

ERICH WÜNSCH und JOACHIM JENTSCH *)

Zur Darstellung von Hydroxyaminosäure-tert.-butyläthern **)

Aus dem Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung,
Abtlg. für Peptidchemie, München

(Eingegangen am 3. April 1964)

Benzyloxycarbonyl-hydroxyaminosäuren reagieren mit *p*-Nitro-benzylbromid glatt zu den entsprechenden *p*-Nitro-benzylestern, die sich mit Isobuten in hoher Ausbeute zu den gut kristallisierenden tert.-Butyläther-Derivaten umsetzen lassen. Hydrogenolytische Entfernung der Schutzgruppen führt zu den freien Hydroxy-L-aminosäure-tert.-butyläthern, hydrolytische Spaltung der *p*-Nitro-benzylestergruppierung zu den entsprechenden Benzyloxycarbonyl-Verbindungen.

Die Synthese von Peptiden der Hydroxyaminosäuren ***) wurde bislang vielfach mit ungeschützter Hydroxylfunktion¹⁾ ausgeführt, da die zunächst sich anbietenden *O*-Schutzgruppen wie Acetyl-, Benzoyl-, Tosyl-, Benzyloxycarbonyl- u. a.²⁾ den Anforderungen nicht entsprachen bzw. eine selektive Maskierung nicht ermöglichten. Unter diesen Bedingungen mußten Nebenreaktionen an der Hydroxylgruppe in Kauf genommen werden, z. B. Oxazolinringschlüsse (Serin, Threonin)³⁾ und Nitrosierung

*) Teil der Dissertat. J. JENTSCH, Org. chem. Institut der Techn. Hochschule München (in Vorbereitung).

**) Auszugsweise vorgetragen von E. WÜNSCH, 6. Europ. Peptidsymposium Athen 1963 (Pergamon Press, im Druck).

***) Vgl. auch die zusammenfassenden Arbeiten: W. GRASSMANN und E. WÜNSCH in „Fort-schritte der Chemie der Naturstoffe“ von L. ZECHMEISTER, Bd. XIII, S. 444, Springer-Verlag, Heidelberg 1956; M. BRENNER und A. HARTMANN, Collect. czechoslov. chem. Commun. 24, 120 [1959].

¹⁾ J. S. FRUTON, J. biol. Chemistry 146, 463 [1942]; E. L. SMITH und M. BERGMANN, ebenda 153, 627 [1944].

²⁾ J. C. SHEEHAN, M. GODDMAN und G. P. HESS, J. Amer. chem. Soc. 78, 1367 [1956]; A. E. BARKDOLL und W. F. ROSS, ebenda 66, 951 [1944]; M. BERGMANN, L. ZERVAS, L. SALZMANN und H. SCHLEICH, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 224, 17 [1934]; S. G. WALEY und J. WATSON, Biochem. J. 57, 529 [1954]; K. SCHLÖGL, F. WESSELY und E. WAWERSICH, Mh. Chem. 84, 705 [1953]; W. SAKAMI und A. TOENNIS, J. biol. Chemistry 144, 203 [1942]; M. BERGMANN und A. MIEKELEY, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 140, 128 [1924]; D. F. ELLIOTT, J. chem. Soc. [London] 1949, 592; C. R. HARRINGTON und R. V. PITT RIVERS, Biochem. J. 38, 417 [1944]; J. KURTZ, G. D. FASMANN, A. BERGER und E. KATCHALSKI, J. Amer. chem. Soc. 80, 393 [1958]; T. OSEKI, J. Tokyo Chem. Soc. 41, 8 [1920], C. A. 14, 2780 [1920]; E. FISCHER, Ber. dtsh. chem. Ges. 48, 93 [1915]; A. A. PATCHETT und B. WITKOP, J. Amer. chem. Soc. 79, 185 [1957]; P. G. KATSOYANNIS, D. T. GISH und V. DU VIGNEAUD, ebenda 79, 4516 [1957]; P. A. LEVENE und A. SCHOR-MÜLLER, J. biol. Chemistry 105, 547 [1934]; E. ABDERHALDEN und A. BAHN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 219, 72 [1933]; M. FRANKEL und M. HALMANN, J. chem. Soc. [London] 1952, 2735; E. KATCHALSKI und M. SELA, J. Amer. chem. Soc. 75, 5284 [1953]; B. A. OVERELL und V. PETROV, J. chem. Soc. [London] 1955, 232.

³⁾ J. S. FRUTON, J. biol. Chemistry 146, 463 [1942]; A. STOLL und F. PETRZILKA, Helv. chim. Acta 35, 589 [1952]; E. SCHNABEL, Liebigs Ann. Chem. 659, 168 [1962]; D. F. ELLIOTT, Annu. Rep. Progr. Chem. 50, 277 [1953].

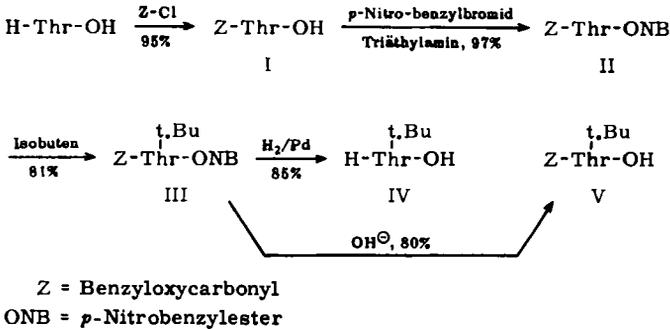
(Tyrosin)⁴⁾ bei der Azidmethode, *O*-Aminoacylierung (Tyrosin)⁵⁾, partielle Racemisierung (Dehydratisierungsprinzip) durch Säure-Basenkatalyse (Serin, Threonin)⁶⁾ und *N,O*-Acylwanderungen⁷⁾.

Eine einwandfreie Synthese gelang schließlich durch den Einsatz der Hydroxyaminosäureäther, z. B. der *O*-Tetrahydropyranyl-⁸⁾ und *O*-Benzyl-Derivate, wobei sich die Benzyläther am besten bewährten⁹⁾. Es war aber bisher nur möglich, Tyrosin- und Serinbenzyläther darzustellen, letzteren durch Totalsynthese und nachfolgende Racematspaltung¹⁰⁾. Eine direkte *O*-Benzylieerung von Serin, Threonin und Hydroxyprolin blieb bis jetzt erfolglos.

Im Hinblick auf die Anforderungen der Peptidnaturstoffsynthese, die neuerdings für die Maskierung der Seitenkettenfunktionen (ω -Amino- und ω -Carboxylgruppe) die selektiv unter schonenden Bedingungen spaltbaren tert.-Butyloxycarbonyl- und tert.-Butylestergruppen heranzieht¹¹⁾, erschien es uns zweckmäßig, auch die Hydroxylfunktion durch die unter analogen Bedingungen selektiv spaltbare tert.-Butyläthergruppierung zu schützen. Ein erster Schritt in dieser Richtung wurde von BEYERMAN¹²⁾ mit der Darstellung und dem Einsatz von Hydroxyaminosäure-tert.-butyläther/tert.-butylestern getan.

Diese Derivate der Hydroxyaminosäuren eignen sich aber lediglich als carboxylendständige Komponente. Daher erschien es uns erfolgversprechend, die freien Hydroxyaminosäure-tert.-butyläther als Ausgangsmaterial für die Synthese von Peptiden mit aminoend- und mittelständigen Hydroxyaminosäuren zu benutzen. Der Vorteil dieser Hydroxylmaskierung ist vor allem, daß die Schutzgruppe über den Gesamtverlauf der Synthese erhalten und erst in einer der letzten Stufen gleichzeitig mit den Schutzgruppen anderer Seitenkettenfunktionen (s. o.) abgespalten werden kann. Die Darstellung der Hydroxyaminosäure-tert.-butyläther sowie deren *N* ^{α} -Benzylloxycarbonylverbindungen in reiner Form und guter Ausbeute aus den optisch aktiven Hydroxyaminosäuren gelang uns nach folgendem Schema (Beispiel Threonin), wobei sämtliche Zwischenprodukte in gut kristallisierter Form und hoher Reinheit isoliert werden; die Erhaltung der optischen Reinheit ist durch Überführung in optisch reines Ausgangsmaterial gesichert. Die Tabelle enthält die dargestellten Verbindungen.

-
- 4) E. SCHNABEL und H. ZAHN, Mh. Chem. **88**, 646 [1957]; D. BRANDENBURG, Dissertation Techn. Hochschule Aachen 1961.
- 5) J. RAMACHANDRAN und C. H. LI, J. org. Chemistry **28**, 173 [1963]; R. PAUL, ebenda **28**, 236 [1963].
- 6) R. SCHWYZER, A. COSTOPANAGIOTIS und P. SIEBER, Chimia [Aarau, Schweiz] **16**, 295 [1962].
- 7) D. F. ELLIOTT, Ciba Foundation Symposium on the Chemical Structure of Protein, S. 129, Churchill, London 1953; F. SANGER, Advances Protein Chem. **7**, 21 [1952].
- 8) B. ISELIN und R. SCHWYZER, Helv. chim. Acta **39**, 57 [1956].
- 9) W. GRASSMANN, E. WÜNSCH, P. DEUFEL und A. ZWICK, Ber. dtsch. chem. Ges. **91**, 538 [1958]; K. OKAWA, Bull. chem. Soc. Japan **29**, 488 [1956]; L. VELLUZ, G. AMIARD und R. HEYMÈS, Bull. Soc. chim. France **1955**, 201.
- 10) E. WÜNSCH und G. FÜRST, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **329**, 109 [1962].
- 11) R. SCHWYZER und W. RITTEL, Helv. chim. Acta **44**, 159 [1961]; R. SCHWYZER, W. RITTEL und A. COSTOPANAGIOTIS, ebenda **45**, 2473 [1962]; R. SCHWYZER und A. COSTOPANAGIOTIS, ebenda **46**, 370 [1963].
- 12) H. C. BEYERMAN und J. S. BONTEKOE, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **81**, 691 [1962].



Ausbeuten und Eigenschaften der dargestellten Hydroxyaminosäurederivate

Aminosäurederivat	Ausb. (%) ^{*)}	Schmp.	[α] _D ²⁰
Z-Thr-ONB (II)	97 (92.2)	114 - 115°	-14.01 (c = 2, Methanol)
Z-Ser-ONB	98 (88.2)	115.5 - 116.5°	-11.87 (c = 0.9, Methanol)
Z-Tyr-ONB	95 (66.5)	117 - 119°	-11.16 (c = 1, Methanol)
Z-Thr(t.Bu)-ONB (III)	81 (74.7)	55 - 56.5°	-
Z-Ser(t.Bu)-ONB	89.5 (79)	68 - 70.5°	-
Z-Tyr(t.Bu)-ONB	80 (53.2)	73.5 - 74.5°	-
Z-Thr(t.Bu)-OH·DCHA ^{**)}	80 (60)	146 - 147°	+9.93 (c = 1, Äthanol)
Z-Ser(t.Bu)-OH·DCHA	85 (67.2)	149 - 150°	+22.13 (c = 1, Äthanol)
Z-Tyr(t.Bu)-OH·DCHA	92.7 (49.3)	160 - 161.5°	+34.68 (c = 1, Äthanol)
H-Thr(t.Bu)-OH (IV)	85 (63.5)	259 - 260° (Zers.)	-42.11 (c = 2, Methanol)
H-Ser(t.Bu)-OH·1/4 H ₂ O	90 (71.1)	250° (Zers.)	-17.69 ^{***)} (c = 2, Wasser)
H-Tyr(t.Bu)-OH·1/4 H ₂ O	87 (46.3)	248 - 249.5° (Zers.)	-25.77 (c = 1, Wasser)

^{*)} In Klammern ber. auf eingesetzte Ausgangssubstanzen L-Threonin, L-Serin, L-Tyrosin.

^{**)} DCHA = Dicyclohexylammonium.

^{***)} Für die wasserfreie Verbindung. Lit.¹³⁾: [α]_D²⁵: -13.2° (c = 0.91, in Wasser), Lit.^{13a)}: [α]_D²⁵: -12.2° (c = 0.5, in Wasser).

Nach Abschluß unserer experimentellen Arbeiten ging uns eine Veröffentlichung von W. ANDERSON und Mitarbb.¹³⁾ über die Darstellung von Serin-tert.-butyläthern auf folgendem Wege zu: Umsetzung von Z-Ser-OCH₃ mit Isobuten zum tert.-Butylätherderivat (ohne experimentelle Angaben), folgende alkalische Verseifung und hydrogenolytische Abspaltung der Benzoyloxycarbonylgruppe in maximal 15-proz. Ausbeute, bezogen auf Serin.

Soeben beschreibt E. SCHRÖDER^{13a)} u. a. die verbesserte Darstellung von Z-Hydroxyaminosäure-tert.-butyläthern in Analogie zu ANDERSON und Mitarbb.¹³⁾ über die Benzoyloxycarbonylmethylester.

Herrn Prof. Dr. F. WEYGAND (Organisch-Chemisches Institut der Techn. Hochschule München) danken wir herzlichst für seine verständnisvolle und vielseitige Förderung. Unser besonderer Dank gilt ferner den FARBWERKEN HOECHST AG und den FARBENFABRIKEN BAYER AG, die durch umfangreiche finanzielle und materielle Unterstützungen die vorliegende Arbeit ermöglichen haben.

¹³⁾ F. M. CALLAHAN, G. W. ANDERSON, R. PAUL und J. E. ZIMMERMAN, J. Amer. chem. Soc. **85**, 201 [1963].

^{13a)} Liebig's Ann. Chem. **670**, 127 [1963].

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die Schmelzpunkte wurden in offenen Kapillaren im Apparat nach Dr. TOTTOLI bestimmt und die spezif. Drehwerte im lichtelektrischen Polarimeter der Fa. Carl Zeiss ermittelt; die Werte der D-Linie wurden berechnet.

1. *Benzoyloxycarbonyl-L-threonin (I)*: 238.2 g *L-Threonin* (2.00 Mol) werden in $\bar{2}n$ NaOH gelöst (1000 ccm) und bei 0–3° portionsweise mit 1500 ccm $2n$ Na₂CO₃ und 340 g *Chlorameisensäure-benzylester* umgesetzt. Die alkalische Lösung wird nach Äther-Extraktion unter Kühlung mit Salzsäure angesäuert, das ausgefallene Öl in Essigester aufgenommen, die wäßr. Phase mit Natriumchlorid gesättigt und nochmals mit Essigester ausgeschüttelt. Die vereinigten Essigesterphasen werden mit Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. eingengt. Nach Umkristallisieren des Rückstandes aus Essigester/Petroläther Schmp. 101–102° (Lit.: 99–101°¹⁴), 97–99°¹⁵), 103–104°¹⁶). $[\alpha]_D^{20}$: $-5.8 \pm 0.5^\circ$ ($c = 2$, in Eisessig). (Lit.: $[\alpha]_D^{20}$: -6.0° ($c = 2$, in Eisessig)¹⁴); $[\alpha]_D^{25}$: -5.5° ($c = 4$, in Eisessig)¹³). Ausb. 480 g (95% d. Th.).

2. *Benzoyloxycarbonyl-L-threonin-[p-nitro-benzylester] (II)*: Man löst 50.6 g *I* (200 mMol) und 42 ccm Triäthylamin (300 mMol) in 200 ccm Essigester, fügt 64.8 g *p-Nitro-benzylbromid* (300 mMol) hinzu und erhitzt 8–9 Stdn. auf 80°. Nach Abkühlung wird vom Triäthylammoniumbromid abgesaugt und die Essigesterlösung wie üblich mit $2n$ HCl, 10-proz. Natriumhydrogencarbonat- und Kochsalzlösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird i. Vak. eingengt, der Rückstand in wenig Essigester gelöst und bis zur Trübung mit Petroläther versetzt: farblose Nadeln, Schmp. 114–115°. $[\alpha]_D^{20}$: $-14.01 \pm 0.5^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20}$: $-16.57 \pm 0.5^\circ$ ($c = 2$, in Methanol). R_F 0.65 mit Heptan/tert.-Butanol/Pyridin (3 : 1 : 1). Ausb. 75.4 g (97% d. Th.).

C₁₉H₂₀N₂O₇ (388.4) Ber. C 58.76 H 5.19 N 7.21 Gef. C 59.08 H 5.11 N 7.49

Zur Bestimmung der optischen Reinheit wurden die Schutzgruppen durch Hydrierung mit H₂/Pd abgespalten. Dabei entstand chromatographisch reines *L-Threonin*: $[\alpha]_D^{20}$: $-27.96 \pm 0.5^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20}$: $-33.67 \pm 0.5^\circ$ ($c = 2.0$, in Wasser). Ausgangsmaterial: $[\alpha]_D^{20}$: $-27.85 \pm 0.5^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20}$: -33.64 ($c = 1$, in Wasser).

3. *Benzoyloxycarbonyl-O-tert.-butyl-L-threonin-[p-nitro-benzylester] (III)*: 40.0 g *II* werden in 400 ccm Methylenchlorid gelöst, auf 0° gekühlt und vorsichtig mit 360 ccm *Isobuten* und 5 ccm konz. Schwefelsäure versetzt. Das Gemisch wird, in einem dickwandigen Rundkolben verschlossen, 4 Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt. Die erhaltene abgekühlte Lösung schüttelt man 3 mal mit überschüss., eiskalter, 5-proz. Natriumcarbonatlösung, extrahiert die wäßr. Phase 2 mal mit Methylenchlorid und wäscht die vereinigten Methylenchloridlösungen mit Wasser neutral. Nach Trocknen über P₂O₅ verbleibt nach Einengen i. Vak. ein hellgelbes kristallines Produkt, das, in wenig Essigester gelöst, auf Zusatz von Petroläther zunächst ein dunkelbraunes Öl abscheidet. Dieses wird abgetrennt, die Lösung vorsichtig mit weiterem Petroläther versetzt, wonach (rasch nach Animpfen) feine farblose Nadeln ausfallen: Schmp. 55–56.5°. R_F 0.50 mit Heptan/tert.-Butanol/Pyridin (5 : 1 : 1). Ausb. 37 g (81% d. Th.).

C₂₃H₂₈N₂O₇ (444.5) Ber. C 62.15 H 6.35 N 6.31 Gef. C 62.10 H 6.17 N 6.64

4. *L-Threonin-tert.-butyläther (O-tert.-Butyl-L-threonin) (IV)*: 29.0 g *III* in wäßr. Methanol werden in Gegenwart von 4.5 ccm Essigsäure und Pd-Katalysator wie üblich hydriert. Nach Verdampfen des Lösungsmittels i. Vak. kristallisiert der Rückstand, der zur Entfernung von

¹⁴) E. SCHRÖDER und H. GIBIAN, Liebigs Ann. Chem. **656**, 190 [1962].

¹⁵) H. ZAHN und H. SCHÜSSLER, Liebigs Ann. Chem. **641**, 176 [1961].

¹⁶) R. B. MERRIFIELD, J. biol. Chemistry **232**, 43 [1958].

p-Toluidin sorgfältig mit Äthanol verrieben und aus Methanol/Aceton umkristallisiert wird: Schmp. 259–260° (Zers.). $[\alpha]_D^{20}$: $-42.11 \pm 0.5^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20}$: -50.45 ($c = 2$, in Methanol). R_F 0.76 mit tert.-Butanol/Eisessig/Wasser/Pyridin (60 : 6 : 24 : 20). Ausb. 9.7 g (85% d. Th.).

$C_8H_{17}NO_3$ (175.2) Ber. C 54.84 H 9.78 N 7.99 Gef. C 54.91 H 9.96 N 7.94

5. *L*-Threonin: 2.0 g IV werden mit 4 ccm *Trifluoressigsäure* übergossen und bei Raumtemperatur bis zur Lösung geschüttelt. Nach ca. 6stdg. Stehenlassen verdünnt man mit Aceton und neutralisiert unter Eiskühlung mit 5 ccm Triäthylamin, wobei ein kristalliner Niederschlag ausfällt, Ausb. 1.2 g (88.3% d. Th.): $[\alpha]_D^{20}$: $-28.4 \pm 0.5^\circ$ ($c = 2$, in Wasser), R_F 0.31 mit *n*-Butanol/Eisessig/Wasser (6 : 2 : 2). Ausgangsmaterial *L*-Threonin: $[\alpha]_D^{20}$: $-27.85 \pm 1.0^\circ$ ($c = 1$, in Wasser), R_F 0.31.

6. *Benzyloxycarbonyl-O-tert.-butyl-L-threonin-dicyclohexylammoniumsalz*: 9.4 g III, gelöst in 100 ccm Dioxan/Wasser (ca. 4 : 1), werden 2 Stdn. mit 10.6 ccm 2*n* NaOH unter Rühren verseift (Thymolphthalein als Indikator). Die mit 1*n* HCl auf pH 7 gebrachte Lösung wird im Rotationsverdampfer i. Vak. weitgehend vom Dioxan befreit und das ausgeschiedene Öl mit Wasser in Lösung gebracht. Nach Ansäuern mit Citronensäurelösung wird mit Äther ausgeschüttelt, die vereinigten, neutral gewaschenen, äther. Extrakte werden erschöpfend mit Kaliumhydrogencarbonatlösung extrahiert. Die vereinigten wäbr. Phasen scheiden nach Ansäuern mit Citronensäurelösung ein Öl ab, das in Äther aufgenommen wird. Nach üblicher Aufarbeitung (Waschen, Trocknen und Eindampfen i. Vak.) hinterbleibt ein farbloser, kristalliner Rückstand, dessen Äther/Petroläther-Lösung auf Zugabe von 3.84 g *Dicyclohexylamin* farblose Nadeln abscheidet. Aus Äthanol/Äther/Petroläther Schmp. 146–147°, $[\alpha]_D^{20}$: $+9.93^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20}$: $+11.06 \pm 0.5^\circ$ ($c = 1$, in Äthanol). R_F 0.89 mit Chloroform/Methanol (9 : 4), R_F 0.82 mit Butanol/Eisessig/Wasser/Pyridin (60 : 6 : 24 : 20). Ausb. 8.3 g (80% d. Th.).

$C_{28}H_{46}N_2O_5$ (490.7) Ber. C 68.54 H 9.45 N 5.71 Gef. C 68.62 H 9.49 N 5.71

7. *Benzyloxycarbonyl-L-serin* wurde hergestellt nach ST. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS¹⁷⁾, Schmp. 119°, $[\alpha]_D^{20}$: $+5.9 \pm 0.5^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20}$: $+6.9 \pm 0.5^\circ$ ($c = 6$, in Eisessig) (Lit.¹⁷⁾: $[\alpha]_D^{22}$: $5.9 \pm 0.5^\circ$ ($c = 2.7$, in Eisessig). R_F 0.80 mit Amylalkohol/Pyridin/Wasser (7 : 7 : 6). Ausb. 90% d. Th.

8. *Benzyloxycarbonyl-L-serin-[p-nitro-benzylester]*: Umsetzung und Aufarbeitung erfolgen wie unter 2. beschrieben (47.8 g *Z-L-Serin* (200 mMol), 42 ccm Triäthylamin (300 mMol), 64.8 g *p-Nitro-benzylbromid* (300 mMol), 300 ccm Essigester). Aus Essigester/Petroläther farblose Kristalle vom Schmp. 115.5–116.6°. $[\alpha]_D^{20}$: $-11.87 \pm 0.5^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20}$: $-14.85 \pm 0.5^\circ$ ($c = 0.9$, in Methanol). R_F 0.61 mit Heptan/tert.-Butanol/Pyridin (3 : 1 : 1). Ausb. 73.3 g (98% d. Th.).

$C_{18}H_{18}N_2O_7$ (374.3) Ber. C 57.75 H 4.85 N 7.49 Gef. C 58.04 H 4.95 N 7.80

Zur Bestimmung der optischen Reinheit wurden die Schutzgruppen abhydriert. Dabei entstand chromatographisch reines *L-Serin*: $[\alpha]_D^{20}$: $+14.63 \pm 0.5^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20}$: $+17.69 \pm 0.5^\circ$ ($c = 2$, in 1*n* HCl). Ausgangsmaterial: $[\alpha]_D^{20}$: $+14.64 \pm 0.5^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20}$: $+17.69 \pm 0.5^\circ$ ($c = 2$, in 1*n* HCl).

9. *Benzyloxycarbonyl-O-tert.-butyl-L-serin-[p-nitro-benzylester]*: Nach Umsetzung und Aufarbeitung wie unter 3. (40 g des vorstehenden *Esters*, 360 ccm *Isobuten*, 400 ccm Methylenchlorid, 5 ccm konz. Schwefelsäure) erhält man aus Essigester/Petroläther farblose Nadeln vom Schmp. 68–70.5°. R_F 0.49 mit Heptan/tert.-Butanol/Pyridin (5 : 1 : 1). Ausb. 41 g (89.5% d. Th.).

$C_{22}H_{26}N_2O_7$ (430.4) Ber. C 61.40 H 6.09 N 6.51 Gef. C 61.77 H 6.19 N 6.63

¹⁷⁾ Helv. chim. Acta 41, 1852 [1958].

10. *L-Serin-tert.-butyläther (O-tert.-Butyl-L-serin)*: 20.0 g vorstehende *O-tert.-Butylverbindung* und 2.8 ccm Eisessig werden umgesetzt und aufgearbeitet wie unter 4. beschrieben. Aus Methanol/Aceton umkristallisiert und bei 50° i. Vak. über P₂O₅ getrocknet, Schmp. 250° (Zers.), $[\alpha]_D^{20}$: -17.69°, $[\alpha]_{546}^{20}$: -20.97 ± 0.5° (*c* = 2, in Wasser); für die wasserfreie Substanz *R_F* 0.75 mit tert.-Butanol/Eisessig/Wasser/Pyridin (60 : 6 : 24 : 2). Ausb. 6.9 g (90% d. Th.).

C₇H₁₅NO₃ · 1/4 H₂O (165.7) Ber. C 50.74 H 9.43 N 8.45 Gef. C 50.66 H 9.44 N 8.45

11. *Benzoyloxycarbonyl-O-tert.-butyl-L-serin-dicyclohexylammoniumsalz*: Es wird umgesetzt und aufgearbeitet wie unter 6. beschrieben (19.0 g *O-tert.-Butylverbindung* aus 9., 22 ccm 2*n* NaOH). Aus Äthanol farblose Nadeln vom Schmp. 149–150°. $[\alpha]_D^{20}$: +22.13°, $[\alpha]_{546}^{20}$: +25.37 ± 0.5° (*c* = 1, in Äthanol). *R_F* 0.91 mit Chloroform/Methanol (9 : 4), *R_F* 0.83 in Butanol/Eisessig/Wasser/Pyridin (60 : 6 : 24 : 20); Ausb. 17.9 g (85% d. Th.).

C₂₇H₄₄N₂O₅ (476.7) Ber. C 68.03 H 9.30 N 5.88 Gef. C 68.09 H 9.56 N 6.02

12. *Benzoyloxycarbonyl-L-tyrosin-äthylester*: 131.0 g (0.626 Mol) *Tyrosin-äthylester* werden nach BERGMANN-ZERVAS¹⁸⁾ mit 97.4 ccm *Chlorameisensäure-benzylester* und Natriumcarbonatlösung (202 g Na₂CO₃ · 10H₂O in 385 ccm Wasser) umgesetzt. Das ausgefallene Produkt wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus Essigester/Petroläther umkristallisiert. Aus der Chloroform-Lösung gewinnt man eine zweite Fraktion. Schmp. 88–91°. *R_F* 0.68 mit Heptan/tert.-Butanol/Pyridin (3 : 1 : 1). Ausb. 205.7 g (95.7% d. Th.).

13. *Benzoyloxycarbonyl-L-tyrosin*: 80 g des vorstehenden *Esters* (0.233 Mol) in 500 ccm Dioxan/Wasser (ca. 4 : 1) werden 2 Stdn. mit 233 ccm 2*n* NaOH (0.466 Mol) verseift (Indikator Phenolphthalein). Die i. Vak. vom Dioxan weitgehend befreite und mit Wasser verdünnte Lösung wird unter Kühlung und Rühren mit 5*n* H₂SO₄ angesäuert. Das ausfallende farblose Öl kristallisiert rasch nach Animpfen. Es wird abgesaugt, in Kaliumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und mit 5*n* H₂SO₄ wieder ausgefällt. Nach Trocknen i. Vak. über P₂O₅ Schmp. 92–95° (Lit.¹⁸⁾: 101°); *R_F* 0.74 mit Amylalkohol/Pyridin/Wasser (35 : 35 : 30). Ausb. 67 g (91.2% d. Th.).

14. *Benzoyloxycarbonyl-L-tyrosin-[p-nitro-benzylester]* wird wie unter 2. hergestellt (62 g *Z-L-Tyrosin* (ca. 200 mMol), 42 ccm *Triäthylamin* (300 mMol), 64.8 g *p-Nitro-benzylbromid* (300 mMol), 300 ccm Essigester). Nach 8stdg. Reaktion wird die Lösung mit Methylenchlorid verdünnt und wie üblich aufgearbeitet. Aus Essigester/Benzol/Petroläther Nadeln vom Schmp; 117–119°. $[\alpha]_D^{20}$: -11.16 ± 0.5°, $[\alpha]_{546}^{20}$: -13.71 ± 0.5° (*c* = 1, in Methanol). *R_F* 0.61 mit Heptan/tert.-Butanol/Pyridin (3 : 1 : 1). Ausb. 84 g (95% d. Th.).

C₂₄H₂₂N₂O₇ (450.5) Ber. C 63.99 H 4.92 N 6.22 Gef. C 63.96 H 4.85 N 6.56

Zur Bestimmung der optischen Reinheit wurden die Schutzgruppen zu chromatographisch reinem *L-Tyrosin* abhydriert: $[\alpha]_D^{20}$: -10.70 ± 0.5°, $[\alpha]_{546}^{20}$: -12.25 ± 0.5° (*c* = 2, in 1*n* HCl). Ausgangsmaterial: $[\alpha]_D^{20}$: -10.3 ± 0.5° (in 1*n* HCl).

15. *Benzoyloxycarbonyl-O-tert.-butyl-L-tyrosin-[p-nitro-benzylester]*: Man arbeitet, wie unter 3. beschrieben, mit 40 g des vorstehenden *Esters*, 400 ccm^o *Isobuten*, 240 ccm Methylenchlorid und 3.0 ccm konz. Schwefelsäure. Aus Essigester/Benzol/Petroläther farblose Nadeln vom Schmp. 73.5–74.5°. *R_F* 0.52 mit Heptan/tert.-Butanol/Pyridin (5 : 1 : 1). Ausb. 35.9 g (80% d. Th.).

C₂₈H₃₀N₂O₇ (506.6) Ber. C 66.4 H 5.97 N 5.53 Gef. C 66.61 H 5.91 N 5.46

16. *L-Tyrosin-tert.-butyläther (O-tert.-Butyl-L-tyrosin)* gewinnt man wie unter 4. (20 g *O-tert.-Butylverbindung* aus 15., 2.4 ccm Eisessig). Aus Wasser/Methanol Blättchen vom

¹⁸⁾ M. BERGMANN und L. ZERVAS, Ber. dtsh. chem. Ges. **65**, 1192 [1932].

Schmp. 248–249.5° (Zers.). $[\alpha]_D^{20}$: $-25.77 \pm 0.5^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20}$: $-30.73 \pm 0.5^\circ$ ($c = 1$, in Wasser). R_F 0.63 mit Heptan/tert.-Butanol/Eisessig/Wasser/Pyridin (25:70:6:24:20). Ausb. 8.3 g (87% d. Th.).

$C_{13}H_{19}NO_3 \cdot 1/4 H_2O$ (241.8) Ber. C 64.57 H 8.13 N 5.79 Gef. C 64.64 H 7.80 N 5.89

17. *Benzoyloxycarbonyl-O-tert.-butyl-L-tyrosin-dicyclohexylammoniumsalz*: Es wird wie unter 6. umgesetzt und aufgearbeitet (22.5 g *O-tert.-Butylverbindung* aus 15., 9 ccm 5*n* NaOH). Aus Äthanol farblose Nadeln vom Schmp. 160–161.5°. $[\alpha]_D^{20}$: $+34.68 \pm 0.5^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20}$: $+41.40 \pm 0.5^\circ$ ($c = 1$, in Äthanol). R_F 0.82 mit Chloroform/Methanol (9:4); R_F 0.86 mit Butanol/Eisessig/Wasser/Pyridin (60:6:24:20); Ausb. 22.8 g (92.7% d. Th.).

$C_{33}H_{48}N_2O_5$ (552.8) Ber. C 71.70 H 8.75 N 5.07 Gef. C 71.64 H 8.68 N 5.14