

FRIEDRICH WEYGAND, HANS JÜRGEN BESTMANN  
und ERICH KLIEGER

*N*-Trifluoracetyl-aminosäuren, XI<sup>1)</sup>

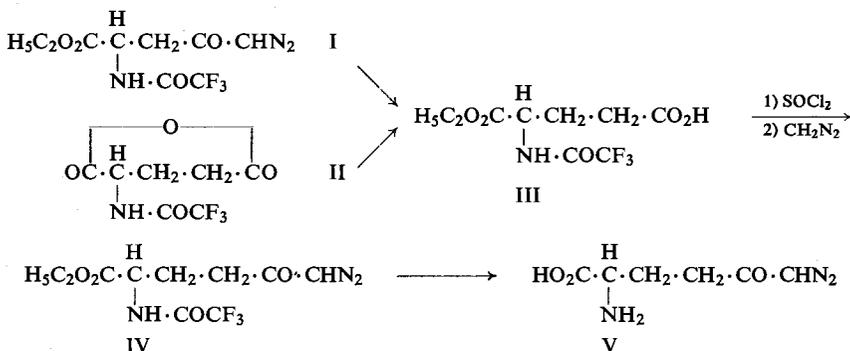
**Synthese des 6-Diazo-5-oxo-L-norleucins  
und der 7-Diazo-6-oxo-2-L-amino-önanthsäure**

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität Berlin,  
Berlin-Charlottenburg

(Eingegangen am 18. Februar 1958)

Ausgehend von dem leicht zugänglichen *N*-TFA-L-Glutaminsäure-1-äthylester erhält man über das Säurechlorid und das Diazoketon durch alkalische Abspaltung des Trifluoracetylrestes und Verseifung der Estergruppe in guter Ausbeute das kristalline Antibiotikum 6-Diazo-5-oxo-L-norleucin. WOLFFSCHE Umlagerung des trifluoracetylierten Diazoketonesters ergibt *N*-TFA-2-L-Amino-adipinsäure-1-äthylester, aus dem analog die 7-Diazo-6-oxo-2-L-amino-önanthsäure gewonnen wurde; sie hemmt das Wachstum von *B. coli* im Gegensatz zum 6-Diazo-5-oxo-L-norleucin kaum noch.

Das aus einer Kulturlösung einer *Streptomyces*-Art isolierte 6-Diazo-5-oxo-L-norleucin<sup>2)</sup> ist das erste in der Natur aufgefundene Diazoketon. Über die Synthese dieser antibiotisch wirksamen Substanz wurde von amerikanischen Forschern anlässlich des 129. Meeting der American Chemical Society 1956 berichtet<sup>3)</sup>. Noch bevor diese Arbeiten bekannt wurden, haben wir im Zusammenhang mit der Synthese des *N*-TFA-5-Diazo-4-oxo-L-norvalin-äthylesters<sup>1)</sup> auch das 6-Diazo-5-oxo-L-norleucin (V) auf folgendem Wege dargestellt:



<sup>1)</sup> X. Mitteil.: F. WEYGAND, P. KLINKE und I. EIGEN, Chem. Ber. 90, 1896 [1957].

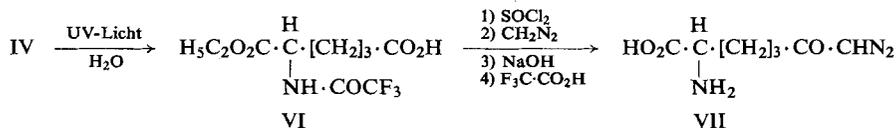
<sup>2)</sup> H. W. DION, S. A. FUSARI, Z. L. JAKUBOWSKI, J. G. ZORA und Q. R. BARTZ, J. Amer. chem. Soc. 78, 3075 [1956].

<sup>3)</sup> R. P. WESTLAND, S. A. FUSARI und H. M. CROOKS, Abstracts of Papers, 129 th Meeting American Chemical Society 14 M [1956], haben u. a. ebenfalls den Weg über *N*-trifluoracetylierte L-Glutaminsäurederivate eingeschlagen. Näheres ist darüber nicht bekannt.

Der benötigte *N*-TFA-*L*-Glutaminsäure-1-äthylester (III) wird aus *N*-TFA-*L*-Glutaminsäureanhydrid (II) leicht erhalten<sup>4)</sup>, ist aber auch aus *N*-TFA-5-Diazo-4-oxo-*L*-norvalin-äthylester (I)<sup>1)</sup> (und dieser aus *L*-Asparaginsäure) durch photolytisch ausgelöste WOLFFSche Umlagerung in wäßrigem Dioxan nach HORNER<sup>5)</sup> zugänglich. Die Säure III wird als Dicyclohexylammoniumsalz isoliert und das daraus in üblicher Weise mit Thionylchlorid dargestellte Säurechlorid mit Diazomethan in das Diazoketon IV verwandelt. Durch Hydrolyse mit kalter wäßrig-alkoholischer Natriumhydroxydlösung unter genauer Einhaltung der im Versuchsteil beschriebenen Bedingungen und Einstellen auf den isoelektrischen Punkt mit Trifluoressigsäure erhält man in 75–80-proz. Ausbeute 6-Diazo-5-oxo-*L*-norleucin (V). Es stimmt in allen Eigenschaften, einschließlich IR- und UV-Spektrum mit dem Naturprodukt überein. Eine chromatographische Reinigung ist nicht erforderlich, da die Verbindung auf die angegebene Weise sofort kristallin erhalten wird. Das Wachstum von *B. coli* 1883 Co wird in einem synthetischen, purinfreien Nährmedium mit 0.8  $\gamma$ /ccm halbmaximal gehemmt.

Versuche, aus dem beschriebenen *N*-TFA-5-Diazo-4-oxo-*L*-norvalin-äthylester (I) mit alkalischen Mitteln das freie 5-Diazo-4-oxo-*L*-norvalin zu erhalten, schlugen fehl. Stets entstanden dunkel gefärbte Reaktionsprodukte, aus denen sich keine definierte Verbindung isolieren ließ.

Hingegen ließ sich das Homologe des Diazo-oxo-norleucins, die 7-Diazo-6-oxo-2-*L*-amino-önanthsäure (VII), leicht durch WOLFFSche Umlagerung aus dem *N*-TFA-6-Diazo-5-oxo-*L*-norleucin-äthylester (IV) über den *N*-TFA-2-*L*-Amino-adipinsäure-1-äthylester (VI) nach dem oben angegebenen Schema gewinnen. VII zeigte vergleichsweise zum Diazo-oxo-*L*-norleucin fast keine Hemmwirkung mehr bei *B. coli* 1883 Co.



Wir sind damit beschäftigt, Peptide aufzubauen, die die Diazo-oxo-*L*-norleucin-Gruppierung tragen.

Herrn Dr. A. WACKER danken wir für die Ausführung der mikrobiologischen Tests.

<sup>4)</sup> F. WEYGAND und M. REIHER, Chem. Ber. **88**, 26 [1955]; F. WEYGAND und R. GEIGER, ebenda **90**, 634 [1957].

<sup>5)</sup> L. HORNER, E. SPIETSCHKA und A. GROSS, Liebigs Ann. Chem. **573**, 17 [1951]; L. HORNER und E. SPIETSCHKA, Chem. Ber. **85**, 225 [1952].

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

1. *N-Trifluoracetyl-L-glutaminsäure-1-äthylester-5-dicyclohexylammoniumsalz* (entspr. III) durch Wolffsche Umlagerung: 3 g I wurden in 130 ccm Dioxan und 7 ccm Wasser gelöst und mit einer wassergekühlten Labortauchlampe<sup>5)</sup> unter Rühren bis zur beendeten Stickstoffentwicklung bestrahlt. Nach Abdampfen der Lösungsmittel i. Vak. wurde der Rückstand in Äthanol aufgenommen, mit etwas Tierkohle geschüttelt und erneut i. Vak. vollständig eingedampft. Der in absol. Benzol aufgenommene Rückstand wurde mit 5 ccm Dicyclohexylamin versetzt. Nach 3 Stdn. wurde das krist. Salz abgesaugt. Schmp. und Misch-Schmp. 188° (aus Wasser)<sup>4)</sup>. Ausb. 3.6 g (74% d. Th.).

2. *N-Trifluoracetyl-6-diazo-5-oxo-L-norleucin-äthylester* (IV): 19 g *N-TFA-L-Glutaminsäure-1-äthylester-5-chlorid* (entspr. III) (dargestellt aus dem vorstehenden Dicyclohexylammoniumsalz nach WEYGAND und GEIGER<sup>4)</sup>) wurden in fester Form in eine äther. Lösung von Diazomethan (größerer Überschuß) eingetragen. Nach beendeter Stickstoffentwicklung ließ man noch 1 Stde. stehen und verdampfte den Äther i. Vak. Das grünlich-gelbe Öl erstarrte im Eisschrank. Schmp. 17–18°, Ausb. 18.5 g (95% d. Th.). Die Verbindung wurde ohne Reinigung weiter verarbeitet.

3. *6-Diazo-5-oxo-L-norleucin* (V): Die Lösung von 1 g IV in 1 ccm Äthanol wurde mit 10 ccm 1 n NaOH versetzt und 30 Min. bei 0–5° geschüttelt. Der bei der Zugabe der Natronlauge wiederausgefällte Ester ging hierbei in Lösung. Nun wurde mit 1 n Trifluoressigsäure auf  $p_H$  4.5 eingestellt, mit etwas Tierkohle geschüttelt, filtriert, das Filtrat i. Ölpumpenvak. bei Zimmertemp. weitgehend, aber nicht vollständig eingeengt. Beim Versetzen des Rückstandes mit Aceton fiel das Diazo-oxo-norleucin (V) amorph aus. Es wurde aus Wasser (9 Vol.) durch Zusatz von Aceton (28 Vol.) ohne Erwärmen umkristallisiert. Bei längerem Aufbewahren im Eisschrank erhielt man schwach gelbe Nadeln, die sich beim Erhitzen zwischen 140 und 150° zersetzten. Ausb. 0.43 g (78% d. Th.). Die Verbindung zeigt im UV-Spektrum eine Schulter bei 244 m $\mu$  und ein ausgeprägtes Maximum bei 274 m $\mu$ .  $[\alpha]_D^{25}$ : +21.3° ( $c = 5.3$ , in Wasser). Die Verbindung hemmt in einer Konzentration von 0.8  $\gamma$ /ccm das Wachstum von *B. coli* 1883 Co halbmaximal in einem purinfreien halbsynthet. Nährmedium<sup>6)</sup>.

$C_6H_9N_3O_3$  (171.1) Ber. C 42.10 H 5.30 N 24.55 N(Diazo) 16.37  
Gef. C 41.91 H 5.32 N 24.11 N(Diazo) 16.04

4. *N-Trifluoracetyl-2-L-amino-adipinsäure-1-äthylester-6-dicyclohexylammoniumsalz* (entspr. VI): Die Lösung von 10.5 g IV in 150 ccm Dioxan und 20 ccm Wasser wurde mit einer wassergekühlten Labortauchlampe unter Rühren 20 Stdn. bestrahlt. Der nach dem Eindampfen der Lösung i. Vak. verbliebene Rückstand wurde in 100 ccm Benzol gelöst und mit 12 ccm Dicyclohexylamin versetzt. Nach mehrstündigem Stehenlassen wurde das gebildete Salz abgesaugt. Aus der Mutterlauge kristallisierte nach dem Konzentrieren noch weiteres Dicyclohexylammoniumsalz aus. Ausb. 10.9 g (65% d. Th.). Farbl. Blättchen aus Äther/Methanol (Vol.-Verh. 5:3). Schmp. 156–157°.  $[\alpha]_D^{25}$ : –25.0° ( $c = 0.68$ , in Methanol).

$C_{22}H_{37}F_3N_3O_5$  (466.5) Ber. C 56.63 H 8.00 N 6.01 Gef. C 56.75 H 7.97 N 6.15

5. *N-Trifluoracetyl-7-diazo-6-oxo-2-L-amino-önanthsäure-äthylester*: 4.7 g der vorstehenden Verbindung wurden in 60 ccm Benzol heiß gelöst und mit 7 ccm über Leinöl 2mal dest. Thionylchlorid einige Stdn. auf 50° erwärmt. Das ausgefallene Dicyclohexylammoniumchlorid

<sup>6)</sup> Zusammensetzung des Nährmediums:  $KH_2PO_4$  2.5 mg; Natriumcitrat 25 mg; Casein (mit Pankreatin verdaut) 5mg; Glucose 10 mg; Cystein·HCl 0.2 mg;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2 mg; NaCl 10 $\gamma$ ; Eisencitrat 10 $\gamma$ ;  $MnSO_4$  6.7 $\gamma$ ; Asparagin 0.1 mg; L-Alanin 0.2 mg; Aneurin 0.2 $\gamma$ ; Lactoflavin 0.2 $\gamma$ ; Nicotinsäure 0.6 $\gamma$ ; Adermin 1.2 $\gamma$ ; Calciumpantothenat 0.4 $\gamma$ ; Biotin 0.0004 $\gamma$  (Konzentrationen pro ccm Nährmedium).

wurde schnell abgesaugt, die Lösung i. Vak. eingeengt und einige Male absol. Benzol nachdestilliert. Das *Säurechlorid* hinterblieb schuppenförmig kristallisiert. Es wurde in 100 ccm absol. Äther aufgenommen und tropfenweise einer äther. Lösung von *Diazomethan* (großer Überschuß) zugefügt. Am anderen Morgen wurde i. Vak. bis zur beginnenden Kristallisation eingeengt. Nach Kühlung im Eisbad 2.4 g (78% d. Th.) *Diazoketon*. Aus Diisopropyläther unter Zusatz von wenigen Tropfen Methanol umkristallisiert, zitronengelbe, zu Büscheln vereinigte Nadelchen vom Schmp. 74–75°,  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-22.7^\circ$  ( $c = 1.49$ , in Methanol).

$C_{11}H_{14}F_3N_3O_4$  (309.3) Ber. C 42.72 H 4.56 F 18.43 N(Diazo) 9.06  
Gef. C 42.94 H 4.94 F 18.23 N(Diazo) 9.05

6. *7-Diazo-6-oxo-2-L-amino-önanthsäure (VII)*: 0.85 g des vorstehenden *Esters* wurden bei 0° mit 8.5 ccm 1 *n* NaOH 30 Min. geschüttelt, wobei die Verbindung in Lösung ging. Mit 1 *n* Trifluoressigsäure wurde auf  $p_H$  5.4 gebracht, mit etwas Tierkohle behandelt, filtriert und i. Vak. bei Zimmertemp. eingeengt. Der Rückstand wurde mit Aceton versetzt und das ausgefallene amorphe Pulver abzentrifugiert. Nach dem Waschen mit Aceton und sodann mit absol. Äther in der Zentrifuge lagen 0.40 g (78% d. Th.) eines hellbraunen Pulvers vor, das beim Zusammenbringen mit Säuren sofort Stickstoff entwickelte und eine positive Ninhydrinreaktion ergab. Schmp. 125–126° (*Zers.*). Die Verbindung hemmt das Wachstum von *B. coli* 1883 Co nur wenig.

$C_7H_{11}N_3O_3$  (182.2) Ber. C 45.39 H 5.99 N 22.69 N(Diazo) 15.13  
Gef. C 45.07 H 6.15 N 22.19 N(Diazo) 15.68

## FRIEDRICH WEYGAND, HANS JÜRGEN BESTMANN und HEINZ ZIEMANN

### Über die Spaltung von Aldosemercaptalen mit Brom

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität Berlin,  
Berlin-Charlottenburg

(Eingegangen am 20. Februar 1958)

Zuckermercaptale lassen sich durch Brom zerlegen. Aus den acylierten Aldosemercaptalen erhält man so in guten Ausbeuten die acylierten *aldehydo-Zucker*derivate. Auch für den Nachweis von Mercaptalen auf Papierchromatogrammen läßt sich die Bromspaltung heranziehen.

Bereits in der ersten Veröffentlichung über Zuckermercaptale berichtet EMIL FISCHER<sup>1)</sup>, daß Brom auf diese Verbindungen „zerstörend einwirkt“, wobei neben Traubenzucker ein schwefelhaltiges Öl entsteht. Eigenartigerweise ist die Bromwirkung fast nie auf ihre präparative Anwendbarkeit hin untersucht worden. E. PACSU<sup>2)</sup> berichtet später, daß als Spaltungsmittel für die Thioacetale unter anderem

<sup>1)</sup> Ber. dtsh. chem. Ges. 27, 673 [1894].

<sup>2)</sup> Ber. dtsh. chem. Ges. 58, 509 [1925].