

IVAR UGI und KLAUS OFFERMANN

Isonitrile, XIX¹⁾**Die Kondensation von Carbonsäuren, Aldehyden und Isonitrilen mit primären aliphatischen Aminen, die einen abspaltbaren Alkyl- oder Alkenyl-Rest tragen²⁾**

Aus dem Wissenschaftlichen Hauptlaboratorium der Farbenfabriken Bayer AG, Leverkusen, und dem Institut für Organische Chemie der Universität München

(Eingegangen am 13. März 1964)

Durch Kondensation von Carbonsäuren, Aldehyden und Isonitrilen mit β -Amino-carbonsäureestern oder resonanzstabilisierten primären Enaminen werden α -[Acyl-alkyl (bzw. alkenyl)-amino]-carbonsäureamide erhalten, die durch schonende Behandlung mit Basen bzw. Säuren in α -Acylamino-carbonsäureamide übergeführt werden können. Die Vereinigung von 2,2-Dimethyl- bzw. 2,2,5,5-Tetramethyl- Δ^3 -thiazolin mit Phthalylglycin und Isocyanessigsäure-tert.-butylester führt zu Tripeptid-Derivaten, die sich vom Cystein und Penicillamin ableiten. Die Untersuchungen wurden als Vorversuche für Peptid-Synthesen durch α -Aminoalkylierung von Isonitrilen in Kombination mit Carbonsäuren³⁾ durchgeführt.

Aldehyde und prim. Amine oder die daraus erhältlichen Schiffschen Basen reagieren mit α -Acylamino-carbonsäuren und Isocyanessigsäure-tert.-butylester zu Tripeptid-Derivaten^{3,4)}. Da ferner die Umsetzung von Isobutyraldehyd, L-(—)- α -Phenäthylamin und Benzoesäure mit tert.-Butylisocyanid je nach Reaktionsbedingungen unter asymmetrischer Induktion zu überwiegender Bildung eines L- oder D-Valin-Derivates führt^{3,5)}, erscheint es möglich, daß auf der Grundlage der α -Aminoalkylierung von Isonitrilen und Carbonsäuren³⁾ Methoden zur Synthese optisch aktiver Peptide entwickelt werden können. Als Vorstudie für solche Peptid-Synthesen untersuchten wir die Umsetzungen von aliphatischen primären Aminen mit abspaltbaren Alkyl- bzw. Alkenyl-Resten sowie von Δ^3 -Thiazolinen als Kondensations-Komponenten.

Enamine mit einer primären oder sekundären Aminogruppe sind nur existenzfähig, wenn sie durch eine β -ständige, elektronenziehende, ungesättigte Gruppe wie Cyan-, Alkoxy-carbonyl- oder Acyl- substituiert sind. Die Resonanzstabilisierung gemäß I wirkt einer Protonenverschiebung zur Schiffschen Base (II) entgegen.

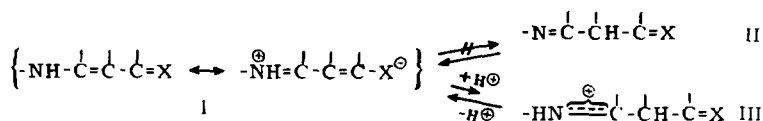
1) XVIII. Mitteil.: I. UGI und K. OFFERMANN, Chem. Ber. 97, 2276 [1964].

2) Aus der Dissertat. K. OFFERMANN, Univ. München 1964.

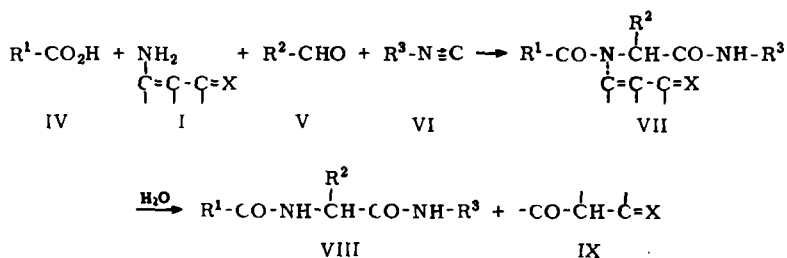
3) Sammelreferate: a) I. UGI, Angew. Chem. 74, 9 [1962], Angew. Chem. internat. Edit. 1, 8 [1962]; b) K. SJÖBERG, Svensk kem. Tidskr. 75, 493 [1963].

4) I. UGI und C. STEINBRÜCKNER, Chem. Ber. 94, 2802 [1961].

5) a) I. UGI und K. OFFERMANN, Angew. Chem. 75, 917 [1963], Angew. Chem. internat. Edit. 2, 624 [1963]; b) vgl. Vortragsref.: I. UGI (Votr.), K. OFFERMANN und H. HERLINGER, Angew. Chem. 76, 613 [1964].



Als „vinyloge Säureamide“ sind stabilisierte Enamine sehr schwache Basen und zeigen nur geringe Tendenz, in die korrespondierenden Imonium-Ionen (III) überzugehen. Daher reagieren sie mit Isonitrilen und Carbonsäuren ohne zugesetzte Carbonyl-Komponenten nicht unter α -Aminoalkylierung³⁾. Infolgedessen ist es möglich, resonanzstabilisierte primäre Enamine mit Carbonsäuren (IV), Aldehyden (V) und Isonitrilen (VI) zu α -Acylamino-carbonsäureamiden (VII) zu kondensieren, die am Stickstoff der Acylaminogruppe einen hydrolytisch sehr leicht als Carbonyl-Verbindung (IX) abspaltbaren β -substituierten Vinylrest tragen^{6,7)}.



Die Brauchbarkeit resonanzstabilisierter primärer Enamine I als Amin-Komponente gemäß vorstehendem Formelschema wurde an der Kondensation von Phthalylglycin (IVa), Isobutyraldehyd (Va) und Isocyanessigsäure-tert.-butylester (VIa) mit den in Tab. 1 angegebenen Enaminen studiert.

In den meisten Fällen wurde statt des erwarteten Kondensationsproduktes (VIIa), das lediglich bei der Verwendung von 2-Amino- Δ^1 -cyclohexen-carbonsäure-(1)-ester (Tab. 1, e) isoliert werden konnte, das Hydrolyseprodukt VIIIa erhalten.

Die geringe Nucleophilie der Aminogruppe resonanzstabilisierter primärer Enamine vermindert deren Neigung, als Amin-Komponenten an der mit Acylwanderung gekoppelten α -Addition von Imonium-Ionen und Carboxylat-Anionen an Isonitrile teilzunehmen, dermaßen, daß auch die PASSERINI-Reaktion⁸⁾ (IVa + Va + VIa \rightarrow Xa) in erheblichem Maße zu konkurrieren⁹⁾ vermag. In manchen Fällen (Versuch b und c, Tab. 1) wird die Bildung des Depsipeptides (Xa¹⁰⁾) beobachtet.

Da das Gemisch der Reaktionsprodukte infolge geringer Kristallisationsneigung nur zu einem Teil auskristallisiert und der in der Mutterlauge enthaltene Anteil schwierig zu isolieren ist, erwies es sich als zweckmäßig, VIIIa durch 30 Minuten Erhitzen mit methanolischer Salzsäure in Phthalylglycyl-valyl-glycin-methylester (VIIIb) zu überführen, der gut kristallisiert.

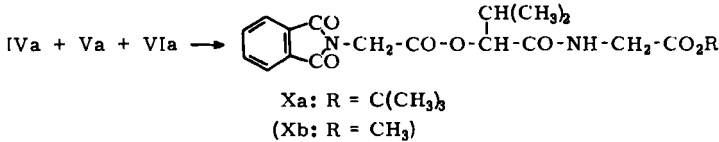
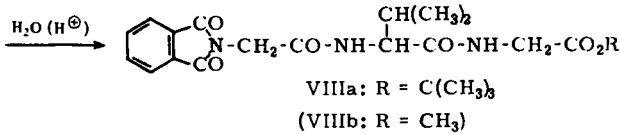
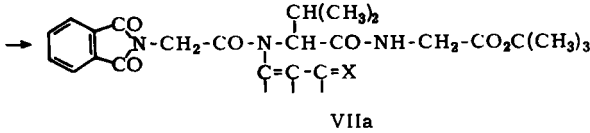
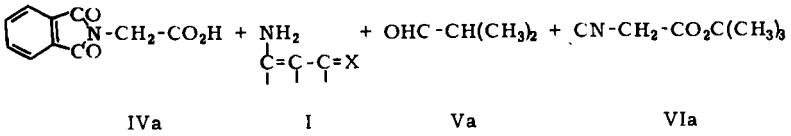
6) K. OFFERMANN und I. UGI, *Angew. Chem.* **74**, 513 [1962].

7) S. a. E. DANE, F. DREES, P. KONRAD und T. DOCKNER, *Angew. Chem.* **74**, 873 [1962]; *Angew. Chem. internat. Edit.* **1**, 658 [1962].

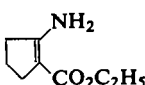
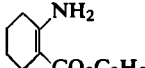
8) M. PASSERINI, *Gazz. chim. ital.* **61**, 964 [1931] und vorangehende Mitteilungen.

9) J. MCFARLAND, *J. org. Chemistry* **28**, 2179 [1963].

10) U. FETZER und I. UGI, *Liebigs Ann. Chem.* **659**, 184 [1962].

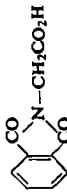


Tab. 1. Die Kondensation von resonanzstabilisierten prim. Enaminen (I) mit Phthalylglycine (IV a), Isobutyraldehyd (Va) und Isocyanessigsäure-tert.-butylester (VI a)

Nr.	Enamin-Komponente (I)	Ausbeuten			
		(% d. Th., bez. auf verbrauchtes VI a)			
		VII a	VIII a	X b	insgesamt
a	$\text{H}_3\text{C}-\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}=\text{CH}-\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$	14	33		47
b	$\text{H}_3\text{C}-\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}=\text{CH}-\text{C}\equiv\text{N}$		17	35	52
c	$\text{H}_3\text{C}-\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}=\text{CH}-\text{CO}-\text{CH}_3$		19	50	69
d		5	40		45
e		35	27		62

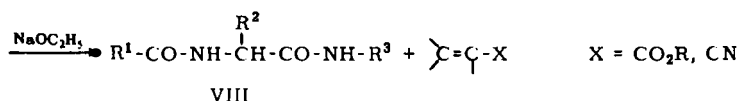
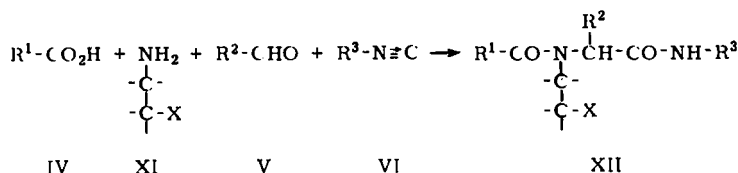
Als Amin-Komponenten mit selektiv abspaltbarem Alkylrest lassen sich mit Vorteil primäre aliphatische Amine verwenden, die in β -Stellung zur Aminogruppe ein acides H-Atom tragen, wie z. B. β -Amino-carbonsäureester oder -carbonsäurenitrile (vgl. Tab. 2).

Tab. 2. Umsetzungen von β -Amino-carbonsäure-Derivaten (XI) mit Carbonsäuren (IV), Aldehyden (V) und Isonitrilen (VI) und Abspaltung der Hilfsgruppe aus den Kondensationsprodukten (XII) zu α -Acylamino-carbonsäureamiden (VIII)

Nr.	Carbonsäure IV (liefert R ¹)	Amin XI	Aldehyd V (liefert R ²)	Isonitril VI (liefert R ³)	XII Ausb. (% d. Th.)	VIII Ausb. (% d. Th.)	Schmp. (° d. Th.)	% L-Valin- Derivat (falls XI opt. aktiv)
c	CH ₃ CO ₂ H	DL-C ₆ H ₅ -CH(NH ₂)-CH ₂ -CO ₂ C ₂ H ₅	CH ₃ -CHO	C ₂ H ₅ -NC	32* 102—103° (89)**	99	239—241°	64
d	C ₆ H ₅ CO ₂ H	D-C ₆ H ₅ -CH(NH ₂)-CH ₂ -CO ₂ C ₂ H ₅	i-C ₃ H ₇ -CHO	(CH ₃) ₂ C=NC	92 150—150,5°	92	239—241°	
e	C ₆ H ₅ CO ₂ H	DL-C ₆ H ₅ -CH(NH ₂)-CH ₂ -CO ₂ C ₂ H ₅	H ₃ CS-(CH ₂) ₂ -CHO	c-C ₆ H ₁₁ -NC	38* 111—112° (100)**	92	161—162°	
f	C ₆ H ₅ CO ₂ H	DL-C ₆ H ₅ -CH(NH ₂)-CH ₂ -CO ₂ C ₂ H ₅	C ₆ H ₅ -CHO	2,6-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃ -NC	89 166—167°	97	248—249°	
g		DL-C ₆ H ₅ -CH(NH ₂)-CH ₂ -CO ₂ C ₂ H ₅	i-C ₃ H ₇ -CHO	(CH ₃) ₃ CO ₂ C-CH ₂ -NC	94 187—188°	78	229—230°	
h	C ₆ H ₅ CO ₂ H	DL-H ₃ C-CH(NH ₂)-CH ₂ -CO ₂ C ₂ H ₅	i-C ₃ H ₇ -CHO	c-C ₆ H ₁₁ -NC	96 nicht krist.	73	221—221,5°	
i	C ₆ H ₅ CO ₂ H	DL-H ₃ C-CH(NH ₂)-CH ₂ -CN	i-C ₃ H ₇ -CHO	c-C ₆ H ₁₁ -NC	92 nicht krist.	67	221—221,5°	
j	C ₆ H ₅ CO ₂ H	H ₂ N-CH ₂ -CH ₂ -CO ₂ C ₂ H ₅	i-C ₃ H ₇ -CHO	c-C ₆ H ₁₁ -NC	98 115—116°	81	221—221,5°	
k	C ₆ H ₅ CO ₂ H	L-C ₂ H ₅ O ₂ C-CH(NH ₂)-CH ₂ -CO ₂ C ₂ H ₅	i-C ₃ H ₇ -CHO	(CH ₃) ₂ C=NC	87 91—93°	96	239—241°	32
l	C ₆ H ₅ CO ₂ H	L-C ₂ H ₅ O ₂ C-CH(NH ₂)-CH ₂ -CO ₂ C ₂ H ₅	i-C ₃ H ₇ -CHO	C ₆ H ₅ -NC	84 176—178°	63	219—220°	45

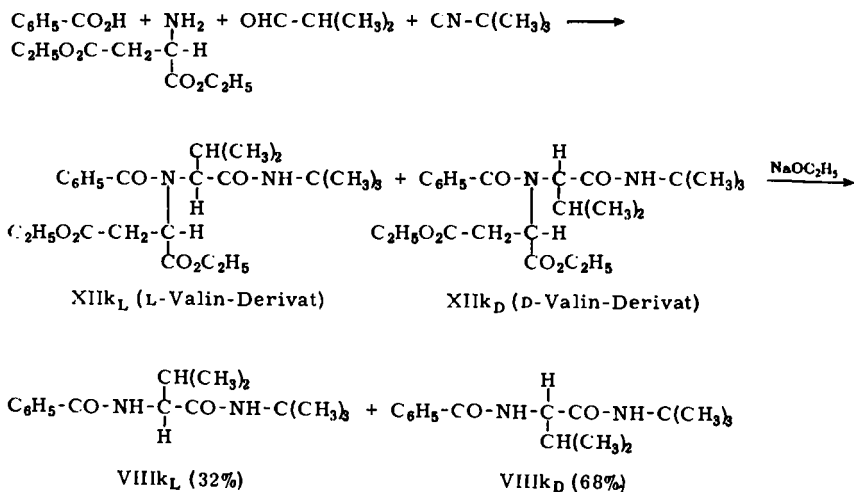
*) Ausb. an kristallinem Kondensationsprodukt. **) Rohausb.

Die durch Kondensation von β -Amino-carbonsäureestern oder -nitrilen mit Carbonsäuren, Aldehyden und Isonitrilen entstehenden α -[Acyl-(β -alkoxycarbonyl(bzw. β -cyan)-alkyl)-amino]-carbonsäureamide (XII) werden durch Behandeln mit starken Basen, wie Na-Alkoholat, rasch und glatt unter Abspaltung α,β -ungesättigter Carbonsäureester oder -nitrile zu Acylamino-carbonsäureamiden (VIII) entalkyliert (vgl. Tab. 2). Hierbei erfolgt die alkoholatkatalysierte Entalkylierung bei 0–20° so rasch, daß häufig bereits beim Vereinen der alkohol. Lösung von Peptid-Derivat und Alkoholatlösung das Reaktionsprodukt VIII sofort auszukristallisieren beginnt. In einigen Fällen erfolgt die Abspaltung des Alkoxycarbonyl-Restes unter Zusatz von Oxalsäure-diäthylester glatter als mit Alkoholat allein (Tab. 2, Beispiele g und l).



Neuerdings werden Ester des β -Hydroxy-propionitrils bei Synthesen von Naturstoffen, die Phosphorsäureester-Gruppen enthalten, wegen der basenkatalysierten Abspaltbarkeit von Acrylnitril verwendet¹¹⁾.

Das Beispiel k aus Tab. 2 illustriert die Arbeitsweise für die Reaktion mit einer optisch aktiven Komponente XI:



¹¹⁾ G. M. TENER, J. Amer. chem. Soc. 83, 159 [1961].

Aus äquivalenten Mengen Benzoesäure, L-Asparaginsäure-diäthylester, Isobutyraldehyd und tert.-Butylisocyanid erhält man bei 0° in absol. Äthanol gemäß vorstehendem Formelschema in 87-proz. Gesamtausbeute ein Diastereomergemisch XII_{k_L} und XII_{k_D}. Beim Behandeln mit drei Äquivalenten Na-Alkoholat erfolgt in 96-proz. Ausbeute Entalkylierung zu VIII_{k_L} und VIII_{k_D}. Der Drehwert des resultierenden Gemisches von L- und D-N-Benzoyl-valin-tert.-butylamid (VIII_{k_L} + VIII_{k_D}) wird mit dem Drehwert optisch reinen N-Benzoyl-L-valin-tert.-butylamids (VIII_{k_L}) (s. u.) verglichen, woraus sich das Diastereomeren-Verhältnis XII_{k_L}: XII_{k_D} des Kondensationsproduktes zu 32 : 68 ergibt (vgl. 1. c.⁵⁾).

Die sich aus der Bruttozusammensetzung und dem Reaktionsschema der Vierkomponenten-Kondensationen³⁾ ergebende Konstitution der vorangehend beschriebenen Reaktionsprodukte wird durch nachfolgende Befunde bestätigt.

Das IR-Absorptionsspektrum von VIII_{k_L} + VIII_{k_D} entspricht hinsichtlich der Lage sämtlicher charakteristischer Banden den IR-Spektren des Benzoyl-L-valin-tert.-butylamids, das aus L-Valin auf unabhängigem Wege dargestellt wurde, und des Benzoyl-DL-valin-tert.-butylamids, welches bei der Vierkomponenten-Kondensation von Benzoesäure, Ammoniak, Isobutyraldehyd und tert.-Butylisocyanid entsteht. Ferner sind die auf verschiedenen Wegen erhaltenen Tripeptid-Derivate VIIIa und VIIIg laut IR-Absorption und Misch-Schmp. identisch.

Die IR-Absorptionsspektren (durchweg KBr-Preßlings-Spektren) der Kondensationsprodukte XIIc-1 enthalten charakteristische Banden bei 3350–3220 (Amid-NH), 1740–1715 (Ester-CO), 1695–1655 (Amid-CO), 1640–1610 (Amid-CO) und 1560 bis 1530/cm (Amid II). Die aus VIIa-e und XIIc-1 erhaltenen α-Acylamino-carbonsäureamide VIIIa-1 zeigen charakteristische IR-Absorption bei 3300–3250 (Amid-NH), 3100–3060 (Amid-NH), 1680–1650 (Amid-CO), 1635–1625 (Amid-CO), 1585–1570 (Amid II) und 1545–1525/cm (Amid II).

Durch die saure, gegebenenfalls unter N-Entalkylierung^{5b)} verlaufende Hydrolyse werden aus den beschriebenen α-Aminosäure-Derivaten die entsprechenden α-Aminosäuren freigesetzt, die dünnschichtchromatographisch identifiziert werden können.

Die Synthese von Peptiden des Cysteins erfordert meist die Verwendung spezieller Schutzgruppen für die Mercaptogruppe. In der Regel werden S-Benzyl-Derivate des Cysteins benutzt. SHEEHAN¹²⁾ und KING¹³⁾ wiesen an Hand ihrer Glutathion-Synthesen über das cyclische Acetonid des Cysteins auf die Brauchbarkeit der Acetonidbildung als Schutz der Mercaptogruppe des Cysteins hin.

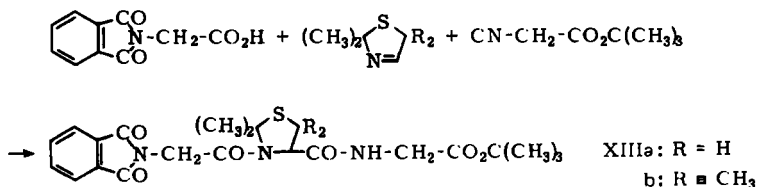
Auch bei der Synthese von Peptiden des Cysteins und Penicillamins mit Hilfe von Isonitrilen¹⁴⁾ läßt sich die Isopropyliden-Gruppe mit Vorteil als Hilfsgruppe verwenden. 2.2-Dimethyl- und 2.2.5.5-Tetramethyl-Δ³-thiazolin¹⁵⁾ reagieren mit Phthalyl-

12) J. C. SHEEHAN und D. H. YANG, J. Amer. chem. Soc. **80**, 1158 [1958].

13) F. E. KING, J. W. CLARK-LEWIS und R. WADE, J. chem. Soc. [London] **1957**, 880.

14) S. a. I. UGI und E. WISCHHÖFER, Chem. Ber. **95**, 136 [1962].

15) M. THIEL und F. ASINGER, Liebigs Ann. Chem. **611**, 121 [1958]; Sammelref.: F. ASINGER und M. THIEL, Angew. Chem. **70**, 667 [1958].



glycin und Isocyanessigsäure-tert.-butylester zu den Tripeptid-Derivaten XIII a (67% d. Th.) und XIII b (68% d. Th.)^{3a)}.

Dem FONDS DER CHEMISCHEN INDUSTRIE, der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT und der MAX-BUCHNER-STIFTUNG danken wir für die Förderung der Untersuchungen.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Kondensationen von resonanzstabilisierten primären Enaminen (I) mit Phthalylglycin (IVa), Isobutyraldehyd (Va) und Isocyanessigsäure-tert.-butylester (VIa) (Tab. 1)

1. *Umsetzung von β -Amino-crotonsäure-äthylester mit Phthalylglycin (IVa), Isobutyraldehyd (Va) und Isocyanessigsäure-tert.-butylester (VIa) (Tab. 1, a):* Die Lösung von 4.10 g (20.0 mMol) IVa, 2.00 g (27.8 mMol) Va und 2.60 g (20.2 mMol) β -Amino-crotonsäure-äthylester¹⁶⁾ in 20 ccm absol. Methanol wird bei Raumtemp. unter Rühren mit 2.82 g (20.0 mMol) VIa versetzt. Der Ansatz erwärmt sich auf 30° und hat innerhalb von 2 Stdn. ausreagiert. Nach 12 Stdn. bei 0° haben sich 1.20 g (14%) Phthalylglycyl-valyl-glycin-tert.-butylester (VIIIa) abgeschieden. Schmp. 230–231° (Methanol).

$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_6$ (417.5) Ber. C 60.42 H 6.52 N 10.07 Gef. C 60.37 H 6.61 N 9.99

Versuche, aus der Mutterlauge durch Einengen und Behandeln mit Lösungsmitteln kristalline Produkte zu isolieren, scheiterten. Man löst den viskosen Rückstand der eingeeengten Mutterlauge in 50 ccm 1*n* methanol. HCl und erhitzt 30 Min. unter Rückfluß. Nach Aufbewahren über Nacht im Kühlschrank werden 2.47 g (33%) Phthalylglycyl-valyl-glycin-methylester (VIII b) abgesaugt. Schmp. 288–290° (Dimethylformamid/Methanol).

$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_6$ (375.4) Ber. C 57.60 H 5.64 N 11.20 Gef. C 57.33 H 5.72 N 11.24

2. *Umsetzung von β -Amino-crotonsäurenitril mit IVa, Va und VIa:* Analog Versuch 1. werden 1.70 g (20.7 mMol) β -Amino-crotonsäurenitril¹⁷⁾ umgesetzt. Auch nach 24 Stdn. Stehenlassen bei 0° tritt keine Kristallisation ein. Das Reaktionsgemisch wird mit 20 ccm 2*n* methanol. HCl versetzt und 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Beim Abkühlen scheiden sich 4.92 g Rohprodukt vom Schmelzbereich 170–250° ab. Das Rohprodukt wird 10 Min. in 160 ccm Methanol erhitzt und nach Abkühlen auf ca. 20° abgesaugt. Man erhält 1.27 g (17%) VIII b vom Roh-Schmp. 279–281°.

Beim Einengen der Mutterlauge auf 1/3 des ursprünglichen Vol. scheiden sich 2.65 g (35%) Xb vom Roh-Schmp. 155–157° ab. Schmp. 153–156° (Methanol).

$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7$ (376.4) Ber. C 57.44 H 5.36 N 7.44 Gef. C 57.54 H 5.46 N 7.43

Aus der Bruttozusammensetzung und dem Vergleich der IR-Absorptionsspektren von Xb und Xa, das aus Phthalylglycin, Isobutyraldehyd und Isocyanessigsäure-tert.-butylester dargestellt wurde¹⁰⁾, ergibt sich die Konstitution von Xb.

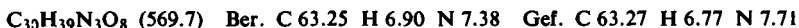
¹⁶⁾ M. CONRAD und W. EPSTEIN, Ber. dtsh. chem. Ges. 20, 3052 [1887].

¹⁷⁾ J. MOIR, J. chem. Soc. [London] 81, 100 [1902].

3. *Umsetzung von 2-Amino-penten-(2)-on-(4) mit IVa, Va und VIa (Tab. 1, c):* Die Lösung von 4.10 g (20.0 mMol) *IVa*, 2.00 g (27.8 mMol) *Va* und 2.82 g (20.0 mMol) *VIa* in 20 ccm absol. Methanol wird bei 20° mit 2.00 g (20.2 mMol) *2-Amino-penten-(2)-on-(4)* versetzt. Nach 2 Stdn. wird mit 20 ccm *2n methanol. HCl* versetzt und 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Beim Abkühlen fallen 5.53 g Rohprodukt vom Schmelzbereich 170–250° an, aus dem durch Aufarbeiten analog Versuch 2. 1.48 g (19%) *VIIIb* (Roh-Schmp. 278–281°) und 3.84 g *Xb* (50% d. Th., Schmp. 156–158°) erhalten werden.

4. *Umsetzung von 2-Amino-1-äthoxycarbonyl-cyclopenten-(1) mit IVa, Va und VIa (Tab. 1, d):* Setzt man 3.10 g (20.0 mMol) *2-Amino-1-äthoxycarbonyl-cyclopenten-(1)*¹⁸⁾ analog Versuch 1. mit den übrigen Kondensations-Komponenten um, so erhält man nach 48 Stdn. bei 20° 0.45 g (5%) *VIIIa* (Roh-Schmp. 223–225°). Aus dem viskosen Rückstand der eingeeengten Mutterlauge isoliert man nach 30 Min. Kochen in 25 ccm *1n methanol. HCl* 3.00 g (40%) *VIIIb* (Roh-Schmp. 276–280°).

5. *Umsetzung von 2-Amino-1-äthoxycarbonyl-cyclohexen-(1) mit IVa, Va und VIa (Tab. 1, e):* Die Reaktion wird analog Versuch 1. mit 3.40 g (20.1 mMol) *2-Amino-1-äthoxycarbonyl-cyclohexen-(1)*¹⁹⁾ durchgeführt, wobei Selbsterwärmung auf 40° eintritt. Nach 48 Stdn. bei 0° scheiden sich 4.05 g (35% d. Th.) *VIIa* vom Schmp. 185–187° ab.



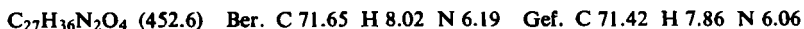
Aus der Mutterlauge werden mit *1n methanol. HCl* 2.00 g (27%) *VIIIb* (Roh-Schmp. 282–284°) erhalten.

Kondensation von β -Amino-carbonsäure-Derivaten (XI) mit Carbonsäuren (IV), Aldehyden (V) und Isonitrilen (VI)

6. a) *Umsetzung von D- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester mit Benzoessäure, Isobutyraldehyd und tert.-Butylisocyanid zu XII d: D- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester* wird durch Spaltung von Formyl-DL- β -amino-hydrozimtsäure²⁰⁾ mit Chinidin nach FISCHER²¹⁾ dargestellt. $[\alpha]_D^{25}$: +14.90° (hom.).

6.46 g (33.5 mMol) *D- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester*, 10.2 g (84.0 mMol) *Benzoessäure* und 2.42 g (33.6 mMol) *Isobutyraldehyd* in 20 ccm absol. Äthanol werden bei 0° unter Rühren tropfenweise mit 2.91 g (35 mMol) *tert.-Butylisocyanid* versetzt. Man läßt 15 Stdn. bei 0° stehen und engt i. Vak. bei 0–20° ein. Der Rückstand wird in 50 ccm Benzol gelöst und mit *2n HCl* sowie *2n NaOH* ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen der organischen Phase mit *MgSO₄* wird i. Vak. eingeeengt. Rohausb. 13.9 g (92%).

Ein Versuch mit optisch inaktivem DL- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester lieferte ein gut kristallisierendes Produkt, aus dem das Analysenpräparat von *XII d* gewonnen wurde. Schmp. 150–150.5° (Petroläther). Die IR-Absorptionsspektren beider Kondensationsprodukte entsprechen sich in den charakteristischen Banden.



b) *N-Benzoyl-valin-tert.-butylamid (VIII d):* Zu 3.90 g (8.10 mMol) des amorphen Rohproduktes aus Versuch 6. a) in 5 ccm absol. Äthanol gibt man auf einmal 15 ccm einer aus 600 mg (26.1 mg-Atom) Natrium bereiteten *Äthylat*-Lösung und sorgt durch kräftiges Schütteln für schnelle Durchmischung. Schon nach 15 Sek. beginnt sich das Reaktionsprodukt abzuscheiden. Nach 2 Min. wird mit 150 ccm 0.25*n HCl* gefällt, abgesaugt, mit Wasser

¹⁸⁾ W. DIECKMANN, Liebigs Ann. Chem. 317, 27 [1901].

¹⁹⁾ W. DIECKMANN, Liebigs Ann. Chem. 317, 100 [1901].

²⁰⁾ F. BERGEL und J. BUTLER, J. chem. Soc. [London] 1961, 4047.

²¹⁾ E. FISCHER, H. SCHEIBLER und R. GROH, Ber. dtsch. chem. Ges. 43, 2020 [1910].

und nach 48 Stdn. Trocknen im Exsikkator über CaCl_2 mit 30 ccm Äther gewaschen. Ausb. 2.35 g (99% d. Th.), Schmp. 228–231°, $[\alpha]_D^{20}$: -17.0° ($c = 2$, in $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}/\text{CHCl}_3$ 1:1). Das Antipodengemisch besteht zu 64% aus dem L-Valin- und zu 36% aus dem D-Valin-Derivat (vgl. Versuch 16.).

Beim Aufdestillieren der Ätherlösung werden 0.84 g (55%) Zimtsäure-äthylester erhalten (durch IR-Spektrum identifiziert).

7. Umsetzung von DL- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester mit Acetaldehyd, Essigsäure und Äthylisocyanid zu XIIc: Zu 5.80 g (30.0 mMol) DL- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester, 1.80 g (30.0 mMol) Essigsäure und 2.0 g (45.5 mMol) frisch dest. Acetaldehyd in 20 ccm Methanol werden 1.38 g (25.0 mMol) Äthylisocyanid gegeben, wobei die stark exotherme Reaktion durch Kühlen mit Eiswasser gemäßigt wird. Nach 1 Stde. erfolgt Aufarbeitung analog 6a). Innerhalb von 3 Wochen waren von dem 7.40 g (89%) wiegenden Diastereomeren-Gemisch 2.70 g (32%) kristallisiert. Die Nadeln wurden durch Digerieren in wenig kaltem Äther und Absaugen abgetrennt. Schmp. 99–101°, aus Isopropylalkohol/Petroläther (1:4) Schmp. 102–103°.

$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$ (334.4) Ber. C 64.65 H 7.84 N 8.38 Gef. C 64.49 H 8.05 N 8.07

8a) Umsetzung von DL- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester mit β -Methylmercapto-propionaldehyd, Benzoesäure und Cyclohexylisocyanid zu XIIe: 5.80 g (30.0 mMol) DL- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester, 3.66 g (30.0 mMol) Benzoesäure, 2.73 g (25.0 mMol) Cyclohexylisocyanid und 3.12 g (30.0 mMol) β -Methylmercapto-propionaldehyd werden in 25 ccm absol. Methanol analog Versuch 6a) umgesetzt und aufgearbeitet. Rohausb. 12.8 g (100%). Der kristalline Anteil wird durch Aufschlännen in 20 ccm Äthanol/Äther (1:1) und Absaugen isoliert. Ausb. 4.92 g (39%), Schmp. 83–88°, aus Äthanol Schmp. 111–112°.

$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ (510.7) Ber. C 68.20 H 7.50 N 5.49 Gef. C 67.83 H 7.76 N 5.18

b) N-Benzoyl-DL-methionin-cyclohexylamid (VIIIe): Aus 2.0 g krist. Rohprodukt von Versuch 8a) wird analog 6b) Zimtsäure-äthylester abgespalten. Man erhält aus Isopropylalkohol 1.22 g (93%) VIIIe, Schmp. 161–162°.

Aus dem nichtkristallinen Anteil von Versuch 8a) erhält man durch Behandeln mit 3 Äquivv. Na-Äthylat weitere 3.95 g (43%) VIIIe. Schmp. 159–161°, aus Isopropylalkohol Schmp. 161–162°.

$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ (334.5) Ber. C 64.64 H 7.84 N 8.38 Gef. C 64.62 H 7.82 N 8.60

9a) Umsetzung von DL- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester mit Benzaldehyd, Benzoesäure und 2,6-Dimethyl-phenylisocyanid zu XIIIf: Bei 15stdg. Kochen unter Rückfluß setzen sich 3.66 g (30.0 mMol) Benzoesäure, 5.80 g (30.0 mMol) DL- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester, 3.20 g (30.2 mMol) Benzaldehyd und 3.28 g (25.0 mMol) 2,6-Dimethyl-phenylisocyanid in 20 ccm Methanol zu 11.8 g (89%) XIIIf vom Roh-Schmp. 155–158° um. Aus Isopropylalkohol Schmp. 166–167°.

$\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4$ (534.7) Ber. C 76.38 H 6.41 N 5.24 Gef. C 75.94 H 6.64 N 5.34

b) C-Phenyl-N-benzoyl-glycin-[2,6-dimethyl-anilid] (VIIIIf): Aus 2.00 g des bei Versuch 9a) erhaltenen Kondensationsproduktes lassen sich analog 6b) 1.31 g (97%) VIIIIf erhalten. Schmp. 248–249° (Isopropylalkohol).

$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ (358.4) Ber. C 77.07 H 6.19 N 7.82 Gef. C 77.21 H 6.50 N 7.57

10a) Umsetzung von DL- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester mit Isobutyraldehyd, Phthalylglycin und Isocyanessigsäure-tert.-butylester zu XIIg: 6.15 g (30.0 mMol) Phthalylglycin, 5.80 g (30.0 mMol) DL- β -Amino-hydrozimtsäure-äthylester, 2.20 g (30.6 mMol) Isobutyraldehyd und 3.52 g (25.0 mMol) Isocyanessigsäure-tert.-butylester werden in 30 ccm Methanol

analog Versuch 6a) umgesetzt und aufgearbeitet. Ausb. 14.0 g (94% d. Th.), Schmp. 187 bis 188° (Isopropylalkohol).

$C_{32}H_{39}N_3O_8$ (593.7) Ber. C 64.74 H 6.62 N 7.08 Gef. C 64.83 H 6.78 N 6.95

b) *Phthalylglycyl-DL-valyl-glycin-tert.-butylester* (VIIIg): 2.08 g Rohprodukt aus Versuch 10a) werden bei 0° in 15 ccm einer aus 240 mg Natrium (10.4 mg-Atom) hergestellten Äthylat-Lösung und 0.77 g (5.3 mMol) Oxalsäure-diäthylester eingetragen. Nach 4 Min. versetzt man mit 100 ccm 0.1*n* HCl, saugt ab und kristallisiert aus Methanol um. Aus der Mutterlauge werden 0.41 g (19%) Ausgangsmaterial zurückgewonnen. Ausb. 0.91 g (77% d. Th., bez. auf verbrauchtes Ausgangsmaterial), Schmp. 229–230°, aus Methanol Schmp. 229–230°. Ohne Schmp.-Depression mit dem in Versuch 1. erhaltenen *Phthalylglycyl-valyl-glycin-tert.-butylester* (VIIIa).

Ohne Oxalsäure-diäthylester-Zusatz ist unter den angegebenen Bedingungen keine Abspaltung von Zimtsäure-äthylester zu erzielen.

11a) Umsetzung von *DL-β-Amino-buttersäure-äthylester* mit *Isobutyraldehyd*, *Benzoessäure* und *Cyclohexylisocyanid* zu XIIIh: 3.94 g (30.0 mMol) *DL-β-Amino-buttersäure-äthylester*²²⁾, 2.16 g (30.0 mMol) *Isobutyraldehyd*, 3.66 g (30.0 mMol) *Benzoessäure* und 2.73 g (25.0 mMol) *Cyclohexylisocyanid* werden unter Kühlung mit Eiswasser in 20 ccm Methanol umgesetzt. Aufarbeitung: analog Versuch 6a). Der farblose, amorphe Rückstand wiegt 10.0 g (96%) und kristallisiert nicht.

b) *N-Benzoyl-DL-valin-cyclohexylamid* (VIIIh): 2.95 g Rohprodukt aus Versuch 11a) werden mit 3 Äquiv. *Na-Äthylat* analog Versuch 6b) behandelt. Ausb. 1.56 g (73%) VIIIh, Schmp. 221–221.5° (Isopropylalkohol).

$C_{18}H_{26}N_2O_2$ (302.4) Ber. C 71.49 H 8.59 N 9.26 Gef. C 71.54 H 8.69 N 9.38

12a) Umsetzung von *DL-β-Amino-buttersäurenitril* mit *Isobutyraldehyd*, *Benzoessäure* und *Cyclohexylisocyanid* zu XIIIi: 2.52 g (30.0 mMol) *DL-β-Amino-buttersäurenitril*²³⁾ werden analog Versuch 11a) umgesetzt. Rohausb. 8.52 g (92% d. Th.; amorph).

b) *N-Benzoyl-DL-valin-cyclohexylamid* (VIIIi = VIIIh): Die Abspaltung von *Croton-säurenitril* wird mit 1.95 g Rohprodukt aus Versuch 12a) analog 6b) in 8 ccm absol. Äthanol durchgeführt. Ausb. 1.07 g (67%), Roh-Schmp. 211–212°; laut IR-Absorption identisch mit VIIIh.

13a) Umsetzung von *β-Alanin-äthylester* mit *Isobutyraldehyd*, *Benzoessäure* und *Cyclohexylisocyanid* zu XIIj: In 25 ccm absol. Äthanol werden 2.16 g *Isobutyraldehyd*, 3.62 g (36.0 mMol) *Triäthylamin*, 4.59 g (30.0 mMol) *β-Alanin-äthylester-hydrochlorid*, 3.66 g (30.0 mMol) *Benzoessäure* und 2.72 g (25.0 mMol) *Cyclohexylisocyanid* vereinigt. Der Ansatz erwärmt sich auf 40°. 10 Min. später ist kein Isonitrilgeruch mehr wahrnehmbar. Nach 12 Std. bei 0° saugt man ab. Ausb. 9.85 g (98%), Schmp. 115–116° (Äthanol).

$C_{23}H_{34}N_2O_4$ (432.5) Ber. C 68.63 H 8.51 N 6.96 Gef. C 68.88 H 8.57 N 6.67

b) *N-Benzoyl-DL-valin-cyclohexylamid* (VIIIj = VIIIh): Aus 1.45 g XIIj wird analog 6b) mit 3 Äquiv. *Na-Äthylat* *Acrylsäure-äthylester* abgespalten. Ausb. 0.89 g (81%), Schmp. 221–222°; identisch mit VIIIh.

14a) Umsetzung von *L-Asparaginsäure-diäthylester* mit *Isobutyraldehyd*, *Benzoessäure* und *tert.-Butylisocyanid* zu XIIIk: 5.82 g (30.8 mMol) *L-Asparaginsäure-diäthylester*²⁴⁾, 3.17 g (44.0 mMol) *Isobutyraldehyd*, 3.82 g (31.2 mMol) *Benzoessäure* und 2.66 g (32.0 mMol) *tert.-*

²²⁾ E. FISCHER und H. SCHEIBLER, Liebigs Ann. Chem. 383, 337 [1911].

²³⁾ P. BRUYLANTS, Bull. Soc. chim. Belgique 32, 256 [1923].

²⁴⁾ J. P. GREENSTEIN und M. WINITZ, Chemistry of the Amino Acids, J. Wiley & Sons, New York 1961.

Butylisocyanid in 25 ccm absol. Äthanol werden bei 0° umgesetzt (Reaktionsdauer 3 Stdn.). Die Aufarbeitung erfolgt analog 6a). Ausb. 12.2 g (88%). Schmp. 91–95° (Methanol), $[\alpha]_D^{25}$: -25.8° ($c = 5$, in Methanol).

$C_{24}H_{36}N_2O_6$ (448.6) Ber. N 6.25 Gef. N 5.93

b) *N-Benzoyl-valin-tert.-butylamid* (VIIIk): 3.25 g (7.25 mMol) Rohprodukt aus Versuch 14a), in 10 ccm absol. Äther gelöst, werden mit 10 ccm einer aus 500 mg (21.8 mg-Atom) Natrium hergestellten Äthylat-Lösung 3 Min. geschüttelt. Das Rohprodukt scheidet sich bei Zugabe von 100 ccm Wasser ab und wird abgesaugt. Ausb. 1.93 g (96% d. Th.), Schmp. 232–234°, $[\alpha]_D^{20}$: $+22.2^\circ$ ($c = 5$, $CH_3CO_2H/CHCl_3$ 1:1). Das Antipodengemisch besteht zu 32% aus dem *L-Valin*- und zu 68% aus dem *D-Valin*-Derivat (vgl. Versuch 16).

15a) Umsetzung von *L-Asparaginsäure-diäthylester* mit *Isobutyraldehyd*, *Benzoessäure* und *Phenylisocyanid* zu XIII: 6.25 g (33.1 mMol) *L-Asparaginsäure-diäthylester*, 4.04 g (38.0 mMol) *Benzoessäure*, 2.50 g (34.7 mMol) *Isobutyraldehyd* und 3.02 g (29.3 mMol) *Phenylisocyanid* werden bei 0° in 20 ccm absol. Äthanol umgesetzt. Aufarbeitung wie bei 6a). Rohausb. 11.5 g (84% d. Th.), Schmp. 176–178° (Äthanol).

$C_{26}H_{32}N_2O_6$ (468.6) Ber. C 66.65 H 6.88 N 5.98 Gef. C 66.74 H 7.03 N 5.82

b) *N-Benzoyl-valin-anilid* (VIII l): 0.95 g (2.03 mMol) Rohprodukt aus Versuch 15a) werden in 6 ccm absol. Äthanol gelöst und mit 5 ccm einer aus 140 mg (6.1 mg-Atom) Natrium bereiteten Äthylat-Lösung sowie 425 mg (2.91 mMol) *Oxalsäure-diäthylester* 5 Min. bei ca. 20° geschüttelt. Das Reaktionsprodukt wird mit 60 ccm 0.1 n HCl ausgefällt. Rohausb. 0.65 g, Schmp. 170–195°. Aus Äthanol Ausb. 0.38 g (63% d. Th.), Schmp. 219–220°. $[\alpha]_D^{25}$: $+9.25^\circ$ ($c = 4.5$, in $CHCl_3$).

$C_{18}H_{20}N_2O_2$ (296.4) Ber. C 72.95 H 6.80 N 9.45 Gef. C 73.04 H 6.73 N 9.39

Das Antipodengemisch besteht zu 45% aus *N-Benzoyl-L-valin-anilid* und zu 55% aus dem *D-Valin*-Derivat. S. W. Fox²⁵⁾ gibt für enzymatisch (Papain) dargestelltes *N-Benzoyl-L-valin-anilid* einen Drehwert von $[\alpha]_D^{25}$: $-80.6 \pm 0.9^\circ$ ($c = 4.5$, in $CHCl_3$) an. Schmp. 220–221°.

16a) *Benzyloxycarbonyl(Z)-L-valin-tert.-butylamid*: In einem 250-ccm-Dreihalskolben werden 25.1 g (100 mMol) *Z-L-Valin*²⁶⁾ in 70 ccm trockenem Chloroform gelöst. Nach Zugabe von 13.9 ccm (100 mMol) Triäthylamin tropft man unter Rühren bei 0° 7.64 ccm (100 mMol) *Chlorameisensäure-methylester* ein und rührt anschließend weitere 30 Min. Danach wird, ebenfalls bei 0°, die Lösung von 16.0 ccm (150 mMol) *tert.-Butylamin* in 50 ccm Chloroform zugetropft. Nach 1 Stde. wird mit 50 ccm 1 n HCl, dann 2mal mit 70 ccm Wasser ausgeschüttelt. Die mit $MgSO_4$ getrocknete organische Phase wird i. Vak. eingengt und der Rückstand in 30 ccm Isopropylalkohol aufgenommen. Nach einer Woche können 14.4 g (47% d. Th.) farblose Nadeln vom Schmp. 105–108° abgesaugt werden. Aus Isopropylalkohol Schmp. 111–111.5°; $[\alpha]_D^{25}$: -8.7° ($c = 9$, in Chloroform).

$C_{17}H_{26}N_2O_3$ (306.4) Ber. C 66.64 H 8.55 N 9.14 Gef. C 66.84 H 8.51 N 9.11

b) *L-Valin-tert.-butylamid*: Mit 1.0 g Palladium-Mohr (Degussa, 97% Pd) als Katalysator werden 6.80 g (6.5 mMol) rohes *Z-L-Valin-tert.-butylamid*, in 100 ccm absol. Methanol gelöst, bei Raumtemp. innerhalb von 4 Stdn. hydriert. Man dekantiert vom Palladium, spült mit Methanol nach und zieht das Lösungsmittel i. Vak. ab. Es bleibt ein farbloses Öl zurück.

c) *N-Benzoyl-L-valin-tert.-butylamid* (VIIIk_L): Zu dem rohen *L-Valin-tert.-butylamid* aus 16b) in 40 ccm Pyridin werden unter Rühren bei 0° 1.55 ccm (13.0 mMol) *Benzoylchlorid*

²⁵⁾ S. W. FOX, C. W. PETTINGA, J. S. HALVERSON und H. WAX, Arch. Biochemistry **25**, 21 [1950].

²⁶⁾ W. GRASSMANN und E. WÜNSCH, Chem. Ber. **91**, 426 [1958].

getropft. Man hält 30 Min. bei 0° und gießt nach 18 Stdn. bei Raumtemp. in 500 ccm Eiswasser. Das Rohprodukt wird abgesaugt und mit 50 ccm Äther gewaschen. Rohausb. 2.28 g (37% d. Th., bez. auf eingesetztes Z-L-Valin-tert.-butylamid), Schmp. 223–224° (Isopropylalkohol); $[\alpha]_D^{20}$: -60.9° ($c = 2-5$, in $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}/\text{CHCl}_3$ 1:1).

$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ (276.4) Ber. C 69.53 H 8.75 N 10.14 Gef. C 69.93 H 8.81 N 9.84

d) *Saure Hydrolyse von VIIIk_L*: Analog der Arbeitsvorschrift von D. G. DOHERTY und H. E. POPENOE²⁷⁾ werden 2.0 g des bei Versuch 16c) erhaltenen VIIIk_L in 50 ccm 6*n* HCl hydrolysiert. Nach Umkristallisieren aus 5 ccm Wasser erhaltene 420 mg L-Valin werden zur Drehwertsbestimmung benutzt. $[\alpha]_D^{20}$: $+28.2^\circ$ ($c = 1-2$, in 20-proz. Salzsäure).

e) *N-Benzoyl-DL-valin-tert.-butylamid (VIIIk)*: Man vereinigt 4.17 g (30.0 mMol) Ammoniumbenzoat in 20 ccm Methanol und 7 ccm Wasser mit 2.16 g (30.0 mMol) Isobutyraldehyd und 2.08 g (25.0 mMol) tert.-Butylisocyanid. Nach 45 Min. werden 4.60 g (67%) Kondensationsprodukt abgesaugt. Schmp. 239–241° (Isopropylalkohol).

$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ (276.4) Ber. C 69.53 H 8.75 N 10.14 Gef. C 60.35 H 8.72 N 9.92

17. *Umsetzung von 2.2-Dimethyl-Δ³-thiazolin mit Phthalylglycin und Isocyanessigsäure-tert.-butylester zu XIII a*: Die Lösung von 2.88 g (25.0 mMol) 2.2-Dimethyl-Δ³-thiazolin¹⁵⁾ in 25 ccm absol. Methanol wird mit 3.52 g (25.0 mMol) Isocyanessigsäure-tert.-butylester und 5.12 g (25.0 mMol) Phthalylglycin versetzt. Nach 15 Stdn. bei 0° saugt man ab. Rohausb. 10.5 g, Schmp. 85–100°. Aus Isopropylalkohol Ausb. 7.70 g (67% d. Th.), Schmp. 134–138°.

$\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ (461.5) Ber. C 57.25 H 5.90 N 9.11 Gef. C 57.50 H 6.08 N 9.17

18. *Umsetzung von 2.2.5.5-Tetramethyl-Δ³-thiazolin mit Phthalylglycin und Isocyanessigsäure-tert.-butylester zu XIII b*: 3.58 g (25.0 mMol) 2.2.5.5-Tetramethyl-Δ³-thiazolin¹⁵⁾, 3.52 g (25.0 mMol) Isocyanessigsäure-tert.-butylester und 5.12 g (25.0 mMol) Phthalylglycin läßt man in 25 ccm absol. Methanol 3 Wochen bei 20° stehen. Ausb. 8.26 g (68% d. Th.), Schmp. 89–91° (Methanol).

$\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ (489.6) Ber. C 58.88 H 6.38 N 8.58 Gef. C 58.30 H 6.27 N 8.66

19. *Saure Hydrolyse von α-Acyloaminosäureamid-Derivaten*: 5–10 mg der Verbindungen VIIa, VIIIa, VIIIg sowie XIIg werden 6 Stdn. mit 3–5 ccm 20-proz. Salzsäure unter Rückfluß erhitzt; für die analoge Hydrolyse von VIIIe und j sowie XIIc, d, e und k reicht eine Reaktionszeit von 1.5 Stdn. aus. Anschließend wird filtriert und mit konz. wäßr. Ammoniak neutralisiert. Im Dünnschichtchromatogramm (Fließmittel: Phenol/Wasser 3:1 Gew.-Teile) werden die nachstehend angegebenen Aminosäuren durch Vergleich mit authent. Proben identifiziert.

Im Hydrolysat der Valin-Derivate VIIIj, XII d und XII k läßt sich Valin nachweisen. Analog werden VIIIe und XIIe als Methionin-Derivate und XIIc als Alanin-Derivat gesichert. Der Erwartung entsprechend entstehen aus den Glycyl-valyl-glycyl-Derivaten VIIa, VIIIa, VIIIg und XIIg Glycin und Valin.

²⁷⁾ J. biol. Chemistry **189**, 447 [1951].