

bad) unter 0,001 Torr sublimiert. Ausbeute ca. 2 mg; Smp. 154°. Mischprobe mit authentischem Kopsan aus Pleiocarpin: 153–155°. Die Identität folgte auch aus dem dünnstschichtchromatographischen Vergleich und übereinstimmenden IR.-Spektren (CCl<sub>4</sub>).

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die Experimente, die zur Ableitung der Formel I für Kopsin, dem Hauptalkaloid aus *Kopsia fruticosa*, führten, werden beschrieben.

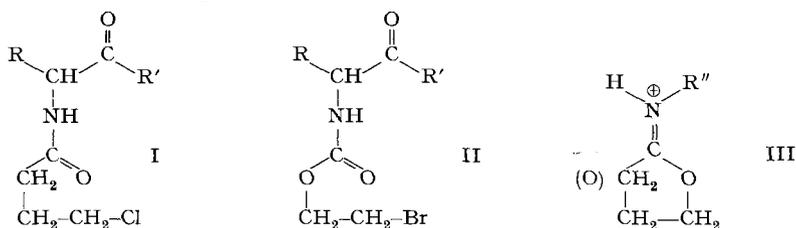
Department of Chemistry, Presidency College, Madras, und  
Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich

### 59. Notiz über eine Darstellungsmethode für N-Methyl-aminosäuren

von H. Peter<sup>1)</sup>, M. Brugger, J. Schreiber und A. Eschenmoser

(18. I. 63)

Im Zusammenhang mit Untersuchungen an N-( $\gamma$ -Chlorbutyryl)- und N-( $\beta$ -Bromäthoxy-carbonyl)-Derivaten (I, II) von Aminosäuren und Peptiden haben wir uns beiläufig mit einer einfachen Möglichkeit der spezifischen, unter milden Bedingungen und in hohen Ausbeuten verlaufenden N-Monomethylierung von primären Aminogruppen beschäftigt. In der vorliegenden Notiz möchten wir mit dem Beispiel der Darstellung von (+)-N <sub>$\alpha$</sub> -Methyl-L-tryptophan [(+)-Abrin] aus (–)-L-Tryptophan kurz auf diese Möglichkeit hinweisen, da dieselbe eine unter Umständen nützliche Ergänzung der bisher benützten Methoden<sup>2)</sup> zur Monomethylierung von optisch aktiven  $\alpha$ -Aminosäuren und von primären Aminen sein dürfte<sup>2a)</sup>.



N-acylierte Aminosäure- bzw. Peptid-Derivate der Formel I und II interessieren im Hinblick auf ihre Möglichkeit, unter geeigneten Reaktionsbedingungen durch eine unter Beteiligung der Amidgruppe verlaufende Substitutionsreaktion bekannten Typus<sup>3)</sup> in entsprechende cyclische Immoniumsalze der Formel III überzugehen. Die entsprechenden freien Iminolactone sind als tertiäre Basen spezifischen Monoalkylierungs- und Acylierungs-Reaktionen zugänglich, wobei sowohl die protonisierten

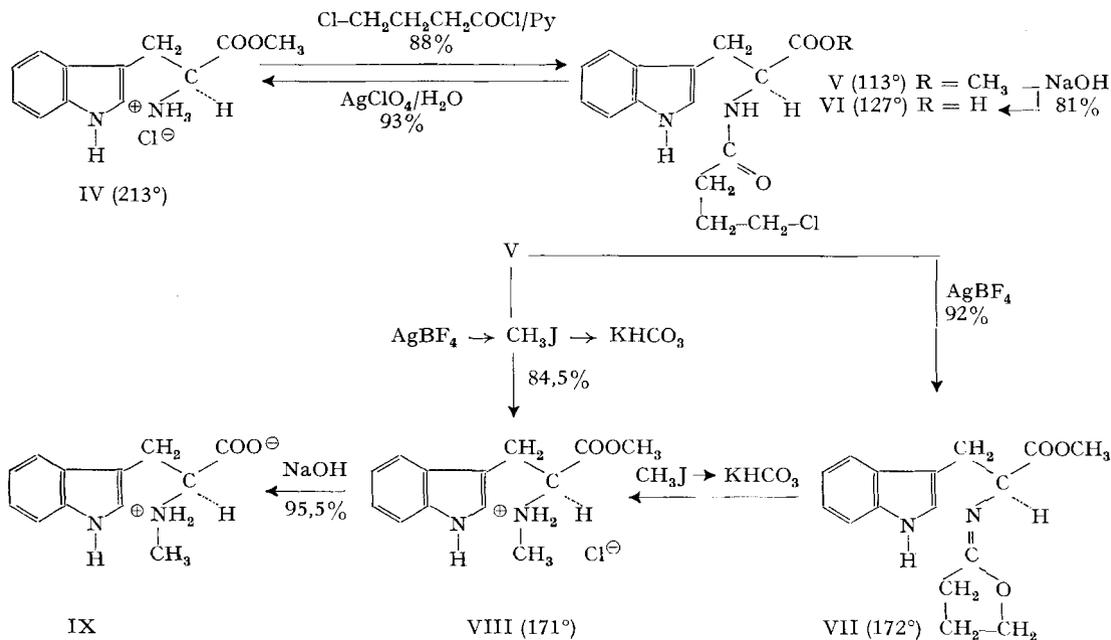
<sup>1)</sup> Vgl. H. PETER, Diss. ETH Zürich, 1961.

<sup>2)</sup> Vgl. J. P. GREENSTEIN & M. WINITZ, "Chemistry of the Amino Acids", J. Wiley 1961, S. 2750.

<sup>2a)</sup> Anmerkung bei der Korrektur: Vgl. auch P. QUITT, J. HELLERBACH & K. VOGLER, *Helv.* **46**, 327 (1963).

<sup>3)</sup> S. WINSTEIN & R. BOSCHAN, *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 4669 (1950); vgl. besonders die zusammenfassende Darstellung von B. WITKOP, "Nonenzymatic Methods for the preferential and selective Cleavage and Modification of Proteins" in "Advances in Protein Chemistry" **16**, 221 (1961).

Immoniumsalze III, wie auch deren Alkylierungs- bzw. Acylierungs-Analoga hydrolytisch sehr leicht spaltbar sind<sup>1) 3)</sup>. Angaben über die relative Leichtigkeit solcher Ringschluss-Isomerisierungen finden sich für einige einfache  $\gamma$ -Brombuttersäureamide in einer Arbeit von STIRLING<sup>4)</sup>. Nach den Angaben dieses Autors erfolgt z. B. der Übergang des  $\gamma$ -Brombuttersäure-N-cyclohexylamids in das entsprechende cyclische Immoniumsalz (III R'' = Cyclohexyl) beim Schmelzen der Verbindung oder beim Erhitzen derselben in äthanolischer Lösung. Ausgangspunkt eigener Untersuchungen war unsere Feststellung, dass diese Cyclisation z. B. in Methylenchlorid-Lösung durch das von MEERWEIN und Mitarb.<sup>5)</sup> für ähnliche Zwecke in der Chemie der Oxoniumsalze eingeführte Silber-tetrafluorborat bereits bei einer Reaktionstemperatur von  $-60^\circ$  sehr rasch ausgelöst wird. Für die in unserer Arbeit verfolgten Ziele erschien indessen die  $\gamma$ -Brombutyryl-Gruppierung nicht geeignet, da wir beobachteten, dass sich im Falle des  $\gamma$ -Brombuttersäure-N-cyclohexylamids die Isomerisierung teilweise bereits beim Umkristallisieren oder auch in festem Zustand bei längerem Stehenlassen bei Raumtemperatur vollzieht. Hingegen erwies sich erwartungsgemäss das entsprechende  $\gamma$ -Chlororderivat als thermisch genügend stabil<sup>6)</sup>, wobei dessen Cyclisation mit Silber-tetrafluorborat in Methylenchlorid bei  $0^\circ$  immer noch rasch und vollständig erfolgte. Ein Ausschnitt aus unseren Erfahrungen mit dieser letztgenannten Gruppierung, d. h. im besonderen deren Verwendung zur spezifischen Monomethylierung einer primären Aminogruppe, ist am Beispiel des (+)-N<sub>2</sub>-( $\gamma$ -Chlorbutyryl)-L-tryptophan-methylesters im nachfolgenden Reaktionsschema zusammengefasst und anschliessend näher beschrieben.



<sup>4)</sup> C. J. M. STIRLING, J. chem. Soc. 1960, 255.

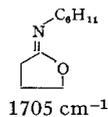
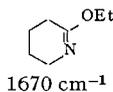
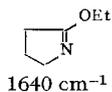
<sup>5)</sup> H. MEERWEIN, V. HEDERICH & K. WUNDERLICH, Arch. Pharm. 291/63, 541 (1958).

<sup>6)</sup> Smp.  $81^\circ$ ; unverändert nach einstündigem Schmelzen bei  $120^\circ$ ).

Das aus (+)-L-Tryptophan-methylester-hydrochlorid (IV) durch Acylierung mit  $\gamma$ -Chlorbuttersäurechlorid in Gegenwart von Pyridin zugängliche, kristallisierte N-Acylderivat V lieferte bei der Umsetzung mit einer Lösung von etwas mehr als einem Mol Silber-tetrafluorborat in Methylenchlorid-Benzol bei  $-20^\circ$  bis  $+20^\circ$  nach anschließender Freisetzung des basischen Reaktionsproduktes ein gut kristallisiertes Iminolacton  $C_{16}H_{18}O_3N_2$  in über 90-proz. Ausbeute. In Übereinstimmung mit der Konstitutionsformel VII<sup>7)</sup> sind im IR.-Spektrum dieses Reaktionsproduktes die für das Edukt V repräsentativen Banden der sekundären Amidgruppierung ( $3420, 1670, 1513\text{ cm}^{-1}$ ) verschwunden; an deren Stelle finden sich die beiden für eine Iminoester-Gruppe zu erwartenden Banden bei  $1695$  und  $1035\text{ cm}^{-1}$ , wobei die (C=N)-Streckschwingung entsprechend der Anordnung dieser Doppelbindung in einer Iminobutyrolacton-Gruppierung bei charakteristisch hoher Wellenzahl liegt<sup>8)</sup>. Wohl infolge des relativ tief, d. h. in Methylcellosolve-Wasser bei 5,1 liegenden  $pK_{MCS}^*$ -Werts<sup>9)</sup> des Iminolactons, verlief dessen Methylierung bei Raumtemperatur selbst in Acetonitril relativ langsam<sup>10)</sup>, lieferte aber nach direkt anschließender hydrolytischer Spaltung des N-Methylimmoniumsalzes mit 2 N Kaliumhydrogencarbonat-Lösung bei  $20^\circ$  ohne Schwierigkeiten den standslos (+)-N $_\alpha$ -Methyl-L-tryptophan-methylester, der als krist. Hydrochlorid VIII isoliert und charakterisiert wurde (vgl. exp. Teil). Präparativ vorteilhaft kann die Operationsfolge V  $\rightarrow$  VIII ohne Reinigung der Zwischenprodukte durchgeführt werden; in einem solchen Ansatz betrug die Ausbeute an reinem Hydrochlorid VIII 84,5%. Hydrolyse mit methanolischer Natronlauge bei Raumtemperatur führte zum (+)-N $_\alpha$ -Methyl-L-tryptophan (IX); die Gesamtausbeute, bezogen auf das Ausgangsprodukt (-)-L-Tryptophan, liegt bei 70%. Das partialsynthetische Produkt war dünnschichtchromatographisch einheitlich und vom L-Tryptophan leicht zu differenzieren; seine spezifische Drehung  $[\alpha]_D$  in 0,5 N HCl betrug  $+47^\circ$ , in befriedigender Übereinstimmung mit den in der Literatur<sup>11)</sup> für das natürliche (+)-Abrin angegebenen Werten von  $+44^\circ$  bis  $+46^\circ$ . Das in Nujol aufgenommene IR.-Spektrum erwies sich als identisch mit jenem einer Vergleichsprobe<sup>12)</sup> von (+)-Abrin natürlicher Provenienz. Optisch aktives N $_\alpha$ -Methyltryptophan war bisher nicht partialsynthetisch hergestellt worden; hingegen liegen Angaben über eine im Zusammenhang mit der Konstitutionsermittlung von (+)-Abrin durchgeführten Synthese der racemischen Form vor<sup>11b)</sup>.

<sup>7)</sup> Die Wiedergabe der Konfiguration an der (C=N)-Doppelbindung ist willkürlich.

<sup>8)</sup> Vergleichswerte  $\tilde{\nu}(C=N)$  in Chloroform:



<sup>9)</sup> Definition und Bestimmungsmethode: W. SIMON, *Helv. 41*, 1835 (1958). L-Tryptophan-methylester:  $pK_{MCS}^* = 6,6$ .

<sup>10)</sup> Vgl. hierzu Exp. Teil, S. 584.

<sup>11)</sup> a) W. M. CAHILL & R. W. JACKSON, *J. biol. Chemistry* **126**, 29 (1938); b) W. G. GORDON & R. W. JACKSON, *ibid.* **110**, 151 (1935); c) T. HOSHINO, *Proc. Imp. Acad. Japan* **11**, 227 (1935); *Liebigs Ann. Chem.* **520**, 31 (1935).

<sup>12)</sup> (+)-Abrin der Firma CARL ROTH, Karlsruhe. Wir danken Herrn Dr. E. VOGEL, FLUKA AG, Buchs, für die freundliche Überlassung des Vergleichspräparates.

Die N-Alkylierung von Iminoestern ist an sich bekannt<sup>13)</sup>, scheint jedoch bisher nicht zur selektiven Monoalkylierung von primären Aminen präparativ ausgewertet worden zu sein. Hingegen schliesst sich das hier beschriebene Verfahren formal unmittelbar an die DECKER-BECKER'sche Methode der Alkylierung von SCHIFF'schen Basen an<sup>14)</sup>. Nach den Ergebnissen orientierender Versuche<sup>15)</sup> dürften die Grenzen der Anwendbarkeit des Iminoester-Verfahrens in der Variierbarkeit des Alkylierungsmittels liegen. Während die Methylierung mit Methyljodid in allen von uns geprüften Fällen<sup>16)</sup> bei Raumtemperatur wie erwartet verlief, ergaben Versuche, unter gleichen Bedingungen das mit Methyljodid infolge seiner im Vergleich zu VII höheren Basizität<sup>18)</sup> besonders rasch reagierende N-Cyclohexyl-iminobutyrolacton mit Benzyljodid zu alkylieren, zur Hauptsache Ausgangsmaterial zurück. Dies weist auf eine besondere Empfindlichkeit der Alkylierungsreaktion auf sterische Faktoren hin, was insofern nicht unverständlich ist, als der Angriff des Alkylierungs-Agens vermutlich in der Ebene der Kohlenstoff-Stickstoff-Doppelbindung zu erfolgen hat.

Das  $\gamma$ -Chlorbutyryl-Derivat V des L-Tryptophan-methylesters liess sich in einer Lösung von Silberperchlorat in Aceton-Wasser bei Raumtemperatur in über 90% liegender Ausbeute zum freien Aminosäureester zurückspalten; andererseits zeigte es sich, dass die N-Acyl-Gruppierung die alkalische Hydrolyse des Methylesters V zur entsprechenden Carbonsäure VI überlebt. Im Hinblick auf die spezifische und sehr milde Art der Spaltung durch Silber-Ionen in nahezu neutraler Lösung kann an die Möglichkeit gedacht werden, die  $\gamma$ -Chlorbutyryl-Gruppe in speziellen Fällen als N-Schutzgruppe zu verwenden. In diesem Zusammenhang sei noch bemerkt, dass sich die eingangs erwähnte  $\beta$ -Bromäthoxy-carbonyl-Gruppe bezüglich der Spaltung mit Silberperchlorat in Aceton-Wasser im wesentlichen gleich verhält. Wir beabsichtigen, bei späterer Gelegenheit darauf zurückzukommen.

### Experimenteller Teil

Die Smp. wurden im offenen Röhrchen bestimmt und sind korrigiert. Die UV.-Absorptionsspektren wurden im Laboratorium von PD. Dr. W. SIMON mit einem BECKMAN-Spektrophotometer (Modell DK 1) aufgenommen. Zur Aufnahme der IR.-Spektren der reinen Substanzen diente ein PERKIN-ELMER-IR.-Spektrophotometer, Modell A 21 (mit NaCl-Prisma); die IR.-Spektren der Rohprodukte wurden auf einem INFRACORD-Spektrophotometer aufgenommen. Die Angaben *s*, *m*, *w* bedeuten approximative IR.-Intensitätsbezeichnungen (stark, mittel, schwach); bei den UV.-Spektren bedeuten die eingeklammerten Zahlen  $\epsilon$ -Werte und (S) bezeichnet eine Schulter in der Absorptionskurve. Die NMR.-Spektren wurden auf einem VARIAN-NMR.-Spektrophotometer (V-4300, 60 MHz) aufgenommen, mit Tetramethylsilan als interner Referenz  $\delta = 0$  p. p. m.). Bei der in  $\delta$ -Werten erfolgten Beschreibung der Protonenresonanz-Signale bedeuten: *s* (Singlett), *d* (Doublett), *t* (Triplet), *q* (Quadruplett), *m* (Multiplet), *b* (breit, nicht strukturiert); die in Klammern beigefügten, auf- oder abgerundeten Zahlen betreffen die durch Integration ermittelte Anzahl

<sup>13)</sup> Vgl. z. B. C. J. M. STIRLING *l.c.*<sup>4)</sup>.

<sup>14)</sup> H. DECKER & P. BECKER, *Liebigs Ann. Chem.* **395**, 362 (1912); vgl. auch L. GALATIS, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **60**, 1399 (1927); J. N. BAXTER & J. CYMERMAN-CRAIG, *J. chem. Soc.* **1953**, 1940.

<sup>15)</sup> K. MÜLLER, Diplomarbeit ETH Zürich, W. S. 1960.

<sup>16)</sup> D. h. die Iminolacton-Derivate des Cyclohexylamins<sup>1)</sup><sup>15)</sup>, der Methylester des L-Phenylalans<sup>1)</sup>, L-Tyrosins<sup>17)</sup> und L-Valins<sup>17)</sup>. Die N-Monomethylierung des Tyrosins nach diesem Verfahren lässt die phenolische Hydroxylgruppe unbehelligt.

<sup>17)</sup> E. HATZ, *Diss. ETH Zürich* (noch nicht erschienen).

<sup>18)</sup>  $pK_{Mcs}^* = 7,2$  (Cyclohexylamin : 9,5).

Protonen. Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung W. MANSER) und die Messung der  $pK_{MCS}^*$ -Werte<sup>9)</sup> im Laboratorium von PD. Dr. W. SIMON ausgeführt. Die optischen Drehungen wurden mit einem lichtelektrischen Präzisionspolarimeter ZEISS bei den Wellenlängen 365, 405, 436, 546 und 578  $m\mu$  gemessen. Die fünf jeweils angegebenen spezifischen Drehungswerte  $[\alpha]$  beziehen sich auf diese fünf Wellenlängen; die  $[\alpha]_D$ -Werte wurden durch graphische Extrapolation ermittelt.

**Darstellung von (+)-N $\alpha$ -Methyl-L-tryptophan [(+)-Abrin].** – Ausgangsmaterial: (–)-L-Tryptophan *puriss.* CHR der Firma FLUKA AG, Buchs; Zers. 265–280°.  $[\alpha]^{20} = -65,5/61,3/55,3/36,4/32,5^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -31,3^\circ$  ( $c = 1,028$  in Wasser).  $\lambda_{max} = 222, 279, 287 m\mu$  (36000/5200/4200);  $\lambda_{min} = 243 m\mu$  (2000) (Äthanol).

(+)-L-Tryptophan-methylester-hydrochlorid (IV). Hergestellt in Anlehnung an die Vorschrift von BOISSONNAS *et al.*<sup>10)</sup>: Zu 500 ml absolutem, auf  $-10^\circ$  vorgekühltem Methanol wurden 36,7 ml Thionylchlorid getropft und rasch 50,0 g (0,246 Mol) L-Tryptophan zugegeben, wobei sich das Material rasch löste. Nach kurzer Zeit bildete sich erneut ein Niederschlag. Nach vierstündigem Rühren bei  $-5$  bis  $0^\circ$  liess man auf  $20^\circ$  erwärmen, worauf sich der käsig-e Niederschlag wieder löste und die klare Lösung sich gelb färbte. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht (16 Std.) bei Zimmertemperatur weitergerührt, dann während 6 Std. auf  $25^\circ$  und 15 Std. auf  $30^\circ$  thermostatiert. Darauf wurde auf  $40^\circ$  erwärmt und allmählich mit 1,9 l abs. Äther versetzt, wobei das Hydrochlorid als feinkristallines Pulver ausfiel. Nach längerem Stehenlassen wurde im Eisbad gekühlt und filtriert. Der reinweisse Niederschlag wurde mit wenig abs. Äther nachgewaschen und getrocknet. Die beiden ersten Fraktionen (41,1 g und 15,9 g) schmolzen bei  $213-214^\circ$  (Zers.). Die 3. und 4. Fraktion waren leicht gefärbt und wurden nach Entfärbung mit etwas Aktivkohle noch zweimal aus Methanol/abs. Äther umkristallisiert, wobei weitere 4,5 g farbloses Produkt resultierten. Ausbeute: 61,5 g (98,5%). – Zur Analyse wurde eine Probe viermal aus Methanol/abs. Äther umkristallisiert und während drei Tagen im Hochvakuum bei  $50^\circ$  getrocknet: feinkörnige, farblose Kristalle, Smp.  $213,5-214^\circ$  (Zers.); Lit.:  $216^\circ$ <sup>10)</sup>.

$C_{12}H_{15}O_2N_2Cl$	Ber. C 56,58	H 5,94	N 11,00	Cl 13,92%
	Gef. „ 56,57	„ 5,91	„ 10,91	„ 13,98%

$[\alpha]^{20} = +88,5/56,3/42,7/20,5/17,7^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{20} = +17,1^\circ$  ( $c = 2,062$  in abs. Methanol).  $\lambda_{max} = 222, 274$  (S), 281, 290  $m\mu$  (35000/5700/6000/5100) (Äthanol).  $pK_{MCS}^* = 6,61$ , Äquiv.-Gew. = 257 (ber. 255), titriert mit 0,1N Tetramethylammoniumhydroxid.

(+)-N $\alpha$ -( $\gamma$ -Chlorbutyryl)-L-tryptophan-methylester (V). 50,94 g (0,20 Mol) L-Tryptophan-methylester-hydrochlorid wurden in ca. 300 ml Methanol gelöst und mit 22,3 g (0,22 Mol) abs. Triäthylamin versetzt. Nach kurzer Zeit wurde 1 l abs. Äther zugegeben und während 45 Min. im Eis-Kochsalzbad auf  $-20^\circ$  gekühlt. Das in langen Nadeln ausgefallene Triäthylammoniumchlorid wurde abfiltriert und mit abs. Äther gut nachgewaschen. Der freie L-Tryptophan-methylester wurde am Rotationsverdampfer bei max.  $30^\circ$  Badtemperatur vom Lösungsmittel befreit, in 400 ml Methylenchlorid aufgenommen und die Lösung mittels Eis-Kochsalz-Mischung auf  $-20^\circ$  gekühlt. Unter Vibrieren liess man hierauf 32,43 g (0,23 Mol)  $\gamma$ -Chlorbuttersäurechlorid<sup>20)</sup> und 18,2 g (0,23 Mol) Pyridin in je 50 ml Methylenchlorid zutropfen. Man belies das Reaktionsgemisch über Nacht bei  $-20^\circ$  und hierauf 4 Std. bei Zimmertemperatur. Zur Aufarbeitung wurde die Methylenchlorid-Phase (3 Portionen) mit je 2 Portionen 2N Salzsäure und 2N Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, neutral gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Kurzes Aufkochen der tiefgelben Lösung mit wenig Aktivkohle entfärbte diese fast völlig. Nach zweimaliger Kristallisation des Rohproduktes aus Methylenchlorid-Hexan erhielt man 56,8 g (88%) in farblosen Nadeln kristallisiertes Material vom Smp.  $113^\circ$ . – In einem Voransatz war eine Probe vom Smp.  $113-113,5^\circ$  zur Analyse gelangt.

$C_{16}H_{19}O_3N_2Cl$	Ber. C 59,53	H 5,93	N 8,68	Cl 10,99%
	Gef. „ 59,52	„ 5,97	„ 8,66	„ 10,87%

$[\alpha]^{21} = +177/123/98/51,7/44,8^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{21} = +43,7^\circ$  ( $c = 2,176$  in abs. Dioxan).  $\lambda_{max} = 222, 275$  (S), 282, 290  $m\mu$  (32000/5300/5700/5000) (Äthanol). IR.-Spektrum:  $\tilde{\nu}$  (NH)  $3480^m, 3420^m cm^{-1}$ ;

<sup>10)</sup> R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, R. L. HUGUENIN, P. A. JACQUENOUD & E. SANDRIN, *Helv. 41*, 1867 (1958).

<sup>20)</sup> W. REPPE & Mitarb., *Liebigs Ann. Chem.* 596, 1, 190 (1955). Das Produkt wird vorteilhaft zweimal destilliert.

$\tilde{\nu}$  (CO) 1738<sup>s</sup> (Ester), 1670<sup>s</sup> (Amid I)  $\text{cm}^{-1}$ ; Amid-II-Bande bei 1513<sup>s</sup>  $\text{cm}^{-1}$  (in Chloroform; vgl. Fig. 1).

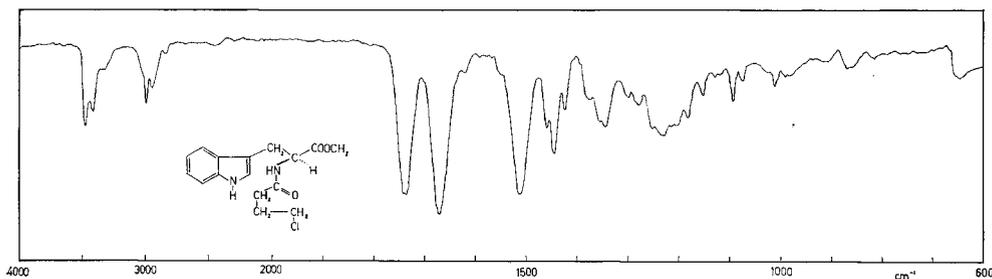


Fig. 1. IR.-Spektrum von Verbindung V

(+)-*N*<sub>α</sub>-Methyl-L-tryptophan-methylester-hydrochlorid (VIII). Zu einer Lösung von 6,460 g (20 mMol.) (+)-*N*<sub>α</sub>-( $\gamma$ -Chlorbutyryl)-L-tryptophan-methylester in 300 ml abs. Methylenchlorid wurden unter Vibrieren bei  $-20^\circ$  65,8 ml (25 mMol.) einer 0,38*N* Lösung von Silber-tetrafluorborat<sup>21)</sup> in Methylenchlorid-Benzol getropft. Die alsbald milchigtrübe Lösung wurde während 1 Std. bei  $-20^\circ$  belassen und dann 1 Std. bei  $0^\circ$  weitervibriert. Nach  $1\frac{1}{2}$ -stdg. Ausreagierenlassen bei Zimmertemperatur zerstörte man das überschüssige Silber-tetrafluorborat durch Zugabe von ca. 1 g Triäthylammoniumchlorid. Das Reaktionsgemisch wurde mit 200 ml Wasser versetzt, das Silberchlorid mittels einer Glasfilternutsche mit Seesandaufgabe abfiltriert und gründlich mit Methylenchlorid und 2*N* Kaliumhydrogencarbonat-Lösung nachgewaschen. Nach dem Ausschüteln der Methylenchlorid-Phase mit 3 Portionen eisgekühlter 2*N* Kaliumhydrogencarbonat-Lösung wusch man mit Wasser und trocknete mit Natriumsulfat. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum bei  $25^\circ$  hinterblieb ein gelbliches Öl, das beim Trocknen im Hochvakuum über Nacht erstarrte (5,80 g; keine (NH)-Bande im IR.-Spektrum, jedoch die beiden charakteristischen Iminolacton-Banden bei 1695<sup>s</sup> und 1035<sup>ms</sup>  $\text{cm}^{-1}$ , vgl. unten).

Zur Methylierung wurde das Rohprodukt unter leichtem Erwärmen in 800 ml abs. Acetonitril gelöst, mit 50 g Methyljodid versetzt und 41 Std. bei  $30^\circ$  stengelassen. Anschliessend sog man bei Raumtemperatur das überschüssige Methyljodid und zwei Drittel des Acetonitrils ab. Zur Hydrolyse wurde die restliche tiefgelbe Lösung mit 200 ml 2*N* Kaliumhydrogencarbonat-Lösung während 2 Std. bei  $20^\circ$  stengelassen, wobei sie sich fast vollständig entfärbte. Dann säuerte man mit 2*N* Salzsäure an und entfernte das restliche Acetonitril bei reduziertem Druck. Hierauf wurde durch Extraktion mit zwei Portionen Methylenchlorid der Neutralteil entfernt, die wässrige Phase mit konz. Sodalösung versetzt und dann mit vier Portionen Methylenchlorid extrahiert. Nach Neutralwaschen, Trocknen und Entfernung des Lösungsmittels bei reduziertem Druck verblieben 4,71 g eines fast farblosen Öls<sup>22)</sup>; dieses nahm man in abs. Äther auf und versetzte bei  $0^\circ$  mit 30 ml einer 0,7*N* ätherischen Lösung von Chlorwasserstoff. Der gelbliche, pulverige Niederschlag wurde abgenutscht, mit Äther gewaschen und in Methanol aufgenommen. Nach Entfärbung mit Aktivkohle kristallisierte man aus Methanol-Äther: 4,77 g (90,8%) farblose, drusige Nadeln

<sup>21)</sup> Hergestellt in Anlehnung an die Vorschrift von H. MEERWEIN *et al.*<sup>5)</sup>, aber unter Verwendung von Benzol statt Nitromethan als Lösungsmittel (vgl. die Erfahrungen von D. M. LEMAL & A. FRY, *Tetrahedron Letters* 1967, 775). 13,0 g trockenes Silberoxid wurden in 130 ml abs. Benzol suspendiert, ca. 60 ml Benzol unter Spülung mit Stickstoff abdestilliert, bei ca.  $40^\circ$  langsam mit 15,0 g frisch destilliertem Bortrifluorid-ätherat versetzt und anschliessend 1,5 Std. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen versetzte man mit 80 ml abs. Methylenchlorid; über Nacht setzte sich der schwärzliche Schlamm vollständig ab. Die überstehende klare und farblose Lösung wurde abpipettiert und titriert (0,4 bis 0,6*N*) und direkt verwendet. Die Lösung ist bei Lichtausschluss gut haltbar.

<sup>22)</sup> Vorsicht: Freier (+)-*N*<sub>α</sub>-Methyl-L-tryptophan-methylester löste in zwei Fällen beim Kontakt mit der Haut starke allergische Reaktionen aus.

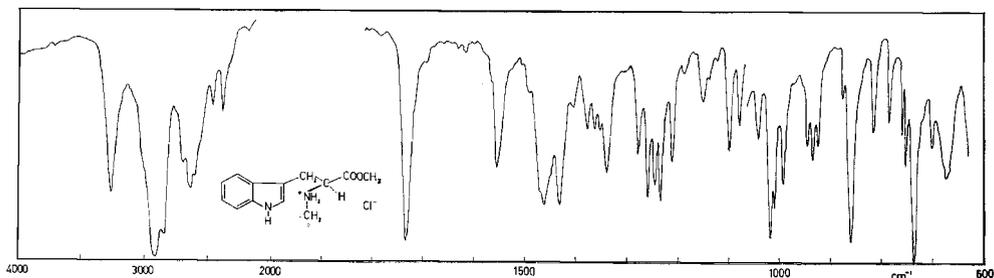


Fig. 2. IR-Spektrum von Verbindung VIII

vom Smp. 166–170°; nach viermaligem Umkristallisieren: 4,545 g (84,5%), Smp. 171–172°. Zur Analyse wurde eine Probe noch zweimal aus Methanol-Äther umkristallisiert und während 3 Tagen im Hochvakuum bei 40° getrocknet (Smp. 171,3–172°).

$C_{13}H_{13}O_2N_2Cl$	Ber. C 58,10	H 6,38	N 10,42	Cl 13,39%
	Gef. „ 57,91	„ 6,75	„ 10,52	„ 13,30%

$[\alpha]_D^{23} = +188/130/103/54,8/48,2^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{23} = +47,2^\circ$  ( $c = 2,03$  in abs. Methanol).  $\lambda_{max} = 222, 274$  (S), 280, 290  $m\mu$  (35000/5400/5800/5000);  $\lambda_{min} = 247$   $m\mu$  (1800) (Äthanol). IR-Spektrum (in Nujol) vgl. Fig. 2.

NMR-Spektrum (in  $D_2O$ ):  $\delta = 2,87(3)s(N-CH_3)$ ;  $3,53(2)d/J = 6$  cps( $CH_2$ );  $3,87(3)s(O-CH_3)$ ;  $4,40(1)t/J = 6$  cps (aliph. CH);  $7,2-7,8(5)m$  (aromat. CH); zusätzliches HDO-Signal bei  $\delta = 4,85$ . –  $pK_{MCS} = 6,38$ ; Äquiv.-Gew. 262 (ber. 269), titriert mit 0,1N Tetramethylammoniumhydroxid.

(–)- $N_\alpha$ -(2-Tetrahydrofuranlyden)-L-tryptophan-methylester (VII). 5,100 g (15,78 mMol.) (+)- $N_\alpha$ -( $\gamma$ -Chlorbutyryl)-L-tryptophan-methylester wurden, wie oben beschrieben, mit 62 ml (18,00 mMol.) 0,29N Silber-tetrafluorborat-Lösung cyclisiert. Nach der Zugabe des Triäthylammoniumchlorids wurde von Silberchlorid abfiltriert, letzteres mit Methylenchlorid und mit 2N Sodalösung nachgewaschen, die Methylenchlorid-Lösung zweimal mit 2N Soda- und dreimal mit gesättigter Kochsalz-Lösung gewaschen, nach Trocknen mit Natriumsulfat noch verbliebenes, fein verteiltes Silberchlorid durch eine Celite-Säule entfernt und das Lösungsmittel bei tiefer Temperatur abgedaugt. Durch Kristallisation aus Methylenchlorid-Hexan wurden in drei Portionen insgesamt 4,51 g nadelförmige, leicht gelbliche Kristalle (Smp. 170–172°) erhalten; nach Umkristallisation und Trocknung im Hochvakuum: 4,37 g farblose Kristalle vom Smp. 171–172° (92% bez. auf  $C_{16}H_{18}O_3N_2$ ,  $(CH_2Cl_2)_{0,16}$ ). Zur Analyse gelangte vorerst eine viermal umkristallisierte Probe vom Smp. 171–172°, welche während vier Tagen bei 25°/0,005 Torr getrocknet worden war, auf Grund des NMR-Spektrums ( $CH_2Cl_2$ -Signal) und der Verbrennungswerte jedoch noch ca. 0,16 Mol. Methylenchlorid zurückbehalten hatte.

$C_{16}H_{18}O_3N_2 \cdot (CH_2Cl_2)_{0,16}$	Ber. C 64,7	H 6,2	N 9,3%	Gef. C 64,78	H 6,46	N 9,23%
--	-------------	-------	--------	--------------	--------	---------

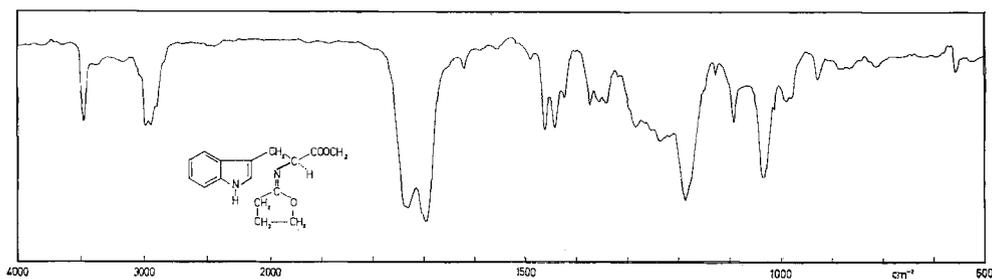


Fig. 3. IR-Spektrum von Verbindung VII

Die Probe wurde deshalb noch zweimal aus Methylacetat-Hexan umkristallisiert und während drei Tagen bei 60°/0,005 Torr getrocknet (Smp. 172°).

$C_{16}H_{18}O_3N_2$  Ber. C 67,11 H 6,34 N 9,78% Gef. C 67,01 H 6,41 N 9,70%

$[\alpha]_D^{21} = -256/189/149/82,1/71,3^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{21} = -67,9^\circ$  ( $c = 2,062$  in abs. Dioxan).  $pK_{Mcs}^* = 5,08$ ; Äquiv.-Gew. 283 (ber. 286), titriert mit 0,1N HCl.  $\lambda_{max} = 223, 275$  (S), 283, 290 m $\mu$  (37000/5200/5700/5000) (Äthanol). IR.-Spektrum (in Chloroform, vgl. Fig. 3): 3480<sup>m</sup> (NH, Indol), 1733<sup>s</sup> (COOCH<sub>3</sub>), 1695<sup>s</sup> (C=N), 1035<sup>ms</sup> (C-O, Iminolacton) cm<sup>-1</sup>.

In Acetonitril als Lösungsmittel verläuft die Cyclisation von  $\gamma$ -Chlorbutyrylamiden viel langsamer (vgl. die Komplexbildung von AgBF<sub>4</sub> mit Acetonitril<sup>5</sup>).

*Methylierung*: 247 mg des oben beschriebenen Iminolactons VII (Smp. 171°) wurden in 10 ml abs. Acetonitril mit 0,5 ml Methyljodid während 70 Std. bei 20° methyliert. Das nach Entfernung aller flüchtigen Anteile im Vakuum bei 30° erhaltene Rohprodukt ( $\tilde{\nu}(\text{NH})$  3460<sup>m</sup> cm<sup>-1</sup>,  $\tilde{\nu}(\text{CO})$

1745<sup>s</sup> cm<sup>-1</sup>,  $\tilde{\nu}(\text{>C=N}^{\oplus})$  1645<sup>s</sup> cm<sup>-1</sup>) wurde, wie oben bei der Direktüberführung V  $\rightarrow$  VIII beschrieben, mit 2N Kaliumhydrogencarbonat-Lösung hydrolysiert:  $\rightarrow$  197 mg roher  $N_\alpha$ -Methyl-L-tryptophan-methylester als schwach gelbliches Öl (IR.-Banden u. a. bei 3450<sup>m</sup>, 2780<sup>w</sup>, 2840<sup>m</sup>, 1730<sup>s</sup>, 1350<sup>m</sup> cm<sup>-1</sup>). Nach erfolglosen Kristallisationsversuchen wurde dieses Produkt ins Hydrochlorid übergeführt (vgl. oben): 211 mg (78%) farblose Nadeln nach Umkristallisation aus Methanol/abs. Äther, Smp. 170,5–172°; nach sechsmaligem Umkristallisieren: Smp. 171,5–172°; IR.-Spektrum im Nujol identisch mit jenem des bei der Direktüberführung V  $\rightarrow$  VIII erhaltenen Materials.

Ein Versuch zur Methylierung des Iminolactons VII mit überschüssigem Methyljodid in Diäthyläther (Raumtemperatur, 16 Std.) hatte praktisch ausschliesslich Ausgangsmaterial ergeben.

Halbwertszeiten der Methylierung von *N-Cyclohexyl-iminobutyrolacton* (III,  $R'' = \text{Cyclohexyl}$ ): ca. 2,5 Std. in Diäthyläther, 5–10 Min. in Acetonitril (0,6 mMol. Iminolacton in 4 ml Lösungsmittel, 30 mMol. Methyljodid, Raumtemperatur)<sup>15</sup>.

Im Falle der Methylierung des *Iminolacton-Derivats von L-Valin-methylester* bestand das Reaktionsprodukt der Hydrolyse des methylierten Immoniumsalzes mit Kaliumhydrogencarbonat-Lösung zur Hauptsache aus einem Neutralprodukt mit der wahrscheinlichen Konstitution des *N-Methyl-N-( $\gamma$ -hydroxybutyryl)-L-valin-methylester* (3650<sup>w</sup>/3400<sup>m</sup> cm<sup>-1</sup>, 1740<sup>s</sup>/1630<sup>s</sup> cm<sup>-1</sup>). Zum *N-Methyl-L-valin-methylester* führt die Hydrolyse mit 1N Salzsäure (1,5 Std., Raumtemperatur)<sup>17</sup>.

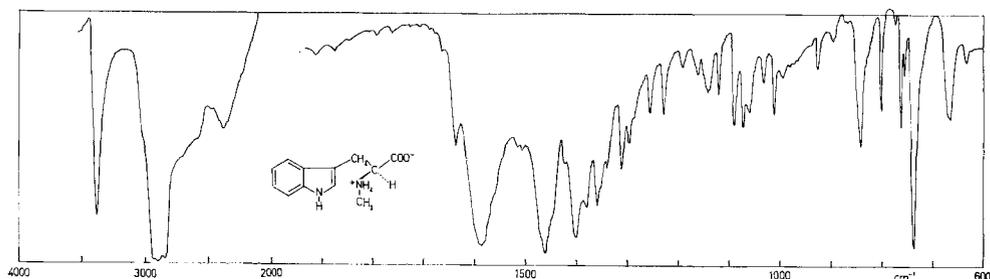
(+)- $N_\alpha$ -Methyl-L-tryptophan: (+)-Abrin (IX). 1,345 g (5,0 mMol.) (+)- $N_\alpha$ -Methyl-L-tryptophan-methylester-hydrochlorid wurden in 6 ml Methanol gelöst und mit 10,5 ml 1N Natronlauge während einer Stunde bei Raumtemperatur stehengelassen. Dann fügte man genau 5,5 ml 1,0N Salzsäure zu und bewahrte über Nacht im Kühlschrank auf. Die ausgefallenen farblosen Nadeln wurden abfiltriert und mit wenig Eiswasser gewaschen (840 mg). Durch Konzentrieren der Mutterlauge konnten zwei weitere Fraktionen von 118 mg und 96 mg erhalten werden. Die Kristalle wurden in heissem Alkohol-Wasser-Gemisch gelöst und faserfrei filtriert. Durch sukzessives Konzentrieren der Lösung konnten in vier Fraktionen insgesamt 1,042 g (95,5%) reines Produkt in Form farbloser Nadelchen gewonnen werden, welche im Hochvakuum während 2 Tagen bei 60° getrocknet wurden; eine Probe davon gelangte ohne weitere Reinigung zur Analyse (Smp. 275–290°, Zers., Bräunung ab 230°).

$C_{12}H_{14}O_2N_2$  Ber. C 66,03 H 6,47 N 12,82% Gef. C 65,94 H 6,50 N 12,64%

$[\alpha]_D^{21} = +211/141/110/56,7/48,9^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{21} = +47,2^\circ$  ( $c = 2,055$  in 0,5N Salzsäure). ( $pK_{Mcs}^*$ )<sub>I</sub> = 10,10; Äquiv.-Gew. 222 (ber. 218). UV.-Spektrum (in 0,1N Salzsäure):  $\lambda_{max} = 218, 273$  (S), 280, 288 m $\mu$  (38000/5200/5400/4400). IR.-Spektrum (in Nujol): vgl. Fig. 4.

Dünnschicht-Chromatogramm (Silicagel, Butanol-Essigsäure-Wasser 6 : 2 : 2): Einheitlicher rosafarbener Fleck,  $R_f = 0,46$  (Frontlaufstrecke 10 cm), entwickelt mit Ninhydrin/Essigsäure/Collidin/Cu<sup>II</sup>-nitrat/Äthanol<sup>23</sup>), Färbung erst nach Erhitzen auf 120–140° während ca. 5 Minuten. L-Tryptophan im gleichen Chromatogramm: Einheitlicher, blauvioletter Fleck,  $R_f = 0,51$ , sofortige Färbung beim Erhitzen. Zum Vergleich stand ein authentisches, aus natürlichem Material isoliertes (+)-Abrin-Präparat<sup>12</sup>) zur Verfügung: IR.-Spektrum in Nujol identisch mit dem oben wiedergegebenen IR.-Spektrum des synthetischen Präparates. Das Vergleichspräparat zeigte im Dünnschichtchromatogramm (vgl. oben) neben dem Hauptfleck ( $R_f = 0,46$ ; rosafarben) sehr

<sup>23</sup>) E. D. MOFFAT & R. I. LYTLE, *Anal. Chemistry* 31, 926 (1959).

Fig. 4. IR-Spektrum von  $N_{\alpha}$ -Methyl-L-tryptophan (IX)

schwache Flecke von zwei Vorläufern  $R_f = 0,51$  (blauviolett, Tryptophan ?) und  $0,72$  (rosafarben), nebst schwacher Schwanzbildung des Hauptflecks.

Literaturdaten: Smp.  $270\text{--}295^{\circ}$  (Zers.);  $[\alpha]_D^{25} = +46,0^{\circ}$  (in  $0,5N$  HCl)<sup>11a</sup>),  $+44,4^{\circ}$  ( $0,5N$  HCl/ $21^{\circ}$ )<sup>11c</sup>).

**Spaltung von (+)- $N_{\alpha}$ -( $\gamma$ -Chlorbutyryl)-L-tryptophan-methylester (V) zu (+)-L-Tryptophan-methylester-hydrochlorid (IV).** – Eine Lösung von  $1,36$  g ( $4,22$  mmol) des N-Acylderivats V in  $41$  ml Aceton wurde unter Abdeckung des Tageslichtes mit  $41$  ml ( $21$  mmol) einer  $0,508N$  wässrigen Silberperchlorat-Lösung versetzt und das Gemisch  $28$  Std. bei Raumtemperatur gerührt. Nach zwei Min. war bereits Opaleszenz der Lösung, und nach  $2$  Std. ein flockiger, praktisch farbloser Niederschlag (Silberchlorid) beobachtbar; der mittels eines Universal-Indikator-Papiers geprüfte pH-Wert der Lösung am Ende der Reaktionszeit betrug ca.  $3$ . Das ausgefallene Silberchlorid wurde abgentscht, mit drei kleinen Portionen Wasser-Aceton ( $1:1$ ) gewaschen und dann bei  $110^{\circ}$  bis zur Gewichtskonstanz getrocknet:  $602,9$  mg (dunkelviolett), entsprechend  $99,6\%$ . Man versetzte das Filtrat zwecks Ausfällung der überschüssigen Silber-Ionen mit einer Lösung von  $1,07$  g ( $18,4$  mmol) Natriumchlorid in  $10$  ml Wasser, filtrierte nach ca.  $10$  Min. vom Silberchlorid ab, wusch mit Aceton-Wasser ( $1:1$ ) nach, befreite die Lösung vom Hauptteil des Acetons am Rotationsverdampfer bei  $40^{\circ}$ , gab Eis und  $20$  ml  $2N$  Sodalösung zu und extrahierte sofort viermal mit je  $30$  ml Äther. Nach Trocknung der ätherischen Lösungen mit Natriumsulfat wurden dieselben vereinigt und bei ca.  $5^{\circ}$  mit  $9,4$  ml ( $4,22$  mmol) einer  $0,45N$  Lösung von Chlorwasserstoff in absolutem Äther versetzt. Nach Stehenlassen über Nacht im Kühlschrank nutschte man den flockigen Niederschlag ab und trocknete denselben im Hochvakuum bei Raumtemperatur:  $984,6$  mg ( $91,6\%$ ), Smp.  $209,5\text{--}210^{\circ}$  (Zers.); keine Smp.-Depression bei der Mischprobe mit einem authentischen, in dieser Versuchsreihe bei  $210\text{--}210,5^{\circ}$  (Zers.) schmelzenden Analysenpräparat von (+)-L-Tryptophan-methylester-hydrochlorid. Nach Einengen der ätherischen Mutterlauge wurden weitere  $16,4$  mg ( $1,6\%$ ) Produkt vom Smp.  $208\text{--}210^{\circ}$  (Zers.) gewonnen. Umkristallisation der Hauptfraktion aus Methanol-Äther ergab  $927,4$  mg Kristalle, Smp.  $209,5\text{--}210,5^{\circ}$  (Zers.). –  $[\alpha]_D^{20} = +86,4/55,5/42,4/20,5/17,7^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D^{20} = +16,7^{\circ}$  ( $c = 1,576$  in abs. Methanol).  $pK_{Mcs}^* = 6,61$  (Äquiv.-Gew.  $256$  (ber.  $255$ ), titriert mit  $0,1N$  Tetramethylammonium-hydroxid. IR-Spektrum (in Nujol,  $55$  Banden) identisch mit jenem von authentischem L-Tryptophan-methylester-hydrochlorid (IV).

**Alkalische Hydrolyse von (+)- $N_{\alpha}$ -( $\gamma$ -Chlorbutyryl)-L-tryptophan-methylester zu (+)- $N_{\alpha}$ -( $\gamma$ -Chlorbutyryl)-L-tryptophan (VI).** – Eine Lösung von  $2,16$  g ( $6,70$  mmol.) des  $N_{\alpha}$ -Acyl-methylesters V in  $5$  ml Aceton wurde mit  $7,1$  ml wässriger  $1N$  Natronlauge versetzt und  $5$  Std. bei  $20\text{--}23^{\circ}$  gerührt. (End-pH-Wert: ca.  $7,5$ ). Hierauf entfernte man eventuelle Neutralprodukte durch zweimalige Extraktion mit je  $20$  ml Methylenchlorid, säuerte die wässrige Lösung unter Eis-Zusatz mit  $2$  ml Phosphorsäure (ca.  $7M$ ) an und extrahierte viermal mit je  $60$  ml Essigester:  $2,25$  g Rohprodukt, das bei der direkten Kristallisation aus Äthanol-Wasser  $1,52$  g nadel-förmige Kristalle vom Smp.  $125,5\text{--}126^{\circ}$ , und aus der Mutterlauge nach Behandlung mit Aktivkohle weitere  $170$  mg vom Smp.  $125\text{--}126,5^{\circ}$  ergab (insgesamt  $81\%$ ). Zur Analyse gelangte eine fünfmal umkristallisierte, im Hochvakuum bei  $60^{\circ}$  getrocknete Probe vom Smp.  $126,6\text{--}127,7^{\circ}$ .

$C_{15}H_{17}O_3N_2Cl$	Ber. C 58,35	H 5,55	N 9,07	Cl 11,48%
	Gef. „ 58,28	„ 5,48	„ 8,71	„ 12,04%

$[\alpha]_D^{20} = +42,8/23,3/19,0/7,5/6,2^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{20} = +6,1^\circ$  ( $c = 1,622$  in Methanol). IR.-Spektrum:  $\nu(\text{NH}) = 3380^m, 3300^m \text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu(\text{CO}) = 1715^s, 1685^s, 1640^s \text{ cm}^{-1}$  (COOH/Amid I),  $1538^s \text{ cm}^{-1}$  (Amid II) (in Nujol).

*Rückveresterung VI  $\rightarrow$  V mit Diazomethan:* 468 mg (1,51 mMol) des im oben beschriebenen Hydrolyse-Ansatz erhaltenen Materials (Smp.  $125,5^\circ$ ) wurden in 6 ml abs. Methanol gelöst und unter Eiskühlung tropfenweise mit 30 ml (2,9 mMol) einer 0,097N ätherischen Diazomethanlösung versetzt. Nach halbstündigem Stehenlassen entfernte man das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer und kristallisierte das vorerst mit Aktivkohle behandelte Reaktionsprodukt aus Methylenchlorid-Hexan: 420 mg (86%) nadelförmige Kristalle, Smp.  $111,5\text{--}112^\circ$ , und weitere 29,3 mg (6%) vom Smp.  $110\text{--}111^\circ$  aus der Mutterlauge; keine Smp.-Depression bei der Mischprobe der Hauptfraktion mit (+)- $N_\alpha$ -( $\gamma$ -Chlorbutyryl)-L-tryptophan-methylester (V).  $[\alpha]_D^{20} = +177/123/97,5/51,5/44,6^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{20} = +42,3^\circ$  ( $c = 1,745$  in abs. Dioxan). IR.-Spektrum (in  $\text{CHCl}_3$ ) deckungsgleich mit jenem des aus IV gewonnenen Methylesters V.

#### SUMMARY

Mild treatment of the methyl ester of (+)- $N_\alpha$ -( $\gamma$ -chlorobutyryl)-L-tryptophane with silver tetrafluoroborate gives a high yield of a crystalline iminolactone derivative. This compound is a useful intermediate in preparing (+)- $N_\alpha$ -methyl-L-tryptophane ((+)-abrine).

The above mentioned N-acyl-tryptophane derivative is cleaved cleanly to the free methyl ester of L-tryptophane by silver perchlorate in a water-acetone solution at room temperature. This raises the possibility of using the  $\gamma$ -chlorobutyryl function as a N-protecting group.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg.  
Technischen Hochschule, Zürich

## 60. Synthese von Tritium-markierten Phenothiazinen

von F. Kalberer und J. Rutschmann

(18. I. 63)

Für biochemische Untersuchungen mit Phenothiazinderivaten und insbesondere für autoradiographische Zwecke benötigten wir Tritium-markierte Verbindungen möglichst hoher spezifischer Aktivität. Von den verschiedenen Möglichkeiten, Tritium in eine Verbindung einzuführen, wählten wir die spezifische Markierung im Phenothiazinring an einer metabolisch inaktiven Stelle. Da es neben andern Abbaureaktionen zu einer Hydroxylierung an den beiden Benzolkernen kommt, wahrscheinlich in 2- und 7-Stellung des Phenothiazinrings, wurde die Markierung in 5-Stellung als geeignet erachtet<sup>1)</sup>. Die Tritium-Markierung in 2- und 7-Stellung könnte andererseits dazu benutzt werden, um den eindeutigen Beweis für die Hydroxylierung an diesen beiden Stellen zu liefern.

Zur Einführung von Tritium in den Phenothiazinring benutzten wir die *Decarboxylierungsreaktion*. Wird eine Carbonsäure in Tritiumwasser gelöst, so findet ein momentaner Austausch zwischen den Wasserstoffatomen der Carboxylgruppe und des

<sup>1)</sup> Numerierung des Phenothiazinrings nach BEILSTEIN, 4. Aufl., Bd. 27, S. 63 (1937), Springer-Verlag.