

### Zusammenfassung.

Mit Hilfe eines geeigneten Ansatzes auf Grund kinetischer Vorstellungen gelingt es, eine allgemeine Gleichung abzuleiten, die die Abhängigkeit des oxydierten Anteils  $z$  der reduzierenden Komponente von der Zeit für 10 Beispiele der *Landolt*-Reaktion vom Typ III bis zum Eintritt des Farbumschlages befriedigend genau darstellt. Diese allgemeine Form der Gleichung braucht bisher nur in einem Beispiel zur Anwendung zu kommen, da sie sich für die übrigen vereinfachen lässt, wobei sich in Übereinstimmung mit den Experimenten ergibt, dass drei Gruppen von Substanzen voneinander zu unterscheiden sind: eine Gruppe, bei der die Reaktionsgeschwindigkeit ständig wächst, eine zweite, bei der sie fortlaufend abnimmt, und eine dritte, bei der sie konstant ist. Die genannte allgemeine Gleichung (7) entspricht einer Reaktion, deren Geschwindigkeit zuerst wächst, dann einen Höchstwert erreicht, um schliesslich wieder abzunehmen.

Photographisches Institut  
der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich.

---

## 110. Etude comparative de la scission de divers groupes de blocage de la fonction $\alpha$ -amino des acides aminés

par R. A. Boissonnas et G. Preitner.

(25 IV 53)

Dans la plupart des méthodes de synthèses peptidiques par condensation d'acides aminés ou de peptides, il est nécessaire de bloquer momentanément la fonction amino libre d'un des acides aminés ou peptides participant à la condensation. Lors de synthèses de peptides contenant de la lysine ou de l'ornithine<sup>1)</sup> il faut en outre parfois bloquer les fonctions  $\epsilon$ - ou  $\delta$ -amino de ces acides aminés, par un groupe différent de celui qui bloque la fonction  $\alpha$ -amino terminale du peptide, de façon à pouvoir libérer sélectivement l'une des fonctions amino au cours de la synthèse. La synthèse de peptides de structure plus complexe pourrait même nécessiter le blocage et la libération sélective d'un plus grand nombre de fonctions amino diverses.

La littérature décrit de nombreux groupes protecteurs qui peuvent être enlevés sans atteinte portée aux liaisons peptidiques.

---

<sup>1)</sup> *J. I. Harris & T. S. Work*, *Biochem. J.* **46**, 582 (1950); *I. Schumann & R. A. Boissonnas*, *Helv.* **35**, 2237 (1952).

Le groupe N-tosyle a été scindé par l'acide iodhydrique concentré en présence d'iodeure de phosphonium<sup>1)</sup>, ou par le sodium dans l'ammoniac liquide<sup>2)</sup>.

Le groupe N-carbo-benzyloxy est scindable par réduction catalytique<sup>3)</sup>, par l'acide chlorhydrique dilué<sup>4)</sup>, par le sodium dans l'ammoniac liquide<sup>5)</sup>, par l'iodure de phosphonium<sup>6)</sup>, par l'acide iodhydrique<sup>7)</sup> ou bromhydrique<sup>8)</sup> dans l'acide acétique glacial.

Le groupe N-carbo-allyloxy a été éliminé par réduction catalytique, par le sodium dans l'ammoniac liquide, ou par l'iodure de phosphonium<sup>9)</sup>.

Les groupes N-carbo-p-bromo-benzyloxy<sup>10)</sup> et N-carbo-p-nitrobenzyloxy<sup>11)</sup> ont été scindés par hydrogénation catalytique.

Le groupe N-phtalyle, plus stable que les groupes précédents, a été scindé par l'hydrate d'hydrazine<sup>12)</sup> ou la phénylhydrazine<sup>13)</sup>.

Le groupe N-formyle, scindable par de l'acide chlorhydrique dans un alcool à 20°, a été proposé tout récemment<sup>14)</sup>.

Le groupe N-o-nitro-phénoxyacétyle, scindable après réduction, et le groupe N-chloroacétyle, scindable par l'o-phénylènediamine, ont également été employés<sup>15)</sup>.

L'emploi du groupe phénylthiocarbonyl<sup>16)</sup> a été critiqué récemment<sup>17)</sup>.

Pour les raisons exposées plus haut, il nous a paru intéressant de comparer les vitesses de scission des principaux de ces groupes protecteurs lorsqu'ils sont soumis à l'action de divers agents de scission, soit:

1. Hydrogène en présence d'oxyde de platine dans l'acide acétique glacial à 20°.
2. Sodium dans l'ammoniac liquide à -33°.
3. Iodure de phosphonium dans l'acide acétique glacial à 50° et 100°.
4. Acide iodhydrique dans l'acide acétique glacial à 20° et 100°.
5. Acide bromhydrique dans l'acide acétique glacial à 20° et 100°.
6. Acide chlorhydrique dans l'acide acétique glacial à 20° et 100°.
7. Acide chlorhydrique dans le méthanol à 20° et 100°.

1) *R. Schönheimer*, Z. physiol. Ch. **154**, 203 (1926).

2) *V. du Vigneaud & O. K. Behrens*, J. Biol. Chem. **117**, 27 (1937).

3) *M. Bergmann & L. Zervas*, B. **65**, 1192 (1932).

4) *J. White*, J. Biol. Chem. **106**, 141 (1934).

5) *R. H. Sifferd & V. du Vigneaud*, J. Biol. Chem. **108**, 753 (1935).

6) *C. R. Harrington & T. H. Mead*, Biochem. J. **29**, 1604 (1935).

7) *E. Waldschmidt-Leitz & K. Kühn*, B. **84**, 381 (1951).

8) *R. A. Boissonnas & G. Preitner*, Helv. **35**, 2240, note (1952); *G. W. Andersen, J. Blodinger & A. D. Welcher*, Am. Soc. **74**, 5311, note (1952); *D. Ben-Ishai & A. Berger*, J. Org. Chem. **17**, 1564 (1952).

9) *C. M. Stevens & R. Watanabe*, Am. Soc. **72**, 725 (1950).

10) *D. M. Channing, P. B. Turner & G. T. Young*, Nature **167**, 487 (1951).

11) *F. H. Carpenter & D. T. Gish*, Am. Soc. **74**, 3818 (1952); **75**, 950 (1953).

12) *H. R. Ing & R. H. F. Manske*, Soc. **1926**, 2348; *D. E. Kidd & F. E. King*, Nature **162**, 776 (1948); *J. C. Sheehan & V. S. Frank*, Am. Soc. **71**, 1856 (1949); *J. C. Sheehan, D. W. Chapman & R. W. Roth*, Am. Soc. **74**, 3822 (1952).

13) *I. Schumann & R. A. Boissonnas*, Nature **169**, 154 (1952); Helv. **35**, 2235 (1952).

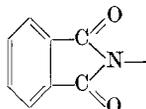
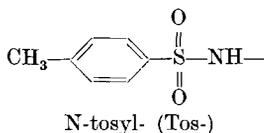
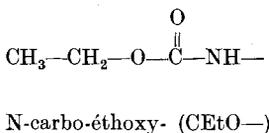
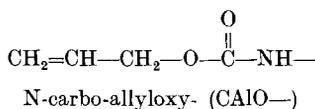
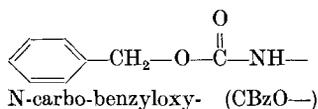
14) *S. G. Waley*, Chem. and Ind. **1953**, 107.

15) *R. W. Holley & A. D. Holley*, Am. Soc. **74**, 3069 (1952).

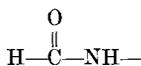
16) *G. C. H. Ehrensward*, Nature **159**, 500 (1947).

17) *A. Lindemann, N. H. Khan & K. Hofmann*, Am. Soc. **74**, 476 (1952).

Cette étude a porté sur six groupes protecteurs déjà mentionnés dans la littérature:

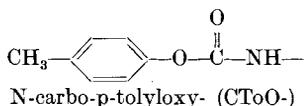
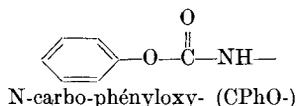
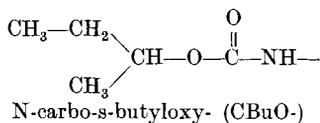
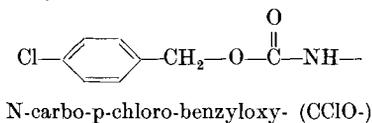


N-phtalyl- (Pht-)



N-formyl- (For-)

ainsi que sur quatre groupes protecteurs qui n'ont pas encore été décrits jusqu'à présent:



Plusieurs acides aminés (glycine, alanine, leucine, phénylalanine) ont été substitués par ces différents groupes protecteurs sur leur fonction amino (tableau I), et les vitesses de scission de ces groupes par les agents mentionnés ci-dessus ont été déterminées en mesurant colorimétriquement la quantité d'acide aminé libéré au cours du temps. Une courbe en fonction du temps a ainsi été établie pour chaque dérivé étudié. Lorsqu'il n'était pas possible de maintenir les conditions d'expérience rigoureusement reproductibles (par exemple dans le cas des hydrogénations catalytiques où l'activité du catalyseur peut varier d'un essai à l'autre) nous avons opéré sur une série de mélanges de dérivés différents d'acides aminés différents (p. ex.: CBzO-glycine + CClO-alanine + CAIO-leucine). Les divers acides aminés libérés ont été séparés par chromatographie et dosés. Grâce à des composés communs à plusieurs mélanges, les valeurs obtenues ont été coordonnées entre elles.

Nous avons pu établir que la vitesse de scission dépend du groupe protecteur, et que la nature de l'acide aminé, et même la forme sous laquelle se trouve son groupe carboxyle, n'ont pas d'influence primordiale sur cette vitesse à concentrations égales.

Tableau I.

Dérivés de la glycine, de l'alanine, de la leucine et de la phénylalanine dont la scission a été étudiée.

Les dérivés marqués \* n'ont pas encore été décrits.

Dérivé	F. (corr.)	Litt.
N-carbobenzyloxy-glycine . . . . .	122 <sup>0</sup>	1)
N-carbobenzyloxy-DL-alanine . . . . .	115 <sup>0</sup>	1)
N-carbobenzyloxy-DL-leucine . . . . .	46 <sup>0</sup>	2)
N-carbobenzyloxy-DL-phénylalanine . . . . .	104 <sup>0</sup>	1)
N-carbo-p-Cl-benzyloxy-glycine . . . . .	130 <sup>0</sup>	*
N-carbo-p-Cl-benzyloxy-DL-alanine . . . . .	133,5 <sup>0</sup>	*
N-carbo-p-Cl-benzyloxy-DL-leucine . . . . .	75,5 <sup>0</sup>	*
N-carbo-p-Cl-benzyloxy-DL-phénylalanine . . . . .	136 <sup>0</sup>	*
N-carboallyloxy-glycine . . . . .	huile	3)
N-carboallyloxy-DL-alanine . . . . .	63 <sup>0</sup>	3)
N-carboallyloxy-DL-leucine . . . . .	41 <sup>0</sup>	3)
N-carboallyloxy-DL-phénylalanine . . . . .	83 <sup>0</sup>	3)
N-carbo-s-butyloxy-glycine . . . . .	49,5	*
N-carbo-s-butyloxy-DL-alanine . . . . .	59 <sup>0</sup>	*
N-carbo-s-butyloxy-DL-phénylalanine . . . . .	91 <sup>0</sup>	*
N-carboéthoxy-glycine . . . . .	75 <sup>0</sup>	4)
N-carboéthoxy-DL-alanine . . . . .	84,5 <sup>0</sup>	5)
N-carboéthoxy-DL-phénylalanine . . . . .	82 <sup>0</sup>	*
N-carbophényloxy-glycine . . . . .	109 <sup>0</sup>	*
N-carbophényloxy-DL-alanine . . . . .	156 <sup>0</sup>	*
N-carbophényloxy-DL-phénylalanine . . . . .	122 <sup>0</sup>	*
N-carbo-p-tolyloxy-glycine . . . . .	132 <sup>0</sup>	*
N-carbo-p-tolyloxy-DL-leucine . . . . .	108 <sup>0</sup>	*
N-carbo-p-tolyloxy-DL-phénylalanine . . . . .	156 <sup>0</sup>	*
N-p-toluènesulfonyl-glycine . . . . .	149 <sup>0</sup>	6)
N-p-toluènesulfonyl-DL-alanine . . . . .	138 <sup>0</sup>	7)
N-p-toluènesulfonyl-DL-leucine . . . . .	141 <sup>0</sup>	* cf. 8) <sup>9)</sup>
N-p-toluènesulfonyl-DL-phénylalanine . . . . .	136 <sup>0</sup>	* cf. 9)
N-formyl-glycine . . . . .	153 <sup>0</sup>	10)
N-formyl-DL-leucine . . . . .	115 <sup>0</sup>	10)
N-formyl-DL-phénylalanine . . . . .	169 <sup>0</sup>	11)
N-phtalyl-glycine . . . . .	192 <sup>0</sup>	12)
N-phtalyl-DL-alanine . . . . .	161 <sup>0</sup>	12)
N-phtalyl-DL-leucine . . . . .	140 <sup>0</sup>	12)
N-phtalyl-DL-phénylalanine . . . . .	175 <sup>0</sup>	12)

1) M. Bergmann &amp; L. Zervas, B. 65, 1192 (1932).

2) S. W. Fox, M. Fling, H. Wax &amp; C. W. Pettinga, Am. Soc. 72, 1862 (1950).

3) M. Stevens &amp; R. Watanabe, Am. Soc. 72, 725 (1950).

4) E. Fischer &amp; O. Otto, B. 36, 2108 (1903).

5) E. Fischer &amp; W. Axhausen, A. 340, 137 (1905).

6) E. Fischer &amp; M. Bergmann, A. 398, 117 (1913).

7) M. J. Pope &amp; C. S. Gibson, Soc. 101, 945 (1912).

8) R. Schönheimer, Z. physiol. Ch. 154, 203 (1926).

9) E. Fischer &amp; E. Lipschitz, B. 48, 360 (1915).

10) E. Fischer &amp; O. Warburg, B. 38, 3999 (1905).

11) E. Fischer &amp; W. Schoeller, A. 357, 2 (1907).

12) J. H. Billman &amp; W. F. Harting, Am. Soc. 70, 1473 (1948).

Une récapitulation des principaux résultats obtenus sur la base de très nombreuses mesures absolues et relatives est donnée dans le tableau II, qui indique à  $\pm 5\%$  près les pourcentages scindés, en des temps donnés, pour des acides aminés dont la fonction  $\alpha$ -amino a été bloquée par les groupes protecteurs indiqués en tête de colonne.

De plus un certain nombre de peptides (cf. partie expérimentale) ont été soumis à ces agents de scission dans les mêmes conditions afin de mesurer la résistance de liaisons peptidiques. A molarité égale, le nombre de liaisons peptidiques scindées par molécule croît avec le nombre des liaisons peptidiques existant par molécule. Ainsi, à molarité égale, la phtalylglycyl-glycyl-glycyl-glycine présente trois fois plus de groupe aminés libres que la phtalyl-glycyl-glycine, après un traitement portant atteinte aux liaisons peptidiques. Cette observation montre que des moyens de scission acceptables pour des dipeptides, ne le sont plus pour des oligopeptides.

L'étude des résultats rapportés dans le tableau II appelle les remarques suivantes.

#### *Hydrogénolyse par l'hydrogène.*

Les groupes CBzO- et CClO- ne présentent pas entre eux des différences suffisantes pour qu'il soit possible de scinder le premier sans toucher également le second. Le groupe CAIO- serait scindable sans porter trop fortement atteinte au groupe CClO-, mais le rendement limité obtenu lors de l'hydrogénolyse du CAIO- par suite d'hydrogénation simultanée du reste allyle en reste propyle non hydrogénolysable est un désavantage important<sup>1)</sup>.

Il est intéressant de remarquer que les nouveaux groupes CPhO- et CToO- sont également hydrogénolysés. Cependant le groupe CPhO-, plus réactif, est à préférer au groupe CToO- afin d'éviter qu'un temps trop prolongé ne provoque l'hydrogénation partielle des dérivés de la phénylalanine en dérivés de la hexahydrophénylalanine (cf. partie expérimentale).

#### *Hydrogénolyse par le sodium dans l'ammoniac liquide.*

En plus des groupes hydrogénolysables par l'hydrogène, le groupe Tos- est également scindé<sup>2)</sup>.

#### *Scission par l'iodure de phosphonium dans l'acide acétique glacial.*

Le rôle de l'iodure de phosphonium est double. En effet il ne réagit qu'à chaud, et se décompose alors partiellement en acide iodhydrique. La comparaison avec les scissions à l'acide iodhydrique montre un parallélisme significatif. Quoique le groupe Tos- soit scindé plus rapidement par l'iodure de phosphonium que par l'acide

<sup>1)</sup> M. Stevens & R. Watanabe, Am. Soc. **72**, 725 (1950).

<sup>2)</sup> Cf. V. du Vigneaud & O. K. Behrens, J. Biol. Chem. **117**, 27 (1937).

**Tableau II.** Pourcentages de groupes  $\alpha$ -amino libérés.  
 CBzO = N-carbobenzyloxy-      CBuO = N-carbo-s-butyloxy-      CToO = N-carbo-p-tolyloxy-  
 CClO = N-carbo-p-Cl-benzyloxy-      CEtO = N-carbo-éthylloxy-      Tos = N-p-toluènesulfonyl-(N-tosyl)-  
 CAIO = N-carbo-allyloxy-      CPhO = N-carbo-phényloxy-      For = N-formyl-      Pht = N-phthalyl-

Agent de scission	tempé- rature	temps	CBzO	CClO	CAIO	CBuO	CEtO	CPhO	CToO	Tos	For	Pht	Liaisons peptidiques scindées <sup>1)</sup>
Hydrogène (+ PtO <sub>2</sub> ) dans l'acide acétique glacial	20°	10'	30	5	65 <sup>1)</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0
	20°	60'	100 <sup>3)</sup>	70	65	0	0	40	15	0	0	0	0
	20°	3 h.	100	100	65	0	0	100	60	0	0	0	0
	20°	10 h.	100	100	65	0	0	100	100	0	0	0	0
Sod. dans l'ammon. liq.	33°	100	100	80 <sup>1)</sup>	0	0	100	100	100	0	0	0	0
Iodure de phosphonium dans l'acide acét. glac.	50°	100	100	100	50	50	25	20	10	5	1	0	1
	100°	100	100	100	100	100	100	90	35	100	10	1	10
	20°	100	100	60	20	3	0	0	0	0	0	0	0
Ac. iodhydrique 1-m. dans l'acide acét. glac.	20°	100	100	100	50	5	0	0	0	0	0	0	0
	20°	100	100	100	100	100	100	90	50	50	15	1	15
	100°	100	100	100	100	100	100	100	100	65	50	1	50
Ac. bromhydrique 1-m. dans l'acide acétique glacial	20°	100	100	75	40	1	0	0	0	0	0	0	0
	20°	100	100	100	100	50	25	20	0	0	1	0	1
	100°	100	100	100	100	100	75	60	40	20	10	0	10
	100°	100	100	100	100	100	100	100	100	65	50	1	50
Ac. chlorhydr. 0,4-m. dans l'ac. acét. glacial	20°	80	50	15	5	5	0	0	0	0	0	0	0
	100°	100	70	40	40	5	0	0	0	0	0	0	0
Ac. chlorhydr. 1,5-m. dans le méthanol	20°	1	1	1	0	0	0	0	0	0	100	0	0
	100°	10	5	5	1	1	1	1	1	0	100	0	10

<sup>1)</sup> La valeur de 100% n'est pas atteinte car une partie du reste allyle est transformée en reste propyle qui n'est pas hydrogénolysable (cf. *M. Stevens & R. Watanabe*, Am. Soc. **72**, 725 (1950)).

<sup>2)</sup> Les % indiqués valent pour un dipeptide. Les valeurs augmentent avec le nombre de liaisons peptidiques par molécule.

<sup>3)</sup> Les valeurs en chiffres gras indiquent que le dérivé en question atteint le maximum de scission juste au temps indiqué.

iodhydrique, par suite d'une réduction qui accompagne l'acidolyse, cette réduction ne devient importante qu'au-dessus de 50°, c'est-à-dire à une température où les liaisons peptidiques sont déjà atteintes. Il y a donc une différence fondamentale entre le traitement par l'iodure de phosphonium dans l'acide acétique glacial et le traitement par l'iodure de phosphonium dans l'acide iodhydrique concentré, préconisé par Schönheimer<sup>1</sup>). Dans ce dernier cas en effet il s'agit d'une réduction et non d'une acidolyse.

#### *Acidolyse par les hydracides dans l'acide acétique glacial.*

Les différents hydracides ont un effet analogue, les plus dissociés étant les plus actifs à molarité égale. L'acide bromhydrique – moins décomposable – est préférable à l'acide iodhydrique. L'acide chlorhydrique ne permet pas de travailler à une molarité supérieure à 0,4, par suite de sa solubilité restreinte dans l'acide acétique glacial.

Il est remarquable que les liaisons peptidiques soient plus sensibles aux hydracides en solution acétique qu'en solution aqueuse. L'absence apparente d'eau n'est nullement un empêchement à la scission, les ions OH<sup>-</sup> et H<sup>+</sup> pouvant être fournis par l'acide acétique dont une partie se transforme en anhydride acétique, la salification des groupes amino libérés empêchant leur acétylation.

Les hydracides en solution acétique sont un moyen de scission recommandable pour les groupes CBzO–, les autres groupes (à l'exception de CClO– et CaIO–) et les liaisons peptidiques n'étant pas scindés en quelques heures à 20°. Le groupe CBuO– peut être scindé lorsqu'on prolonge le temps de réaction, mais il faut prendre garde à la scission éventuelle des liaisons peptidiques. Conformément aux théories électroniques, l'acidolyse du groupe CBuO– est plus rapide que celle du groupe CEtO–.

#### *Alcoololyse par l'acide chlorhydrique dans le méthanol.*

Alors que le groupe For– est aussi résistant à l'acidolyse que les liaisons peptidiques elles-mêmes, il est très facilement méthanolysé. Ceci est d'autant plus remarquable que les groupes Tos– et Pht– sont relativement résistants à la méthanololyse. Il est également intéressant que les liaisons peptidiques soient plus sensibles à la méthanololyse qu'à l'hydrolyse.

#### *Conclusions.*

Les groupes CBzO–, CClO– et CaIO– ne présentent pas entre eux des différences suffisantes vis-à-vis des divers agents de scission pour qu'il soit possible de scinder entièrement l'un d'entre eux sans attaquer partiellement les deux autres. Le groupe CBzO– est préférable aux deux autres car c'est celui qui se scinde entièrement dans les conditions les plus douces.

<sup>1</sup>) R. Schönheimer, Z. physiol. Ch. **154**, 203 (1926).

Les groupes CBuO- et CEtO- ne sont scindables que dans des conditions portant partiellement atteinte aux liaisons peptidiques; ils ne sont donc pas à recommander dans des synthèses d'oligo-peptides.

Les groupes CPhO- et CToO- ne présentent pas entre eux des différences très marquées; cependant le groupe CPhO- est préférable car il peut plus facilement être éliminé par hydrogénolyse à l'hydrogène sans qu'on touche au noyau de la phénylalanine.

Les groupes Tos-, Pht- et For- présentent chacun des caractéristiques spéciales, et peuvent être éloignés sans atteinte aux liaisons peptidiques.

Les liaisons peptidiques sont très stables à l'hydrogène (PtO<sub>2</sub>) dans l'acide acétique glacial, et au sodium dans l'ammoniac liquide. Elles ne sont stables qu'à froid aux hydracides en solution acétique ou alcoolique.

Il en résulte que les cinq groupes suivants, CBzO-, CPhO-, Tos-, For- et Pht-, peuvent être scindés théoriquement l'un après l'autre sans qu'on porte atteinte aux liaisons peptidiques; on pourra éliminer d'abord le groupe CBzO- par l'acide bromhydrique dans l'acide acétique glacial à 20°, puis le groupe CPhO- par hydrogénation catalytique, puis le groupe Tos- par le sodium dans l'ammoniac liquide. Les groupes For- et Pht- peuvent être scindés sélectivement par alcoololyse pour le premier, et par traitement à l'hydrazine ou à la phénylhydrazine pour le second.

Nous avons limité notre étude au blocage des groupes  $\alpha$ -amino, la libération de ceux-ci étant facilement dosable. L'étude du comportement des groupes  $\omega$ -amino de l'ornithine et de la lysine fera l'objet d'un travail ultérieur.

Nous remercions vivement le «Fonds pour l'encouragement des recherches scientifiques (Berne)» ainsi que la «Rockefeller Foundation (New York)» pour l'aide qu'ils nous ont accordée.

### Partie expérimentale.

Les F. sont corrigés. Précision:  $\pm 2^{\circ}$ . L'azote a été dosé par semi-micro-Kjeldahl. Le contenu en carboxyle (ac.) est exprimé en milliéqu. par g de produit. — Le nombre de millimoles est indiqué entre parenthèses.

*Dérivés N-carbobenzyloxy.* Préparés selon *Bergmann & Zervas*<sup>1)</sup> et *Fox* et coll.<sup>2)</sup>

#### *Dérivés N-carbo-p-Cl-benzyloxy.*

*Chloroformiate de p-Cl-benzyloxy.* A une solution d'alcool p-chlorobenzylique dans l'éther, on ajoute à  $-15^{\circ}$  une quantité équimoléculaire de phosgène liquide. Après évaporation au vide de l'éther et aération, on obtient le chloroformiate de p-chlorobenzyloxy, huileux.

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (205,04) Calculé Cl hydrolysable 17,29% Trouvé Cl hydrolysable 17,12%

<sup>1)</sup> B. **65**, 1192 (1932).

<sup>2)</sup> S. W. Fox, M. Flüg, H. Wax & C. W. Pettinga, Am. Soc. **72**, 1862 (1950).

*N-carbo-p-Cl-benzyloxy-glycine*. Une solution de 750 mg (10) de glycine dans 2,5 cm<sup>3</sup> NaOH 4-n. est additionnée à 0° en 30 min. sous agitation de 2,5 cm<sup>3</sup> de NaOH 4-n. et 2,05 g (10) de chloroformiate de p-Cl-benzyle par portions alternées. Après extraction par 2 × 2 cm<sup>3</sup> d'éther et acidification au congo par HCl 5-n., il se forme des cristaux qui sont filtrés et recristallisés de méthanol-eau. On obtient ainsi 1970 mg (rendement 83%) de N-carbo-p-Cl-benzyloxy-glycine de F. 130°.

C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>NCl (243,65) Calculé N 5,75%; ac. 4,12 Trouvé N 5,80%; ac. 4,06

*N-carbo-p-Cl-benzyloxy-DL-alanine*. Préparée comme ci-dessus. Rend. 84%. F. 133,5° (méthanol-eau).

C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>O<sub>4</sub>NCl (257,67) Calculé N 5,43%; ac. 3,88 Trouvé N 5,40%; ac. 3,79

*N-carbo-p-Cl-benzyloxy-DL-leucine*. Préparée comme ci-dessus. Rend. 88%. F. 75,5° (éther-éther de pétrole).

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>NCl (299,75) Calculé N 4,67%; ac. 3,34 Trouvé N 4,63%; ac. 3,32

*N-carbo-p-Cl-benzyloxy-DL-phénylalanine*. Préparée comme ci-dessus, mais avec du NaOH 2-n. Rend. 87%. F. 136° (méthanol-eau).

C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>NCl (333,76) Calculé N 4,19%; ac. 2,99 Trouvé N 4,10%; ac. 2,93

*Dérivés N-carboallyloxy*. Préparés selon Stevens & Watanabe<sup>1</sup>).

#### *Dérivés N-carbo-s-butyloxy*.

*N-carbo-s-butyloxy-glycine*. Une solution de 750 mg de glycine (10) dans 2,5 cm<sup>3</sup> de NaOH 4-n. est additionnée à 0° en 30 min. sous agitation de 2,5 cm<sup>3</sup> de NaOH 4-n. et de 1365 mg (10) de chloroformiate de s-butyle<sup>2</sup> par portions alternées. Après extraction par 2 × 2 cm<sup>3</sup> d'éther et acidification au congo par HCl 5-n., on extrait à l'éther et sèche l'éther sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Après évaporation de l'éther et recristallisation d'éther-éther de pétrole, on obtient 1420 mg (rend. 81%) de N-carbo-s-butyloxy-glycine de F. 49,5°.

C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>O<sub>4</sub>N (175,16) Calculé N 8,00%; ac. 5,72 Trouvé N 8,08%; ac. 5,62

*N-carbo-s-butyloxy-DL-alanine*. Préparée comme ci-dessus. Rend. 82%. F. 59° (éther-éther de pétrole).

C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>O<sub>4</sub>N (189,20) Calculé N 7,40%; ac. 5,30 Trouvé N 7,36%; ac. 5,20

*N-carbo-s-butyloxy-DL-phénylalanine*. Préparée comme ci-dessus, mais avec NaOH 2-n. Rend. 85%. F. 91° (chloroforme-éther de pétrole).

C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>O<sub>4</sub>N (265,30) Calculé N 5,28%; ac. 3,77 Trouvé N 5,33%; ac. 3,73

#### *Dérivés N-carbo-éthoxy*.

Préparés comme les dérivés N-carbo-s-butyloxy.

*N-carbo-éthoxyglycine*. Rend. 85%. F. 75° (litt. 75°<sup>3</sup>) (éther-éther de pétrole).

C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>O<sub>4</sub>N (147,13) Calculé N 9,51%; ac. 6,80 Trouvé N 9,70%; ac. 6,69

*N-carbo-éthoxy-DL-alanine*. Rend. 87%. F. 84,5° (litt. 84°<sup>4</sup>) (éther-éther de pétrole).

C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>4</sub>N (161,16) Calculé N 8,70%; ac. 6,21 Trouvé N 8,60%; ac. 6,10

*N-carbo-éthoxy-DL-phénylalanine*. Rend. 89%. F. 82° (éther-éther de pétrole).

C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>N (237,25) Calculé N 5,90%; ac. 4,22 Trouvé N 5,85%; ac. 4,15

#### *Dérivés N-carbophényloxy*.

Préparés comme les dérivés N-carbo-p-Cl-benzyloxy à partir de 10 millimoles d'ac. aminé et de 1565 mg (10) de chloroformiate de phényl<sup>5</sup>, préparé comme le chloroformiate de p-Cl-benzyle.

<sup>1</sup>) Am. Soc. **72**, 725 (1950).

<sup>2</sup>) J. R. Vaughan & R. L. Osato, Am. Soc. **74**, 676 (1952).

<sup>3</sup>) E. Fischer & E. Otto, B. **36**, 2108 (1903).

<sup>4</sup>) E. Fischer & W. Axhausen, A. **340**, 137 (1905).

<sup>5</sup>) Beilstein VI, 159.

*N-carbo-phényloxy-glycine*. Rend. 64%. F. 109<sup>0</sup> (éther-éther de pétrole).

C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>O<sub>4</sub>N (195,17) Calculé N 7,18%; ac. 5,12 Trouvé N 7,30%; ac. 5,11

*N-carbo-phényloxy-DL-alanine*. Rend. 68%. F. 156<sup>0</sup> (éther-éther de pétrole).

C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O<sub>4</sub>N (209,20) Calculé N 6,70%; ac. 4,78 Trouvé N 6,86%; ac. 4,72

*N-carbo-phényloxy-DL-phénylalanine*. Rend. 78%. F. 122<sup>0</sup> (acétone-éther de pétrole, méthanol-eau).

C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>O<sub>4</sub>N (285,29) Calculé N 4,91%; ac. 3,50 Trouvé N 4,89%; ac. 3,48

#### Dérivés *N-carbo-p-tolyloxy*.

Préparés comme les dérivés *N-carbo-p-Cl-benzyloxy* à partir de 10 millimoles d'ac. aminés et de 1705 mg de chloroformiate de *p-tolyloxy*<sup>1)</sup> (préparé comme le chloroformiate de *p-Cl-benzyle*).

*N-carbo-p-tolyloxyglycine*. Rend. 70%. F. 132<sup>0</sup> (éther-éther de pétrole).

C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O<sub>4</sub>N (209,19) Calculé N 6,70%; ac. 4,79 Trouvé N 6,83%; ac. 4,67

*N-carbo-p-tolyloxy-DL-leucine*. Rend. 68%. F. 108<sup>0</sup> (acide acétique-eau).

C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>O<sub>4</sub>N (265,30) Calculé N 5,28%; ac. 3,77 Trouvé N 5,31%; ac. 3,80

*N-carbo-p-tolyloxy-DL-phénylalanine*. Rend. 81%. F. 156<sup>0</sup> (acétone-eau, benzène).

C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>O<sub>4</sub>N (285,29) Calculé N 4,68%; ac. 3,35 Trouvé N 4,64%; ac. 3,25

#### Dérivés *p-toluènesulfonyle*.

Préparés d'après la méthode donnée par *Fischer & Lipschütz*<sup>2)</sup> pour les dérivés de la série L.

#### Dérivés *N-formyle*.

Préparés en ajoutant de l'anhydride acétique à l'ac. aminé dans l'acide formique anhydre à 35<sup>0</sup> selon *Waley*<sup>3)</sup>. Isolement et recristallisation selon *Fischer*<sup>4)</sup>.

#### Dérivés *N-phthalyle*.

Préparés selon *Billmann & Harting*<sup>5)</sup>, l'excès d'anhydride phthalique étant enlevé par sublimation au vide selon *Schumann & Boissonnas*<sup>6)</sup>.

#### Peptides.

Les peptides suivants ont été préparés et soumis à l'action des divers agents de scission pour étudier la stabilité de leurs liaisons peptidiques:

Glycyl-glycine, glycyl-L-leucine, glycyl-glycinate d'éthyle, L-leucyl-glycyl-glycine, phthalyl-glycyl-glycinate d'éthyle<sup>7)</sup>, phthalyl-glycyl-glycyl-glycyl-glycinate d'éthyle<sup>8)</sup>, *N-carbo-benzyloxy-DL-alanyl-glycinate d'éthyle*<sup>7)</sup>, *N-carbo-benzyloxy-L-leucyl-D-phényl-alanyl-L-prolinate de méthyle*<sup>9)</sup>, *N-carbo-benzyloxy-DL-phénylalananyl-L-alanine*<sup>8)</sup>, *N-carbo-p-Cl-benzyloxy-DL-phénylalananyl-L-alanine*<sup>8)</sup>, *N-carbo-allyloxy-DL-phénylalananyl-L-alanine*<sup>8)</sup>.

1) *Beilstein* VI, 398.

2) *B.* **48**, 360 (1915).

3) *Chem. and Industry*, **72**, 107 (1953).

4) *E. Fischer & O. Warburg*, *B.* **38**, 3999 (1905); *E. Fischer & W. Schoeller*, *A.* **357**, 2 (1907).

5) *Am. Soc.* **70**, 1473 (1948).

6) *Helv.* **35**, 2239 (1952).

7) *R. A. Boissonnas*, *Helv.* **34**, 874 (1951).

8) Préparé dans le tétrahydro-furane par la méthode au chloroformiate d'éthyle selon 7).

9) *I. Schumann & R. A. Boissonnas*, *Helv.* **35**, 2237 (1952).

*Dosage des groupes amino libérés.*

*Réactif.* Nous avons utilisé soit le réactif tamponné de ninhydrine-hydrindantine décrit précédemment<sup>1)</sup>, soit un réactif préparé en ajoutant une partie de solution ninhydrine-hydrindantine<sup>2)</sup> (10 g de ninhydrine puriss. dans 250 cm<sup>3</sup> de méthylcellosolve ajoutés à une solution de 0,15 g de borohydrure de sodium (BH<sub>4</sub>Na) dans 250 cm<sup>3</sup> d'eau) à quatre parties de tampon acétate (30 g de NaOH + 86 cm<sup>3</sup> d'acide acétique glacial puriss. + 1 litre de méthylcellosolve, complétés à 2 litres par de l'eau). Ces réactifs doivent être conservés en atmosphère d'azote.

*Mode opératoire.* Les prises contenant de 0,1 à 0,5 micromoles de groupe amino libre, prises d'un volume inférieur à 0,1 cm<sup>3</sup>, sont placées dans 5 cm<sup>3</sup> de réactif ci-dessus. Après 30 min. à 100°, refroidissement et dilution par 5 cm<sup>3</sup> d'éthanol 50%, on lit au photomètre à 570 m $\mu$  contre un blanc. Lorsque les blancs sont trop élevés par suite de l'ammoniaque contenue dans les agents de scission, on dépose la prise sur un carré de papier, vaporise une solution de KOH 1% dans le méthanol anhydre, sèche en courant d'air, découpe le papier en lamelles et place celles-ci dans les 5 cm<sup>3</sup> de réactif. On procède ensuite comme ci-dessus. On agit de même avec les spots découpés de chromatogrammes après séparation chromatographique des acides aminés libérés par la scission d'un mélange de dérivés de plusieurs acides aminés.

Les valeurs en % données dans le tableau II sont exactes à  $\pm$  5% près. Elles sont la moyenne des résultats obtenus avec les dérivés purs, résultats confirmés par l'étude de mélanges convenablement choisis de ces dérivés.

*Scission (tableau II).*

*Scission par hydrogénation catalytique.* Afin d'éliminer l'influence des variations d'activité du catalyseur d'un essai à l'autre ou au cours d'un essai, nous opérâmes sur une série de mélanges contenant des dérivés différents d'acides aminés différents. Un mélange contenant 0,25 millimoles de chacun des deux ou trois dérivés à comparer est dissous dans 2,5 cm<sup>3</sup> d'acide acétique glacial, additionné de 8 mg de PtO<sub>2</sub> et hydrogéné en atmosphère d'hydrogène à pression ordinaire sous agitation. A intervalles réguliers, des prises prélevées par une micropipette sont déposées sur la ligne de départ d'un papier à chromatographie. Les divers acides aminés sont séparés par chromatographie ascendante (alc. butylique secondaire — acide formique 85% — eau, 75–15–10) et dosés colorimétriquement selon la méthode décrite ci-dessus. Grâce à des composés communs à plusieurs mélanges, les valeurs obtenues sont coordonnées entre elles en fonction d'un temps moyen pris comme étalon. Ainsi, les valeurs indiquées dans une même ligne sont coordonnées entre elles, quoique le temps indiqué puisse légèrement varier selon le catalyseur et l'agitation.

*Remarque: cas de la phénylalanine.* Lorsque l'hydrogénation des dérivés de la phénylalanine est poursuivie pendant plusieurs heures, le noyau de la phénylalanine commence à se réduire. Sur un chromatogramme, le spot de l'hexahydro-phénylalanine<sup>3)</sup> apparaît au dessus de celui de la phénylalanine et augmente au dépend de la phénylalanine au cours du temps.

*Scission par le sodium dans l'ammoniac liquide.* Les dérivés à étudier, en solution 0,02-m. dans 5 cm<sup>3</sup> d'ammoniac liquide sec, sont additionnées d'un excès de sodium (10 équivalents). A la fin de l'essai on ajoute du NH<sub>4</sub>Br, évapore l'ammoniac, et reprend par l'eau. Les prises sont posées sur papier. On dose comme ci-dessus après traitement à la potasse méthanolique. Le tableau indique les résultats obtenus après 60 min.

*Scission par l'iodure de phosphonium dans l'acide acétique glacial.* Des solutions 0,25-m. des dérivés à étudier, dans l'acide acétique glacial, sont additionnées de 3,5 équivalents de PH<sub>4</sub>I. La cinétique de la réaction est difficile à établir par suite de la faible solubilité de l'iodure de phosphonium et de sa décomposition graduelle à chaud. Les valeurs indiquées sont donc approximatives.

<sup>1)</sup> R. A. Boissonnas, *Helv.* **33**, 1980 (1950).

<sup>2)</sup> R. A. Boissonnas & C. H. Haselbach, *Helv.* **36**, 576 (1953).

<sup>3)</sup> D. Shemin & R. M. Herbst, *Am. Soc.* **60**, 1951 (1938); **61**, 2471 (1939). Cf. E. Waser & E. Brauchli, *Helv.* **9**, 751 (1924).

*Scission par l'acide iodhydrique ou l'acide bromhydrique dans l'acide acétique glacial.* Une série d'ampoules scellées contenant 1 cm<sup>3</sup> d'une solution 0,25-m. des dérivés à étudier dans de l'acide acétique glacial 1-m. en HI ou HBr sont placées à 20° ou à 100°. A des intervalles définis, des ampoules sont retirées et une partie aliquote est dosée comme ci-dessus. Il est nécessaire d'opérer en ampoules fermées afin d'éviter le départ de HI ou de HBr pendant le chauffage ou pendant le dégagement de CO<sub>2</sub>.

*Scission par l'acide chlorhydrique dans l'acide acétique glacial.* La solubilité de HCl dans l'acide acétique glacial étant plus faible que celle de HI ou HBr, nous avons réduit la concentration de HCl et par suite également celle de dérivé à scinder afin d'avoir un excès de HCl suffisant. Des solutions 0,06-m. des dérivés à étudier dans l'acide acétique glacial 0,4-m. en HCl sont placées en ampoules scellées, et dosées comme ci-dessus après des séjours de durée donnée, aux températures indiquées.

*Scission par l'acide chlorhydrique dans le méthanol.* On utilise des solutions 0,25-m. en dérivé à étudier dans le méthanol anhydre 1,5-m. en HCl, placées en ampoules scellées comme ci-dessus.

#### SUMMARY.

The scission of ten  $\alpha$ -amino protecting groups under several conditions has been comparatively studied.

The groups investigated are: N-carbobenzyloxy, N-carbophenyl-oxy, N-tosyl, N-formyl, N-phthalyl, N-carbo-p-chloro-benzyloxy, N-carboallyloxy, N-carbo-p-tolyloxy, N-carbo-s-butyloxy, N-carboethoxy.

The first five are the most interesting. They can be selectively split one after the other, using hydrobromic acid in glacial acetic acid for the first, catalytic hydrogenation for the second and sodium in liquid ammonia for the third. The formyl group is split by methanolysis, and the phthalyl group by (phenyl)hydrazine.

Laboratoire de chimie organique de l'Université de Genève.

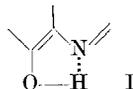
### III. Über die tuberkulostatische Aktivität einiger Schiff'scher Basen.

Metallionen und biologische Wirkung, 13. Mitteilung<sup>1)</sup>

von L. Müsli, W. Roth und H. Erlenmeyer.

(8. V. 53.)

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über tuberkulostatisch aktive Verbindungen, denen die Gruppierung I



<sup>1)</sup> 12. Mitteilung H. v. Hahn, J. Bäuml, W. Roth & H. Erlenmeyer, Helv. 36, 10 (1953).