

FRIEDRICH WEYGAND, WOLFGANG STEGLICH und DIETRICH HOFFTER

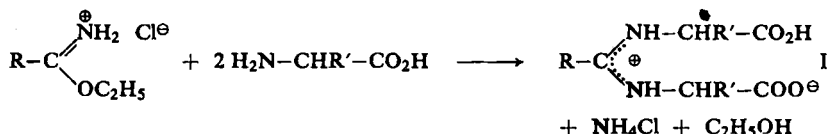
Symm. disubstituierte Amidine aus Aminosäuren

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München

(Eingegangen am 14. April 1962)

Bei der Umsetzung von Imidsäureester-hydrochloriden mit Aminosäuren in heißem Eisessig bilden sich symm. disubstituierte Amidine.

Aminosäuren werden in Eisessig in der Hitze von Acylaminosäure-phenyl- oder thiophenylestern zu Acylpeptiden acyliert¹⁾. Unter diesen Kondensationsbedingungen haben wir auch das Verhalten von Imidsäureester-hydrochloriden gegenüber Aminosäuren untersucht. In anderen Lösungsmitteln sind dieselben Komponenten oder die freien Imidsäureester schon zur Reaktion gebracht worden. In Glycerin²⁾ und Methanol^{3,4)} oder ohne Lösungsmittel⁴⁾ erhält man nur monosubstituierte Amidine. Es wird also nur der Alkoxyrest der Imidsäureester gegen *einen* Aminosäurerest ausgetauscht. Im Gegensatz hierzu bilden sich beim Erwärmen in Eisessig schon nach kurzer Zeit in meist guten Ausbeuten die symm. disubstituierten Amidine (I)⁵⁾.



An Stelle der Imidsäureester-hydrochloride können auch die Imidsäure-thioester-hydrochloride verwendet werden.

Die so gewonnenen symm. disubstituierten Amidine stellen meist gut kristallisierte Verbindungen dar (Tab. 1). Sie lösen sich nur schwer in Essigester und anderen organischen Lösungsmitteln, dagegen leicht in Methanol oder Äthanol. Ihre Löslichkeit in Wasser wird in hohem Maße von den eingesetzten Aminosäuren bestimmt, z. B. ist die aus Acetimidsäure-äthylester-hydrochlorid und Glycin erhaltene Verbindung in Wasser leicht löslich, während die aus Leucin oder Phenylalanin dargestellten Verbindungen beim Ansäuern der wäßrigen Lösungen ihrer Natriumsalze ausfallen und so leicht von den nicht umgesetzten Aminosäuren und Ammoniumchlorid getrennt werden können. In Übereinstimmung mit der Struktur bilden die neuen Verbindungen mit Diazomethan nur Monomethylester, da die zweite Carboxylgruppe durch Betainbildung blockiert ist.

1) F. WEYGAND und W. STEGLICH, Chem. Ber. **93**, 2983 [1960].

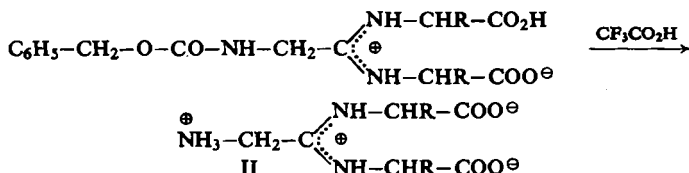
2) H. FINGER und W. ZEH, J. prakt. Chem. [2] **82**, 50 [1910].

3) A. N. BAKSCEJEV und N. J. GAWRILOW, J. allg. Chem. (russ.) **22** [84], 2030 [1952]; C. **1956**, 3555.

4) W. RIED, W. STEPHAN und W. v. DER EMDEN, Chem. Ber. **95**, 728 [1962].

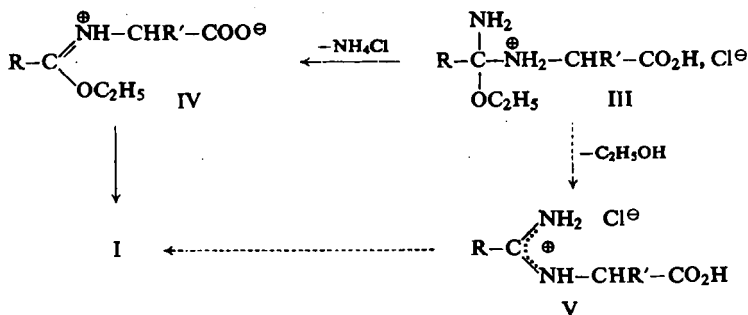
5) Dtsch. Bundes-Pat.-Anmeldung vom 17. Aug. 1961.

Kondensiert man Carbobenzoxyamino-acetimidssäureester-hydrochlorid mit Aminosäuren, so erhält man nach Abspaltung des Carbobenzoxyrestes mit Trifluoressigsäure⁶⁾ neutrale Verbindungen, die nur aus Aminosäuren aufgebaut sind.



Die aus Methionin erhaltene Verbindung (II, R = -CH₂·CH₂·SCH₃) läßt sich wie ein Peptid aus Wasser/Äthanol umkristallisieren.

Die Reaktion zwischen Imidsäureester-hydrochloriden und Aminosäuren in Eisessig zu den Verbindungen I kann prinzipiell auf zwei verschiedenen Wegen verlaufen: Nach dem Angriff der Aminogruppe der Aminosäure auf das Kohlenstoffatom der Iminogruppe kann sich aus dem Zwischenprodukt III entweder Ammoniumchlorid oder Äthanol abspalten. Im ersten Fall würden *N*-substituierte Imidsäureester (IV), im zweiten Fall Imidoyl-aminosäuren (V) als Zwischenstufen entstehen. Um eine Entscheidung treffen zu können, wurde nach RIED und Mitarbb.⁴⁾ dargestelltes *N*-Acetimidoyl-phenylalanin mit Phenylalaninhydrochlorid in Eisessig erhitzt. Unter denselben Bedingungen, unter denen sich bei der Umsetzung von Acetimidssäureester-hydrochlorid mit Phenylalanin das symm. disubstituierte Amidin in 73-proz. Ausb. bildet, konnten hier nur 4% der Verbindung erhalten werden. Offenbar ist daher der substituierte Imidsäureester IV Zwischenprodukt bei der Kondensation in Eisessig.



Wie sich zeigte, nähern sich die bei der Reaktion erhaltenen Ausbeuten Grenzwerten. Z. B. wurden bei der Umsetzung von Acetimidssäureester-hydrochlorid mit L-Leucin nach 30 Min. 66% und nach 60 bzw. 120 Min. 73 bzw. 76% an disubstituiertem Amidin erhalten. Es war zu vermuten, daß hierfür die als Nebenreaktion verlaufende Pinner-Spaltung⁷⁾ der Imidsäureester-hydrochloride verantwortlich ist. Zur Bestimmung der Geschwindigkeit der Pinner-Spaltung wurde die Abnahme des ionogen

⁶⁾ F. WEYGAND und W. STEGLICH, Z. Naturforsch. 14b, 472 [1959].

⁷⁾ A. PINNER, Die Imidoäther und ihre Derivate, Verlag R. Oppenheim, Berlin 1892; R. H. HARTIGAN und J. B. CLOKE, J. Amer. chem. Soc. 67, 709 [1945]; S. M. McELVAIN und B. E. TATE, ebenda 73, 2233 [1951].

Tab. 1. Dargestellte Amidine $\text{R}-\overset{\ominus}{\text{C}}(\text{NH}-\text{CHR}'-\text{COO}^{\ominus})_2$ aus Imidsäureester- bzw. Thioimidsäureester-hydrochloriden und Aminosäuren $\text{NH}-\text{CHR}'-\text{CO}_2\text{H}$

Nr.	R	R'	Schmp. °C	Ausb. % d. Th.	$[\alpha]_D^{25}$	Lösungs- mittel*)	Temp. °C	Summen- formel (Mol.-Gew.)	Analysen C H N
1	CH ₃ -	H	176-178	15	-	-	-	C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₄ (174.2)	Ber. 41.38 5.79 16.09 Gef. 41.18 5.82 16.11
2	CH ₃ -	(CH ₃) ₂ CH-	176-180	47	DL	-	-	C ₁₂ H ₂₂ N ₂ O ₄ (258.3)	Ber. 55.79 8.58 10.85 Gef. 55.02 8.62 11.14
3	CH ₃ -	(CH ₃) ₂ CH·CH ₂ -	181-190	76	-26.6°	CH ₃ OH	26	C ₁₄ H ₂₆ N ₂ O ₄ (286.4)	Ber. 58.72 9.15 9.78 Gef. 58.51 9.15 10.09
4	CH ₃ -**)	(CH ₃) ₂ CH·CH ₂ -	189-191	56	DL	-	-	C ₁₄ H ₂₆ N ₂ O ₄ (286.4)	Ber. 58.72 9.15 9.78 Gef. 58.50 9.27 10.00
5	CH ₃ -	$\begin{array}{c} \text{C}_2\text{H}_5 \\ \\ \text{CH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ -	184	42	-39.5°	CH ₃ OH	26	C ₁₄ H ₂₆ N ₂ O ₄ (286.4)	Ber. 58.72 9.15 9.78 Gef. 58.76 9.31 10.04
6	CH ₃ -	C ₆ H ₅ ·CH ₂ -	236-237	73	+14.6°	n/10NaOH	23	C ₂₀ H ₂₂ N ₂ O ₄ (354.4)	Ber. 67.78 6.26 7.90 Gef. 67.56 6.43 7.84
7	CH ₃ -	(p)Cl·C ₆ H ₄ ·CH ₂ -	220-222	85	DL	-	-	C ₂₀ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O ₄ (423.3)	Ber. 56.75 4.76 6.62 Gef. 56.70 5.04 6.40
8	CH ₃ -**)	(p)Cl·C ₆ H ₄ ·CH ₂ -	221-222	63	DL	-	-	C ₁₇ H ₂₄ N ₂ O ₄ (320.4)	Ber. 63.73 7.55 8.74 Gef. 63.13 7.29 8.71
9	C ₆ H ₅ -	(CH ₃) ₂ CH-	180-181	60	-12.2°	CH ₃ OH	21	C ₁₉ H ₂₈ N ₂ O ₄ (348.4)	Ber. 65.49 8.10 8.04 Gef. 65.30 8.35 7.87
10	C ₆ H ₅ -	(CH ₃) ₂ CH·CH ₂ -	147-148	58	-11.9°	CH ₃ OH	22	C ₁₆ H ₂₁ N ₃ O ₆ (351.4)	Ber. 54.69 6.02 11.96 Gef. 54.18 5.95 12.16
11	C ₆ H ₅ ·CH ₂ ·O·CO·NH·CH ₂ -	H ₃ C-	169.5-170.5	23	-51.7°	CH ₃ OH	22	C ₂₂ H ₃₃ N ₃ O ₆ (435.5)	Ber. 60.67 7.64 9.65 Gef. 60.47 7.69 9.63
12	C ₆ H ₅ ·CH ₂ ·O·CO·NH·CH ₂ -	(CH ₃) ₂ CH·CH ₂ -	133-134	46	-39.4°	CH ₃ OH	22	C ₂₈ H ₃₉ N ₃ O ₆ (503.6)	Ber. 66.79 5.81 8.35 Gef. 66.61 6.17 8.43
13	C ₆ H ₅ ·CH ₂ ·O·CO·NH·CH ₂ -	C ₆ H ₅ ·CH ₂ -	165-166	59	+2.0°	CH ₃ OH	24	C ₂₈ H ₃₉ N ₃ O ₆ (503.6)	Ber. 66.79 5.81 8.35 Gef. 66.61 6.17 8.43

*) c = 2

**) mit Acetimid säure-thioäthyl ester-hydrochlorid

gebundenen Chlors beim Erhitzen der Imidsäureester-hydrochloride in Eisessig auf 80° gemessen. Die dabei erhaltenen Geschwindigkeitskonstanten (Tab. 2) zeigen, daß diese Nebenreaktion, die 1. Ordnung ist, stark von der Struktur der Imidsäureester-hydrochloride abhängt, und daß besonders beim Benzimidssäure-äthylester-hydrochlorid und beim Carbobenzoxyamino-acetimidssäure-äthylester-hydrochlorid hierdurch eine Verminderung der Ausbeuten am symm. Amidin zu erklären ist.

Tab. 2. Geschwindigkeiten und Halbwertszeiten der Pinner-Spaltung bei 80° in Eisessig

	$k[\text{min}^{-1}]$	$t_{1/2}[\text{min}]$
Acetimidssäure-äthylester-hydrochlorid	$2.6 \cdot 10^{-3}$	268
Benzimidssäure-äthylester-hydrochlorid	$9.7 \cdot 10^{-3}$	71
Carbobenzoxyamino-acetimidssäure-äthylester-hydrochlorid	$18 \cdot 10^{-3}$	39

Substituierte Imidsäureester vom Typ IV sollten durch Pinner-Spaltung in Acylaminosäure-Derivate übergehen. Läßt man Phthalimido-acetimidssäure-äthylester auf Glycin-äthylester-hydrochlorid in Eisessig 65 Std. bei Raumtemperatur einwirken und destilliert dann das Lösungsmittel bei 60° i. Vak. ab, so läßt sich Phthaloyl-glycyl-glycin-äthylester in 50-proz. Ausb. isolieren. Kürzere Reaktionszeiten ergaben geringere Ausbeuten, längere Reaktionszeiten oder höhere Temperaturen führten zu unreinen Produkten. Als Nebenprodukt wurde stets Phthaloyl-glycin-äthylester isoliert, der durch Hydrolyse, vermutlich bei der Aufarbeitung, gebildet wird. Die Peptidbildung scheint stark von der Struktur des jeweiligen Imidsäureesters abzuhängen. Unter denselben Bedingungen gelang es nicht, aus [α -Äthoxy-äthyliden]-amino-essigester⁸⁾ oder Acetimidssäure-äthylester und Glycin-äthylester-hydrochlorid Acetylglycin-äthylester zu erhalten.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE*)

1) *N,N'*-Bis-carboxymethyl-acetamidin: 1.4 g (11 mMol) *Acetimidssäure-äthylester-hydrochlorid*⁹⁾ und 1.5 g (20 mMol) *Glycin* wurden in 40 ccm Eisessig (p. a. Merck) unter häufigem Schütteln 1 Stde. auf 80° (Bad) erhitzt. Nach dem Eindampfen i. Vak. wurde der gelbbraune Rückstand mit 50 ccm absol. Äthanol extrahiert, die Lösung eingedampft und der Rückstand nunmehr mit 15 ccm absol. Äthanol ausgezogen. Aus dieser Lösung wurden mit absol. Äther zunächst braune schmierige Produkte ausgefällt. Alsdann kristallisierte bei weiterer Zugabe von Äther das Amidin in kleinen kugeligen Aggregaten langsam aus. Durch weiteren Ätherzusatz im Verlaufe von 2 Tagen würde die Fällung vervollständigt. Das ninhydrinnegative und chloridfreie Produkt wurde zur Analyse aus absol. Äthanol/absol. Äther umgefällt.

2) *N,N'*-Bis-[DL-carboxy-isopropyl-methyl]-acetamidin: Die Darstellung erfolgte aus *DL-Valin* analog 1) (45 Min., 80°). Die Verbindung wurde aus Chloroform mit wenig Methanol/Petroläther umgefällt.

*) Ausbeuten und sonstige Daten der Versuche 1—13 sind in Tab. 1 enthalten.

⁸⁾ E. SCHMIDT, Ber. dtsh. chem. Ges. 47, 2545 [1914]; J. W. CORNFORTH und R. H. CORNFORTH, J. chem. Soc. [London] 1947, 96.

⁹⁾ A. PINNER und P. LOHMANN, Ber. dtsh. chem. Ges. 11, 1484 [1878]; S. M. MCELVAIN und J. W. NELSON, J. Amer. chem. Soc. 64, 1825 [1942].

3) *N.N'*-Bis-[*L*-carboxy-isobutyl-methyl]-acetamidin: 0.68 g (5.5 mMol) *Acetimidsäure-äthylester-hydrochlorid* und 1.3 g (10 mMol) *L-Leucin* wurden in 15 ccm Eisessig 2 Stdn. bei 80° unter häufigem Umschütteln gehalten. Nach dem Abdestillieren des Eisessigs i. Vak. wurde der Rückstand in gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung aufgenommen. Aus der klar filtrierten Lösung fiel beim Ansäuern mit konz. Salzsäure bis auf pH 2 das Amidin aus. Nach etwa 1 Stde. war es kristallisiert. Zur Analyse wurde nach dem Trocknen über KOH und P₂O₅ bei 60° aus Chloroform und wenig Methanol/Petroläther umgefällt.

4) *N.N'*-Bis-[*DL*-carboxy-isobutyl-methyl]-acetamidin wurde analog 3) aus *Acetimidsäure-thioäthylester-hydrochlorid* (E. SCHMIDT⁸⁾) und *DL-Leucin* (30 Min., 80°) gewonnen. Zur Analyse wurde aus Chloroform mit wenig Methanol/Petroläther umkristallisiert.

5) *N.N'*-Bis-[*L*-carboxy-butyl-(2)-methyl]-acetamidin wurde analog 3) aus *L-Isoleucin* (45 Min., 80°) erhalten und aus Chloroform mit wenig Methanol/Petroläther umkristallisiert.

6) *N.N'*-Bis-[*L*-carboxy-benzyl-methyl]-acetamidin wurde analog 3) aus *L-Phenylalanin* (45 Min., 80°) erhalten und aus Eisessig/Äther oder Essigester oder Wasser umkristallisiert.

7) und 8) *N.N'*-Bis-[*DL*-carboxy-*p*-chlorbenzyl-methyl]-acetamidin wurde analog 3) oder 4) aus *DL-p-Chlorphenylalanin* (2 Stdn., 80°) bzw. mit dem *Acetimidsäure-thioäthylester-hydrochlorid* (30 Min., 80°) dargestellt und aus Chloroform mit wenig Methanol/Petroläther umkristallisiert.

9) *N.N'*-Bis-[*L*-carboxy-isopropyl-methyl]-benzamidin: *Benzimidsäure-äthylester-hydrochlorid*¹⁰⁾ und *L-Valin* wurden analog 3) 2½ Stdn. auf 80° erwärmt. Umkristallisiert wurde aus Diisopropyläther oder Chloroform mit wenig Methanol/Petroläther.

10) *N.N'*-Bis-[*L*-carboxy-isobutyl-methyl]-benzamidin wurde analog 3) aus *Benzimidsäure-äthylester-hydrochlorid* und *L-Leucin* (2½ Stdn., 80°) erhalten und aus Methylenchlorid mit wenig Methanol/Petroläther umkristallisiert.

11) *N.N'*-Bis-[*L*-carboxy-methyl-methyl]-carbobenzoxy-glycinamidin: *Carbobenzoxyamino-acetimidsäure-äthylester-hydrochlorid*¹¹⁾ und *L-Alanin* wurden analog 3) 1½ Stdn. bei 80° kondensiert. Umkristallisiert wurde aus Chloroform mit wenig Äthanol/Petroläther.

12) *N.N'*-Bis-[*L*-carboxy-isobutyl-methyl]-carbobenzoxy-glycinamidin, analog der voranstehenden Verbindung mit *L-Leucin* erhalten, wurde aus Chloroform umkristallisiert.

13) *N.N'*-Bis-[*L*-carboxy-benzyl-methyl]-carbobenzoxy-glycinamidin: Aus *Carbobenzoxy-amino-acetimidsäure-äthylester-hydrochlorid* und *L-Phenylalanin*, 30 Min. bei 80°. Beim Lösen des Rückstandes nach dem Abdestillieren des Eisessigs in Natriumhydrogencarbonatlösung schied sich ein braunes Öl ab, das beim Ansäuern mit Salzsäure die gesuchte Verbindung lieferte. Umkristallisiert wurde aus Chloroform/Petroläther oder Äthanol/Wasser.

14) *N.N'*-Bis-[*L*-carboxy-(2-methylmercapto-äthyl)-methyl]-glycinamidin: Aus 1.5 g (5.5 mMol) *Carbobenzoxyamino-acetimidsäure-äthylester-hydrochlorid* und 1.5 g (10 mMol) *L-Methionin* wurde durch ½stdg. Erhitzen in 15 ccm Eisessig auf 80° und Aufarbeitung wie unter 3) ein zähes Öl gewonnen, das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Zur Entcarbenezoylierung wurde es mit 7.5 ccm Trifluoressigsäure und einigen Tropfen Anisol 30 Min. auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt. Nach dem Abdestillieren der Trifluoressigsäure wurde der Rückstand in 15 ccm Wasser aufgenommen. Zur Entfernung von Trifluoracetationen wurde mit dem schwach basischen Ionenaustauscher Amberlite IR-4B geschüttelt. Nach Entfärbung mit etwas Aktivkohle wurde i. Vak. eingedampft, das zurückbleibende farblose Öl kristallisierte nach Verreiben mit 20 ccm absol. Äthanol. Ausb. 0.12 g (7.1%), Schmp. 198 bis 200° (Zers.). Die Verbindung gibt mit Ninhydrin eine Gelbfärbung und ist nach dem

¹⁰⁾ C. A. MCKENZIE, G. A. SCHMIDT und L. R. WEBB, J. Amer. chem. Soc. 73, 4990 [1951].

¹¹⁾ M. MENGELBERG, Chem. Ber. 89, 1185 [1956].

Papierchromatogramm (wassergesätt. Phenol, R_F 0.89) einheitlich. Schmp. 202–203° (Zers.) (aus Wasser/absol. Äthanol). $[\alpha]_D^{25}$: –24.8°, $[\alpha]_{546}^{25}$: –29.4° ($c = 0.8$, in Wasser).

$C_{12}H_{23}N_3O_4S_2$ (337.5) Ber. C 42.71 H 6.87 N 12.45 Gef. C 42.14 H 6.76 N 12.62

15) *N*-[DL-Carbomethoxy-isobutyl-methyl]-*N'*-[DL-carboxy-isobutyl-methyl]-acetamidin: 0.29 g des symm. Amidins von Vers. 4) wurden in 5 ccm Methanol gelöst unter Eiskühlung mit Diazomethan in Äther stehengelassen. Nach dem Eindampfen i. Vak. wurde der Rückstand aus Essigester/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 0.23 g (76%), Schmp. 103–105°.

$C_{15}H_{28}N_2O_4$ (300.4) Ber. C 59.97 H 9.40 N 9.33 Gef. C 60.70 H 9.51 N 9.37

16) *N*-[DL-Carbomethoxy-*p*-chlorbenzyl-methyl]-*N'*-[DL-carboxy-*p*-chlorbenzyl-methyl]-acetamidin: 420 mg des Amidins von Vers. 7/8) wurden in 20 ccm Methanol mit Diazomethan in Äther verestert. Ausb. 400 mg (91%), Schmp. 214–215° (aus Essigester/Petroläther).

$C_{21}H_{22}Cl_2N_2O_4$ (437.3) Ber. C 57.68 H 5.07 N 6.41 Gef. C 57.51 H 5.14 N 6.24

17) *N*-[L-Carbomethoxy-isobutyl-methyl]-*N'*-[L-carboxy-isobutyl-methyl]-benzamidin: Aus dem Amidin von Vers. 10) mit Diazomethan in Methanol/Äther. Ausb. 42%, Schmp. 203–204° nach Umkrist. aus Essigester/Petroläther. $[\alpha]_D^{25}$: –34.2°, $[\alpha]_{546}^{25}$: –43.0° ($c = 1.0$, in Methanol).

$C_{20}H_{30}N_2O_4$ (362.5) Ber. C 66.27 H 8.34 N 7.73 Gef. C 65.96 H 8.30 N 7.69

18) Phthaloyl-glycyl-glycin-äthylester: 1.43 g (5.4 mMol) Phthalimido-acetimidensäure-äthylester-hydrochlorid¹²⁾, 0.7 g (5 mMol) Glycin-äthylester-hydrochlorid und 0.41 g (5 mMol) Natriumacetat sicc. wurden in 30 ccm Eisessig 65 Stdn. bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Salze wurden abgesaugt, das Filtrat i. Vak. eingedampft und der braune Rückstand zwischen viel Essigester und wenig Wasser verteilt. Aus der Essigesterphase fällte man nach dem Trocknen mit Natriumsulfat den Peptidester mit Petroläther. Ausb. 0.72 g (50%), Schmp. 170–175°, nach Umkrist. aus wäbr. Äthanol 0.57 g (40%), Schmp. 186.5–188°. Zur Analyse wurde eine Probe nochmals umkristallisiert, Schmp. 191.5–192° (Lit.: 190–193°¹³⁾, 190°¹⁴⁾).

$C_{14}H_{14}N_2O_5$ (290.3) Ber. C 57.93 H 4.86 N 9.65 Gef. C 57.86 H 4.67 N 9.83

Durch Eindampfen der Mutterlauge der ersten Fällung des Phthaloyl-glycyl-glycin-äthylesters und Umkristallisieren des Rückstandes aus wäbr. Äthanol wurden 0.37 g (32%) Phthaloyl-glycin-äthylester gewonnen, Schmp. 108–110° (Lit.¹⁴⁾: 111–113°).

¹²⁾ A. BALOG, E. VARGHA und I. BALAZS, Studii Cercetări Biochim. 1, 97 [1958]; A. K. BOSE, F. GREER, J. S. GOTS und C. C. PRICE, J. org. Chemistry 24, 1309 [1959].

¹³⁾ CH. GRÄNACHER, Helv. chim. Acta 8, 216 [1925].

¹⁴⁾ P. BRIGL und E. KLENK, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 131, 66 [1923].