

eingegangen war. Damit ist die von T. L. DAWSON *et al.*<sup>9)</sup> auf Grund kinetischer Daten angenommene Reaktion zwischen Glucose und Procion-Farbstoffen zwar chemisch belegt, aber auch gleichzeitig gezeigt, dass aus der Umsetzung von Reaktivfarbstoffen mit Glucose nicht unbedingt auf die Substitutionsverhältnisse bei der analogen Reaktion mit Cellulose geschlossen werden darf.

## SUMMARY

The covalent nature of the bond between a reactive dye and the cellulose molecule has been proved by means of microbiological degradation of the dyed cellulose and identification of glucose in the hydrolysate of a dyed soluble degradation product.

The reaction of glucose with a Prociondye leads to reaction products from which glucose may be recovered again by acid hydrolysis.

Technisch-Chemisches Laboratorium (O.A.S. und H.C.H. Z.) und  
Institut für spezielle Botanik (H. Z. und E. G.)  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

<sup>9)</sup> T. L. DAWSON, A. S. FERN & C. PRESTON, *J. Soc. Dyers Colourists* 76, 210 (1960).

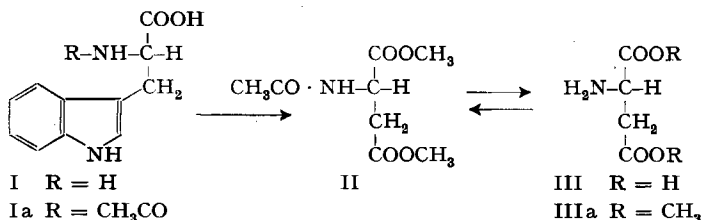
### 135. Konfigurationsbeweis für L-Tryptophan durch erschöpfende Ozonisierung

von E. Hardegger und H. Braunschweiger

(29. IV. 61)

Die L- bzw. S-<sup>1)</sup>-Konfiguration des natürlichen Tryptophans (I) wurde im wesentlichen durch mehrfache Anwendung der CLOUGH'schen Regel in verschiedenen Systemen, bei verschiedenen Wellenlängen und auch aus Derivaten des Tryptophans bis auf eine einzige Ausnahme<sup>2)</sup> übereinstimmend abgeleitet<sup>3)</sup>.

L-Tryptophan (I) ist eine der wenigen Aminosäuren, deren Konfigurationszuordnung bisher nicht durch chemische Methoden sichergestellt wurde. Ein einfacher chemischer Konfigurationsbeweis ergab sich im Zusammenhang mit Untersuchungen über den Anwendungsbereich der erschöpfenden Ozonisierung, welche wir



<sup>1)</sup> Zur RS-Nomenklatur vgl. R. C. CAHN, C. K. INGOLD & V. PRELOG, *Experientia* 12, 81 (1956).

<sup>2)</sup>  $[\alpha]_D$  von L-Tryptophan in Eisessig minus  $[\alpha]_D$  von L-Tryptophan in Wasser ist negativ.

<sup>3)</sup> Vgl. dazu J. P. GREENSTEIN & M. WINITZ, *Chemistry of the Amino Acids*, Vol. I, J. Wiley 1961.

schon früher als weitgehend anwendbare Methode zur Konfigurationsbestimmung von Naturstoffen erkannten<sup>4)</sup>.

Unterwarf man ein annähernd optisch reines N-Acetyl-L-tryptophan (Ia)<sup>5)</sup> der erschöpfenden Ozonisierung und Nachoxydation mit Perameisensäure, so wurde dessen Indolteil zu kleinen, optisch inaktiven Bruchstücken (hauptsächlich Oxalsäure) abgebaut. Die optisch aktive Seitenkette des N-Acetyl-L-tryptophans (Ia) blieb mit dem zum Carboxyl oxydierten Indol-C-Atom 3 verknüpft und liess sich aus den mit Diazomethan veresterten Oxydationsprodukten durch Chromatographie an Aluminiumoxyd als kristalliner N-Acetyl-L-asparaginsäure-dimethylester (II) isolieren.

Der N-Acetyl-L-asparaginsäure-dimethylester (II) aus dem Abbau erwies sich nach Schmelzpunkt, Mischprobe und optischer Drehung identisch mit dem aus L-Asparaginsäure (III) über L-Asparaginsäure-dimethylester (III a) nach verschiedenen Methoden<sup>6)</sup> hergestellten Vergleichspräparat II, dessen optische Reinheit durch Verseifung zu L-Asparaginsäure (III) ermittelt wurde. L-Asparaginsäure wurde schon früher auf chemischem Wege mit den Basissubstanzen zur Bestimmung absoluter Konfigurationen, d. h. mit L-Weinsäure bzw. D-Glycerinaldehyd konfigurativer verknüpft<sup>3)</sup>. Der Abbau zu L-Asparaginsäure beweist somit, wie zu erwarten war, eindeutig und unabhängig von den physikalischen Methoden die L-Konfiguration des natürlichen Tryptophans (I).

Der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. A. G. in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

**Experimentelles**<sup>7)</sup>. - *N-Acetyl-L-tryptophan* (Ia)<sup>5)</sup>. L-Tryptophan (I) wurde mit Acetanhydrid und Natronlauge acetyliert. Das N-Acetyl-Derivat wurde aus Methanol-Chloroform umkristallisiert und 24 Std. bei 70° im Hochvakuum getrocknet. Smp. 180–182°.  $[\alpha]_D^{20} = +27,4^\circ$  ( $c = 1$ ; Natriumsalz in Wasser).

$C_{13}H_{14}O_3N_2$  Ber. C 63,40 H 5,73% Gef. C 63,39 H 5,79%

*Abbau von N-Acetyl-L-tryptophan (Ia) mit Ozon. Isolierung von N-Acetyl-L-asparaginsäure-dimethylester (II)*. 1,2 g N-Acetyl-L-tryptophan (Ia) wurden in 60 ml Methanol-Wasser 1:1 gelöst. Durch die Lösung wurde bei  $-10^\circ$  und einer Strömungsgeschwindigkeit von 300 ml pro Min. während 1 Std. 4-proz. Ozon geleitet. Die klare, gelbliche Flüssigkeit wurde mit 5 ml Ameisensäure und 5 ml 30-proz. Wasserstoffperoxyd versetzt, nach 24 Std. im Vakuum auf 5 ml eingeeengt und nach mermaliger Zugabe von je 50 ml Wasser jeweils wieder eingedampft, bis der Geruch nach Perameisensäure verschwunden war. Der Eindampfrückstand (1,4 g) wurde 24 Std. im Hochvakuum getrocknet, in 30 ml Methanol gelöst und mit ätherischem Diazomethan verestert. Der in Benzol lösliche Teil des Estergemisches wurde bei 160–165° Badtemperatur zweimal im Kugelrohr im Hochvakuum destilliert. Das Destillat, 390 mg gelbliches Öl, wurde an Aluminiumoxyd der Akt. III chromatographiert. Das Benzol-Eluat (90 mg Öl) gab aus Essigester-Petroläther 54 mg reinen N-Acetyl-L-asparaginsäure-dimethylester (II), der bei 20° im Hoch-

<sup>4)</sup> Vgl. H. BRAUNSCHWEIGER, Diss. ETH, Zürich, Nr. 2787 (1958); A. ZÜST, F. LOHSE & E. HARDEGGER, *Helv.* 43, 1274 (1960); E. HARDEGGER, H. GEMPELER & A. ZÜST, *Helv.* 40, 1819 (1957); H. CORRODI & E. HARDEGGER, *Helv.* 39, 889 (1956); 38, 2030, 2038 (1955).

<sup>5)</sup> Hergestellt nach V. DU VIGNEAUD & R. R. SEALOCK, *J. biol. Chemistry* 96, 511 (1932), die für reines N-Acetyl-L-tryptophan Smp. 189–190°,  $[\alpha]_D^{20} = +30^\circ$  fanden.

<sup>6)</sup> Wir erhielten in Anlehnung an die Vorschrift von E. CHERBULIEZ & PL. A. PLATTNER, *Helv.* 12, 317 (1929), aus L-Asparaginsäure optisch reinen N-Acetyl-L-asparaginsäure-dimethylester, während die Autoren bei der Herstellung des Diäthylesters fast vollständige Racemisierung beobachteten. K. FREUDENBERG & A. NOE, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 58, 2407 (1925).

<sup>7)</sup> Die Smp. sind nicht korrigiert.

vakuum 3 Tage getrocknet wurde. Smp. 60–61°,  $[\alpha]_D = -13,4^\circ$  ( $c = 0,5$  in Alkohol). Misch-Smp. mit den aus L-Asparaginsäure (III) hergestellten Präparaten ohne Depression.

$C_8H_{13}O_5N$  Ber. C 47,29 H 6,45% Gef. C 47,49 H 6,46%

*N-Acetyl-L-asparaginsäure-dimethylester (II) aus L-Asparaginsäure (III) bzw. L-Asparaginsäure-dimethylester (IIIa).* – Nach E. CHERBULIEZ & PL. A. PLATTNER<sup>8)</sup>: 4 g L-Asparaginsäure (III) wurden in 100 ml Methanol durch Einleiten von HCl-Gas gelöst. Die Mischung wurde nach 20 Std. eingedampft, kurze Zeit im Hochvakuum bei 70° getrocknet und nach erneuter Zugabe von Methanol und Chlorwasserstoff 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Das gelbliche Harz, das nach dem Eindampfen zurückblieb, wurde im Hochvakuum getrocknet und mit 4,5 g frisch geschmolzenem Natriumacetat und 8,5 g Acetanhydrid 1 Std. auf 90–100° erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0° mit konz. Natronlauge alkalisch gemacht und mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig gesättigter Kochsalzlösung gewaschenen Chloroformauszüge wurden eingedampft und der Rückstand zweimal bei 150–160° Badtemperatur im Hochvakuum im Kugelrohr destilliert. Das aus Essigester-Ligroin kristallisierte Destillat, Smp. 60–61°, wurde bei 20° 24 Std. im Hochvakuum getrocknet.  $[\alpha]_D = -12,9^\circ$  ( $c = 1,1$  in Alkohol).

$C_8H_{13}O_5N$  Ber. C 47,29 H 6,45% Gef. C 47,32 H 6,58%

Nach K. FREUDENBERG & A. NOE<sup>8)</sup>: 3,5 g L-Asparaginsäure-dimethylester (IIIa)<sup>8)</sup> wurden bei –10° mit 3,5 g Pyridin und 3,5 g Acetanhydrid versetzt und 20 Std. bei 20° stengelassen. Das Acetyl-Derivat wurde (vgl. oben) durch Destillation und Umkristallisieren gereinigt und getrocknet. Smp. 61°.  $[\alpha]_D = -12,9^\circ$  ( $c = 1$  in Alkohol)

$C_8H_{13}O_5N$  Ber. C 47,29 H 6,45% Gef. C 47,19 H 6,34%

*Verseifung von N-Acetyl-L-asparaginsäure-dimethylester (II) zu L-Asparaginsäure (III).* 0,6 g N-Acetyl-L-asparaginsäure-dimethylester (II) (synthetisches Vergleichspräparat) wurden mit 5 ml 2N Schwefelsäure 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Schwefelsäure wurde mit Bariumhydroxyd-Lösung entfernt und die L-Asparaginsäure aus Wasser umkristallisiert. Das 2 Tage im Hochvakuum getrocknete Präparat zersetzte sich bei 280°.  $[\alpha]_D = +25,8^\circ$  ( $c = 1$  in 1N Salzsäure). Rf = 0,48 bei 20° auf WHATMAN-Papier Nr. 1 in Methanol-konz. Ammoniak 3:1.

20 mg N-Acetyl-L-asparaginsäure-dimethylester (aus Abbau) wurden 2 Std. mit verd. Salzsäure unter Rückfluss gekocht und im Vakuum zur Trockene eingedampft. Rf = 0,48 wie oben.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die L- bzw. S-Konfiguration des natürlichen Tryptophans wurde durch Abbau zu N-Acetyl-L-asparaginsäure-dimethylester bewiesen.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

<sup>8)</sup> Aus L-Asparagin nach E. FISCHER & E. KOENIGS, Ber. deutsch. chem. Ges. 40, 2058 (1907).