

6-n-Propyloxy-purin (II, Alk = $n\text{-C}_3\text{H}_7$): Rohausbeute 0.8 g. Aus Wasser (Kohle) feine Nadelchen, Schmp. 180–181°, R_F 0.77. UV-Spektrum (p_H 1): $\lambda_{\max} = 254 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 11\,180$.

$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{ON}_4$ (178.2) Ber. C 53.92 H 5.66 N 31.45 Gef. C 53.50 H 5.37 N 30.93

6-Isopropyloxy-purin (II, Alk = $i\text{-C}_3\text{H}_7$): Rohausbeute 0.7 g. Aus Wasser (Kohle) farblose Nadeln, Schmp. 192–193°. R_F 0.84. UV-Spektrum (p_H 1): $\lambda_{\max} = 255 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 11\,300$.

$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{ON}_4$ (178.2) Ber. C 53.92 H 5.66 N 31.45 Gef. C 53.30 H 5.64 N 31.18

6-n-Butyloxy-purin (II, Alk = $n\text{-C}_4\text{H}_9$): Rohausbeute 0.9 g. Aus Äthanol (Kohle) farblose Kristalle, Schmp. 163–164°. R_F 0.80. UV-Spektrum (p_H 1): $\lambda_{\max} = 255 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 11\,280$.

$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{ON}_4$ (192.2) Ber. C 56.19 H 6.29 N 29.15 Gef. C 55.80 H 6.24 N 28.84

6-Tetrahydrofurfuryloxy-purin (V): 1 g *6-Chlor-purin* wurde mit einer Lösung von 1.5 g Natrium in 20 ccm wasserfreiem *Tetrahydrofurfurylalkohol* 1 Stde. bei 100° erhitzt. Die viskose braune Lösung wurde nach Zusatz von 10 ccm Wasser auf p_H 7 gestellt, Natriumchlorid durch Zusatz von Aceton ausgefällt, nach Filtration die Lösung i. Vak. auf ein kleines Volumen eingengt. Bei Kühlung erfolgte Kristallisation. Das Rohprodukt (0.5 g) wurde mit Wasser gewaschen und aus Wasser umkristallisiert. Farblose Kristalle, Schmp. 182–184°. R_F 0.67. UV-Spektrum (p_H 7): $\lambda_{\max} = 252 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 10\,550$.

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{N}_4$ (220.2) Ber. C 54.53 H 5.46 N 25.44 Gef. C 54.70 H 5.71 N 24.96

BURCKHARDT HELFERICH, PETER SCHELLENBERG und JOHANNES ULLRICH

DIE SYNTHESE EINIGER OLIGOPEPTIDE AUS L-GLUTAMINSÄURE UND GLYCIN

Aus dem Chemischen Institut der Universität Bonn

(Eingegangen am 11. Februar 1957)

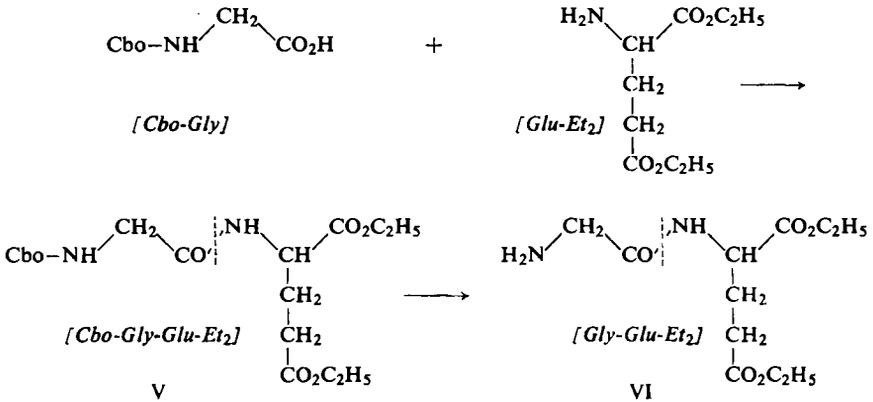
Es wurden eine Reihe neuer Derivate von Glykokoll, L-Glutaminsäure, Glycyl-L-glutaminsäure und α -L-Glutamyl-glycin synthetisiert. Ein Teil dieser Substanzen wurde zu Derivaten der α -L-Glutamyl-glycyl-L-glutaminsäure und des Di- $[\alpha$ -L-glutamyl]-glycins weiterverarbeitet.

H. KELLER hat als thermostabilen Co-Faktor der Carboanhydrase das Zink-Komplexsalz eines Tripeptids aus zwei Glutaminsäuren und einem Glycin beschrieben¹⁾. Nimmt man an, daß die „natürliche“ L-Glutaminsäure diesem Co-Faktor zugrundeliegt, so sind acht verschiedene normale Möglichkeiten eines solchen Tripeptids denkbar. In seiner Habilitationsschrift (Aachen 1956) beschreibt H. KELLER schon eine Reihe synthetischer Versuche zur Darstellung der in Frage kommenden Tripeptide. In voller Übereinstimmung mit Herrn KELLER haben wir die Synthese dieser Tripeptide mit optisch aktiver L-Glutaminsäure in Angriff genommen. Das Ziel der Arbeit ist, die Substanzen rein darzustellen, um sie auf ihre physiologische Wirkung zu prüfen.

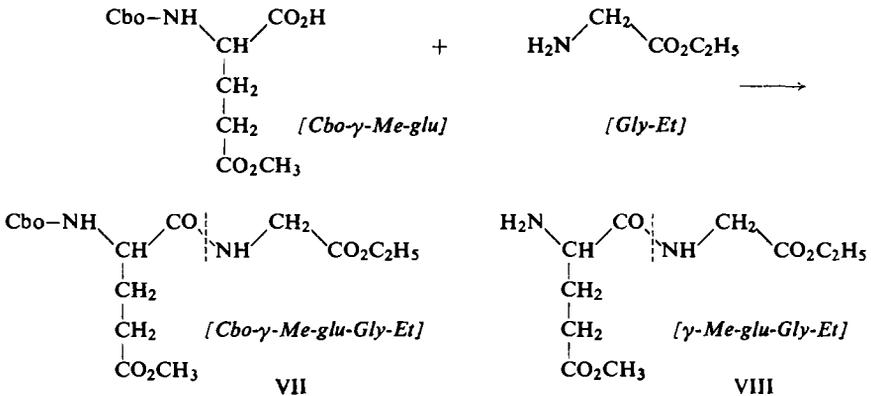
¹⁾ H. KELLER, Ber. ges. Physiol. exp. Pharmakol. **162**, 366 [1954]; Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **299**, 104 [1955].

Mit der Darstellung über die *N,N*-Dibenzyl-Verbindungen⁹⁾, der einzigen, die bisher zum kristallisierten Dipeptid geführt hat, sind unsere Erfahrungen weniger günstig.

Der für die Weiterverarbeitung benötigte Glycyl-*L*-glutaminsäure-diäthylester (als salzsaures Salz¹⁰⁾ (VI) wurde dagegen nicht über das Phthalyl-dipeptid, sondern besser über die Carbobenzyloxy-Verbindung (V)¹⁰⁾ auf dem folgenden Weg gewonnen:

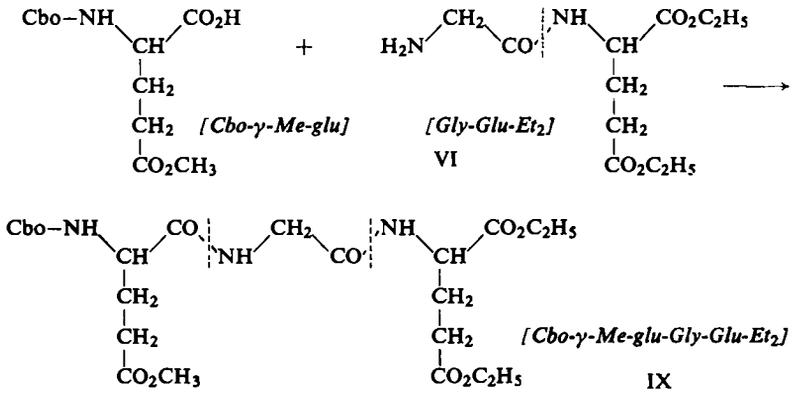


Auf eine analoge Weise wurde der α -*L*-Glutamyl- $[\gamma$ -methylester]-glycin-äthylester (VIII) als salzsaures Salz gewonnen. Die Verwendung der γ -Methylestergruppe (statt Äthyl-, vgl. I. c.⁶⁾) führte ohne Schwierigkeiten zu einem kristallisierten Produkt:

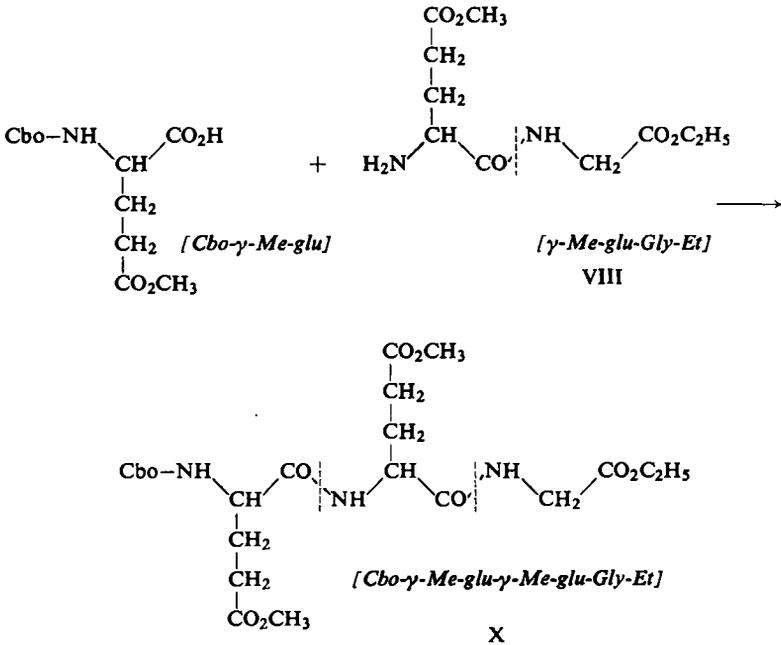


Der Carbobenzyloxy- α -*L*-glutamyl- $[\gamma$ -methylester]-glycyl-*L*-glutaminsäure-diäthylester (IX) wurde auf dem gleichen Wege hergestellt. Die Substanz kristallisiert nach unseren Erfahrungen besser als der entsprechende γ -Äthylester.

¹⁰⁾ V. PRELOG und P. WIELAND, *Helv. chim. Acta* **29**, 1128 [1946].



Analog wurde der Carbobenzo-bis-[α -L-glutamyl-(γ -methylester)]-glycin-äthylester (X; vgl. l.c.⁶⁾) gewonnen:



Die Fortsetzung der Arbeit hat schon verschiedene Tripeptide ergeben, deren Synthese und Beschreibung in einer späteren Veröffentlichung gebracht werden soll.

Dem WIRTSCHAFTSMINISTERIUM DES LANDES NORDRHEIN-WESTFALEN danken wir herzlich für seine Unterstützung.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE*)

Glycin-Derivate

1. *Phthalyl-glycin-cyanmethylester*: 4.1 g (0.02 Mol) *Phthalyl-glycin*¹¹⁾ werden mit 2.8 ccm (0.02 Mol) Triäthylamin und 2.0 ccm (ca. 0.03 Mol) *Chloracetonitril* in 50 ccm absol. Essigester 5 Stdn. rückgekocht (vgl. l. c.³⁾). Die warme Lösung wird vom ausgeschiedenen Triäthylammoniumchlorid abgetrennt (dekantiert), der Rückstand mit wenig warmem Essigester nachgewaschen und durch Abkühlen (Reiben oder Impfen) die Hauptmenge des entstandenen Cyanmethylesters zur Kristallisation gebracht. Diese wird durch Zusatz von Petroläther vervollständig. Die mit Petroläther gewaschene, exsiccatorrockene Substanz schmilzt nach 1- bis 2-maligem Umkristallisieren aus etwa 10 Vol.-Tln. Essigester bei 132–133.5°. Ausb. (an Rohprodukt) ca. 4.6 g (94% d. Th.). Ansatzgröße praktisch beliebig.

$C_{12}H_{10}O_4N_2$ (244.2) Ber. C 59.00 H 3.30 N 11.47 Gef. C 59.12 H 3.49 N 11.70

2. *p-Nitro-carbobenzoxy-glycin-cyanmethylester*: Die Substanz wird aus 4.8 g (0.02 Mol) *p-Nitro-carbobenzoxy-glycin*⁷⁾ nach der gleichen Methode hergestellt wie bei der Phthalyl-Verbindung beschrieben. Die vom Triäthylammoniumchlorid abgetrennte Essigesterlösung wird mehrfach mit *n* HCl, einmal mit Wasser und dann mehrmals mit $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und i. Vak. auf 15–20 ccm eingedampft. Durch langsame Zugabe von 40 ccm Äther und 50 ccm Petroläther unter Reiben oder Impfen wird der Cyanmethylester kristallin ausgefällt und nach einigen Stdn. Aufbewahren im Kühlschrank abgesaugt und mit Petroläther gewaschen. Ausb. 5.0–5.3 g (85–90% d. Th.). Nach dem Umkristallisieren durch Lösen in Essigester, Zugabe von Äther und langsames Ausfällen mit Petroläther (s. o.) schmilzt die reine Substanz bei 77–79°. Ansatzgröße praktisch beliebig.

$C_{12}H_{11}O_6N_3$ (293.2) Ber. C 49.17 H 3.78 N 14.33 Gef. C 49.07 H 3.89 N 14.53

L-Glutaminsäure-Derivate

3. *Carbobenzoxy-L-glutaminsäure-dibenzylester*: 28.1 g (0.1 Mol) *Carbobenzoxy-L-glutaminsäure*^{12,13)} werden mit 22 ccm (0.21 Mol) *Benzylalkohol* und 3 g Benzol- oder *p*-Toluolsulfonsäure in 250 ccm Toluol in einer Wasserabtrennungsvorrichtung¹⁴⁾ (vereinfacht) etwa 3 Stdn. rückgekocht, bis etwa 4 ccm Wasser azeotrop abdestilliert sind (vgl. l. c.¹⁵⁾). Die Lösung des entstandenen Esters wird 6 Stdn. mit 6 g MgO geschüttelt, abfiltriert und der Schlamm mehrfach mit Benzol ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate werden i. Vak. eingedampft, und der ölige Rückstand wird aus 250 ccm Äthanol unter Zusatz von etwas Wasser zur Kristallisation gebracht. Die Ausbeute an Dibenzylester, der zunächst mit wenig Äthanol, dann mit wasserhaltigem Äthanol gewaschen und getrocknet ist, beträgt 36 g (78% d. Th.). Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus 80–90-proz. Äthanol oder aus Essigester-Petroläther oder aus Äther-Petroläther oder auch aus viel Petroläther schmilzt die Substanz bei 70–71°.

$C_{27}H_{27}O_6N$ (461.5) Ber. C 70.26 H 5.89 N 3.04 Gef. C 70.16 H 5.90 N 2.86

$[\alpha]_D^{25} = -0.59^\circ \times 2.5/0.0778 \times 1.00 = -18.8^\circ$ (96-proz. Äthanol)

$[\alpha]_D^{25} = -0.36^\circ \times 2.5/0.1060 \times 1.00 = -8.5^\circ$ (Essigester)

*) Die Schmp. (unkorr.) sind auf dem Cu-Block unter dem Mikroskop bestimmt.

11) E. DRECHSEL, J. prakt. Chem. [2] 27, 418 [1883].

12) M. BERGMANN und L. ZERVAS, Ber. dtsh. chem. Ges. 65, 1192 [1932].

13) V. DU VIGNEAUD und G. L. MILLER, Biochem. Prep. 2, 80 [1952]; St. GOLDSCHMIDT und Ch. JUTZ, Chem. Ber. 86, 1116 [1953].

14) H. MEYER, Liebigs Ann. Chem. 433, 331 [1923]; E. ECKERT und P. WULFF, Angew. Chem. 53, 403 [1940].

15) D. BEN-ISHAÏ und A. BERGER, J. org. Chemistry 17, 1564 [1952].

4. *p*-Nitro-carbobenzoxy-L-glutaminsäure-dibenzylester: Aus 3.26 g (0.01 Mol) *p*-Nitro-carbobenzoxy-L-glutaminsäure¹⁶⁾ und 2.5 ccm (0.024 Mol) Benzylalkohol werden mit 0.3 bis 0.4 g Benzol- oder *p*-Toluolsulfonsäure in 50 ccm Toluol in gleicher Weise wie bei 3. 4.1 g (81% d. Th.) Ester (aus 75 ccm Äthanol in Nadeln) erhalten. Die Substanz schmilzt nach dem Umkristallisieren aus Äthanol bei 81°.

$C_{27}H_{26}O_8N_2$ (506.5) Ber. C 64.00 H 5.17 N 5.53 Gef. C 63.86 H 5.18 N 5.54

$$[\alpha]_D^{22} = -0.10^\circ \times 2.5/0.0223 \times 1.00 = -11.2^\circ \text{ (96-proz. Äthanol)}$$

$$[\alpha]_D^{21} = -0.40^\circ \times 2.5/0.1325 \times 1.00 = -7.5^\circ \text{ (Essigester)}$$

$$[\alpha]_D^{22} = -0.15^\circ \times 2.5/0.0760 \times 1.00 = -4.9^\circ \text{ (Eisessig)}$$

5. Salze des L-Glutaminsäure-dibenzylesters

a) *Hydrochlorid*: Die Darstellung nach H. SACHS und E. BRAND¹⁷⁾ gelingt nur gut (Schmp. 97–99°) bei sorgfältiger Dosierung des eingeleiteten HCl; sonst entsteht leicht das Racemat (Schmp. 119–123°).

b) *Hydrobromid* (vgl. l. c.¹⁵⁾): 4.6 g (0.01 Mol) Carbobenzoxy-L-glutaminsäure-dibenzylester werden in 10 ccm ca. 35-proz. HBr in Eisessig bei Raumtemperatur bis zum Ende der CO₂-Entwicklung (12–15 Min.) aufbewahrt. Durch Zusatz von 100 ccm absol. Äther wird das Salz teilweise kristallin ausgefällt. Es wird nach längerem Stehenlassen der Mischung abgesaugt, mit viel Äther gewaschen und durch mehrmaliges Lösen in wenig kaltem Methanol und Ausfällen mit viel trockenem Äther gereinigt. Ausb. 2.3 g (57% d. Th.). Die Substanz kristallisiert entweder in kaum hygroskop. Nadeln vom Schmp. 100–102° oder in flachen, länglichen Plättchen mit Kristall-Lösungsmittel, die bei 81–83° schmelzen und dann in der lösungsmittelfreien Modifikation rekristallisieren.

$C_{19}H_{21}O_4N \cdot HBr$ (408.3) Ber. C 55.88 H 5.42 N 3.43 Gef. C 55.59 H 5.41 N 3.61

$$[\alpha]_D^{21} = +0.18^\circ \times 2.5/0.0483 \times 1.00 = +9.3^\circ \text{ (96-proz. Äthanol)}$$

c) *Benzolsulfonat*: Dargestellt nach FODOR und Mitarbb.¹⁸⁾ (vgl. l. c.¹⁹⁾). Aus wenig kaltem Methanol mit Äther und Petroläther ausgefällt, kristallisiert das Salz in Nadeln vom Schmp. 109–113°.

$C_{19}H_{21}O_4N \cdot C_6H_6O_3S$ (485.5) Ber. C 61.82 H 5.61 Gef. C 62.13 H 5.57

$$[\alpha]_D^{21} = +0.16^\circ \times 2.5/0.0474 \times 1.00 = +8.4^\circ \text{ (96-proz. Äthanol)}$$

d) *Nitrat*: Es fällt beim Versetzen einer mäßig konzentrierten wäßrigen Lösung eines der anderen Salze mit einem geringen Überschuß 2 *n* HNO₃ aus. Aus Wasser oder Essigester oder aus Methanol durch Zusatz von viel Äther umkristallisiert, schmilzt es bei 134–137°. Es ist löslich in kalten Alkoholen, heißem Essigester und heißem Chloroform. Dieses Nitrat kann man vorteilhaft zur Reinigung des Esters verwenden.

$C_{19}H_{21}O_4N \cdot HNO_3$ (390.4) Ber. C 58.44 H 5.68 N 7.18 Gef. C 58.62 H 5.76 N 7.10

$$[\alpha]_D^{20} = +0.12^\circ \times 2.5/0.0275 \times 1.00 = +10.9^\circ \text{ (96-proz. Äthanol)}$$

Glycyl-L-glutaminsäure und Derivate

6. Phthalyl-glycyl-L-glutaminsäure-diäthylester (II)

a) (vgl. l. c.²⁾): Eine auf –10° abgekühlte Lösung von 4.1 g (0.02 Mol) Phthalyl-glycin¹¹⁾ und 2.8 ccm absol. Triäthylamin in 50 ccm absol. Chloroform wird mit 2.0 ccm (0.021 Mol) Chlorameisensäure-äthylester versetzt. Nach 10–20 Min. bei –5° wird eine vorgekühlte

¹⁶⁾ D. T. GISH und F. H. CARPENTER, J. Amer. chem. Soc. 75, 950 [1953].

¹⁷⁾ J. Amer. chem. Soc. 75, 4610 [1953].

¹⁸⁾ P. J. FODOR, A. MILLER, A. NEIDLE und H. WAELSCH, J. biol. Chemistry 203, 991 [1953].

¹⁹⁾ H. K. MILLER und H. WAELSCH, J. Amer. chem. Soc. 74, 1092 [1952].

Lösung von 5.0 g *L-Glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid*^{20,10} (0.021 Mol) in 30 ccm absol. Chloroform zugefügt und sofort unter Umschwenken oder Rühren weiteres Triäthylamin (3.0 ccm, 0.021 Mol) zugegeben. Nach etwa 12 stdg. Aufbewahren bei Raumtemperatur wird die Lösung nacheinander 3-mal mit *n* HCl, 1-mal mit Wasser und 3-mal mit NaHCO₃-Lösung (je 60 ccm) gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. bei 50–60° zu einem teilweise kristallinen Rückstand eingetrocknet. Ausb. um 6 g (77% d. Th.). Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus sehr viel Wasser (seidige Nadeln) oder wenig Methanol (klumpige Aggregate) schmilzt die Verbindung bei 143°. Auch der 2.5-fache Ansatz gelingt.

C₁₉H₂₂O₇N₂ (390.4) Ber. C 58.44 H 5.68 N 7.18 Gef. C 58.65 H 5.69 N 7.42

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -0.38^{\circ} \times 10.0/0.214 \times 1.00 = -17.8^{\circ} \text{ (96-proz. Äthanol)}$$

b) (vgl. l. c.²¹): Zu einer stark turbinierten Lösung von 4.5 g (0.02 Mol) *Phthalyl-glycylchlorid*²² und 4.8 g (0.02 Mol) *L-Glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid*^{20,10} in 40 ccm absol. Chloroform läßt man bei –20° 5.6 ccm Triäthylamin (0.04 Mol), gelöst in 20 ccm absol. Chloroform, im Verlaufe von 2 Std. zutropfen, rührt dann je 1 Stde. bei –20°, 0° und +20° weiter und arbeitet nach etwa 10 stdg. Aufbewahren bei Raumtemperatur wie bei a) auf. Ausb. an Rohprodukt 5.6 g (71% d. Th.). Auch der 10-fache Ansatz gelingt.

7. *Phthalyl-glycyl-L-glutaminsäure-dimethylester (I)* wird aus 4.1 g *Phthalyl-glycin*¹¹ und 4.6 g (0.021 Mol) *L-Glutaminsäure-dimethylester-hydrochlorid* (Gewinnung ähnlich der des Äthylesters²⁰) analog dem Diäthylester (6. a) dargestellt. Das Rohprodukt kristallisiert gut aus 450–500 ccm Wasser (Ausb. 5.7 g = 79% d. Th.) und wird durch 1- bis 2-maliges Umkristallisieren aus Äthanol oder wiederum aus Wasser in schönen Nadeln vom Schmp. 158 bis 160° erhalten. Auch der 2.5-fache Ansatz gelingt.

C₁₇H₁₈O₇N₂ (362.3) Ber. C 56.34 H 5.00 N 7.73 Gef. C 56.62 H 5.18 N 7.83

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -0.10^{\circ} \times 2.5/0.0154 \times 1.00 = -16.2^{\circ} \text{ (96-proz. Äthanol)}$$

In Eisessiglösung kann trotz höherer Konzentration (bessere Löslichkeit) keine Drehung beobachtet werden.

8. *Phthalyl-glycyl-L-glutaminsäure-dibenzylester*

a) Die Substanz wird aus 2.05 g (0.01 Mol) *Phthalyl-glycin*¹¹ und 4.0 g (0.011 Mol) *L-Glutaminsäure-dibenzylester-hydrochlorid* (5. a) hergestellt, wie bei 6. a) beschrieben. Das Rohprodukt wird aus Äthanol durch Fälln mit Äther und Petroläther in undeutlich kristallinen Klumpen erhalten (Ausb. 4.4 g = 86% d. Th.) und schmilzt nach Umkristallisieren aus Äthanol bei 90–93°. Fällt die Substanz zunächst gallertig aus, so kann sie durch Reiben und längeres Aufbewahren noch zur Kristallisation gebracht werden.

C₂₉H₂₆O₇N₂ (514.5) Ber. C 67.70 H 5.10 N 5.45 Gef. C 67.56 H 5.18 N 5.48

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -0.34^{\circ} \times 2.5/0.0498 \times 1.00 = -17.1^{\circ} \text{ (96-proz. Äthanol)}$$

b) 3.52 g (0.01 Mol) *Phthalyl-glycyl-L-glutaminsäure-monohydrat* (9.) werden bei 100° i. Vak. getrocknet und dann mit 2.5 ccm *Benzylalkohol* und 150 mg Benzolsulfonsäure in 50 ccm Toluol durch 8 stdg. Rückkochen verestert, bis eine klare Lösung entstanden ist und etwa 0.2 ccm Wasser azeotrop abdestilliert sind (Apparatur s. 3.). Nach 8 stdg. Schütteln mit 3 g MgO, Absaugen und Nachwaschen des Schlamms mit Benzol werden die vereinigten, etwas

²⁰) E. FISCHER, Ber. dtsh. chem. Ges. 34, 453 [1901]; H. M. CHILES und W. A. NOYES, J. Amer. chem. Soc. 44, 1802 [1922].

²¹) J. C. SHEEHAN, D. W. CHAPMAN und R. W. ROTH, J. Amer. chem. Soc. 74, 3822 [1952].

²²) S. GABRIEL, Ber. dtsh. chem. Ges. 40, 2648 [1907]; J. C. SHEEHAN und V. S. FRANK, J. Amer. chem. Soc. 71, 1856 [1949].

gelben Filtrate i. Vak. eingedampft und der Rückstand aus 50 ccm Äthanol kristallisiert. Ausb. 4.0 g (78 % d. Th.). Nach Umkristallisieren aus Äthanol schmilzt die Substanz bei 89–92°.

9. *Phthalyl-glycyl-L-glutaminsäure(-monohydrat) (III)*

a) Die Lösung von 7.8 g (0.02 Mol) rohem *Phthalyl-glycyl-L-glutaminsäure-dimethyl-* (I) oder 7.25 g *-diäthylester* (II) in 40 ccm konz. Salzsäure (*d* 1.19) wird 1–2 Stdn. bei Raumtemperatur aufbewahrt, von Verunreinigungen abfiltriert und i. Vak. zur Trockne verdampft (Badtemperatur höchstens 50°). Der Rückstand wird 1- bis 2-mal aus 50 ccm Wasser umkristallisiert. Die Substanz kristallisiert langsam, erst im Verlaufe einiger Tage bei niedriger Temperatur vollständig. Ausb. etwa 5.2 g (74 % d. Th.) derbe Kristalle. Die kristallwasserhaltige Substanz schmilzt zunächst bei 85–90°, wird bei 100–110° wasserfrei wieder fest und schmilzt endgültig bei 194–196°. Den gleichen hohen Schmp. zeigt die bei 100° i. Vak. getrocknete Substanz. Auch der 5-fache Ansatz gelingt.

$C_{15}H_{14}O_7N_2 \cdot H_2O$ (352.3; wasserfrei: 334.3) Ber. C 51.15 H 4.57 N 7.95 H_2O 5.12
Gef. C 51.04 H 4.67 N 7.91 H_2O 4.98

$[\alpha]_D^{22} = + 0.43^\circ \times 5.0/0.457 \times 1.00 = + 4.7^\circ$ (wasserfreie Substanz in 96-proz. Äthanol)

Die methanolische Lösung zeigt keine meßbare Drehung.

b) 500 mg (ca. 1 mMol) *Phthalyl-glycyl-L-glutaminsäure-dibenzylester* (8.) werden in 50 ccm Äthanol nach Zusatz von 0.5 g Pd-Mohr im langsamen Wasserstoffstrom hydriert (etwa 4 Stdn.); das Filtrat wird i. Vak. eingedampft und der Rückstand aus 5 ccm Wasser umkristallisiert. Ausb. 0.26 g (74 % d. Th.).

10. *Carbobenzoxy-glycyl-L-glutaminsäure-diäthylester*¹⁰⁾ (V)

a) 4.2 g (0.02 Mol) *Carbobenzoxy-glycin*^{12,23)} werden unter Zusatz von 2.8 ccm Triäthylamin in 50 ccm absol. Chloroform mit 2.0 ccm (0.021 Mol) *Chlorameisensäure-äthylester* bei –5° zum gemischten Anhydrid kondensiert. Dieses wird nach 10–20 Min. mit 5.0 g *L-Glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid*^{20,10)} zur Reaktion gebracht, wie unter 6.a) beschrieben, und die Mischung wie dort aufgearbeitet. In den meisten Fällen wird die Substanz nur als Sirup in einer Ausbeute von 6.0–6.7 g (76–85 % d. Th.) erhalten. Der Sirup ist zur Weiterverarbeitung verwendbar. Auch 5-fache Ansätze führen zum gleichen Ergebnis.

b) (vgl. l. c.⁴⁾): Die Lösung von 5.0 g (0.02 Mol) *Carbobenzoxy-glycin-cyanmethylester*³⁾ und 5.0 g (0.021 Mol) *L-Glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid*^{20,10)} in 50 ccm absol. Chloroform wird bei 40–50° nach Zusatz von 5–10 Tropfen Eisessig unter Rühren ratenweise mit 3.0 ccm (0.021 Mol) Triäthylamin versetzt und 10 Stdn. bei dieser Temperatur aufbewahrt. Die übliche Aufarbeitung (s. 6. a)) ergibt 6.4 g (81 % d. Th.) Sirup, der wie der nach Methode 10. a) gewonnene zur Weiterverarbeitung verwendbar ist.

Gelegentlich wurden aus Essigester-Petroläther — in kleiner Menge — flache, längliche Plättchen vom Schmp. 53–55° erhalten.

$C_{19}H_{26}O_7N_2$ (394.4) Ber. C 57.86 H 6.64 O 28.40 N 7.10
Gef. C 58.10 H 6.46 O 28.23 N 7.23

$[\alpha]_D^{20} = - 0.30^\circ \times 2.0/0.0503 \times 1.00 = - 11.9^\circ$ (96-proz. Äthanol)

11. *p-Nitro-carbobenzoxy-glycyl-L-glutaminsäure-diäthylester*

a) 4.8 g (0.02 Mol) *p-Nitro-carbobenzoxy-glycin*⁷⁾ werden mit 2.0 ccm *Chlorameisensäure-äthylester* und 2.8 ccm Triäthylamin und dann mit 5.2 g (0.022 Mol) *L-Glutaminsäure-diäthyl-*

²³⁾ H. E. CARTER, R. L. FRANK und H. W. JOHNSTON, *Org. Syntheses*, Coll. Vol. III, 167 [1955].

ester-hydrochlorid^{20,10}) unter Zusatz von weiteren 3.0 ccm Triäthylamin nach der Vorschrift 6. a) umgesetzt und aufgearbeitet. Der erhaltene Sirup (7.1 g = 81% d. Th.) wird durch Lösen in Äthanol, Verdünnen mit Äther und Zugabe von Petroläther zur Kristallisation gebracht. Ausb. 5.0 g (57% d. Th.). Die Substanz schmilzt nach Umkristallisieren aus Äthanol-Wasser bei 85–87°.

$C_{19}H_{25}O_9N_3$ (439.4) Ber. C 51.93 H 5.73 N 9.57 Gef. C 52.13 H 5.71 N 9.69

$$[\alpha]_D^{21} = -0.12^\circ \times 2.5/0.0336 \times 1.00 = -8.2^\circ \text{ (96-proz. Äthanol)}$$

b) 0.60 g (ca. 2 mMol) *p*-Nitro-carbobenzoxy-glycin-cyanmethylester (2.) werden mit 0.60 g (2.5 mMol) *L*-Glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid^{20,10}) und 0.30 ccm Triäthylamin in 25 ccm Chloroform umgesetzt, wie bei 10. b) beschrieben. Es werden ca. 0.70 g (80% d. Th.) Sirup erhalten, dessen Kristallisation aus Äthanol-Petroläther 0.50 g (57% d. Th.) Nadelbüschel vom Schmp. 84–86° (nach Umkristallisieren aus Äthanol-Wasser) ergibt.

12. *p*-Nitro-carbobenzoxy-glycyl-*L*-glutaminsäure-dimethylester wird unter Einsatz von *L*-Glutaminsäure-dimethylester-hydrochlorid hergestellt, wie unter 11. a) beschrieben. Es werden 6.1 g (74% d. Th.) Sirup und durch Kristallisation aus Äthanol-Petroläther 4.2 g (51% d. Th.) klumpige Aggregate erhalten, die nach Umkristallisieren aus den gleichen Lösungsmitteln innerhalb eines ziemlich großen Intervalls (154–160°) schmelzen.

$C_{17}H_{21}O_9N_3$ (411.4) Ber. C 49.63 H 5.14 N 10.22 Gef. C 49.44 H 5.06 N 9.95

$$[\alpha]_D^{19} = +0.11^\circ \times 2.5/0.0407 \times 1.00 = +5.4^\circ \text{ (Dioxan)}$$

13. *p*-Nitro-carbobenzoxy-glycyl-*L*-glutaminsäure-dibenzylester: Die aus 4.8 g (0.02 Mol) *p*-Nitro-carbobenzoxy-glycin⁷), 2.8 ccm Triäthylamin und 2.0 ccm Chlorameisensäure-äthylester in 50 ccm absol. Chloroform bereitete Anhydridlösung wird, wie bei 6. a) beschrieben, mit 8.0 g (0.022 Mol) *L*-Glutaminsäure-dibenzylester-hydrochlorid (5. a)) umgesetzt und aufgearbeitet. Der erhaltene Sirup (11.3 g) wird aus Äthanol-Äther-Petroläther zur Kristallisation gebracht. Ausb. 8.1 g (72% d. Th.). Durch 2-maliges Umkristallisieren aus Äthanol werden Nadeln vom Schmp. 94–95° erhalten.

$C_{29}H_{29}O_9N_3$ (563.5) Ber. C 61.83 H 5.18 N 7.46 Gef. C 61.96 H 5.23 N 7.48

$$[\alpha]_D^{19} = -0.18^\circ \times 2.0/0.0253 \times 1.00 = -14.3^\circ \text{ (96-proz. Äthanol)}$$

14. Glycyl-*L*-glutaminsäure(-hemihydrat)^{9,8}) (IV)

a) Die siedende Lösung von 7.0 g *Phthalyl-glycyl-L*-glutaminsäure-monohydrat (III) (0.02 Mol) in 150 ccm Alkohol wird mit 40 ccm einer wäßrigen *m* Hydrazinhydratlösung versetzt, 1 Stde. rückgekocht und i. Vak. bei etwa 50° eingedampft. Der Rückstand wird in 80 ccm Wasser aufgenommen, die Lösung mit Essigsäure bis $p_H \sim 4$ angesäuert und das ausgefallene Phthalsäurehydrazid nach mehrstündigem Aufbewahren der Mischung im Kühlschrank abgesaugt und mit wenig eiskaltem Wasser nachgewaschen. Die vereinigten Filtrate werden i. Vak. zum Sirup eingedampft, dieser mit 5 ccm kaltem Wasser aufgenommen, nochmals einige Zeit im Kühlschrank aufbewahrt und der Rest Phthalsäurehydrazid abfiltriert. Das Peptid wird nun mit etwa 80 ccm 99-proz. Äthanol als Sirup ausgefällt und durch mehrfaches Abzentrifugieren und Anreiben mit jeweils frischem Äthanol schließlich in filtrierbaren Flocken erhalten. Ausb. 3.7 g (90% d. Th.). Das sehr hygroskopische amorphe Pulver wird durch Lösen in heißem Wasser (1 g in 10 ccm), Versetzen mit heißem Äthanol (ca. 50 ccm) bis zur beginnenden Trübung, Zugabe einiger Tropfen Wasser gerade bis zur Klärung und langsames Abkühlen in dünnen Plättchen kristallisiert erhalten. Schmp. 152–153° (exsiccator-trockene Substanz). Auch der 5-fache Ansatz gelingt.

$C_7H_{12}O_5N_2 \cdot \frac{1}{2} H_2O$ (213.2)

Trockenverlust (3 Stdn. 12 Torr, 110°, P_2O_5): Ber. H_2O 4.23% Gef. 4.5–5.1%

$C_7H_{12}O_5N_2$ (204.2) Ber. C 41.17 H 5.92 N 13.71 Gef. C 41.27 H 5.94 N 13.71

$[\alpha]_D^{22} = -0.15^\circ \times 5.0/0.1170 \times 1.00 = -6.4^\circ$ (wasserfreie Subst. in Wasser)

Bei der papierchromatographischen Prüfung²⁴⁾ wandert die Substanz einheitlich mit den R_{Gly} -Werten [$R_{Gly} = R_F(\text{Gly-Glu})/R_F(\text{Gly})$]

$R_{Gly} = 1.3$ [n-Butanol(4)-Eisessig(1)-Wasser(5); organ. Phase]

$R_{Gly} = 0.4$ [i-Propanol(8)-2.5 proz. wäßr. NH_3 (2); einphasig]

$R_{Gly} = 0.2$ [Phenol(72)-Wasser(28)-KCN(Spur); einphasig]

Papier: Schleicher & Schüll, Nr. 2043 b; absteigend; 24–25°. Ninhydrinfärbung anfangs gelb, dann nach Purpurrot umschlagend.

b) Durch katalyt. Hydrierung von 480 mg (0.86 mMol) *p*-Nitro-carbobenzoxy-glycyl-L-glutaminsäure-dibenzylester (13.) mit 0.3 g Pd-Mohr in 40 ccm 60-proz. Äthanol (6 Stdn.), Eindampfen des Filtrats i. Vak. und Fällung des Peptids aus der wäßrigen Lösung mit viel Äthanol werden 110 mg (63% d. Th.) amorphes Pulver erhalten, dessen papierchromatographisches Verhalten mit dem des nach 14. a) gewonnenen Produktes übereinstimmt.

15. *Glycyl-L-glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid* (VI)¹⁰⁾

a) Eine Lösung von 8.9 g (0.02 Mol) rohem, sirupösem *Carbobenzoxy-glycyl-L-glutaminsäure-diäthylester* (V) in 80 ccm absol. Äthanol wird nach Zugabe von 10 ccm einer 10-proz. Lösung von HCl in absol. Äthanol und 0.5 g Pd-Mohr unter Rühren mit einem langsamen Wasserstoffstrom bis zum Aufhören der CO_2 -Entwicklung (ca. 5 Stdn.) hydriert. Der nach Eindampfen des Filtrats i. Vak. zurückbleibende Sirup wird in 40 ccm Essigester heiß gelöst. Beim Abkühlen, zuletzt einen Tag lang im Kühlschrank, kristallisieren 4.0–4.4 g (67–74% d. Th.) schöne Plättchen aus. Schmp. nach 1- bis 2-maligem Umkristallisieren aus Essigester 113–115° (Lit.¹⁰⁾: 116–117°. Auch der 5-fache Ansatz gelingt (längeres Hydrieren notwendig).

$C_{11}H_{20}O_5N_2 \cdot HCl$ (296.8) Ber. C 44.53 H 7.12 N 9.44 Gef. C 44.34 H 7.25 N 9.35

$[\alpha]_D^{18} = -1.22^\circ \times 2.5/0.2224 \times 1.00 = -13.7^\circ$ (96-proz. Äthanol)

(Lit.¹⁰⁾: $[\alpha]_D: -12 \pm 2^\circ$)

b) 4.1 g (0.02 Mol) wasserfreie *Glycyl-L-glutaminsäure* (IV) werden 1 Stde. mit 50 ccm absol. Äthanol, das 5% HCl enthält, rückgekocht; die Lösung wird i. Vak. eingedampft und nochmals mit 50 ccm absol. Äthanol (ohne HCl-Zusatz) rückgekocht und erneut eingedampft. Der Rückstand kristallisiert aus 40 ccm Essigester. Ausb. 3.9 g (66% d. Th.). Auch der 5-fache Ansatz gelingt.

Die Drehung ($[\alpha]_D^{21} = -11.7^\circ$) läßt darauf schließen, daß die so gewonnene Substanz nicht ganz rein ist, vielleicht infolge teilweiser Hydrolyse²⁵⁾.

α-L-Glutamyl-glycin-Derivate

16. *Carbobenzoxy-α-L-glutamyl-[γ-methylester]-glycin-äthylester* (VII)

a) Aus 5.9 g *Carbobenzoxy-L-glutaminsäure-γ-methylester*²⁶⁾ (0.02 Mol), 2.8 ccm Triäthylamin (0.02 Mol) und 2.0 ccm *Chlorameisensäure-äthylester* (0.021 Mol) wird in 30 ccm absol. Chloroform, wie unter 6. a) beschrieben, die Lösung des gemischten Anhydrids hergestellt. Sie wird mit der Lösung von 2.8 g (0.02 Mol) *Glycin-äthylester-hydrochlorid* in 40 ccm absol.

²⁴⁾ F. CRAMER, *Papierchromatographie*, Verlag Chemie, Weinheim 1953.

²⁵⁾ H. HÖRMANN, W. GRASSMANN, E. WÜNSCH und H. PRELLER, *Chem. Ber.* **89**, 933 [1956].

²⁶⁾ W. E. HANBY, S. G. WALEY und J. WATSON, *J. chem. Soc.* [London] **1950**, 3239.

Chloroform und 2.8 ccm (0.02 Mol) Triäthylamin versetzt, 1 Stde. bei Raumtemperatur aufbewahrt und 20 Min. rückgekocht. Die erkaltete Lösung wird mit n HCl (2-mal), Wasser (1-mal) und mit 5-proz. Natriumcarbonatlösung (2- bis 3-mal, bis sich die Waschlösung beim Ansäuern nicht mehr trübt) gewaschen. Um dabei die Trennung der Phasen zu erleichtern, werden, wenn nötig, etwa 40 ccm Essigester zugegeben. Nach dem Trocknen mit Na_2SO_4 und Eindampfen i. Vak. (50–60°) kristallisiert der Rückstand im Laufe einiger Stunden. Durch Lösen der Substanz in 30 ccm Essigester, Versetzen mit 25 ccm Petroläther und Abkühlen, zuletzt im Kühlschrank, erhält man Nadelbüschel. Ausb. 5.5 g (72% d. Th.). Schmp., nach mehrfachem Umkristallisieren auf die gleiche Weise, 94°. Auch der 5-fache Ansatz gelingt.

$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{N}_2$ (380.4) Ber. C 56.83 H 6.36 N 7.37 Gef. C 57.16 H 6.40 N 7.46
 $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = -0.42^\circ \times 5.0/0.1463 \times 1.00 = -14.4^\circ$ (Eisessig)

b) (vgl. l. c.⁶⁾): Zu einer auf -10° gekühlten Lösung von 2.8 g (0.02 Mol) gut getrocknetem *Glycin-äthylester-hydrochlorid* in 40 ccm absolut wasserfreiem Pyridin²⁷⁾ läßt man bei 0° unter Schütteln das vorgekühlte Gemisch von 0.87 ccm Phosphortrichlorid (0.01 Mol) und 10 ccm absol. Pyridin zutropfen, nach 15 Min. langem Stehenlassen bei Raumtemperatur versetzt man mit 5.9 g *Carbobenzoxy-L-glutaminsäure- γ -methylester*²⁶⁾ (0.02 Mol) und bewahrt die Lösung 4 Tage auf. Nach Abdampfen des Pyridins i. Vak., Aufnehmen des Rückstandes in Wasser und Essigester und mehrfachem Ausschütteln der wäßr. Phase mit Essigester werden die Essigesterlösungen vereinigt und wie bei 16. a) aufgearbeitet. Ausb. 4.8 g (63% d. Th.).

17. *α -L-Glutamyl- $[\gamma$ -methylester]-glycin-äthylester-hydrochlorid* (VIII): Die Lösung von 7.6 g (0.02 Mol) *Carbobenzoxy- α -L-glutamyl- $[\gamma$ -methylester]-glycin-äthylester* (VII) in 100 ccm 99-proz. Äthanol wird nach Zugabe von 8 ccm einer 10-proz. Lösung von HCl in 99-proz. Äthanol und 0.3 g Pd-Mohr hydriert, wie unter 15. a) beschrieben ist. Der Verdampfungsrückstand wird aus 50 ccm Essigester kristallisiert. Ausb. 4.7 g (83% d. Th.) schöne Nadeln vom Schmp. 91–91.5° (nach mehrfachem Umkristallisieren aus 5 Vol.-Tln. Essigester). Auch der doppelte Ansatz gelingt.

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2 \cdot \text{HCl}$ (282.7) Ber. C 42.48 H 6.77 N 9.91 Gef. C 42.42 H 6.95 N 9.81
 $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = +1.60^\circ \times 5.0/0.2494 \times 1.00 = +32.0^\circ$ (Wasser)

α -L-Glutamyl-L-glutaminsäure-Derivat.

18. *Carbobenzoxy- α -L-glutamyl- $[\gamma$ -methylester]-L-glutaminsäure-diäthylester*

a) 5.9 g (0.02 Mol) *Carbobenzoxy-L-glutaminsäure- γ -methylester*²⁶⁾ werden mit 4.8 g *L-Glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid*^{20,10)} (0.02 Mol), wie bei 16. a) beschrieben, kondensiert. Beim Eindampfen entsteht ein Sirup, der in Essigester (50 ccm) mit Petroläther (100 ccm) zur Kristallisation gebracht wird. Ausb. 6.5 g (68% d. Th.) kugelige Kristallaggregate vom Schmp. 81–82° (nach mehrfachem Umkristallisieren).

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_9\text{N}_2$ (480.5) Ber. C 57.49 H 6.71 N 5.83 Gef. C 57.48 H 6.59 N 5.90
 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -0.26^\circ \times 5.00/0.1100 \times 1.00 = -11.8^\circ$ (Eisessig)

b) Nach der Phosphorazo-Methode wird, wie unter 16. b) beschrieben, *L-Glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid*^{20,10)} (4.8 g, 0.02 Mol) und *Carbobenzoxy-L-glutaminsäure- γ -methylester*²⁶⁾ (5.9 g, 0.02 Mol) zur Reaktion gebracht. Ausb. 7.7 g (80% d. Th.).

27) L. BILEK, J. DERKOSCH, H. MICHL und F. WESSELY, Mh. Chem. 84, 727 [1953].

α -L-Glutamyl-glycyl-L-glutaminsäure-Derivate

19. *Carbobenzoxy- α -L-glutamyl- $[\gamma$ -methylester]-glycyl-L-glutaminsäure-diäthylester (IX)*: 5.9 g (0.02 Mol) *Carbobenzoxy-L-glutaminsäure- γ -methylester*²⁶⁾ werden mit 5.9 g (0.02 Mol) *Glycyl-L-glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid (VI)* nach Vorschrift 16. a) verarbeitet. Das krist. Rohprodukt wird durch Lösen in 25 ccm Essigester und Zugeben von 30 ccm Petroläther gereinigt. Ausb. 8.1 g (75% d. Th.) schöne Nadeln (nach mehrmaligem Umkristallisieren aus 3 Vol.-Tln. Essigester, zuletzt aus Essigester-Petroläther 1:1) vom Schmp. 94°.

$C_{25}H_{35}O_{10}N_3$ (537.5) Ber. C 55.86 H 6.56 N 7.82 Gef. C 55.65 H 6.60 N 7.98
 $[\alpha]_D^{25} = -0.43^\circ \times 2.5/0.1070 \times 1.00 = -10.0^\circ$ (96-proz. Äthanol)

20. *Carbobenzoxy- α -L-glutamyl-glycyl-L-glutaminsäure-triäthylester*: 6.2 g *Carbobenzoxy-L-glutaminsäure- γ -äthylester*²⁶⁾ (0.02 Mol) und 5.9 g (0.02 Mol) *Glycyl-L-glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid (VI)* werden nach 16. a) umgesetzt. Durch Kristallisation aus 40 ccm Essigester werden kugelige Kristalle erhalten. Ausb. 6.25 g (58% d. Th.). Schmp. nach mehrfachem Umkristallisieren 121°.

$C_{26}H_{37}O_{10}N_3$ (551.6) Ber. N 7.62 Gef. N 7.91
 $[\alpha]_D^{22} = -0.36^\circ \times 5.0/0.1713 \times 1.00 = -10.5^\circ$ (96-proz. Äthanol)

Di- $[\alpha$ -L-glutamyl]-glycin-Derivat

21. *Carbobenzoxy-bis- $[\alpha$ -L-glutamyl- $(\gamma$ -methylester)]-glycin-äthylester (X)*: 5.9 g (0.02 Mol) *Carbobenzoxy-L-glutaminsäure- γ -methylester*²⁶⁾ und 5.7 g *α -L-Glutamyl- $[\gamma$ -methylester]-glycin-äthylester-hydrochlorid (VIII)* (0.02 Mol) werden nach 16. a) zu einem farblosen Kristallkuchen verarbeitet, der aus Essigester umkristallisiert wird. Ausb. 7.35 g (70% d. Th.) feine, verfilzte Nadeln (nach mehrfachem Umkristallisieren aus Essigester und Essigester-Petroläther 2:1) vom Schmp. 140–141°.

$C_{24}H_{33}O_{10}N_3$ (523.5) Ber. C 55.06 H 6.35 N 8.03 Gef. C 55.64 H 6.52 N 8.13
 $[\alpha]_D^{25} = -0.45^\circ \times 5.00/0.1088 \times 1.00 = -20.6^\circ$ (Eisessig)

JAN THESING und ALFRED MÜLLER

ÜBER EINE NEUE METHODE ZUR DARSTELLUNG VON α -PYRIDONEN UND DIE SYNTHESE DES NICOTELLINS¹⁾

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Darmstadt
 (Eingegangen am 12. Februar 1957)

Es wird eine Methode beschrieben, die die Darstellung von α -Pyridonen aus α,β -ungesättigten Carbonyl-Verbindungen oder Keton-Mannich-Basen und *N*-[Aminoformyl-methyl]-pyridinium-Salzen gestattet. Mit Hilfe dieses Verfahrens gelang erstmalig die Synthese des Tabak-Nebenalkaloids Nicotellin.

Wie wir kürzlich festgestellt haben, reagieren quartäre Salze der Indol-Mannich-Base Gramin (z. B. I) mit *N*-Phenacyl-pyridinium-Salzen(II) schon bei Zimmertemperatur in ausgezeichnete Ausbeute zu Alkylierungsprodukten der Formel III,

¹⁾ Der Inhalt der vorliegenden Arbeit stellt einen Teil eines am 20. 10. 1956 bei der Südwestdeutschen Chemie-Dozenten-Tagung in Karlsruhe gehaltenen Vortrages dar.