

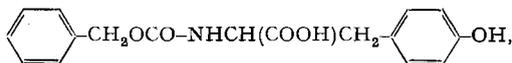
176. Aromatische Substitution des Tyrosins bei der sauren Hydrolyse seiner Carbobenzoxyderivate¹⁾

von **B. Iselin**

(30. V. 62)

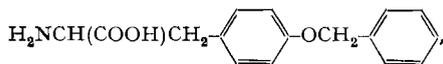
Im Laufe der Reinheitsprüfung der in der vorangehenden Mitteilung²⁾ beschriebenen Carbobenzoxyderivate von Tyrosin enthaltenden Peptiden hat Herr Dr. ZUBER in unseren Laboratorien festgestellt, dass bei der Totalhydrolyse mit 6N Salzsäure neben den erwarteten Aminosäuren zusätzliche, nicht identifizierbare Nebenprodukte entstehen. Nach Auftrennung mittels dem zweidimensionalen System Hochspannungselektrophorese/Papierchromatographie liessen sich zwei neue Substanzen nachweisen, wovon eine mit PAULY-Reagens und beide mit Ninhydrin anfärbbar waren. Bei der Totalhydrolyse von Tyrosinpeptiden mit ungeschützter α -Aminogruppe, wie z. B. von L-Prolyl-L-tyrosyl-N⁶-tosyl-L-lysyl-L-methionin²⁾ konnten diese Nebenprodukte jedoch nicht nachgewiesen werden³⁾. ZAHN & ZIEGLER⁴⁾, sowie HOFMANN und Mitarbeiter⁵⁾ haben über ähnliche Beobachtungen berichtet, die vermuten liessen, dass der bei der Hydrolyse von Carbobenzoxypeptiden freigesetzte Benzylalkohol⁴⁾, resp. entstandenes Benzylchlorid⁵⁾ mit Tyrosin reagiere, möglicherweise unter Bildung von Tyrosin-benzylester⁴⁾.

Um diese Nebenreaktion genauer zu untersuchen, haben wir als einfachste Modellsubstanz das Carbobenzoxy-L-tyrosin⁶⁾,



gewählt und diese Verbindung mit 6N Salzsäure hydrolysiert (20 Std. bei 115°). Nach einer rohen Auftrennung des erhaltenen Hydrolysats konnten papierchromatographisch neben Tyrosin (ca. 40%; rote Anfärbung mit PAULY-Reagens) drei weitere Substanzen nachgewiesen werden: «Derivat I» (ca. 10%; orange mit PAULY-Reagens), «Derivat II» (ca. 3%; gelb mit PAULY-Reagens) und «Derivat III» (als Gemisch mit II; keine Anfärbung mit PAULY-Reagens, aber gleich starke Anfärbung mit Ninhydrin, wie I und II).

Die Hydrolyse von O-Benzyl-L-tyrosin⁷⁾



¹⁾ Auszugsweise vorgetragen am 4. Europ. Peptid-Symposium in Moskau, 18.–21. Aug. 1961.

²⁾ B. ISELIN & R. SCHWYZER, *Helv.* **45**, 1499 (1962).

³⁾ Ich danke Herrn Dr. ZUBER herzlich für die Überlassung dieser Resultate.

⁴⁾ H. ZAHN & K. ZIEGLER, *Liebigs Ann. Chem.* **670**, 132 (1957).

⁵⁾ K. HOFMANN, T. LIU, H. YAJIMA, N. YANAIHARA & S. LANDE, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 2294 (1961); vgl. auch Decarbobenzoxylierungen mit Trifluoressigsäure: F. WEYGAND & W. STEGLICH, *Z. Naturforsch.* **14b**, 472 (1959).

⁶⁾ M. BERGMANN & L. ZERVAS, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **65**, 1192 (1932).

⁷⁾ E. WÜNSCH, G. FRIES & A. ZWICK, *Chem. Ber.* **97**, 542 (1958).

oder die Behandlung von L-Tyrosin mit 1 Äquivalent Benzylchlorid in 6N Salzsäure unter identischen Bedingungen ergab die gleichen Nebenprodukte I-III in ähnlichen Mengenverhältnissen. Die bei der Hydrolyse von Carbobenzoxy-L-tyrosin auftretenden Umwandlungsprodukte des Tyrosins entstehen somit sehr wahrscheinlich durch Einwirkung von freigesetztem Benzylchlorid auf Tyrosin.

In der Absicht, die Struktur der gebildeten Produkte aufzuklären, haben wir in präparativem Maßstab L-Tyrosin mit überschüssigem Benzylchlorid in 6N Salzsäure bei 110° behandelt und die Derivate I, II und III auf Grund der verschiedenen Löslichkeiten ihrer Hydrochloride getrennt.

Die von ausgeschiedenem Öl abgetrennte Reaktionslösung enthielt unverändertes Tyrosin und das Hydrochlorid von I, das infolge seiner relativ geringen Löslichkeit in 6N HCl leicht von Tyrosin abtrennbar war. Das während der Benzilylierung ausgeschiedene Öl, bestehend aus einem Gemisch von I und den in 6N HCl unlöslichen Hydrochloriden von II und III, wurde mehrmals zwischen 6N HCl und Essigester verteilt, wobei sich I in der wässrigen Phase anreicherte, während die in wassergesättigtem Essigester leicht löslichen Hydrochloride von II und III weitgehend in die organische Phase übergingen. Aus der Essigesterlösung schied sich beim Neutralisieren das Derivat II aus; das aus der Mutterlauge isolierte Derivat III wurde durch Extraktion mit 1N HCl von noch vorhandenem II abgetrennt und schliesslich durch Umfällen aus organischen Lösungsmitteln gereinigt.

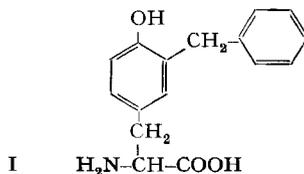
Nach mehrmaliger Wiederholung der oben beschriebenen Reinigungsschritte wurden die Derivate I, II und III in papierchromatographisch einheitlicher Form gewonnen. Das Derivat I erwies sich auf Grund seiner analytischen Zusammensetzung als ein Monobenzyl-tyrosin, während die Daten für die Derivate II und III auf einen Gehalt von 2–3 Benzylresten hinwiesen. Aus den Titrationskurven und der Aminostickstoff-Bestimmung nach VAN SLYKE ergab sich, dass alle drei Substanzen eine freie primäre Amino- und eine freie Carboxylgruppe enthielten. Auch die phenolische Hydroxylgruppe war unsubstituiert, denn die Derivate I, II und III zeigten – im Gegensatz zu O-Benzyltyrosin – im UV.-Spektrum die für freie Phenole typische bathochrome Verschiebung der Absorptionskurve in alkalischer Lösung. Zudem waren die 3 Produkte resistent gegen Hydrogenolyse unter Bedingungen, die zu einer vollständigen Debenzilylierung von N,N,O-Tribenzyl-tyrosin⁸⁾ führten.

Der Befund, dass in den erhaltenen Produkten die funktionellen Gruppen des Tyrosins unsubstituiert sind, lässt vermuten, dass bei der Benzilylierung von Tyrosin in 6N Salzsäure eine aromatische Substitution stattfindet. Dieser Schluss drängt sich um so mehr auf, als in der Literatur Beispiele von Benzilylierungen von Phenol in Gegenwart von konz. Salzsäure⁹⁾ oder bei der Spaltung von Phenylbenzyläther mittels gasförmigem Chlorwasserstoff¹⁰⁾ angeführt sind, die zu einem Gemisch bestehend aus *o*- und *p*-Benzylphenol und *o,p*-Dibenzylphenol führen. Auf Grund dieser Befunde und der Gesetzmässigkeiten der aromatischen Substitution ist anzunehmen, dass im ersten Schritt der Benzilylierung von Tyrosin in 6N Salzsäure ein Benzylkation in *o*-Stellung zur phenolischen Hydroxylgruppe angreift unter Bildung des Monobenzyl-derivats I, das somit als 3-Benzyl-L-tyrosin [oder β -(3-Benzyl-4-hydroxy-phenyl)-L- α -alanin] anzusprechen ist:

⁸⁾ L. VELLUZ, G. AMIARD & R. HEYMÈS, Bull. Soc. chim. France, 1955, 201.

⁹⁾ J. VON BRAUN & H. REICH, Liebigs Ann. Chem. 445, 225 (1925); vgl. auch L. CLAISEN, *ibid.* 442, 210 (1925).

¹⁰⁾ W. F. SHORT & M. L. STEWART, J. chem. Soc. 1929, 553.



Die Unstimmigkeiten in den analytischen Daten der Derivate II und III lassen keine eindeutigen Schlüsse auf ihre Konstitution zu, ausser dass in dem mit PAULY-Reagens nicht anfärbbaren Derivat III wahrscheinlich beide *o*-Stellungen zur phenolischen Hydroxylgruppe durch Benzylreste substituiert sind und somit keine Azokupplung mit dem Reagens (Diazoniumsalz der Sulfanilsäure) möglich ist.

Die Derivate I und III erwiesen sich im zweidimensionalen System Hochspannungselektrophorese/Papierchromatographie als identisch mit den bei der Totalhydrolyse von Tyrosin enthaltenden Carbobenzoxypeptiden²⁾ gefundenen Umwandlungsprodukten des Tyrosins. Zur Vermeidung von Unstimmigkeiten bei der analytischen Untersuchung solcher Peptide empfiehlt es sich daher, die Carbobenzoxygruppe vor der Totalhydrolyse zu eliminieren.

Experimenteller Teil

Die angegebenen Smp. sind in einer Kapillare im Heizbad bestimmt und nicht korrigiert.

Papierchromatographie (PCG) auf WHATMAN-PAPIER Nr. 1 absteigend in den Systemen: I = *n*-Butanol (100 ml), *n*-Propanol (25 ml), Wasser (25 ml); II = *t*-Amylalkohol (100 ml), Isopropanol (40 ml), Wasser (25 ml); III = *n*-Butanol (100 ml), Aceton (100 ml), Wasser (50 ml), Diäthylamin (20 ml); IV = *t*-Amylalkohol (100 ml), Isopropanol (40 ml), Wasser (50 ml), Triäthylamin (0,8 ml), Diäthylbarbitursäure (1,8 g); V = *s*-Butanol (70 ml), Isopropanol (10 ml), Wasser (40 ml), Monochloressigsäure (3 g); VI = Isopropanol (100 ml), Wasser (25 ml), 98-proz. Ameisensäure (5 ml); VII = *n*-Butanol (40 ml), Wasser (50 ml), Essigsäure (10 ml); Anfärbung mit Ninhydrin und PAULY-Reagens.

A. *Hydrolyse von Carbobenzoxy-L-tyrosin mit 6N Salzsäure*. Eine Suspension von 1,58 g (5 mMol) Carbobenzoxy-*L*-tyrosin⁶⁾, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +10,3 \pm 0,5^\circ$ ($c = 3,7$ in Eisessig); $+54,3 \pm 1^\circ$ ($c = 2,0$ in Chloroform), in 50 ml 6N HCl wird im Druckrohr 18 Std. auf 115° erhitzt. Nach Kühlen auf Zimmertemperatur wird die Lösung von dem ausgeschiedenen braunen Öl abdekantiert und im Vakuum vollständig eingedampft: fester Rückstand, 0,68 g, Gemisch von *L*-Tyrosin und Derivat I (PCG; Rf-Werte: siehe D). Das erhaltene Material wird mit 5 ml 6N HCl verrieben, die unlösliche Substanz abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft: 0,42 g (ca. 40%), prakt. reines *L*-Tyrosin-hydrochlorid (PCG); unlösliche Substanz: 0,19 g (ca. 12%), Hydrochlorid von Derivat I, verunreinigt mit ca. 5% Tyrosin (PCG).

Das während der Reaktion ausgeschiedene Öl wird zweimal mit 6N HCl verrieben, anschliessend in 10 ml Wasser gelöst, die Lösung mit Norit behandelt, filtriert und im Vakuum eingedampft: 0,49 g zähes Öl, Gemisch von Derivaten II und III, sowie wenig I. Zur weiteren Auftrennung wird das Öl in 5 ml Essigester aufgenommen, mit 5 ml 6N HCl extrahiert (der HCl-Extrakt enthält hauptsächlich Derivat I) und anschliessend unter Rühren mit soviel 2N KHCO_3 -Lösung versetzt, dass der pH-Wert zwischen 7 und 8 liegt. Aus dem zweiphasigen System scheidet sich beim Stehen flockiges, festes Material aus, das nach 1 Std. (bei 0°) isoliert wird: 60 mg, (ca. 3%), Derivat II, verunreinigt mit wenig I (PCG). Die vom Filtrat abgetrennte Essigester-Phase wird mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft: 0,32 g Öl, Gemisch von Derivat III und wenig II (PCG).

B. *Hydrolyse von O-Benzyl-L-tyrosin mit 6N Salzsäure*. 271 mg (1 mMol) O-Benzyl-*L*-tyrosin⁷⁾ werden in 10 ml 6N HCl suspendiert und auf 110° erhitzt. Das Ausgangsmaterial löst sich bei gelegentlichem Umschütteln innert ca. 30 Min. und gleichzeitig entsteht Benzylchlorid (Geruch); nach 18 Std. wird gekühlt und die vom ausgeschiedenen Öl abgetrennte Lösung im Vakuum ein-

gedampft: 0,16 g, Gemisch von L-Tyrosin-hydrochlorid und von Hydrochlorid des Derivats I im ungefähren Verhältnis 3:1 (PCG).

Das ausgeschiedene Öl liefert nach Waschen mit 6N HCl und Trocknen im Vakuum 30 mg eines bräunlichen Sirups, der Derivat II und wenig I enthält (PCG).

Wird die Reaktion nach Zugabe von 0,12 ml (1 mMol) Benzylchlorid unter den obigen Bedingungen durchgeführt, so enthält die Reaktionslösung nur 0,12 g des Gemisches von L-Tyrosin und Derivat I, während sich der Anteil des ausgeschiedenen Öls, das zusätzlich Derivat III enthält, auf 0,15 g erhöht.

C. Benzilylierung von L-Tyrosin in 6N Salzsäure. Eine Lösung von 0,91 g (5 mMol) L-Tyrosin in 50 ml 6N HCl wird mit 0,58 ml (5 mMol) Benzylchlorid versetzt und im Druckrohr 18 Std. auf 115° erhitzt. Nach der in Abschnitt A beschriebenen Auftrennung der Komponenten werden folgende Fraktionen erhalten (Bestimmung der Komponenten im PCG): 0,50 g (ca. 45%) L-Tyrosin-hydrochlorid; 0,15 g (ca. 10%) Hydrochlorid von Derivat I (und Spuren von Tyrosin); 0,07 g (ca. 3%) Derivat II (und wenig I); 0,34 g Öl, Gemisch von Derivat II und III.

D. Präparative Benzilylierung von L-Tyrosin. 18,1 g (0,1 Mol) L-Tyrosin werden in 500 ml 6N HCl unter Rückfluss auf 110° erhitzt und unter Rühren innert 2 Std. tropfenweise mit 23 ml (0,2 Mol) Benzylchlorid versetzt. Nach weiterem Rühren während 15 Std. bei 110° wird das durch ausgeschiedenes Öl getriebene Reaktionsgemisch auf Zimmertemperatur gekühlt, wobei viel Öl ausfällt. Die klare überstehende Lösung wird abdekantiert und der ölige Rückstand noch zweimal mit je 100 ml 6N HCl verrührt.

Derivat I: 3-Benzyl-L-tyrosin. Aus den vereinigten salzsauren Lösungen scheiden sich beim Stehen während 24 Std. 1,55 g papierchromatographisch reines Hydrochlorid des 3-Benzyl-L-tyrosins vom Smp. 236–240° (nach Sintern bei 225°) aus. Die Mutterlauge ergibt nach Eindampfen und Verrühren des Rückstandes (9 g) mit 100 ml 6N HCl weitere 1,01 g kristallines Hydrochlorid, das mit etwa 5% Tyrosin und wenig Derivat II verunreinigt ist (PCG). Die vereinigten Kristallfraktionen werden in 25 ml heisser 1N HCl aufgenommen. Diese Lösung wird bei Raumtemperatur mit Essigester extrahiert (Extrakte enthalten Derivat II) und anschliessend mit 2N KHCO₃-Lösung schwach alkalisch gestellt. Das ausgeschiedene feste Material wird abfiltriert und mit Wasser und heissem Methanol gewaschen: 1,40 g, Smp. 251–254°; $[\alpha]_D^{25} = +2,2^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,2$ in Gemisch 1N HCl/Methanol 1:1; L-Tyrosin zeigt in diesem Lösungsmittelgemisch: $[\alpha]_D^{25} = +2,4^\circ$). UV.-Absorption: λ_{max} 280 m μ , $\epsilon = 2600$ in Lösung von HCl (0,1N) in MeOH; λ_{max} 300 m μ , $\epsilon = 3400$ in Lösung von NaOCH₃ (0,1N) in MeOH (O-Benzyl-L-tyrosin: λ_{max} 276 m μ , $\epsilon = 1600$ und 282 m μ , $\epsilon = 1400$; keine Verschiebung der Maxima in alkalischer Lösung). Titration: pK_1 (COOH) 3,72 (Tyrosin 3,54), pK_2 (NH₃⁺) 9,34 (Tyrosin 9,50) in 80-proz. Methylcellulose; gefundenes Molekulargewicht 272. Die Substanz ist papierchromatographisch einheitlich; die R_f-Werte in den Systemen I 0,60, II 0,54, III 0,65, IV 0,71, V 0,81, VI 0,71 sind deutlich verschieden von denjenigen des Tyrosins (I 0,26, II 0,18, III 0,33, IV 0,27, V 0,51, VI 0,49) und die Reaktion mit PAULY-Reagens gibt im Gegensatz zu Tyrosin (rot) eine orange Färbung. Im zweidimensionalen System: Hochspannungselektrophorese bei pH 1,9, 50 V/cm, 75 Min., und Papierchromatographie im System VII zeigt die Substanz die gleiche Laufgeschwindigkeit wie das bei der Totalhydrolyse von Carbobenzoxyderivaten von Tyrosin enthaltenden Peptiden entstehende, mit PAULY-Reagens anfärbbare Nebenprodukt.

Die Substanz ist schwer löslich in Wasser und 0,1N HCl, löslich in heisser 1N HCl, aber wiederum schwer löslich in 6N HCl; praktisch unlöslich in allen organischen Lösungsmitteln; leicht löslich in 1N NaOH und in 1N-Lösung von HCl in Methanol.

$C_{16}H_{17}O_3N$	Ber. C 70,83	H 6,32	N 5,16%
(271,3)	Gef. „ 70,72	„ 6,33	„ 5,10 N _{NH₂} (VAN SLYKE) 5,02%

Hydrochlorid von I, hergestellt durch Lösen des obigen Materials in einer 1N-Lösung von HCl in Methanol und Kristallisation des nach Eindampfen erhaltenen Öls aus Äthanol/Äther: Smp. 239–243° (nach Sintern bei 232°).

$C_{16}H_{18}O_3NCl$ (307,8)	Ber. Cl 11,52%	Gef. 11,65%
------------------------------	----------------	-------------

Die Substanz bleibt unverändert unter hydrogenolytischen Bedingungen, die zu einer vollständigen Abspaltung der Benzylreste von O-Benzyl-L-tyrosin⁷⁾ oder N,N,O-Tribenzyltyrosin (hergestellt nach VELLUZ *et al.*⁸⁾), und umkristallisiert aus Methanol: Smp. 124–126°; $[\alpha]_D^{25} =$

$-17,1^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,0$ in Methanol); Literatur-Smp. 118–119°; $[\alpha]_D^{25} = -15^\circ$ in Methanol] führen.

Derivat II. Das aus der ursprünglichen Reaktionslösung ausgeschiedene und mit 6N HCl gewaschene Öl wird in 200 ml Essigester aufgenommen, die Lösung zweimal mit je 50 ml 6N HCl extrahiert (die vereinigten Extrakte ergeben nach Eindampfen 1,2 g eines Gemisches bestehend aus Derivaten I und II im Verhältnis ca. 4:1, PCG) und anschliessend unter Rühren mit 2N KHCO_3 -Lösung neutralisiert, wobei sich flockiges festes Material aus der zweiphasigen Lösung abscheidet; nach 1 Std. Stehen bei 0° wird abfiltriert (aus dem Filtrat wird Derivat III isoliert; siehe unten) und mit Wasser und Aceton gewaschen: 6,67 g, Gemisch von Derivaten I und II im Verhältnis ca. 1:3 (PCG) Zweimalige Wiederholung der obigen ziemlich verlustreichen Verteilung zwischen Essigester und 6N HCl und jeweilige Ausfällung durch Neutralisation der Essigesterlösung ergibt 2,6 g Derivat II, das noch ca. 5% Derivat I enthält. Nach nochmaliger Verteilung zwischen Essigester und 1N HCl und Waschen des isolierten Materials mit heissem Wasser und Methanol werden 1,93 g papierchromatographisch einheitliches Derivat II vom Smp. 230–243° (nach Sintern bei 215°) erhalten; $[\alpha]_D^{25} = +2,2^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,1$ in Gemisch 1N HCl/MeOH 1:1). UV.-Absorption wie diejenige von Derivat I, aber etwas höhere ϵ -Werte. Titration: pK_1 3,65, pK_2 9,64; gefundenes Molekulargewicht 394. Rf-Werte in den Systemen I 0,68, II 0,60, III 0,76, IV 0,77, V 0,92, VI 0,76; gelbe Anfärbung mit PAULY-Reagens. Die Löslichkeit der Substanz ist ähnlich derjenigen von Derivat I.

Dibenzylverbindung: $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N}$ (361,4) Ber. C 76,43 H 6,41 N 3,88%

Tribenzylverbindung: $\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{O}_3\text{N}$ (451,5) Ber. C 79,79 H 6,47 N 3,10%
Gef. „ 77,5 „ 6,5 „ 3,5 N_{NH_2} 3,44%

Hydrochlorid von II, nach Umkristallisieren aus Aceton/Acetonitril: Smp. 174–178°; unlöslich in Wasser, löslich in 1N HCl, Aceton, Tetrahydrofuran und heissem Acetonitril; unlöslich in trockenem Essigester, aber leicht löslich in mit Wasser gesättigtem Essigester. Die Analysenwerte liegen zwischen den für die Hydrochloride der Di- und Tribenzylverbindung berechneten Werten. Das aus dem Hydrochlorid freigesetzte Derivat II zeigt wiederum die oben angegebene analytische Zusammensetzung. Die Substanz erweist sich als vollkommen stabil gegen Hydrogenolyse.

Derivat III. Im Filtrat von Derivat II (siehe oben) wird die Essigesterphase abgetrennt, mit Wasser gewaschen und ohne Trocknung (Derivat III ist schwer löslich in trockenem Essigester) im Vakuum eingedampft. Das bei 0,1 Torr. getrocknete Öl (23 g) wird zweimal mit je 250 ml Essigester extrahiert, der unlösliche Rückstand mit Petroläther verrieben und das amorphe Pulver abfiltriert: 15,4 g, enthält Derivat II und III (im PCG schwache Anfärbung mit PAULY-Reagens, stark mit Ninhydrin). Zur Abtrennung von Derivat II (und Spuren von I) werden 5 g des Materials mehrmals bei 60° mit 1N HCl extrahiert; das unlösliche Öl wird jeweils abzentrifugiert, schliesslich in Essigester aufgenommen und die Lösung mit 1N HCl, 2N KHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen und ohne Trocknung im Vakuum auf ca. 50 ml eingengt. Das ausgeschiedene gallertige Material wird von der überstehenden Lösung getrennt, mit Essigester gewaschen und mit Äther zu Pulver verrieben: 3,3 g (keine Anfärbung mit PAULY-Reagens im PCG). Nach Umfällen aus Methanol/Acetonitril: 2,34 g, Smp. 184–190° (nach Sintern bei 175°); $[\alpha]_D^{25} = +5,3^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,1$ in Gemisch 1N HCl/Methanol 1:1). UV.-Absorption wie diejenige von Derivat I, aber Maxima um 4 μ in bathochromer Richtung verschoben. Titration: pK_1 3,61, pK_2 9,50; gefundenes Molekulargewicht 422. Die Substanz läuft im Papierchromatogramm einheitlich; Rf-Werte in den Systemen I 0,80 II 0,74; in übrigen Systemen gleiche Rf-Werte wie Derivat II, aber keine Anfärbung mit PAULY-Reagens. Auch im zweidimensionalen System (siehe Derivat I) ist die Substanz nicht weiter auffindbar und erweist sich als identisch mit dem bei der Totalhydrolyse von Carbobenzoxyderivaten von Tyrosinpeptiden gebildeten, mit PAULY-Reagens nicht anfärbaren Nebenprodukt.

Das Material ist im Gegensatz zu Derivaten I und II praktisch unlöslich in heisser 1N HCl und löslich in Methanol und heissem Äthanol; schwer löslich in trockenem Essigester, aber löslich in feuchtem Essigester.

Die Analysenergebnisse liegen zwischen den für die Di- und Tribenzylverbindung berechneten Werten:

Gef. C 77,9 H 6,6 N 3,1 N_{NH_2} 3,13%

Die Substanz bleibt unter hydrogenolytischen Bedingungen unverändert.

Herrn Prof. R. SCHWYZER möchte ich für seine Anregungen und Unterstützung während dieser Arbeit herzlich danken. Herrn R. SCHAUB danke ich für seine wertvolle technische Mitarbeit, Herrn Dr. W. PADOWETZ für die analytischen Daten, Herrn Dr. H. MAJER für die pK-Messungen und Herrn E. VON ARX für die Ausführung der Papierchromatogramme.

SUMMARY

The side reactions observed on acid hydrolysis (6 N HCl; 20 hrs at 115°C) of carbobenzoxy derivatives of tyrosine containing peptides were investigated by hydrolyzing carbobenzoxy-L-tyrosine or O-benzyl-L-tyrosine under the same conditions or by reacting L-tyrosine with benzylchloride in the presence of 6N HCl. In every instance the reaction mixture contained besides tyrosine 3 new products distinguishable by paper chromatography. The fractionation of the mixture yielded a mono-benzylated tyrosine considered to be 3-benzyl-L-tyrosine (I) and two different products which were shown to contain 2–3 benzyl residues in the aromatic ring. These results demonstrate that the benzyl cation formed in the course of the hydrolysis of carbobenzoxy derivatives of tyrosine containing peptides transforms L-tyrosine into derivatives substituted in the aromatic nucleus.

Forschungslaboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel,
Pharmazeutische Abteilung

177. Die Glykoside von *Streblus asper* LOUR. 1. Mitt. ¹⁾

Glykoside und Aglykone, 237. Mitteilung²⁾

von M. P. Khare, S. S. Bhatnagar³⁾, O. Schindler und T. Reichstein

(1. VI. 62)

Streblus asper LOUR. (*Moraceae*) ist ein kleiner, immergrüner, zweihäusiger Baum oder Strauch⁴⁾, der in den trockenen Teilen von Indien, Ceylon, Malaya, Vietnam und Thailand bis zu 600 m Höhe ü. M. heimisch ist. Die rauen Blätter dienen zum Polieren von Holz und Elfenbein. Extrakte der Blätter vermögen Milch zum Gerinnen zu bringen und können an Stelle von Labferment zur Bereitung von Käse verwendet werden⁵⁾ ⁶⁾. Die Blätter werden in beschränktem Masse auch medizinisch verwendet⁷⁾ ⁸⁾. VISSER⁹⁾ erhielt aus der Rinde einen Bitterstoff, der weder ein Glykosid noch ein Alkaloid sein soll. Über weitere chemische Befunde ist uns nichts bekannt, hin-

¹⁾ Auszug aus Diss. M. P. KHARE, Basel 1959.

²⁾ 236. Mitt.: E. ABISCH & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 1375 (1962).

³⁾ Colonel S. S. BHATNAGAR, Director CAIUS RESEARCH LABORATORY, St. Xavier's College, Cruickshank Rd., Bombay 1, India.

⁴⁾ Vgl. G. E. C. FISCHER, *Flora of the Presidency of Madras, Part VIII*, p. 1353, London (1928) sowie A. ENGLER & K. PRANTL: *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, III. Teil, IV. Abt., p. 77, Leipzig 1894.

⁵⁾ NOSHER N. DASTUR, *Indian Farming* 9, 451 (1949); *Chem. Abstr.* 46, 2706 i (1952).

⁶⁾ J. SRI RAM & K. K. REDDI, *J. Indian Inst. Sci.* 35A, 215 (1953); *Chem. Abstr.* 48, 214f (1954).

⁷⁾ K. HEYNE, *De Nuttige Planten van Nederlandsch Indie*, I, 551, 2e Druk (Buitenzorg 1927).

⁸⁾ R. N. CHOPRA, I. C. CHOPRA, K. L. HANDA & L. D. KAPUR, *CHOPRA'S Indigenous Drugs of India*, 2ed., p. 526 (Calcutta 1958).

⁹⁾ H. C. VISSER, *Nederl. Tijdschr. Farmac. Chem. en Toxicol.* 8, 204 (1896).