

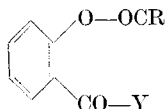
244. Aminoacyl-Einlagerung.

3. Mitteilung¹⁾.Herstellung des Perchlorates von O-Glycyl-salicylsäure.
Umlagerung zu Salicyoyl-glycin²⁾

von M. Brenner und J. Wehrmüller.

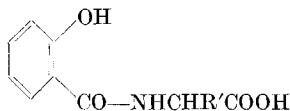
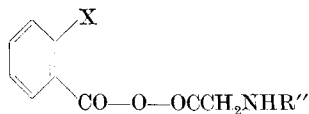
(14. X. 57.)

In der zweiten Mitteilung dieser Reihe¹⁾ haben wir gezeigt, dass O-(Aminoacyl)-salicylsäuren (Ia) unbeständig sind: Sie lagern sich praktisch im Augenblick ihrer Entstehung aus den N-Cbzo-Verbindungen (Ib) in Salicyoyl-aminosäuren (II) um. Die Verbindungen Ia lassen sich aber — wie die O-(Aminoacyl)-salicylsäure-amide (Ic)³⁾ — in Form von Salzen mit starken Säuren abfangen. Aus O-(Cbzo-glycyl)-salicylsäure (Id) entsteht z. B. das Perchlorat von O-Glycyl-salicylsäure (Ie), wenn die Debenzylierung mittels H₂/Pd in Eisessig-Perchlorsäure durchgeführt wird.



Z = Carbobenzoxy (Cbzo)

- Ia R = CHR'NH₂
Y = OH
Ib R = CHR'NHZ
Y = OH oder OCH₂C₆H₅
Ic R = CHR'NH₂
Y = NH₂
Id R = CH₂NHZ
Y = OH oder OCH₂C₆H₅
Ie R = CH₂NH₂
Y = OH
If R = CH₂N₃
Y = OH
Ig R = CHR'NH₂
Y = OCH₃

II
IIa R' = HVIa X = OH
R'' = H
b X = H
R'' = Carbobenzoxy¹⁾ 2. Mitteilung: M. Brenner & J. P. Zimmermann, *Helv.* **40**, 1933 (1957).²⁾ Auszug aus der Diss. J. Wehrmüller, Universität Basel, 1955.³⁾ M. Brenner, J. P. Zimmermann, J. Wehrmüller, P. Quitt, A. Hartmann, W. Schneider & U. Beglinger, *Helv.* **40**, 1497 (1957).

Die Umlagerung der O-Glycyl-salicylsäure (Ie) in Salicyl-glycin (IIa) ist nicht an die Entstehung von Ie aus der N-Cbzo-Verbindung Id gebunden: Bereits *Freudenberg* und Mitarbeiter⁴⁾ haben durch Hydrierung von O-(Azidoacetyl)-salicylsäure (If) in Methylacetat mit Pt als Katalysator anstelle der erwarteten O-Glycyl-salicylsäure ein anderes, damals nicht identifiziertes Produkt erhalten. Die angegebenen analytischen Daten stimmen auf Salicyl-glycin (IIa). In der Tat entsteht IIa in quantitativer Ausbeute, wenn die Hydrierung von If unter etwas abgeänderten Bedingungen (H_2/Pd , Eisessig) durchgeführt wird. Arbeitet man in Gegenwart von 1,1 Äquivalenten Perchlorsäure, so bleibt die Reaktion auch hier auf der Stufe von Ie stehen. Das resultierende Perchlorat ist identisch mit dem aus den Cbzo-Verbindungen Id erhaltenen Material.

Die Salzbildung mittels Perchlorsäure ist auch geeignet, die unbeständigen Ester Ig vor dem Zerfall¹⁾ in Salicylsäure-methylester und Diketopiperazine zu schützen. Z. B. gibt die Hydrogenolyse von O-(Cbzo-DL-phenylalanyl)-salicylsäure-methylester in Eisessig-Perchlorsäure glatt das kristallisierte Perchlorat von O-(DL-Phenylalanyl)-salicylsäure-methylester.

Das Perchlorat von O-Glycyl-salicylsäure (Ie) lässt sich aus Eisessig unverändert umkristallisieren. Im Gegensatz dazu erfolgt in Lösungsmitteln, welche vermöge ihrer Basizität eine solvolytische Zersetzung des Salzes bewirken, mehr oder weniger rasche Bildung von Salicyl-glycin (IIa) (Tab. 1). In Wasser kann die Umlagerung anhand der Eisenchlorid-Reaktion des phenolischen Hydroxyls von IIa (λ_{\max} 520 m μ) colorimetrisch verfolgt werden. Sie ist eine Reaktion 1. Ordnung und verläuft umso langsamer, je saurer die Lösung ist (Fig. 1). Die gemessenen Geschwindigkeitskonstanten in 0,023-n. Perchlorsäure und in Wasser besitzen die Werte $k_{\text{Perchlorsäure}} = 3,15 \cdot 10^{-2}$ Min.⁻¹ (Halbwertszeit 22 Min.) und $k_{\text{Wasser}} = 1,38 \cdot 10^{-1}$ Min.⁻¹ (Halbwertszeit 5 Min.). Nebenreaktionen scheinen nur in basischen Medien aufzutreten. Es ist vor allem die Hydrolyse der Phenylesterbindung, die hier in den Vordergrund treten kann. Abgesehen von der Alkali-Empfindlichkeit der Esterbindung hängt dies damit zusammen, dass die Aminoacyl-Einlagerung in der vorliegenden Variante nicht nur durch Säure, sondern auch durch Salzbildung mit Basen gebremst wird. Während z. B. in Wasser, Wasser + 1 Äqu. $KHCO_3$ und in 18-proz. NaCl-Lösung + 1 Äqu. $KHCO_3$ innert 15 Min. praktisch vollständige Umsetzung zu Salicyl-glycin erfolgt, sind in gesättigter $KHCO_3$ -Lösung (20⁰) nach derselben Zeit insgesamt erst rund 70% der eingewogenen O-Glycyl-salicylsäure verschwunden und nur rund 6% in Salicyl-glycin übergegangen (Tab. 1).

Wir schliessen aus den erwähnten Beobachtungen, dass eine intramolekulare Reaktion vorliegt, und dass es die freie, nicht salzartig gebundene O-Glycyl-salicylsäure ist, welche die Umlagerung erleidet.

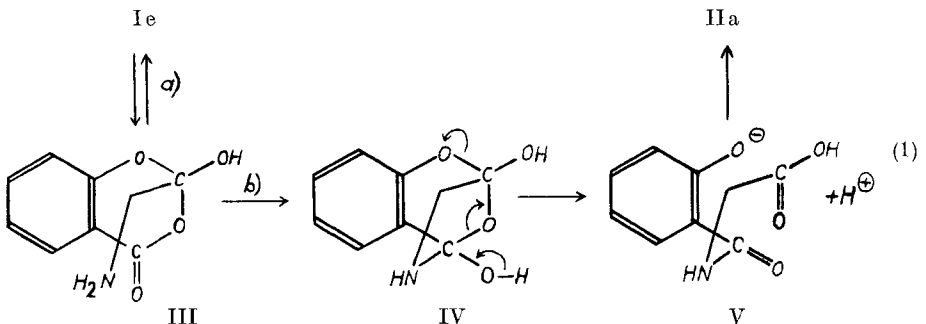
⁴⁾ *K. Freudenberg, H. Eichel & F. Leutert*, Ber. deutsch. chem. Ges. **65**, 1189 (1932).

Tabelle 1.

Bildung von Salicylglycin aus dem Perchlorat von O-Glycyl-salicylsäure in verschiedenen Lösungsmitteln bei Raumtemperatur.

Lösungsmittel	Versuchsdauer ⁵⁾	Salicylglycin Ausbeute	Salicylsäure Ausbeute
HClO ₄ 2-proz. in Wasser	2 Tage	> 95%	
Wasser	15 Min.	> 95%	
KHCO ₃ 0,085-n. (1 Äqu.) ⁶⁾	15 Min.	> 95%	< 5%
KHCO ₃ 0,085-n. in 18-proz. NaCl (1 Äqu.) ⁶⁾	15 Min.	> 95%	< 5%
KHCO ₃ gesättigt	15 Min.	6%	60%
KHCO ₃ gesättigt	120 Min.	9%	90%
NaOH 1-n. (4 Äqu.) ⁶⁾	15 Min.	0%	> 95%
Eisessig	8 Tage	0% ⁷⁾	
HCN flüssig	1 Tag	Spur ⁷⁾	
HCN flüssig	8 Tage	> 95%	
CH ₃ OH abs.	2 Tage	Spur ⁷⁾	
CH ₃ OH abs.	8 Tage	> 95%	
Eisessig + 1 Äqu. Na-Acetat ⁶⁾	2 Tage	> 95%	
Triäthylamin 2-n. in CHCl ₃ (59 Äqu.) ⁶⁾	30 Min.	~ 80%	Spur
	60 Min.	> 95%	Spur
Kalium-t-butylat in t-Butanol/Dimethylformamid (6 Äqu.) ⁶⁾	30 Min.	> 60%	Spur

Dabei bleibt unentschieden, ob das Zwitterion oder die ungeladene Form von Ie reagiert. Unsere theoretischen Vorstellungen sprechen eher für die ungeladene Form. Wenn wir eine Analogie zu der Reaktionsweise der O-(Aminoacyl)-salicylsäure-amide (Ic)³⁾ annehmen wollen, so dürfte sich die Umsetzung folgendermassen abspielen (Gleichung 1):



⁵⁾ Im Falle quantitativer Ausbeute (> 95%) nicht identisch mit der effektiven Reaktionsdauer.

⁶⁾ Die Äquivalent-Angaben beziehen sich auf das Verhältnis Base:O-Glycyl-salicylsäure-Perchlorat. Vgl. im übrigen den exp. Teil.

⁷⁾ Das Perchlorat bleibt unverändert.

Das Schema macht verständlich, dass Protonierung der Aminogruppe die Reaktion verhindert, indem dadurch der für die Stufe b) notwendige nukleophile Charakter dieser Aminogruppe verloren geht. Andererseits wird das Gleichgewicht a) durch Salzbildung am Carboxyl infolge der grossen Stabilität der Carboxylat-Gruppe nach Ie verschoben, damit die Konzentration an III vermindert und die Bildung von IV (geschwindigkeitsbestimmender Schritt) verlangsamt⁸⁾.

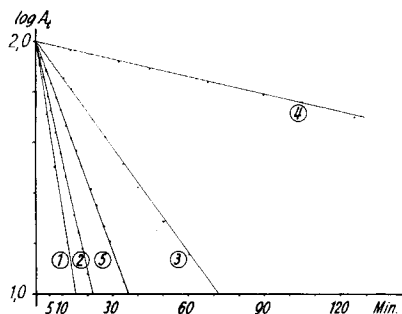


Fig. 1.

Analytische Konzentration von O-Glycyl-salicylsäure in Abhängigkeit von der Zeit.

Ordinate: $\log A_t$; A_t = Prozent unveränderte O-Glycyl-salicylsäure zur Zeit t.
Abszisse: Zeit in Min.

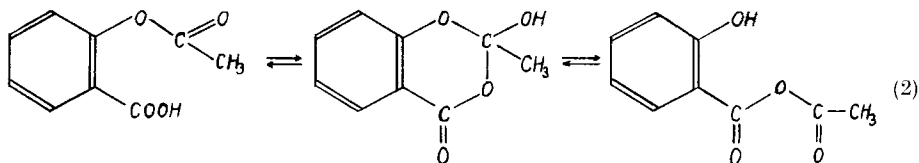
Anfangskonzentration: etwa $5 \cdot 10^{-4}$ -m. (Perchlorat von O-Glycyl-salicylsäure).

Umlagerung in:

1. Wasser; frei von CO_2 oder gesättigt mit CO_2 .
2. $2,3 \cdot 10^{-3}$ -n. Perchlorsäure; frei von CO_2 ; pH 2,7.
3. $2,3 \cdot 10^{-2}$ -n. Perchlorsäure; frei von CO_2 oder gesättigt mit CO_2 ; pH 1,7.
4. $1,15 \cdot 10^{-1}$ -n. Perchlorsäure; frei von CO_2 ; pH 1,0.
5. 99-proz. Äthanol.

Alle Lösungen enthalten als Zusatz 0,1% $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($3,8 \cdot 10^{-3}$ -m.).

Im Zusammenhang mit Studien über den Säureanhydrid-Charakter des Aspirins haben Davidson & Auerbach⁹⁾ ein Gleichgewicht zwischen den folgenden 3 Formen der Acetyl-salicylsäure postuliert (Gleichung 2):



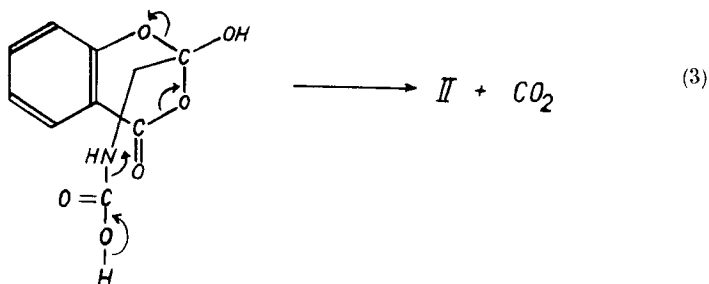
Danach hätte IIa in unserem Versuch auch aus III über ein gemischtes Anhydrid VIa von Salicylsäure und Glycin entstehen können. Eine innermolekulare Umlagerung von VIa in IIa ist ohne

⁸⁾ Vgl. hiezu Anmerkung 17 in Helv. **40**, 1505 (1957).

⁹⁾ D. Davidson & L. Auerbach, J. Amer. chem. Soc. **75**, 5984 (1953).

weiteres denkbar. Wir verweisen hiezu auf die Bemerkungen über die Diacylimid-Hypothese in ³⁾. Zur Prüfung dieser Möglichkeit ist von *Zimmermann*¹⁰⁾ das *Wieland*'sche Cbz-glycin-benzoesäureanhydrid VIb¹¹⁾ in Dioxan mit H₂/Pd behandelt worden. Er erhielt neben 91% d. Th. an Benzoesäure 2,8% d. Th. an Hippursäure. Dieses Resultat spricht nicht dafür, dass VIa beim Übergang von Ie in IIa als Zwischenprodukt auftritt.

In der 2. Mitteilung¹⁾ sind wir stillschweigend von der Annahme ausgegangen, dass unmittelbar nach der Hydrogenolyse der O-(Cbzo-aminoacyl)-salicylsäuren (Ib) zu O-(N-Carboxy-aminoacyl)-salicylsäuren auch in Abwesenheit von Perchlorsäure die Decarboxylierung der Carbaminsäuren erfolge und die Aminoacyl-Einlagerung erst auf der Stufe der O-(Aminoacyl)-salicylsäuren (Ia) einsetze. Der nunmehr direkt erbrachte Nachweis der Umlagerungsfähigkeit von O-Glycyl-salicylsäure stützt diese Auffassung. Wir dürfen aber die Möglichkeit einer direkten Umlagerung der Carbaminsäure nicht übersehen: Aus der Kopplung zwischen Decarboxylierung und Aminoacyl-Einlagerung nach der Gleichung (3) ergäbe sich für die Umlagerung eine zusätzliche



treibende Kraft. Es wäre ausserdem ein Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit zu erwarten. Analoges gilt, wenn Ie durch Hydrierung von If über das Triazen $-\text{OCCH}_2\text{NH}-\text{N}=\text{N}-\text{H}$ entsteht¹²⁾. Die N₂-Abspaltung erfolgt dort normalerweise nach



sie könnte aber analog zum Vorgang nach Gleichung (3) ebenfalls mit der Aminoacyl-Einlagerung gekoppelt sein. — Dort sowohl wie im Fall der N-Carboxy-Verbindungen würde durch Perchlorsäure die Kopplung wegen Protonierung des Aminosäure-Stickstoffs verhindert.

Th. Wieland hat am Beispiel anderer Reaktionen auf die Beteiligung der Gruppe $-\text{NHCOOH}$ am Reaktionsablauf hingewiesen und

¹⁰⁾ Diss. *J. P. Zimmermann*, Basel 1952. Vgl. den exp. Teil der vorliegenden Arbeit.

¹¹⁾ *Th. Wieland & R. Schring*, Liebigs Ann. Chem. **569**, 128 (1950).

¹²⁾ *O. Dimroth*, Ber. deutsch. chem. Ges. **40**, 2376 (1907); *J. H. Boyer & F. C. Canter*, Chem. Reviews **54**, 1 (1954); Zur Tautomerie der Triazene, vgl. *N. V. Sidgwick*, The Organic Chemistry of Nitrogen, Oxford 1937, p. 460/461.

die auf Carbaminsäurebildung beruhende katalytische Wirkung von CO_2 hervorgehoben¹³). Wir haben geprüft, ob in wässriger Lösung eine Wirkung von CO_2 auf die Umlagerungs-Geschwindigkeit von O-Glycyl-salicylsäure festzustellen sei. Der Versuch war allerdings nur in saurem Milieu möglich (FeCl_3 -Reaktion!), wo die Bedingungen für die Carbaminsäurebildung ungünstig sind. Immerhin liegt auch unter solchen Umständen ein Teil der O-Glycyl-salicylsäure in ungeladener Form vor; den Beweis dafür liefert die Aminoacyl-Einlagerung selber (Tab. 1). Unsere Messungen bei Atmosphärendruck haben nun keinen Einfluss von CO_2 erkennen lassen (Fig. 1). Die Carbaminsäurebildung tritt also unter den gewählten Versuchsbedingungen weder reaktionshemmend noch fördernd in Erscheinung.

Für die Durchführung dieser Arbeiten standen uns Mittel aus den *Arbeitsbeschaffungskrediten* des Bundes zur Verfügung, für die wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen möchten.

Experimenteller Teil.

Die Smp. sind auf einem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$.

1. Perchlorat von O-Glycyl-salicylsäure. A. *Herstellung*. a) Aus O-(Cbzglycyl)-salicylsäure¹⁾: Man behandelt bei 20° 110 mg (0,33 mMol) Id (freie Säure) in 3,4 ml 0,1-n. wasserfreier, essigsaurer Perchlorsäure nach Zusatz von 50 mg Pd-Kohle¹⁴) bis zum Aufhören der CO_2 -Entwicklung (3 Std.) mit Wasserstoff. Das Perchlorat kristallisiert teilweise aus. Man filtriert, löst die Substanz mit etwas Methanol vom Filter, vereinigt das Filtrat mit der Waschflüssigkeit und verdampft sofort im Vakuum bei $30\text{--}40^\circ$ zur Trockne. Der Rückstand wird mit abs. Äther behandelt und der ungelöste Anteil (90 mg) aus Eisessig umkristallisiert; Smp. $170\text{--}172^\circ$, ohne Depression mit dem Präparat aus If. Die FeCl_3 -Reaktion ist anfänglich negativ, nach einigen Sek. zunehmend positiv. Charakteristisch ist die Reaktion mit 1-proz. wässrigem Ninhydrin, indem sie erst auf Zusatz von Na-Acetat, dann aber schon bei 20° ungewöhnlich rasch einsetzt. Löslichkeit: in Wasser, Methanol und Aceton spielend löslich, unter allmählicher Zersetzung; mässig löslich in Eisessig; unlöslich in abs. Äther und Benzol.

b) Aus O-(Cbzglycyl)-salicylsäure-benzylester¹⁾: Man behandelt 138 mg (0,33 mMol) Id (Benzylester) wie unter a) beschrieben mit H_2/Pd , erwärmt das Reaktionsgemisch bis zur Auflösung des auskristallisierten Perchlorates, filtriert durch Celite, versetzt das kalte Filtrat mit demselben Volumen abs. Äther und lässt kristallisieren: 50 mg, Smp. $170\text{--}171^\circ$, nach Umkristallisieren aus Eisessig $170\text{--}172^\circ$. Misch-Smp., FeCl_3 - und Ninhydrin-Reaktion wie oben.

c) Aus O-(Azidoacetyl)-salicylsäure (If): If ist nach der Vorschrift von *Freudenberg* und Mitarbeitern⁴⁾ aus Salicylsäure und Azidoacetylchlorid¹⁵⁾ in abs. Pyridin erhalten worden; Kristalle aus Chloroform/Petroläther, Smp. $100\text{--}101^\circ$. Man löst 1,64 g (7,42 mMol) If in 81,6 ml einer 0,1-n. Lösung von Perchlorsäure in abs. Eisessig (8,16 mMol), setzt 250 mg 10-proz. Pd-Kohle¹⁴⁾ zu und hydriert 5 Std. bei 20° im Wasserstoff-Strom. Während der ersten halben Std. macht sich eine geringfügige Erwärmung bemerkbar. Man filtriert und verdampft das Lösungsmittel bei $35\text{--}40^\circ$. Schon während des Einengens beginnt das Perchlorat zu kristallisieren. Man versetzt mit wenig abs. Benzol, verdampft wiederum zur Trockne und wäscht den Rückstand durch Verreiben mit abs.

¹³⁾ *Th. Wieland*, *Angew. Chem.* **69**, 362 (1957).

¹⁴⁾ *Organic Syntheses* **26**, 78 (1946).

¹⁵⁾ *M. O. Forster & H. E. Fierz*, *J. chem. Soc.* **93**, 72 (1908); *A. Bertho*, *J. prakt. Chem.* **116**, 111 (1927). Zur Herstellung des als Zwischenprodukt benötigten Azidoessigsäure-äthylesters ist das Verfahren von *Forster & Fierz* vorzuziehen.

Äther und Dekantieren. Zum Umkristallisieren wird in 1 ml abs. Methanol gelöst und nach Zusatz von 20 ml abs. Äther und einigen Impfkristallen über Nacht bei 0° aufbewahrt: feine Nadeln, 1,55 g (71%), Smp. 167—170°. Aus der Mutterlauge lässt sich eine 2., etwas weniger reine Fraktion gewinnen. — Zur Analyse wird nochmals aus trockenem Methanol/Äther umkristallisiert und 5 Std. bei 95°/0,01 Torr getrocknet.

$C_9H_{10}O_8NCl$	Ber. C 36,36	H 3,36	N 4,75%
(295,64)	Gef. „ 36,56	„ 3,41	„ 4,80%

B. *Umlagerung zu Salicyl-glycin*. — *Qualitative Versuche* (Tab. 1). a) In wässrigen Lösungen: Je 50 mg O-Glycyl-salicylsäure-perchlorat (0,17 mMol) und 2 ml Lösungsmittel nach Tab. 1 ($HClO_4$ 2-proz., Wasser, $KHCO_3$ 0,085-n. in Wasser, $KHCO_3$ 0,085-n. in 18-proz. NaCl-Lösung¹⁶), $KHCO_3$ gesättigt in Wasser) werden während der angegebenen Versuchsdauer verschlossen bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Hierauf wird die Reaktionslösung — im Fall der Hydrogencarbonat-Versuche nach Zusatz von je 2 ml HCl [konz. (d = 1,19): Wasser 1: 1], die auf einmal zugegeben werden, um die Aminoacyl-Einlagerung sofort abzustoppen (HCl-Konz. mindestens 2-n., vgl. dazu Fig. 1) — dreimal mit je 10 ml feuchtem Essigester extrahiert, die Essigesterlösung mit gesättigter Kochsalzlösung kongo-neutral gewaschen, getrocknet, der Essigester abgedampft, der Rückstand mit Aceton in ein Sublimierrohr gespült und bei 90—95°/0,01 Torr von Salicylsäure durch Sublimation befreit. Das Sublimat wird gewogen und mittels Smp., Misch-Smp. und Papierchromatographie³) mit Salicylsäure verglichen. Man löst den nichtflüchtigen Anteil in 15 ml Essigester, extrahiert dreimal mit je 2 ml 10-proz. Kaliumhydrogencarbonat und einmal mit 2 ml gesättigter Kochsalzlösung, wobei die Extrakte zwei weitere Scheidetrichter mit je 10 ml Essigester passieren, vereinigt die wässrigen Auszüge, säuert mit konz. HCl auf Kongo an, nimmt wiederum in dreimal 10 ml Essigester auf, trocknet und dampft ein. Der meist spontan kristallisierende Rückstand wird aus wenig heissem Wasser umkristallisiert und durch Smp., Mischprobe und Papierchromatogramm³) (Eisenchloridreaktion) als Salicyl-glycin¹⁷) identifiziert.

Der Versuch in 1-n. Natronlauge ist etwas einfacher durchgeführt worden: 155 mg (0,52 mMol) O-Glycyl-salicylsäure-perchlorat werden in 2 ml 1-n. NaOH gelöst. Nach 15 Min. wird auf Kongo angesäuert und mit Essigester extrahiert. Dieser wird mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum zur Trockene eingedampft. Es verbleiben 68 mg (95%) papierchromatographisch³) reine Salicylsäure. In der wässrigen Lösung kann Glycin nachgewiesen werden (Papierchromatogramm).

b) In wasserfreien Lösungen: 50 mg O-Glycyl-salicylsäure-perchlorat werden im trockenen Kochglas mit 2—3 ml Lösungsmittel (Tab. 1) während der angegebenen Zeit bei 20° gut verschlossen aufbewahrt (Tab. 1). Man verdampft zur Trockene und verreibt den Rückstand wiederholt mit abs. Äther (Entfernung von Salicyl-glycin und ev. Salicylsäure). Der Äther-unlösliche Anteil wird anhand der verzögerten Eisenchlorid-Reaktion und durch Kristallisation aus trockenem Methanol/Äther als unverändertes Perchlorat identifiziert. Die vereinigten Ätherauszüge werden im Vakuum eingedampft und der Rückstand wie oben zur Abtrennung der Salicylsäure der Sublimation bei 90—95°/0,01 Torr unterworfen. Die weitere Aufarbeitung erfolgt nach den Angaben unter a).

Die Versuche in Triäthylamin/Chloroform und Kalium-t-butylat/Dimethylformamid sind etwas anders durchgeführt worden: Je 50 mg Perchlorat wurden unter kräftigem Rühren in je 5 ml 2-n. $N(C_2H_5)_3/CHCl_3$ gelöst. Nach 30 bzw. 120 Min. setzt man zur Zerstörung von noch vorhandener O-Glycyl-salicylsäure je 3 ml 2-n. NaOH zu und rührt noch 30 Min. Zur Kontrolle werden 50 mg Perchlorat während 30 Min. mit einer Mischung von 5 ml 2-n. $N(C_2H_5)_3/CHCl_3$ und 3 ml 2-n. NaOH in gleicher Weise verrührt. — Übliche Aufarbeitung aufsaure Reaktionsprodukte ergab die in Tab. 2 zusammengestellten Resultate. Das unterschiedliche Ergebnis von Kontrolle und Hauptversuchen beweist, dass die Umlagerung in den Hauptversuchen nicht erst während der Aufarbeitung eingetreten ist.

¹⁶) Genauer: 17 mg $KHCO_3$ + 431 mg NaCl + 2 ml Wasser.

¹⁷) S. Bondi, Z. physiol. Chem. **52**, 172 (1907); vgl. auch 1).

Tabelle 2.

Reaktionsdauer Min.	Saure Reaktionsprodukte mg	Papierchromatogramm ³⁾ ; Salicyl-glycin/ Salicylsäure	Ber. Maximalausbeute	
			Salicyl-glycin mg	Salicylsäure mg
30 60	ca. 36 (?) 32	ca. 80:20 ca. 99: 1	33	
Kontrolle	25	0:100		23

Das Perchlorat (75 mg, 0,25 mMol) wurde unter kräftigem Rühren in 3,5 ml Dimethylformamid und 1,5 ml 1-n. Kalium-t-butylat in t-Butanol verteilt, das Reaktionsgemisch nach 30 Min. mit 1,5 ml Wasser versetzt und nach weiteren 30 Min. auf Papier chromatographiert³⁾. In einem 1. Kontrollversuch wurde das Wasser schon anfangs zugesetzt und die Lösung nach 30 Min. chromatographiert. In einem 2. Kontrollversuch wurde die Lösung von 75 mg Perchlorat in 1,5 ml 1-n. Kalium-t-butylat in t-Butanol und 1,5 ml Wasser nach 30 Min. mit 3,5 ml Dimethylformamid versetzt und anschliessend chromatographiert. — Im Hauptversuch war neben viel Salicyl-glycin eine Spur Salicylsäure entstanden. Der 1. Kontrollversuch lieferte etwa gleiche Teile Salicyl-glycin und Salicylsäure, der 2. Kontrollversuch hauptsächlich Salicylsäure. Das Salicyl-glycin aus dem Hauptversuch konnte in reiner, kristallisierter Form (Ausbeute 57%) gefasst werden; es war nach Papierchromatographie, Smp. und Misch-Smp. mit authentischem Material¹⁷⁾ identisch. Der Unterschied im Ergebnis der beiden Kontrollversuche ist auffällig. Wir glauben nicht, dass die langsamere Hydrolyse (kleinere Ausbeute an Salicylsäure) im 1. Kontrollversuch auf einem Verbrauch von NaOH durch Abspaltung von Ameisensäure aus Dimethylformamid beruht. Viel eher scheint die Zusammensetzung des Reaktions-Milieus einen grossen Einfluss auf das Verhältnis von Hydrolyse und Aminoacyl-Einlagerung auszuüben.

Quantitative Versuche. Absorptionsmaximum des FeCl_3 -Komplexes von Salicyl-glycin: 2,0 mg O-Glycyl-salicylsäure-perchlorat werden mit 20 ml einer 0,05-proz. wässrigen Lösung von $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ übergossen. Das Perchlorat löst sich sofort auf; es bildet sich allmählich Salicyl-glycin und daraus der FeCl_3 -Komplex. Nach etwa 30 Min. erreicht die Farbintensität ihren höchsten, konstanten Wert. Das Absorptionsmaximum („Coleman Junior“ Spektrophotometer) liegt bei 520μ ($E = 0,64$); Sättigung mit CO_2 oder Zusatz von Perchlorsäure (0,023-n., pH 1,7 oder 0,115-n., pH 1,0) bewirkt keine Verschiebung des Maximums.

Kinetische Messungen und Auswertung: Das günstigste Konzentrationsverhältnis (1,2 bis 1,5 mg Perchlorat, 10 ml einer CO_2 -freien wässrigen oder alkoholischen 0,1-proz. Lösung von $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ist durch Vorversuche ermittelt worden. Die Messung erfolgte durch Ablesung der Extinktionswerte E in gleichmässigen Zeitabständen; als Vergleichslösung diente das jeweiligen verwendete Lösungsmittel, d. h. die oben angegebene Eisenchloridlösung mit oder ohne Zusatz (Perchlorsäure, CO_2 , vgl. Fig. 1). Um Wäge- und Instrumentenfehler auszuschalten und den Vergleich zwischen den einzelnen Experimenten zu erleichtern, haben wir den jeweiligen konstanten Endwert der Extinktion (E_∞) willkürlich gleich 100 gesetzt und die übrigen Ablesungen (E_t) auf $U_t = E_t \cdot 100/E_\infty$ umgerechnet. Weil E_t der jeweiligen Konzentration an Umlagerungsprodukt IIa proportional ist (Gesetz von Lambert-Beer), entspricht U_t dem Prozentsatz an Umlagerungsprodukt, der bis zur Zeit t entstanden ist. Weil ausserdem beim Verschwinden von jeder Molekel Ausgangsmaterial eine Molekel Umlagerungsprodukt entsteht, entspricht $100 - U_t = A_t$ dem Prozentsatz an Ausgangsmaterial Ie, der zur Zeit t noch vorliegt. Daraus folgt

$$A_t = 100 - E_t \cdot 100/E_\infty = 100 (1 - E_t/E_\infty).$$

Trägt man $\log A_t$ gegen die Zeit t graphisch auf, so liegen die Punkte, die zu ein und demselben Versuch gehören, fast ohne Streuung auf einer Geraden (Fig. 1).

2. Bildung von Salicyl-glycin bei der Hydrierung von O-(Azidoacetyl)-salicylsäure. Man löst 800 mg (3,6 mMol) If (vgl. oben) in 16 ml abs. Eisessig und hydriert nach Zusatz von 400 mg 10-proz. Pd-Kohle¹⁴) während 5 Std. im Wasserstoffstrom. Der Katalysator wird abfiltriert und mit etwas Eisessig gewaschen, das Filtrat bei 30—40° eingedampft und der ölige Rückstand in 50 ml Essigester aufgenommen. Man wäscht mit wenig Wasser und extrahiert dann erschöpfend mit 10-proz. Kaliumhydrogencarbonat, säuert diesen Extrakt an und erhält auf übliche Weise 680 mg (96%) bereits kristallisiertes Salicyl-glycin. Der Smp. liegt nach einmaliger Kristallisation aus Wasser bei 164—167° (FeCl₃ positiv, Ninhydrin negativ). Die Mischprobe mit authentischem Salicyl-glycin¹⁷) schmilzt ohne Depression.

Wird die Hydrierung in Äthanol oder Methylcellosolve (Glycol-monomethyläther) durchgeführt, so erhält man nur 60—70% eines noch wenig reinen Rohproduktes.

Die Umlagerung erfolgt nicht erst während der Aufarbeitung (Wasser, Hydrogencarbonat!). Man erhält auch dann IIa, wenn nach beendeter Hydrierung (Eisessig) zwei Tage stehengelassen, dann eingedampft und anschliessend aus Aceton/Benzol kristallisiert wird.

3. Hydrogenolyse des gemischten Anhydrides aus Cbz-glycin und Benzoesäure¹⁰). Das Anhydrid (VIb) ist nach der Vorschrift von *Wieland & Sekring*¹¹) aus 2,1 g Cbz-glycin hergestellt und — nach erfolgter Umsetzung einer Probe mit Anilin, wobei erwartungsgemäss Cbz-glycin-anilid entstand¹¹) — ohne vorherige Isolierung der Hydrogenolyse unterworfen worden (Ersatz des Benzols durch Dioxan, 500 mg 10-proz. Pd-Kohle). Es war hierbei notwendig, die Temperatur auf 50—55° zu steigern, weil bei 20° noch keine CO₂-Bildung erfolgte¹⁸). Nach beendeter CO₂-Entwicklung wurde filtriert (Filtrat 1) und der Katalysator erst mit Dioxan (Filtrat 1a), dann mit Wasser (Filtrat 2) gewaschen. Die vereinigten Filtrate 1 + 1a hinterliessen nach Eindampfen, Verreiben des Rückstandes mit 20 ml 2-n. Salzsäure, Aufnehmen in Essigester, Extrahieren der Essigesterlösung mit 10-proz. KHCO₃ und üblicher Aufarbeitung des Auszuges eine Säurefraktion, welche bei Kristallisation aus Wasser 1 g (91%) reine Benzoesäure vom Smp. 121—122° gab; die Mutterlauge von dieser Benzoesäure wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand zwecks Entfernung von Benzoesäure mehrmals mit Benzol behandelt und der benzolunlösliche Anteil wieder aus Wasser umkristallisiert: man erhielt so 50 mg (2,8%) Hippursäure, Smp. 183—184°. Im Filtrat 2 konnten papierchromatographisch Glycin und niedere Glycin-Peptide¹⁹) nachgewiesen werden. — Verwendet man bei der Hydrogenolyse von O-(Cbz-glycyl)-salicylsäure wie oben Dioxan + 1 Äqu. N(C₂H₅)₃, HCl statt wie früher¹) Eisessig oder Methylcellosolve und arbeitet man wie oben auf, so entsteht normal Salicyl-glycin; Ausbeute 91%, papierchromatographisch³) rein.

4. Perchlorat von O-(DL-Phenylalanyl)-salicylsäure-methylester¹⁰). 0,5 g (1,15 mMol) O-(Cbz-DL-phenylalanyl)-salicylsäure-methylester¹), 0,5 g 10-proz. Pd-Kohle¹⁶) und 1,15 mMol Perchlorsäure in 11,5 ml Eisessig werden bis zur Beendigung der CO₂-Entwicklung mit Wasserstoff behandelt. Man filtriert und dampft bei 30—40° ein. Der ölige Rückstand zeigt keine Reaktion mit Eisenchlorid, wohl aber eine starke Ninhydrin-Reaktion. Beim Verreiben mit Äther erhält man 0,35 g (90%) kristallines Material, das zur Reinigung aus Chloroform/Petroläther umgelöst wird. Nadelrosetten, Smp. 133—134° (Tröpfchen ab 130°). Zur Analyse wird 14 Std. im Hochvakuum über P₂O₅ getrocknet.

$C_{17}H_{18}O_8NCl$	Ber. C 51,07	H 4,54	N 3,48%
(401,83)	Gef. ,, 51,34	,, 4,38	,, 3,34%

¹⁸) Da hierbei mit einer Disproportionierung des gemischten Anhydrides gerechnet werden musste, wurde in einem Kontrollversuch eine Dioxan-Lösung des gemischten Anhydrids während 4 Std. auf 50—55° erwärmt und anschliessend mit überschüssigem Anilin versetzt; dabei entstand etwas weniger Cbz-glycin-anilid als in einem Parallelversuch, der ohne vorheriges Erwärmen nach den Angaben der Literatur¹¹) durchgeführt worden war (Ausbeute an reinem Material 35 bzw. 60%).

¹⁹) Zur Methode vgl. *H. N. Rydon & P. W. G. Smith*, *Nature* **169**, 922 (1952).

Zusammenfassung.

O-(Benzyloxycarbonyl-glycyl)-salicylsäure, ihr Benzylester und O-(Azido-acetyl)-salicylsäure liefern bei der Behandlung mit Wasserstoff/Palladium in Eisessig-Perchlorsäure das Perchlorat von O-(Glycyl)-salicylsäure. Die aus dem Perchlorat freigesetzte O-(Glycyl)-salicylsäure ist unbeständig. Sie lagert sich sowohl in organischen Medien als auch in Wasser zu Salicyl-glycin um. In schwach saurer wässriger Lösung verläuft die Umlagerung zeitlich nach dem Gesetz der ersten Ordnung. In wässrig alkalischer Lösung erfolgt als überwiegende Reaktion Hydrolyse zu Glycin und Salicylsäure. In wasserfreiem Milieu dagegen entsteht selbst bei Gegenwart starker Basen in guter Ausbeute Salicyl-glycin. Hydriert man die O-(Azidoacetyl)-salicylsäure in Eisessig allein, so erfolgt direkte Bildung von Salicyl-glycin.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

245. Über Muscarin.

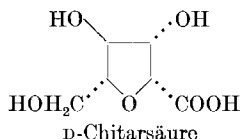
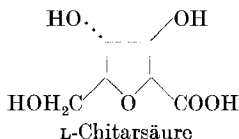
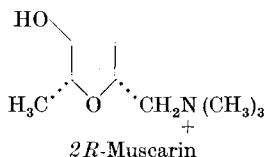
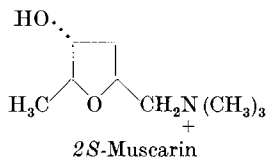
7. Mitteilung¹⁾.

Synthese und absolute Konfiguration des Muscarins

von E. Hardegger und F. Lohse.

(14. X. 57.)

Die Untersuchungen von F. Kögl, C. A. Salemink, H. Schouten & F. Jellinek²⁾ lassen für das Muscarin die Wahl offen zwischen den folgenden zwei spiegelbildlichen Formeln:



¹⁾ 6. Mitt. F. Kögl, H. C. Cox & C. A. Salemink, Liebigs Ann. Chem. **608**, 81 (1957).

²⁾ Rec. Trav. chim. Pays-Bas **76**, 109 (1957); vgl. auch F. Jellinek, Acta Crystallogr. **10**, 277 (1957).