

124. Synthetische Versuche in der Gruppe der cytotoxisch wirksamen Substanzen

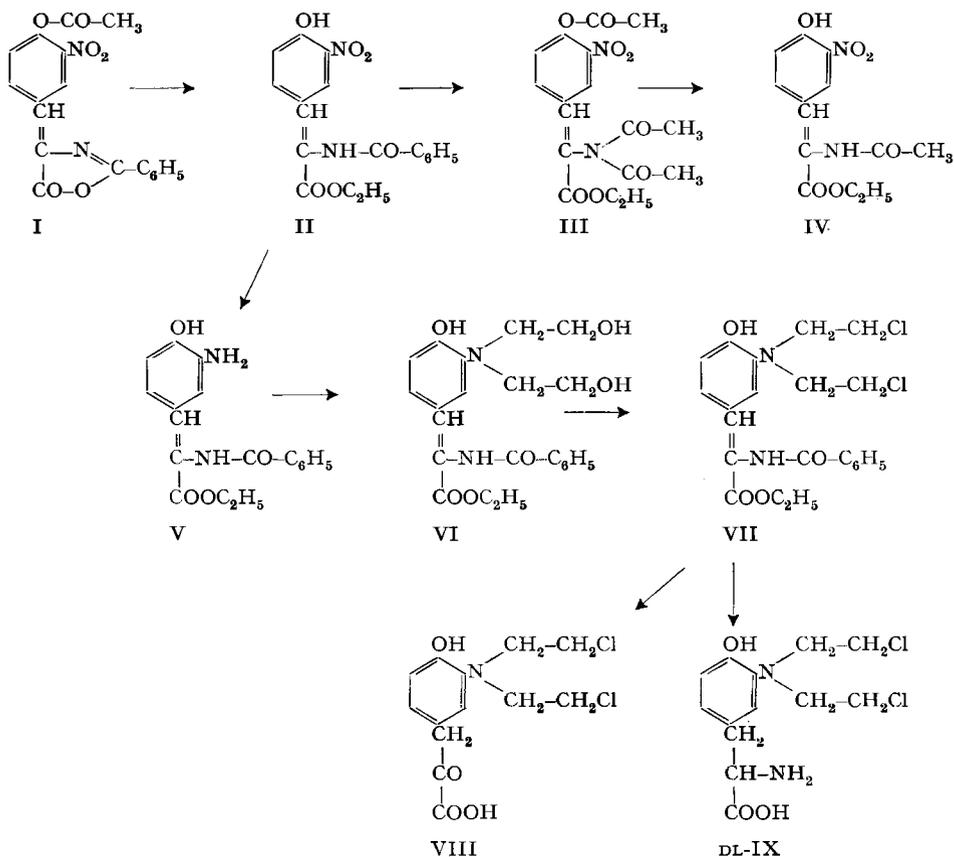
Darstellung von DL- und L-3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylalanin

von L. Dall'Asta und P. Ferrario¹⁾

(1. III. 62)

Wir berichten hier über die Synthese und die chemischen Eigenschaften von DL- und L-3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylalanin (IX).

A. Zur Darstellung des racemischen Produktes sind wir vom 2-Phenyl-4-(3-nitro-4-acetoxy-benzyliden)-oxazolone(5) (I) ausgegangen, welches durch Alkohololyse in



¹⁾ Vorgetragen in der Sommerversammlung der Schweiz. chem. Gesellschaft vom 23. September 1961 in Biel (vgl. *Chimia* 15, 572 (1961)) und veröffentlicht laut besonderem Beschluss des Redaktionskomitees.

Gegenwart von konzentrierter Schwefelsäure α -Benzoylamino-3-nitro-4-hydroxy-zimtsäure-äthylester (II) ergibt.

Das Vorhandensein der freien Hydroxylgruppe im letzteren Produkt ergibt sich eindeutig aus der bathochromen Verschiebung des Absorptionsmaximums im Ultraviolett. Während nämlich das Oxazolone I $\lambda_{max} = 365 \text{ m}\mu$ (in Chloroform, $\epsilon = 35511$) zeigt, was mit dem Wert $\lambda_{max} = 362 \text{ m}\mu$ (in Tetrachlorkohlenstoff, $\epsilon = 34928$) des entsprechenden 2-Phenyl-4-(*m*-nitro-benzyliden)-oxazolons-(5) fast übereinstimmt, findet man im Ester II das Absorptionsmaximum bei $292 \text{ m}\mu$ (in Äthanol, $\epsilon = 21486$); d. h. im Vergleich mit dem des α -Benzoylamino-*m*-nitro-zimtsäure-äthylesters $\lambda_{max} = 266 \text{ m}\mu$ (in Äthanol, $\epsilon = 22529$) ist dieses Maximum um $26 \text{ m}\mu$ verschoben. Diese Verschiebung beruht wohl auf der Möglichkeit einer Polarisierung bei II, die zu einer Verstärkung der Konjugation führt. Dass in II die O-Acetylgruppe von I in eine freie Phenolgruppe umgewandelt worden ist, ergibt sich auch daraus, dass II mit 0,1N NaOH in Äthanol potentiometrisch titriert werden kann.

Durch Erhitzen von II mit Essigsäureanhydrid im Überschuss gewinnt man eine Substanz vom Smp. $91\text{--}93^\circ$ und Molekulargewicht 379 (kryoskopische Bestimmung in Benzol). Deren Formulierung als α -Diacetylamino-3-nitro-4-acetoxy-zimtsäure-äthylester (III) stützt sich auf folgenden Tatsachen:

1) Das gefundene Molekulargewicht (für III ber. 378).

2) Durch Behandlung mit Benzylamin in der Kälte können zwei Acetylgruppen selektiv abgespalten werden (berechnet aus dem Verbrauch an Amin, durch Rücktitration des Überschusses bestimmt). Das entspricht der Abspaltung eines Acetylrestes aus der Diacetylamino-Gruppe und der Aminolyse der Phenolester-Gruppe.

3) Durch Hydrolyse mit alkoholischer 0,1N NaOH nach dem Verfahren von KUNZ & HUDSON²⁾ lassen sich vier säureliefernde Gruppen titrieren.

4) Nach PHILLIPS³⁾ lassen sich drei an Sauerstoff bzw. Stickstoff gebundene Acetylgruppen bestimmen.

Bei mehrstündiger Wasserdampfdestillation von III wird Essigsäure unter Bildung des gelben α -Acetylamino-3-nitro-4-hydroxy-zimtsäure-äthylesters (IV) abgespalten.

Bei der katalytischen Reduktion sowohl von II als auch von III wird stets nur die Nitrogruppe zum Amin reduziert. Selbst beim Hydrieren unter Druck und bei erhöhter Temperatur ($180\text{--}200^\circ$) wird die Doppelbindung nicht angegriffen. Infolge dieser Schwierigkeit wurde die Synthese nur mit II weitergeführt.

Der durch Reduktion von II gewonnene α -Benzoylamino-3-amino-4-hydroxy-zimtsäure-äthylester (V) ergibt mit Äthylenoxid in wässriger Essigsäure ein gut schmelzendes N,N-Dihydroxyäthyl-Derivat VI. Eine negative Diazotierung (Diazotierung und Kupplung mit β -Naphthol) zeigte das Verschwinden der freien aromatischen Aminogruppe und damit das Ende der Reaktion an. Das entstandene Produkt war dünnschichtchromatographisch einheitlich. Bei direkter potentiometrischer Titration mit 0,1N NaOH verbrauchen sowohl das Amino- als auch das N,N-Dihydroxy-äthyl-Derivat die theoretische Menge Alkali.

Die Chlorierung mit SOCl_2 ergab in guter Ausbeute den α -Benzoylamino-3-[di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-zimtsäure-äthylester (VII). Versuche, VII mit H_2

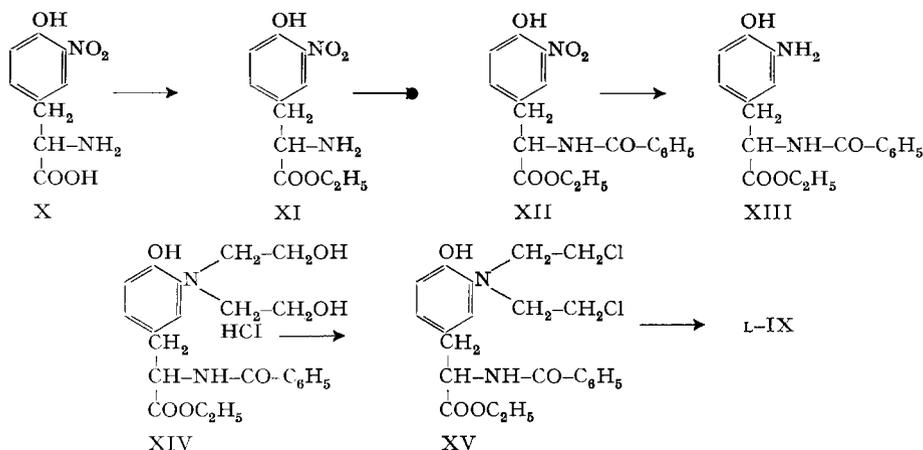
²⁾ A. KUNZ & C. S. HUDSON, J. Amer. chem. Soc. 48, 1982 (1926).

³⁾ M. PHILLIPS, Ind. Engng. Chemistry, Analyt. Edit. 6, 321 (1934).

und Pd-C in der Wärme und unter Druck zu reduzieren, waren erfolglos. Bei saurer Hydrolyse von VII gewinnt man eine Lösung, die nach Abfiltrieren der abgespaltenen Benzoesäure nur *eine*, chromatographisch einheitliche Verbindung enthält (ein einziger Fleck mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin). Es lässt sich aus dieser Lösung bei pH 1,85 die 3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylbrenztraubensäure (VIII) isolieren.

Die gewünschte Aminosäure IX konnten wir durch Behandlung von VII mit Zn und konzentrierter Salzsäure und nachfolgendem Erwärmen unter Rückfluss erhalten. (BERGEL & STOCK⁴) waren schon bei ähnlichen Derivaten so vorgegangen.) Dabei tritt die Carbonylverbindung nicht auf; im Dünnschichtchromatogramm ist nur *ein* Fleck mit violetter Ninhydrinfärbung zu sehen. Nach Entfernung der Benzoesäure erhält man aus der Lösung bei pH 3,5 das DL-3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylalanin (DL-IX).

B. Zur Darstellung der L-Form von IX wählten wir folgenden Weg:



Obwohl die Herstellung des L-3-Nitrotyrosins bereits von verschiedenen Autoren⁵⁾ beschrieben worden ist, sind die Ausbeuten (65%) nur von JOHNSON & KOHMANN angegeben. Wie im experimentellen Teil berichtet wird, erhielten wir das Produkt in besserer Ausbeute durch stufenweise Nitrierung und Verwendung von NaHCO_3 für die Freisetzung der Base.

L-3-Nitrotyrosin (X) wurde in den gut kristallisierten Äthylester XI übergeführt, der durch Umsetzung mit Benzoylchlorid den L- α -Benzoylamino-3-nitro-4-hydroxyphenylpropionsäure-äthylester (XII) ergab. Das erhaltene feste Produkt ist mittels 0,1N NaOH in Äthanol titrierbar.

Das nach Hydrierung der NO_2 -Gruppe durch Kondensation mit Äthylenoxid gebildete N,N-Dihydroxyäthyl-Derivat ergibt nach Chlorierung und Hydrolyse das L-3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylalanin (L-IX).

⁴⁾ F. BERGEL & J. A. STOCK, J. chem. Soc. 1957, 4563.

⁵⁾ A. STRECKER, Liebigs Ann. Chem. 73, 70 (1850); G. STÄDELER, *ibid.* 116, 57 (1860); T. B. JOHNSON & E. F. KOHMANN, J. Amer. chem. Soc. 37, 1863 (1915); E. WASER & M. LEWANDOWSKI, Helv. 4, 659 (1921).

Die Verseifungsgeschwindigkeit des Halogens der β -Chloräthyl-Funktion von L-IX und DL-IX wurde mit jener des DL-*para* und DL-*meta*-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-phenylalanins verglichen. Die bei der Hydrolyse in Hydrogencarbonat-Pufferlösung bei pH 7,5 freigesetzten Chlor-Ionen wurden mercurimetrisch nach CLARKE bestimmt⁶⁾ (Tabelle 1).

Sowohl die racemische als auch die linksdrehende Form des 3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylalanins wurden auf Sarkom 180 an weissen Mäusen experimentell geprüft⁷⁾.

Tabelle 1. Messung der Geschwindigkeit der hydrol. Abspaltung von Cl⁻ aus verschiedenen β -Chloräthylamin-Derivaten in Hydrogencarbonat-Pufferlösung (pH = 7,5) bei 20°

Konzentration der Substanzen: 0,01 M

Konzentration des Hydrogencarbonats: 0,026 M

Substanz	Äquivalente Cl ⁻ /Mol abgespalten in				
	5'	30'	1 h	4 h	24 h
DL- <i>p</i> -[Di-(β -chloräthyl)-amino]-phenylalanin	0,05	0,065	0,073	0,175	0,56
DL- <i>m</i> -[Di-(β -chloräthyl)-amino]-phenylalanin	0,02	0,038	0,068	0,19	0,81
DL- und L-3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylalanin	0,18	0,76	1,01	1,73	2

Experimenteller Teil

Die Smp. sind in der Kapillare bestimmt und unkorrigiert. Bei der dünn-schichtchromatographischen Analyse auf Kieselgel G MERCK wurden folgende Lösungsmittel verwendet (die Zahlen bedeuten Volumina): System A = Essigsäure:Wasser 90:10; System B = Essigester:Hexan 40:60; System C = Methyläthylketon:Propionsäure:Wasser 60:20:20; System D = mit Wasser gesättigtes *n*-Butanol.

A. Racemisches 3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylalanin

2-Phenyl-4-(3-nitro-4-acetoxy-benzyliden)-oxazolone-(5) (I). Eine Suspension von 98 g (1 Mol) wasserfreiem Kaliumacetat in 630 ml Essigsäureanhydrid wird unter Rühren mit einer Mischung von 167 g (1 Mol) 3-Nitro-4-hydroxy-benzaldehyd⁸⁾ und 179 g (1 Mol) Hippursäure versetzt. Innerhalb weniger Min. erstarrt das Ganze zu einer orangefarbenen Masse, während die Temperatur 75° erreicht. Sobald die Temperatur auf 30° gesunken ist, wird das Gemisch abfiltriert. Das feste Produkt wird in 500 g Eis und 1000 ml Wasser eingetragen und wieder abgesaugt. Man erhält 291 g Substanz vom Smp. 178–183°. Aus Toluol orangefarbene Nadeln. Smp. 183–186°. λ_{max} = 365 m μ (in Chloroform, ϵ = 35511).

C₁₈H₁₂O₆N₂ Ber. C 61,36 H 3,43 N 7,95% Gef. C 61,63 H 3,4 N 7,89%

α -Benzoylamino-3-nitro-4-hydroxy-zimtsäure-äthylester (II). 282 g (0,8 Mol) Azlacton I, 1800 ml Äthanol und 130 ml H₂SO₄ werden 4 Std. unter Rühren gekocht. Nach dem Erkalten auf Raumtemperatur wird der Ester abgesaugt, in 2000 ml Eiswasser verteilt, wieder abfiltriert und mit Eiswasser säurefrei gewaschen. Ausbeute 225 g (79%) II. Smp. 182–185°. Aus Äthanol hellgelbe Kristalle vom Smp. 184–186°. λ_{max} = 292 m μ (in Äthanol, ϵ = 21486).

C₁₈H₁₆O₆N₂ Ber. N 7,86% Gef. N 7,76%

⁶⁾ F. E. CLARKE, *Analyt. Chemistry* 22, 553 (1950).

⁷⁾ Die Resultate sind von DE BARBIERI und Mitarb. am 2. Internat. Symposium über Chemotherapie in Neapel, September 1961, vorgetragen worden.

⁸⁾ C. PAAL, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 28, 2413 (1895).

α -Diacetylamino-3-nitro-4-acetoxy-zimtsäure-äthylester (III). 200 g (0,56 Mol) II werden mit 410 ml Essigsäureanhydrid bei 145–150° Badtemperatur 10 Std. gekocht. Die nach Abkühlung filtrierte Lösung wird unter kräftigem Rühren auf 1000 g Eis gegossen. Nach Abgiessen des Wassers wird das ölige Rohprodukt so oft in Wasser aufgeschwemmt bis letzteres neutral bleibt. Das immer noch ölige Rohprodukt wird 10 Min. mit 100 ml Äther ausgekocht und abfiltriert. Ausbeute: 135 g III; Kristalle vom Smp. 87–89°. Aus Äther weisse Plättchen. Smp. 91–93°.

$C_{17}H_{18}O_8N_2$ Ber. C 53,96 H 4,8 N 7,4% Gef. C 53,61 H 4,73 N 7,42%

α -Acetylamino-3-nitro-4-hydroxy-zimtsäure-äthylester (IV). Eine Suspension von 10 g III in 200 ml Wasser wird bis zum Verschwinden der Essigsäure mit Wasserdampf destilliert (etwa 20 Std.). Aus der Lösung scheidet sich IV in gelben Plättchen vom Smp. 163–164° ab.

$C_{13}H_{14}O_6N_2$ Ber. C 53,05 H 4,8 N 9,52% Gef. C 52,87 H 4,78 N 9,5%

α -Benzoylamino-3-amino-4-hydroxy-zimtsäure-äthylester (V). 232 g (0,65 Mol) II werden in 1500 ml Äthanol mit 11 g 5-proz. Pd-Kohle bei Raumtemperatur hydriert. Die Reduktion der NO_2 -Gruppe ist in ungefähr 2 Std. beendet. Nach Entfernung des Katalysators wird die Lösung auf 600 ml im Vakuum eingengt und mit Eis gekühlt. Es scheiden sich 175 g V vom Smp. 168–170° ab. Aus Äthanol hellgelbe Kristalle vom Smp. 171–173°.

$C_{18}H_{18}O_4N_2$ Ber. N 8,58% Gef. N 8,52%

α -Benzoylamino-3-[di-(β -hydroxyäthyl)-amino]-4-hydroxy-zimtsäure-äthylester (VI). 130 g (0,4 Mol) V in 130 ml (2,27 Mol) Essigsäure und 260 ml Wasser werden unter Eiskühlung mit 450 ml Äthylenoxid versetzt und 20 Std. bei 5–10° stehengelassen. Nach Entfernung des überschüssigen Äthylenoxids aus der so gewonnenen Lösung durch Evakuieren gibt man langsam und unter Kühlung 210 g (2,5 Mol) $NaHCO_3$ zu. Das ausgeschiedene Öl wird mit 1000 ml Methylenchlorid extrahiert und der Methylenchloridextrakt mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wird die Lösung bei 30° im Wasserstrahlvakuum eingedampft. Der erhaltene ölige Rückstand kristallisiert spontan. Nach Waschen mit Äther erhält man 130 g (78%) VI, Smp. 131–136°. Aus Dichloräthan farblose Kristalle vom Smp. 133–136°.

$C_{22}H_{26}O_6N_2$ Ber. N 6,76% Gef. N 6,76%

α -Benzoylamino-3-[di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-zimtsäure-äthylester (VII). 50 g (0,12 Mol) VI in 500 ml wasserfreiem Methylenchlorid werden mit 24 ml (0,33 Mol) $SOCl_2$ in 80 ml Methylenchlorid bei 5° unter Rühren versetzt. Nach 24 Std. stehen bei 20–22° wird die rötliche Lösung 1 Std. auf 40° erhitzt und danach im Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand wird mit 500 ml Äthanol versetzt. Nach Eiskühlung erhält man 40 g Hydrochlorid von VII mit 1 Mol. Kristallalkohol (VII-HCl, C_2H_5OH). Smp. 106–110° (Zers.). Durch Einengen des Filtrats werden weitere 12 g (81%) VII-HCl, C_2H_5OH vom Smp. 104–108° (Zers.) gewonnen. Aus Äthanol kleine weisse Plättchen vom Smp. 109–112° (Zers.). Durch Lösen in Äthanol und Einstellen auf pH = 3,5 mit wässriger Natriumacetatlösung gewinnt man VII; aus Äthanol weisse Kristalle vom Smp. 127–128,5°.

$C_{22}H_{24}O_4N_2Cl_2$ Ber. N 6,20 Cl 15,71% Gef. N 6,25 Cl 15,68%

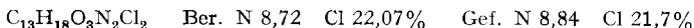
Eine alkoholische Lösung von VII, mit HCl-Gas behandelt, ergibt wieder VII-HCl, C_2H_5OH , während in Methylenchlorid VII-HCl vom Smp. 85–87° (Zers.) erhalten wird.

3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylbrenztraubensäure (VIII). 32 g (0,06 Mol) VII-HCl, C_2H_5OH werden 5 Std. unter Rückfluss mit 320 ml konz. HCl gekocht. Anfangs ist die Lösung klar, dann scheidet sich ein weisses, flockenartiges Produkt aus, welches sich schliesslich wieder löst. Nach Eiskühlung und Entfernung der Benzoesäure wird Natriumacetat bis pH = 1,85 zugesetzt. Die erhaltene halbfeste Masse wird mit 100 ml Chloroform extrahiert. Nach Waschen mit 50 ml Wasser, das die Essigsäure entfernt, scheiden sich 8,7 g VIII aus. Smp. 162–163° (Zers.). Aus Aceton-Petroläther hellgelbe Plättchen vom Smp. 167–168° (Zers.). Bei der Dünnschichtchromatographie im System D gibt das Produkt nur einen einzigen 2,4-Dinitrophenylhydrazinpositiven Fleck mit $R_f = 0,42$.

$C_{13}H_{15}O_4NCl_2$ Ber. N 4,37 Cl 22,14% Gef. N 4,43 Cl 22,05%

DL-3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylalanin (DL-IX). 20 g (0,037 Mol) VII-HCl, C_2H_5OH werden in 200 ml konz. HCl gelöst und unter Rühren mit 30 g Zinkpulver bei 10° in Portionen versetzt. Nach Auflösung des Zinks wird die Lösung 4 Std. unter Rückfluss gekocht.

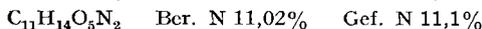
Nach Abkühlung wird die Benzoesäure abgesaugt und das Filtrat mit Natriumacetat auf pH = 3,5 eingestellt. Die Aminosäure wird aus der Lösung mit 100 ml Chloroform extrahiert. Der nach dem Einengen erhaltene ölige Rückstand liefert mit Äther 2,3 g IX. Smp. 197–202° (Zers.). Aus Aceton-Äther weisse Kristalle vom Smp. 209–212° (Zers.). Das Dünnschichtchromatogramm der Verbindung im System C zeigt nur einen einzigen Ninhydrin-positiven Fleck mit $R_f = 0,65$.



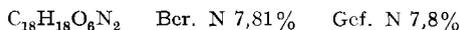
B. L-3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylalanin

L-3-Nitro-4-hydroxy-phenylalanin (X). Zu einer Suspension von 290 g (1,6 Mol) L-Tyrosin in 1200 ml Wasser lässt man 300 ml 50-proz. HNO_3 innerhalb 30 Min. bei Raumtemperatur unter Rühren zutropfen. Nach dem Erkalten der Lösung auf 5–8° im Eisbad werden weitere 640 ml 50-proz. HNO_3 innerhalb 2 Std. hinzugefügt; die Temperatur steigt bis 23°, wobei sich ein gelber Niederschlag auszuscheiden beginnt. Man rührt 5 Std. bei Raumtemperatur, dann lässt man über Nacht im Kühlschrank stehen. Das orangefarbene Produkt (X– HNO_3) wird abfiltriert; daraus erhält man X nach Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung. Ausbeute 265 g (73%). Smp. 215–217° (Zers.). $[\alpha]_D^{20} = +3,1^\circ$ ($c = 0,934$ in 1N HCl).

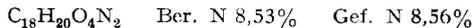
L- α -Amino-3-nitro-4-hydroxy-phenylpropionsäure-äthylester (XI). 186 g (0,82 Mol) X werden in 2600 ml absol. Äthanol unter Rühren 8 Std. zum Rückfluss im Chlorwasserstoff-Strom erhitzt. Nach Abkühlung aus der erhaltenen klaren Lösung scheidet sich ein gelbes, bei 178–179° schmelzendes Produkt aus. Ausbeute 200 g (84%) XI–HCl. Aus Äthanol kleine hellgelbe Nadeln. Smp. 179–180°. $[\alpha]_D^{20} = +4,6^\circ$ ($c = 1,2$ in Wasser); $[\alpha]_D^{20} = +21^\circ$ ($c = 0,57$ in Äthanol/Wasser = 2:3). – Aus dem Hydrochlorid gewinnt man mit wässriger NaHCO_3 -Lösung XI als orangefarbene Kristalle vom Smp. 152–154°. $[\alpha]_D^{20} = +14^\circ$ ($c = 0,52$ in Tetrahydrofuran/Wasser = 3:2).



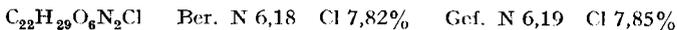
L- α -Benzoylamino-3-nitro-4-hydroxy-phenylpropionsäure-äthylester (XII). Zu einer Lösung von 240 g (0,825 Mol) XI–HCl in 830 ml Wasser gibt man unter kräftigem Rühren 2500 ml Chloroform und unter Eiskühlung auf 0° 165 ml 5N NaOH. Immer noch bei niedriger Temperatur versetzt man mit 106 ml (0,92 Mol) Benzoylchlorid, wobei die orangefarbene Masse gelbgrün wird. Man rührt gründlich 90 Min. lang, dann fügt man bei 0° 44 g (0,415 Mol) Na_2CO_3 zu. Nach Erwärmen im Wasserbad auf 30° wird die Chloroformschicht abgetrennt und die wässrige Phase mit weiteren 830 ml Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformschichten werden auf 800 ml eingeeengt und unter Rühren mit 1000 ml Hexan versetzt. Man erhält 268 g (91%) gelbe Kristalle vom Smp. 158–161°. Aus Chloroform-Hexan gelbe Plättchen, Smp. 158–160°. $[\alpha]_D^{20} = +21^\circ$ ($c = 0,72$ in Dioxan).



L- α -Benzoylamino-3-amino-4-hydroxy-phenylpropionsäure-äthylester (XIII). 286 g (0,8 Mol) XII in 1600 ml Äthanol werden mit 28 g 5-proz. Pd-Kohle versetzt und 3 Std. bei 40° und gewöhnlichem Druck hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wird die Lösung durch Behandeln mit Chlorwasserstoff-Gas auf Kongo angesäuert. Der nach Einengen erhaltene ölige Rückstand wird mit 2000 ml Äther versetzt. Man erhält 288 g XIII–HCl vom Smp. 192–194°. $[\alpha]_D^{20} = -46^\circ$ ($c = 0,75$ in Äthanol/Wasser = 2:3). – Aus dem Hydrochlorid gewinnt man mit einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung XIII in Form weisser Nadeln vom Smp. 90–92°. $[\alpha]_D^{20} = +31^\circ$ ($c = 0,67$ in Dioxan).



L- α -Benzoylamino-3-[di-(β -hydroxyäthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylpropionsäure-äthylester-hydrochlorid (XIV). Zu einer eisgekühlten Suspension von 100 g (0,3 Mol) XIII in 100 ml (1,74 Mol) Essigsäure gibt man 320 ml Äthylenoxid. Nach 20–24 Std. im Kühlschrank und nach Entfernung des überschüssigen Äthylenoxids wird die erhaltene Lösung unter Kühlung mit 160 g (1,9 Mol) NaHCO_3 in Portionen versetzt. Das ausgeschiedene gelbbraune Öl wird mit 400 ml Methylchlorid ausgezogen. Nach Waschen mit Wasser und Trocknen über Natriumsulfat wird die Methylchloridlösung durch Behandeln mit Chlorwasserstoff-Gas angesäuert. Nach Abfiltrierung wird das feste Hydrochlorid in 500 ml Aceton suspendiert und abgesaugt. Ausbeute 112 g XIV in Form farbloser Kristalle vom Smp. 175–177°. $[\alpha]_D^{20} = -49^\circ$ ($c = 0,92$ in Äthanol/Wasser = 2:3).



Aus XIV erhält man mit einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung die Base in Form weisser Plättchen vom Smp. 129–131°. $[\alpha]_D^{20} = +13^\circ$ ($c = 0,85$ in Dioxan). Das Dünnschichtchromatogramm der Verbindung im System A zeigt einen KMnO_4 -positiven Fleck mit $R_f = 0,68$.

L- α -Benzoylamino-3-[di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylpropionsäure-äthylester (XV). Eine Suspension von 50 g (0,11 Mol) XIV in 500 ml wasserfreiem Methylenchlorid wird mit 31,6 ml (0,44 Mol) SOCl_2 in 100 ml Methylenchlorid auf 5° unter Rühren versetzt. Nach 20 Std. bei 20–22° wird die Lösung 90 Min. in einem Bad von 40° erhitzt. Der nach dem Eindampfen erhaltene ölige Rückstand liefert durch Rühren mit 500 ml Äther 46,9 g XV, das ohne Schmelzen sich bei 70–72° zersetzt. Das Dünnschichtchromatogramm der Verbindung im System B zeigt nur einen KMnO_4 -positiven Fleck mit $R_f = 0,34$.

$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{N}_2\text{Cl}_2$ Ber. N 6,18 Cl 15,64% Gef. N 6,2 Cl 15,47%

L-3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylalanin (*L*-IX). 40 g (0,088 Mol) XV werden mit 400 ml 6N Salzsäure 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlung und Entfernung der Benzoesäure wird das Filtrat mit Natriumacetat auf $\text{pH} = 4,1$ eingestellt. Man extrahiert die Lösung mit 200 ml Chloroform. Der über Natriumsulfat getrocknete Extrakt wird im Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand wird mit 150 ml Äther versetzt und das erhaltene gelatinöse Produkt abfiltriert, mit 150 ml Aceton gewaschen und zentrifugiert. Nach Trocknung im Vakuum erhält man 6,8 g eines hellgelben Produktes vom Smp. 190–192° (Zers.). $[\alpha]_D^{20} = +21^\circ$ ($c = 1,33$ in 1N HCl); $[\alpha]_D^{20} = -19^\circ$ ($c = 0,65$ in Methanol). Das Dünnschichtchromatogramm der Verbindung im System C zeigt nur einen einzigen Ninhydrin-positiven Fleck mit dem gleichen R_f -Wert wie DL-IX.

$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{N}_2\text{Cl}_2$ Ber. N 8,72 Cl 22,07% Gef. N 8,8 Cl 21,79%

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird die Darstellung des DL- und des *L*-3-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-4-hydroxy-phenylalanins auf zwei Wegen beschrieben. Die Verseifungsgeschwindigkeit des Halogens der β -Chloräthyl-Funktion genannter Produkte wird mit jener des DL-*para*- und des DL-*meta*-[Di-(β -chloräthyl)-amino]-phenylalanins verglichen.

Organisch-chemisches Laboratorium
des ISTITUTO SIEROTERAPICO MILANESE «S. BELFANTI»
Milano

125. Recherches sur la formation et la transformation des esters XXXII¹⁾

Sur la préparation de quelques nouveaux monoesters cyanoalcoyl-phosphoriques et sur leur vitesse de scission à différents pH

par Emile Cherbuliez, H. Probst et J. Rabinowitz

(8 III 62)

Nous avons déjà montré que l'action de l'acide polyphosphorique sur les hydroxynitriles conduisait aux monoesters carbamido-alcoylphosphoriques correspondants et non aux monoesters cyano-alcoylphosphoriques²⁾. On peut par contre obtenir ces derniers en traitant les hydroxynitriles par l'oxychlorure de P²⁾.

¹⁾ XXXI^c Communication: Helv. 44, 1824 (1961).

²⁾ E. CHERBULIEZ, G. CORDAHI & J. RABINOWITZ, Helv. 43, 863 (1960).