminsäure-Verbindungen

N-Trifluoracetyl-L-glutaminsäure-anhydrid¹⁾ (vereinfachte Darstellungsweise): 4.15 g bei 120° i. Vak. getrocknete L-Glutaminsäure werden unter Kühlung und Feuchtigkeitsausschluß mit 13 ccm Trifluoressigsäure-anhydrid übergossen. Nach etwa 1 Stde. hat sich alles gelöst. Nach Entfernung der Trifluoressigsäure i. Vak. wird der Rückstand mit wenig wasserfreiem Äther angerieben, wobei er rasch durchkristallisiert. Er wird mit Hilfe von wasserfreiem Petroläther abgesaugt. Schmp. 70°²⁾; Ausb. 4.7 g (74% d.Th.).

Haben ältere Präparate durch Feuchtigkeitseinfluß teilweise eine Zersetzung erfahren, so werden sie mit Hilfe von 1 Mol. Trifluoressigsäure-anhydrid in das *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid zurückverwandelt.

L-Glutaminsäure-1-anilid: 2 g *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-1-anilid¹⁾ vermischt man nach dem Lösen in wenig Alkohol mit 10 ccm halbkonz. Ammoniak. Nach 2-tägigem Stehenlassen bei 20° (es genügt auch eine kürzere Einwirkungsdauer) wird i. Vak. zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird aus wenig Wasser umkristallisiert; verfilzte Nadelchen vom Schmp. 187°.

$[\alpha]_D^{25}$: +74.6° (*c* = 0.59 in 80-proz. Alkohol).

$C_{11}H_{14}O_3N_2$ (222.2) Ber. C 59.44 H 6.35 N 12.61 Gef. C 59.54 H 6.43 N 12.47

L-Pyrrolidoncarbonsäure-anilid: 300 mg *L*-Glutaminsäure-1-anilid erhitzt man in einem Reagensglas 30 Min. auf 160°, wobei nach wenigen Min. eine bräunliche Schmelze entsteht. Kristallisation aus Alkohol und Wasser. Schmp. 184°; Lit.¹⁴⁾ 191°.

$[\alpha]_D^{25}$: +20.1° (*c* = 0.87 in absol. Alkohol); Lit.¹⁴⁾ +17.9° (*c* = 4.8 in 80-proz. Alkohol).

$C_{11}H_{12}O_2N_2$ (204.2) Ber. C 64.69 H 5.92 N 13.72 Gef. C 64.77 H 6.03 N 13.64

L-Glutaminsäure-5-anilid aus *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid: Durch Verseifen des aus *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid und Anilin erhaltenen Rohprodukts mit Ammoniak in der beim *L*-Glutaminsäure-1-anilid angegebenen Weise erhält man das 5-Anilid, das bereits beim Einengen der ammoniakalischen Lösung ausfällt. Umkristallisation aus viel Wasser; Schmp. 216°.

$[\alpha]_D^{25}$: +25.0° (*c* = 2.25 in 2*n* HCl).

Man kann auch mit 2*n* NaOH 30 Min. bei 50° verseifen und dann auf *p*_H 6 ansäuern, wobei das *L*-Glutaminsäure-5-anilid ausfällt.

$C_{11}H_{14}O_3N_2$ (222.2) Ber. C 59.44 H 6.35 N 12.61 Gef. C 59.60 H 6.53 N 12.84

L-Glutaminsäure-5-anilid aus *N*-Phthalyl-*L*-glutaminsäure-anhydrid¹²⁾: Man suspendiert *N*-Phthalyl-*L*-glutaminsäure-anhydrid in Äther, setzt mit Anilin durch Istdg. Schütteln um, dekantiert und wäscht den Rückstand mit Äther. Das *N*-Phthalyl-*L*-glutaminsäure-5-anilid wird aus Wasser umkristallisiert. Nach dem Lösen in der ber. Menge Natriumcarbonatlösung wird mit Hydrazinhydrat in Phthalylhydrazid und *L*-Glutaminsäure-5-anilid zerlegt. Etwa 1 Stde. nach der Hydrazinzugabe beginnt das Anilid auszukristallisieren. Schmp. nach Umkristallisation aus viel Wasser 216°. Der Mischschmp. mit der aus *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid dargestellten Verbindung zeigt keine Erniedrigung. Ebenso stimmen die Drehungen überein.

DL-Pyrrolidoncarbonsäure aus *L*-Glutaminsäure-5-anilid: Erhitzt man das 5-Anilid auf 180°, so entsteht Anilin, das, gesammelt und mit Bromwasser behandelt, Tribromanilin ergibt: Schmp. und Mischschmp. 119° (aus Alkohol). Der Rückstand, *DL*-Pyrrolidoncarbonsäure, wird aus wenig Wasser umkristallisiert. Schmp. und Mischschmp. 182°; optisch inaktiv.

DL-Pyrrolidoncarbonsäure-dicyclohexylaminsalz aus *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid (Versuch von Dr. F. Schäfer): 2 g *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid werden in 5 ccm absol. Tetrahydrofuran gelöst und mit 1.7 g Dicyclohexylamin versetzt. Es tritt schwache Erwärmung auf, und nach einigen Min. scheidet sich eine krist. Verbindung aus. Diese wird abgesaugt und mit wenig Wasser digeriert. Beim Absaugen hinterbleibt das trifluoressigsäure Salz des Dicyclohexylamins (Schmp. und Mischschmp. 229°). Die wäbr. Lösung wird i. Vak. konzentriert, mit etwas Alkohol und Dicyclohexylamin versetzt, wobei das Dicyclohexylaminsalz der *DL*-Pyrrolidoncarbonsäure auskristallisiert. Schmp. 177° aus Alkohol + Äther; optisch inaktiv. Der Mischschmp. der aus *DL*-Pyrrolidoncarbonsäure und Dicyclohexylamin erhaltenen gleichen Verbindung liegt ebenfalls bei 177°.

$C_{12}H_{23}N \cdot C_6H_7O_3N$ (310.4) Ber. C 65.77 H 9.74 N 9.03 Gef. C 65.21 H 9.70 N 9.11

Trifluoressigsäure-dicyclohexylamid: 0.85 g Dicyclohexylamin und 1 g Trifluoressigsäure-anhydrid werden vermischt. Bei der Behandlung mit heißem Wasser hinterbleibt das Amid, das aus Methanol umkristallisiert wird; Schmp. 85°.

$C_{14}H_{22}ONF_3$ (277.3) Ber. C 60.63 H 8.00 N 5.05 Gef. C 60.45 H 8.14 N 5.20

N-Trifluoracetyl-*L*-glutaminsäure-1-äthylester-5-dicyclohexylamin-salz: 1.86 g *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid werden unter Rückfluß mit 10 ccm absol. Alkohol 4 Stdn. gekocht. Nach dem Einengen i. Vak. wird mit einem Überschuß an Dicyclohexylamin versetzt und die restliche Base mit Petroläther entfernt. Das krist. Salz kann aus Wasser oder Benzol umkristallisiert werden. Farblose Nadeln vom Schmp. 189°; Ausb. 1.97 g (53% d.Th.).

$C_{12}H_{23}N \cdot C_9H_{18}O_5NF_3$ (452.5) Ber. C 55.74 H 7.82 N 6.20 Gef. C 55.94 H 7.94 N 6.39

N-Trifluoracetyl-*L*-glutaminsäure-1-äthylester-5-anilid: 1.42 g *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-anhydrid setzt man, wie im vorigen Versuch beschrieben, mit absol. Alkohol um. Durch Behandeln mit Thionylchlorid in Benzol gewinnt man das Säurechlorid. Nach dem Eindampfen i. Vak. nimmt man in Benzol auf, fügt 3 ccm Anilin hinzu und läßt einige Zeit stehen. Beim Waschen der benzolischen Lösung mit verd. Salzsäure scheiden sich bereits Kristalle in reichlicher Menge ab, die abgesaugt und mit Wasser gewaschen werden. Durch Eindampfen der benzolischen Lösung erhält man eine weitere Menge. Ausb. sehr gut; Schmp. 145° (aus wäbr. Alkohol umkrist.).

$C_{18}H_{17}O_4N_2F_3$ (346.3) Ber. C 52.05 H 4.95 N 8.12 Gef. C 51.76 H 5.06 N 8.27

L-Glutaminsäure-5-anilid aus *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-1-äthylester-5-anilid: 0.33 g werden in 5 ccm 96-proz. Alkohol gelöst und unter Rühren mit 22 ccm $n/_{10}$ NaOH versetzt. Man rührt 30 Min. bei 40° und läßt über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Nach dem Ansäuern mit Essigsäure fällt beim Einengen das *L*-Glutaminsäure-5-anilid aus; Schmp. und Mischschmp. 216°.

Verschiedene Verbindungen

N-Trifluoracetyl-*L*-valin: Die Substanz wird aus 1.47 g *L*-Valin mit 2 ccm Trifluoressigsäure-anhydrid in der üblichen Weise erhalten und sublimiert bei 11 Torr und 110° Badtemperatur: Farblose, zu Büscheln vereinigte Nadelchen. Schmp. 75°; Ausb. 2.3 g (85% d.Th.); aus Toluol verfilzte Nadelchen, Schmp. 86–87°.

$[\alpha]_D^{25}$: -9.6° ($c = 1.67$ in absol. Alkohol); -15.1° ($c = 1.7$ in Wasser).

$C_7H_{10}O_3NF_3$ (213.2) Ber. C 39.40 H 4.73 N 6.56 Gef. C 39.78 H 5.01 N 6.57

N-Trifluoracetyl-*L*-valin-anilid: Die Substanz ist aus dem Säurechlorid durch Umsetzung mit Anilin erhältlich und wird aus Benzol umkristallisiert. Zarte Nadelchen vom Schmp. 222°; Ausb. 93% d.Theorie.

$[\alpha]_D^{25}$: -30.5° ($c = 0.868$ in absol. Äthanol).

$C_{13}H_{15}O_2N_2F_3$ (288.7) Ber. C 54.22 H 5.25 N 9.71 Gef. C 54.33 H 5.35 N 9.80

N-Trifluoracetyl-*L*-valyl-glycin-äthylester: Das aus 0.357 g *N*-TFA-*L*-Valin mit Thionylchlorid in Benzol dargestellte Säurechlorid wird nach Abdampfen des Benzols in 5 ccm absol. Benzol aufgenommen und mit 0.5 g Glycin-äthylester versetzt, wobei Erwärmung auftritt. Es wird 5 Min. lang zum Sieden erhitzt. Das ausgefallene Glycin-äthylester-hydrochlorid trennt man ab, verdünnt mit 20 ccm Benzol, wäscht mit 2*n* HCl und Wasser und trocknet die benzolische Lösung mit Natriumsulfat. Beim Konzentrieren i. Vak. scheiden sich feine, verfilzte Nadelchen aus. Schmp. 141°; Ausb. fast quantitativ.

$[\alpha]_D^{25}$: -64.4° ($c = 1.06$ in absol. Alkohol).

$C_{11}H_{17}O_4N_2F_3$ (298.3) Ber. C 44.27 H 5.74 N 9.39 Gef. C 44.20 H 5.74 N 9.22

N-Trifluoracetyl-*L*-alanyl-*L*-alanin-äthylester: Darstellung analog der vorigen Verbindung aus *N*-TFA-*L*-Alanin¹⁾ und *L*-Alanin-äthylester. Die benzolische Lösung darf nur mit wenig Wasser gewaschen werden. Ausb. 82% d.Th.; Nadeln aus Wasser; Schmp. 139°.

$[\alpha]_D^{25}$: -77.8° ($c = 0.926$ in absol. Äthanol).

$C_{10}H_{15}O_4N_2F_3$ (284.2) Ber. C 42.25 H 5.32 N 9.86 Gef. C 42.07 H 5.43 N 9.82

N-Trifluoracetyl-*L*-alanyl-glycin-äthylester: Die Substanz wird über das Säurechlorid in 82-proz. Ausbeute erhalten. Schmp. 100.5–101.5°; aus Benzol verfilzte Nadeln.

$[\alpha]_D^{25}$: -58.8° ($c = 1.64$ in absol. Alkohol).

$C_9H_{15}O_4N_2F_3$ (270.2) Ber. C 40.00 H 4.85 N 10.38 Gef. C 40.13 H 4.97 N 10.36

N-Trifluoracetyl-DL-alanyl-DL-alanin-benzylester: Zu dem aus 5.66 g DL-Alanin mit Thionylchlorid dargestellten Säurechlorid, das in 20 ccm absol. Benzol gelöst ist, gibt man tropfenweise die Lösung von 12 g DL-Alanin-benzylester in 20 ccm Benzol. Nach Stehenlassen über Nacht ist der Kolbeninhalt erstarrt. Nach Verdünnen mit 20 ccm Wasser wird abgesaugt, worauf der Rückstand zweimal mit je 40 ccm 2*n* HCl und dann mit viel Wasser gewaschen wird. Aus der benzolischen Lösung wird nach Waschen mit verd. Salzsäure, Trocknen mit Natriumsulfat und Einengen noch eine geringe Menge der Verbindung gewonnen. Umkristallisation aus Benzol + Petroläther unter Entfärbung mit Tierkohle. Ausb. 7.15 g (68% d.Th.); Schmp. 115–116°.

$C_{15}H_{17}O_4N_2F_3$ (346.3) Ber. C 52.02 H 4.95 N 8.09 Gef. C 52.91 H 5.26 N 7.78

N-Trifluoracetyl-DL-alanin-amid: Das aus 1.39 g *N*-TFA-DL-Alanin mit Thionylchlorid hergestellte Säurechlorid wird in 10 ccm absol. Tetrahydrofuran aufgenommen. Darauf kondensiert man bei –70° Ammoniak hinzu und läßt sodann das Ammoniak allmählich unter Feuchtigkeitsausschluß verdunsten. Nach dem Eindampfen i. Vak. wird erneut in 10 ccm Tetrahydrofuran aufgenommen und das entstandene Ammoniumchlorid abfiltriert. Beim Zusatz von Petroläther kristallisiert das *N*-TFA-DL-Alanin-amid aus. Ausb. 1.13 g (82% d.Th.); Schmp. 172° aus Tetrahydrofuran + Petroläther. Zur Analyse wurde eine Probe i. Vak. sublimiert.

$C_6H_7O_2N_2F_3$ (184.1) Ber. C 32.62 H 3.85 N 15.22 Gef. C 32.95 H 3.98 N 14.78

Glycin-äthylester: 5 g Glycin-äthylester-hydrochlorid werden fein pulverisiert und in den Kolben einer Destillationsapparatur mit kurzer Kolonne gebracht. Nach Zugabe von 7 ccm (0.9 Mol.) Dicyclohexylamin erhitzt man bei 12 Torr auf 110° (Ölbad). Die Vorlage wird mit Eis gekühlt. Ausb. an Glycin-äthylester 3.24 g (98% d.Th., ber. auf die eingesetzten 0.9 Mol. Base); Sdp.₁₂ 43°. Man kann auch 1 Mol. Base verwenden und erhält dann über 90% d.Th. an Glycin-äthylester. Bei größeren Ansätzen muß das Glycin-äthylester-hydrochlorid mit dem Dicyclohexylamin gut vermischt werden.

6. Walter Ried und Heinz Bender: Notiz über einige neue Abkömmlinge des Thionaphthens¹⁾

[Aus dem Institut für organische Chemie der Universität Frankfurt a. M.]

(Eingegangen am 22. Oktober 1954)

Thionaphthen-aldehyd-(2) wird mit Hippursäure zu Thionaphthyl-(2)-alanin, mit Malonsäure zu Thionaphthyl-(2)-acrylsäure und deren Derivaten umgesetzt.

Thionaphthen-aldehyd-(2) und Thionaphthen-carbonsäure-(2) werden bromiert. Das Brom tritt in die 3-Stellung ein.

Thionaphthen-aldehyd-(2)²⁾ kondensiert mit Hippursäure praktisch quantitativ zu dem entsprechenden Azlacton, das sich sowohl mit Jodwasserstoffsäure nach J. Lamb und W. Robson³⁾ als auch nach E. Erlenmeyer jr.⁴⁾ in α -Amino- β -[thionaphthyl-(2)]-propionsäure (Thionaphthyl-(2)-alanin) überführen läßt.

¹⁾ H. Bender, Diplomarb. Frankfurt a. M., 1953.

²⁾ D. A. Shirley u. M. J. Danzig, J. Amer. chem. Soc. 74, 2935 [1952]. Der Thionaphthen-aldehyd-(2) wurde von uns unabhängig von den amerikanischen Autoren auf demselben Wege erhalten. Der Versuch, ihn aus Thionaphthyl-(2)-lithium und Orthoameisensäure-äthylester zu gewinnen, scheiterte.

³⁾ Biochem. J. 25, 1234 [1931].

⁴⁾ Liebigs Ann. Chem. 275, 1 [1893].