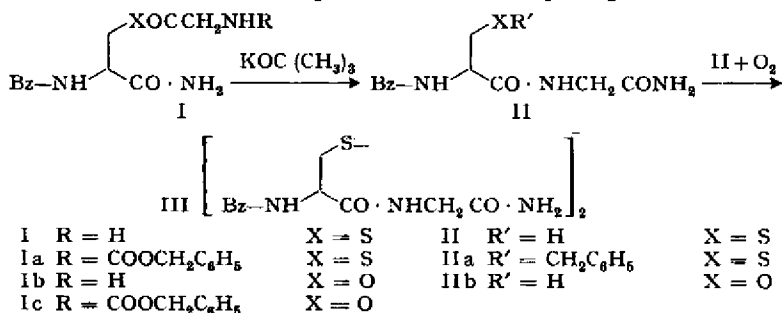


29. Aminoacyleinlagerung

5. Mitteilung¹⁾Umlagerung von S-Glycyl-N-benzoyl-L-cysteinamid in
N-Benzoyl-L-cysteinyl-glycinamidvon M. Brenner, H.-Ch. Curtius²⁾ und M. Kny

(7. X. 65)

Wir haben vor einiger Zeit in einer Zusammenfassung [2] mitgeteilt, dass die Aminoacyleinlagerungs-Reaktion (AAE) auch bei Cysteinderivaten möglich ist, und beschreiben in der Folge unsere Experimente zur Umlagerung von I in II.



Eine prinzipielle Schwierigkeit beim Nachweis der Umsetzung I → II liegt darin, dass – wenigstens unter den hier erforderlichen stark basischen Reaktionsbedingungen – die Thiolgruppe in II ausgesprochen reaktionsfreudig ist. Es erwies sich deshalb als unerlässlich, II sofort in Form eines geeigneten Derivates zu stabilisieren. Am besten gelang dies durch Überführung in den S-Benzyläther IIa oder durch Luft-Oxydation zum Disulfid III. IIa (L-Form) wurde anhand eines optisch aktiven Vergleichspräparats durch Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt, IR.-Spektrum, spezifische Drehung und Papierchromatogramm identifiziert und gab bei der Partialhydrolyse S-Benzyl-N-benzoyl-L-cystein.

Die Ausbeute an kristallin isoliertem IIa überstieg wegen den unvermeidlichen Nebenreaktionen in keinem Fall 30% (Tabelle). III eignet sich besonders zur dünn-schichtchromatographischen Überprüfung des Reaktionsgemisches. Seine Reindarstellung ist nur mit Mühe gelungen.

Als Produkte von Nebenreaktionen treten N-Benzoyl-L-cysteinamid (IV) und Benzamid auf; IV wurde wie II als S-Benzylderivat IVa oder als Disulfid V gefasst. – In der Tabelle sind einige charakteristische Ergebnisse zusammengestellt. Ihr ist folgendes zu entnehmen:

a) Die Ausbeute bei der Umlagerung von I ist kleiner als im Falle des entsprechenden Serinderivates 1b [3]. Dies mag auf der grösseren Empfindlichkeit der Thioester-Gruppierung beruhen. Es ist andererseits nicht ausgeschlossen, dass die grössere

¹⁾ 4. Mitteilung: M. BRENNER *et al.* [1].

²⁾ Auszug Diss. H.-CH. CURTIUS, Basel 1961.

Raumfüllung des Schwefels die Ausbildung eines Umlagerungs-Zwischenproduktes³⁾ erschwert.

b) Das Spaltprodukt IV, entstanden durch Aminolyse, Alkohololyse oder Hydrolyse von I, bildet sich unter Umlagerungsbedingungen in nur geringen Mengen.

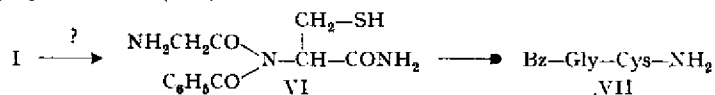
c) Auffällig ist das regelmässige Auftreten grösserer Mengen von Benzamid unter der Einwirkung von Kalium-*t*-butylat als Base. Es beruht wohl auf β -Eliminierung von Thioglycin aus dem Ausgangsmaterial und nachfolgender hydrolytischer Spaltung des gebildeten N-Benzoylacrylamids.

Im Hinblick auf die erhöhte Reaktionsbereitschaft der Thioester-Gruppierung hätte man vielleicht erwarten dürfen, dass auch schwächere Basen als *t*-Butylat die AAE katalysieren würden. Dies ist nicht der Fall, denn auf Dünnschichtchromatogrammen von luft-oxidierten Reaktionsprodukten der Einwirkung von Triäthylamin oder Hydrogencarbonat auf I ist III nicht, oder höchstens in Spuren erkennbar.

Basenkatalysierte Umwandlungen von I⁴⁾

Versuchsbedingungen Medium und Produktfixierung	Totale Versuchs- dauer (Std.)	Temp.	Mol I: Mol Base	Produkte und Ausbeuten ⁶⁾ II isol. als:	IV isol. als:	Benz- amid
Kalium- <i>t</i> -butylat/Dimethylformamid Benzylbromid (O) ⁵⁾	1	22°	1:13	IIa 30%	IVa 5%	10%
Kalium- <i>t</i> -butylat/Dimethylformamid Benzylbromid (5) ⁵⁾	1	22°	1:3,5	IIa 16%	IVa 2%	15%
Kalium- <i>t</i> -butylat/Dimethylformamid Benzylbromid (20) ⁵⁾	1	22°	1:8	IIa 0	IVa 0	15%
Triäthylamin/Dimethylformamid Luftsauerstoff	12	40°	1:20	III 1%	V 32%	0
Hydrogencarbonat/H ₂ O Luftsauerstoff	0,5	22°	1:20	III 0	V 30%	0
Kalium- <i>t</i> -butylat/Dimethylformamid Luftsauerstoff	2	22°	1:13	III 12%	V 0,6%	15%

TH. WIELAND *et al.* [4] haben an N, S-Diacylderivaten des Cysteamins eine S \rightarrow N-Acylwanderung zu Diacylimiden und deren weitere Umlagerung zu N-Acyl-N-aminoacyl-cysteaminen beobachtet. Analog könnte aus I über das Diacylimid VI das N-Hippurylcysteinamid (VII) entstehen:



Es ist interessant, dass wir auch nicht den geringsten Hinweis für das Auftreten dieses Reaktionstypus finden konnten. Das S-Benzylderivat von VII, d.h. VIIa, ist papierchromatographisch leicht von IIa unterscheidbar (Fig. 1), und die Verschiedenartigkeit der IR.-Spektren der beiden Isomeren ermöglicht eine eindeutige Identifizierung des vorliegenden Produktes (Fig. 2).

³⁾ Vgl. z. B. bei [2].

⁴⁾ Bz-L-Cys-Gly-NH₂, HBr oder Bz-D,L-Cys-Gly-NH₂, HBr.

⁵⁾ Zeitpunkt der Benzylbromid-Zugabe in Min. nach Versuchsbeginn.

⁶⁾ Bezogen auf eingesetztes I.

Offensichtlich ist bei I die primäre Amidgruppe (oder ihr Anion) beim Angriff auf das Estercarbonyl begünstigt. Dies kann durch die Konformation der Molekel oder durch schwerere Ionisierbarkeit des sekundären Amidstickstoffs bedingt sein.

Ausgangsmaterialien. I konnte aus Ia mit flüssigem HBr erhalten werden [5]. Die üblichen Decarbobenzoylierungs-Methoden dagegen versagten, u. a. deshalb, weil Ia

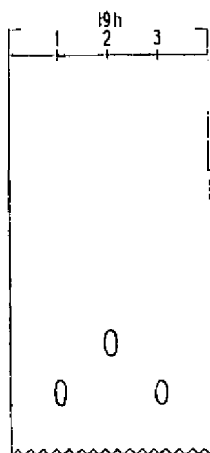
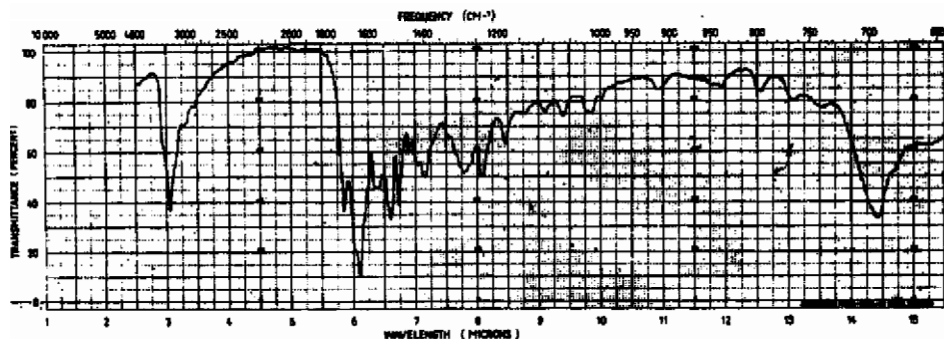
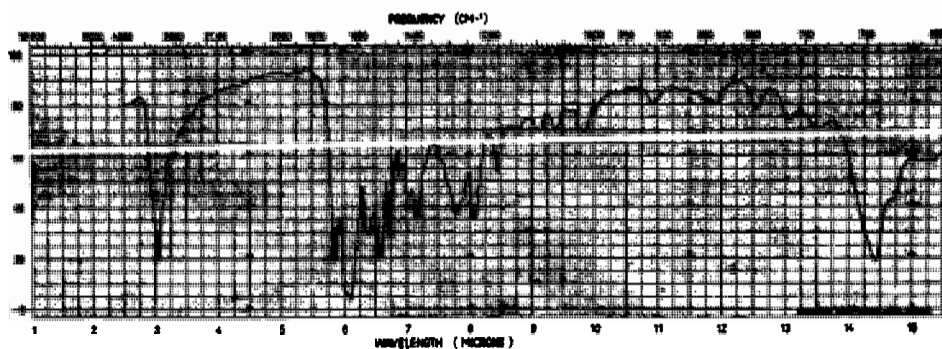


Fig. 1. *Papierchromatogramm* (vgl. Exp. Teil) von:

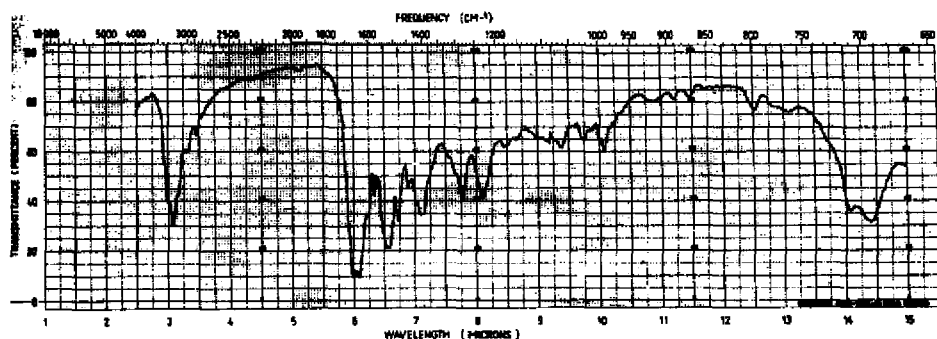
- 1 = Bz-Cys(BZL)-Gly-NH₂ (IIa)
- 2 = Bz-Gly-Cys(BZL)-NH₂ (VIIa)
- 3 = Umlagerungsprodukt



IIa



Umlagerungsprodukt



VIIa

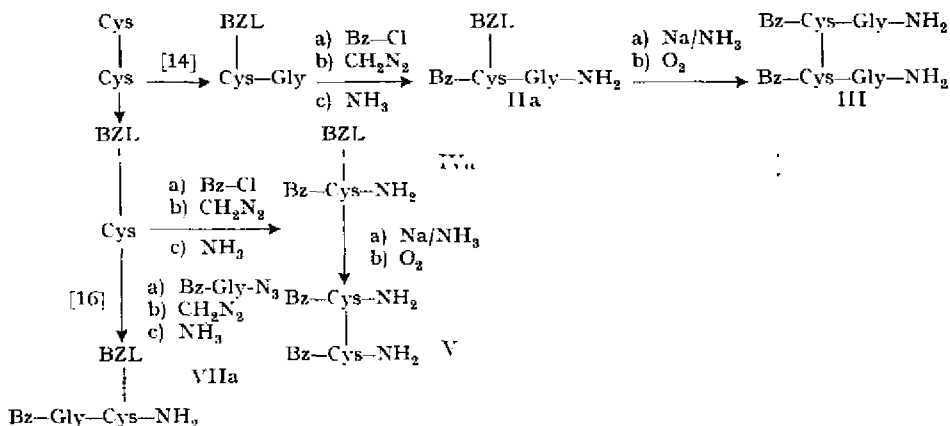
Fig. 2. IR.-Spektren

ausser in Dimethylformamid schwer löslich ist und weil I keine langwierigen Isolierungsprozesse erträgt.

Bei der Herstellung von Ia verzichteten wir auf eine S-Acylierung nach dem Vorbild von TH. WIELAND *et al.* [6] (Cysteamin) und SCHWYZER [7] (Thioglykolsäure); die Verwendungsmöglichkeiten von Carbodiimid sind erst nach Abschluss unserer Arbeit bekannt geworden [8]. In Anlehnung an FRY [9] und insbesondere WEHRMÜLLER [10], welche durch Aufspaltung von 2-Phenyl-2^l-L-oxazolin-4-carbonsäureamid (VIII) mit Carbobenzoyglycin das O,N-diacylierte Serinderivat Ic erhielten, behandelten wir VIII mit Carbobenzoxy-thioglycin und gelangten dabei in guter Ausbeute zur optisch reinen L-Form von Ia. Diese Umsetzung entspricht einem Übergang aus der Serin- in die Cystein-Reihe. Neuerdings haben PHOTAKI [11] sowie ZIUDROU *et al.* [12] weitere Möglichkeiten zur Umwandlung von Serin- in Cystein-Derivate angegeben.

Carbobenzoxy-thioglycin erhält man durch Einleitung von H₂S in eine Tetrahydrofuran-Lösung des gemischten Anhydrids von Carbobenzoyglycin mit Äthylkohlenensäure. Andere Beispiele für diese Bildungsweise fanden sich bereits bei CRONIN [13].

Vergleichssubstanzen. Folgende optisch aktiven Vergleichspräparate wurden unter Umgehung des Oxazolinweges nach nachstehendem Schema dargestellt.



Wir danken Herrn Dr. A. HARTMANN für seine Mitarbeit, dem BIGA für Mittel aus den ARBEITSBESCHAFFUNGSKREDITEN DES BUNDES sowie dem SCHWEIZ. NATIONALFONDS und der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, für zusätzliche finanzielle Unterstützung.

Experimentelles

Allgemeines. Die Schmelzpunkte sind auf einem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert. Die Analysenpräparate wurden über Nacht im Hochvakuum bei 50° getrocknet. Zur Aufnahme der IR-Absorptionsspektren verwendeten wir einen PERKIN-ELMER-Spektrographen, Modell 21. Zur Partialhydrolyse wurden Lösungen von 1 mg Peptidderivat in 1 ml konz. Salzsäure 48 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen.

Zur papierchromatographischen Unterscheidung von IIa, IVa, VIIa und Benzamid wurde wie folgt verfahren: Absteigende Technik. Das WHATMAN-Papier Nr. 1 wird durch eine Lösung von 1,2-Propylenglykol/Wasser/Aceton im Verhältnis 4:1:20 gezogen. Man lässt dann das Aceton an der Luft verdunsten und trägt anschliessend die Substanzen auf. Bereits ohne Durchlauf (3 Std.) können Bz-Cys(BZL)-NH₂ (IVa), Bz-Cys(BZL)-Gly-NH₂ (IIa) und Benzamid sehr gut getrennt werden. Rf 0,50; 0,07; 0,14. Zur Trennung der Isomeren Bz-Cys(BZL)-Gly-NH₂ (IIa) und Bz-Gly-Cys(BZL)-NH₂ (VIIa) chromatographiert man im gleichen System 19 Std. durchlaufend.

Für die Dünnschichtchromatographie wurde Kieselgel G der Firma MERCK AG., Darmstadt, verwendet. Die Platten wurden an der Luft getrocknet. Sichtbarmachung mit Chlor-Tolidin [17].

Umlagerungsversuche. – *Produktfixierung durch Benzylbromid.* In der Praxis dient als Ausgangsmaterial nicht I, sondern Ia. Man behandelt letzteres (0,25 g; 0,6 mMol) mit flüssigem HBr [5], lässt zur Trockene verdampfen, entfernt anhaftendes HBr im Exsikkator über KOH (15 Std.), nimmt ohne weitere Abtrennung von Benzylbromid in 10 ml frisch destilliertem Dimethylformamid auf, versetzt sofort mit 8 ml 1 N Kalium-*t*-butylat (Tabelle, Reihe 1) in abs. *t*-Butanol, gefolgt von 0,3 ml Benzylbromid (2,5 mMol), schüttelt 1 Std. unter N₂, säuert die charakteristisch gelb gefärbte, von ausgeschiedenem KBr durchsetzte Lösung mit 2 N Salzsäure an (Kongopapier) und bringt bei 50° im Vakuum zur Trockene. Der Rückstand wird in 20 ml Essigester aufgenommen, die Lösung mit 2 N Salzsäure und eiskalter 2 N Natronlauge extrahiert, neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft.

Im Papierchromatogramm dieses Rohproduktes sind IIa, IVa und Benzamid neben unbekannt Substanzen sicher erkennbar. Ihre Isolierung gelingt durch Säulenchromatographie (0,25 g Reaktionsgemisch, 7 g Alox sauer WOELM, Fraktionen à 20 ml). Petroläther eluiert Benzylbromid, Äther: Essigester-(1:1) Benzamid (Smp., Misch-Smp., IR.-Spektrum, Papierchromatogramm und C, H, N-Bestimmung), Essigester das Spaltprodukt IVa (Smp., Misch-Smp., IR.-Spektrum, Papierchromatogramm und C, H, N-Bestimmung) und Essigester: Äthanol-(9:1) das Benzylderivat IIa des erwarteten Umlagerungsproduktes II. Zur endgültigen Reinigung kristallisiert man das isolierte IIa erst aus Chloroform/Petroläther, dann aus Methanol/Wasser, Smp. 135–137°, Misch-Smp. mit authentischem Material (s. unten) ohne Depression, $[\alpha]_D^{20} = 26,3^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,2$, EtOH). IR.-Spektrum in Fig. 2.

C₂₁H₂₁O₃N₃S (282,25) Ber. C 61,43 H 5,70 N 11,31% Gef. C 61,22 H 5,62 N 11,50%

Das isolierte Präparat IIa ergibt im Gemisch mit dem Isomeren VIIa eine deutliche Smp.-Depression. Die spezifischen Drehungen von isoliertem IIa und VIIa sind ungefähr entgegengesetzt. Schliesslich ergeben die beiden Substanzen bei der Partialhydrolyse verschiedene Spaltprodukte (Fig. 3).

Produktfixierung durch Lufoxydation. – 1. Man gibt zur Lösung von 0,107 g (0,3 mMol) Hydrobromid von I in 10 ml frisch destilliertem abs. Dimethylformamid 4 ml 1 N Kalium-*t*-butylat in abs. *t*-Butanol, schüttelt 3 Std. unter Feuchtigkeitsausschluss, säuert mit 2 N Salzsäure an, engt bei 40° im Vakuum ein, nimmt den Rückstand in 10 ml Wasser und 10 ml Essigester auf und belüftet (bis zum Verschwinden der Nitroprussid-Reaktion) 5 Std., filtriert, wäscht den Filterrückstand gründlich mit Wasser sowie Essigester und trocknet über P₂O₅. 10 mg Rohprodukt. Dieses besteht zu 95% aus dem erwarteten Disulfid III und enthält nur wenig vom ebenfalls schwer löslichen Disulfid V (Dünnschichtchromatogramm, Fig. 4). Aus dem Trockenrückstand der Essigesterfraktion lässt sich durch Sublimation im Hochvakuum bei 40° Benzamid isolieren: 5 mg (Smp., Misch-Smp. und Papierchromatogramm).

2. Man gibt zur Lösung von 1 g (2,7 mMol) Hydrobromid von I in 15 ml frisch destilliertem Dimethylformamid überschüssiges Triäthylamin (5 g; 50 mMol), hält über Nacht bei 40°, engt bei 40° im Vakuum ein, versetzt mit je 20 ml Tetrahydrofuran und Wasser, belüftet bis zum Verschwinden der Nitroprussid-Reaktion, verdampft zur Trockene, suspendiert in Wasser, filtriert

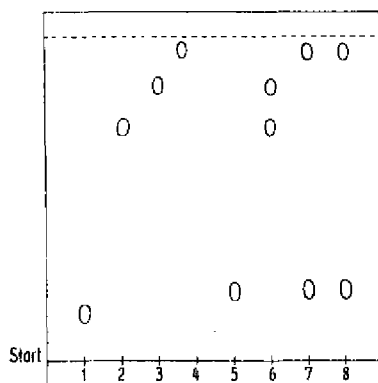


Fig. 3. Papierchromatogramme der Partialhydrolysate

System: *n*-Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:1

- 1 = Cystin
- 2 = S-Benzyl-L-cystein
- 3 = Hippursäure
- 4 = N-Benzoyl-S-benzyl-L-cystein
- 5 = Glycin
- 6 = Partialhydrolysat von VIIa
- 7 = Partialhydrolysat von IIa
- 8 = Partialhydrolysat von Umlagerungsprodukt

und wäscht gründlich mit Wasser und Essigester. Der trockene Filtrerrückstand wiegt 190 mg und besteht im wesentlichen aus dem Disulfid V des Spaltproduktes IV (Dünnschichtchromatogramm, Fig. 4).

3. 10 mg (0,027 mMol) Hydrobromid von I in 2 ml Wasser werden mit 0,5 mÄq. Kaliumhydrogencarbonat versetzt, die Lösung bis zum Verschwinden der Nitroprussid-Reaktion gelüftet, das ausgefallene Disulfid abfiltriert, der Filtrerrückstand gründlich mit Wasser und Essigester gewaschen, getrocknet, in Dimethylformamid gelöst und dünnschichtchromatographisch analysiert (Fig. 4). Es ist nur Disulfid V erkennbar.

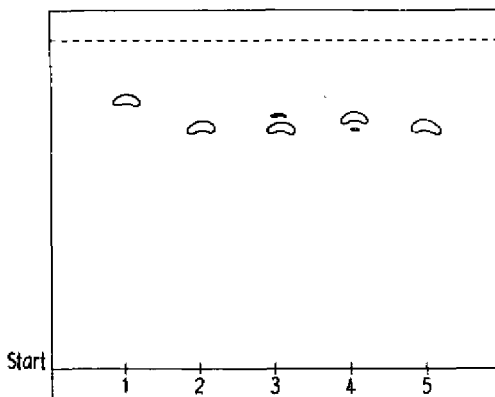


Fig. 4. Dünnschichtchromatogramm der Disulfide

System: *n*-Propanol-Wasser 7:3

- 1 = N,N'-Dibenzoyl-cystinamid (V)
- 2 = N,N'-Dibenzoyl-cystin-diglycinamid (III)
- 3 = Umlagerung 1 (Kalium-*t*-butylat in Dimethylformamid)
- 4 = Umlagerung 2 (Triäthylamin in Dimethylformamid)
- 5 = Umlagerung 3 (Kaliumhydrogencarbonat in Wasser)

Ausgangsmaterial. - *N*-Benzoyl-L-serinamid [3]. Nadeln aus Methanol/Äther, Smp. 173–174°. $[\alpha]_D^{25} = 51^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 0,5$, EtOH 95%). UV.-Spektrum: $\lambda_{max} = 226 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,02$.

N-Benzoyl-D,L-serinamid [10]. Kristallisiert aus Methanol/Äther oder Wasser, Smp. 164–166°.

2-Phenyl-Δ²-L-oxazolin-4-carbonsäureamid (VIII). Man übergiesst 2,6 g (12,5 mMol) N-Benzoyl-L-serinamid bei -15° mit 12 ml Thionylchlorid und lässt unter gelegentlichem Umschwenken ca. 1 Std. stehen, wobei sich nach 15 Min. eine klare Lösung bildet, die am Schluss unter leichter Gelbfärbung teilweise erstarrt. Die zähflüssige Masse wird über die Gefässwand verteilt und im Vakuum (30 Min., Zimmertemperatur) vom überschüssigen Thionylchlorid befreit. Nach Zugabe von 40 ml Chloroform und 80 ml eiskalter 2N Sodalösung geht die Kristallkruste in Lösung (durch Abkratzen beschleunigen). Man trennt, extrahiert die wässrige Phase zweimal mit 20 ml Chloroform, wäscht die 3 Chloroformlösungen zweimal mit 10 ml Wasser, vereinigt, trocknet und verdampft: 2 g gelbrote Kristalle.

Die Lösung des rohen Oxazolins in 120 ml H₂O wird mit Tierkohle ganz kurz aufgeköcht und durch ein mit Tierkohle imprägniertes Filter gesogen. Man spült mit 40 ml heissem Wasser nach. Aus der farblosen wässrigen Lösung kristallisieren über Nacht bei $+4^{\circ}$ 1,7 g (72%) Nadeln vom Smp. 127–128°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 25^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 0,5$, EtOH 95%); UV.-Spektrum: $\lambda_{\text{max}} = 244 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,00$.

2-Phenyl-Δ²-D,L-oxazolin-4-carbonsäureamid. Wie oben aus N-Benzoyl-D,L-serinamid. Ausbeute 82%, Smp. 165–167°.

Carbobenzoxy-thioglycin. Man löst 10,4 g (49,5 mMol) Carbobenzoxy-glycin in 200 ml absolutem Tetrahydrofuran, versetzt bei -15° mit 7 ml Triäthylamin sowie 4,8 ml Chlorkohlensäureester und lässt 5 Min. unter Ausschluss von Feuchtigkeit stehen. Es entsteht ein dickflockiger Niederschlag. Nun leitet man während 30 Min. sorgfältig gereinigtes und getrocknetes H₂S ein, wobei die Temperatur zwischen 0° und -10° gehalten wird, lässt anschliessend 12 Std. bei Zimmertemperatur über H₂S stehen, dampft das Tetrahydrofuran ab, löst den Rückstand in Chloroform, schüttelt mit kleinen Portionen Wasser mehrmals aus, trocknet mit Natriumsulfat und dampft ein: 15,1 g Öl, das bei -40° langsam kristallisiert. Umkristallisieren aus Äther-Petroläther, Smp. 80°, Ausbeute 90%.

C₁₀H₁₁O₃NS (225,28) Ber. C 53,33 H 4,92 N 6,22% Gef. C 53,56 H 5,07 N 5,97%

N-Benzoyl-S-(carbobenzoxy-glycyl)-L-cysteinamid. Man löst 8,0 g (35,6 mMol) trockenes Carbobenzoxy-thioglycin und 4,02 g (21,1 mMol) 2-Phenyl-Δ²-L-oxazolin-4-carbonsäureamid in 80 ml säurefreiem Chloroform, erwärmt unter Ausschluss von Feuchtigkeit kurz zum Sieden und destilliert anschliessend das Chloroform in geschlossener Apparatur ab. Zum kristallinen Rückstand gibt man ein zweites Mal peinlich gereinigtes Chloroform und destilliert abermals auf dem Dampfbad ab. Überschüssiges Carbobenzoxy-thioglycin lässt sich durch Verreiben mit viel Essigester entfernen. Zurück bleibt ein Rohprodukt (8 g, 90%), das aus Dimethylformamid/Essigester 1:2 umkristallisiert wird (kratzen). Smp. 186–188°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -55^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 0,6$, abs. Dimethylformamid). Die Substanz ist nur in Dimethylformamid gut löslich.

C₂₀H₂₁O₅N₂S Ber. C 57,82 H 5,05 N 10,11 S 7,72%
(415,45) Gef. „ 58,06 „ 5,32 „ 10,37 „ 7,88%

Im Papierchromatogramm des Hydrolysates erkennt man Cystein und Glycin.

N-Benzoyl-S-(carbobenzoxy-glycyl)-D,L-cysteinamid. Man erwärmt die Lösung von 4,0 g (17,8 mMol) Carbobenzoxy-thioglycin und 2,38 g (12,5 mMol) 2-Phenyl-Δ²-D,L-oxazolin-4-carbonsäureamid in 20 ml abs. Chloroform auf dem Dampfbad unter Ausschluss von Feuchtigkeit zum Sieden, destilliert alles Chloroform ab, hält noch 2 Std. bei 100° , verreibt das erhaltene Reaktionsprodukt mit 50 ml Essigester, filtriert, behandelt den Rückstand noch zweimal mit 20 ml Essigester, filtriert und verdampft die vereinigten Filtrate. Umkristallisieren aus Dimethylformamid/Essigester 4:94 g (95%) Smp. 193–194° Die Substanz ist wiederum nur in Dimethylformamid gut löslich.

C₂₀H₂₁O₅N₂S (415,45) Ber. C 57,82 H 5,05 S 7,72% Gef. C 58,05 H 5,24 S 7,58%

Nach der Totalhydrolyse findet man papierchromatographisch Cystin und Glycin.

N-Benzoyl-S-glycyl-L-cysteinamid-hydrobromid [5]. Smp. 177–181°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -92^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 0,7$, abs. Dimethylformamid). Nach dem Dünnschichtchromatogramm liegt die Substanz in etwa 95% Reinheit vor.

C₁₂H₁₆O₃N₃BrS (362,25) Ber. C 39,79 H 4,45 N 11,60% Gef. C 41,48 H 5,04 N 10,71%

N-Benzoyl-S-glycyl-D,L-cysteinamid-hydrobromid [5]. Smp. 165–170°.

C₁₂H₁₆O₃N₃BrS (362,25) Ber. C 39,79 H 4,45% Gef. C 38,77 H 4,62%

Auch dieses Präparat konnte seiner grossen Empfindlichkeit wegen durch Umkristallisieren nicht ganz rein erhalten werden.

Vergleichssubstanzen. - *N-Benzoyl-S-benzyl-L-cysteinyl-glycin*. 2,7 g (10 mMol) L-Cys(BZL)-Gly [14] werden in 20 ml 0,5N NaOH gelöst und bei 0° unter Rühren innert 30 Min. gleichzeitig mit 2,1 g (15 mMol) Benzoylchlorid und 20 ml 1N NaOH versetzt. Nach einer weiteren halben Stunde wird mit 6N HCl angesäuert und die Lösung vom öligen Niederschlag dekantiert. Der Rückstand kristallisiert beim Verreiben mit Äther. Umkristallisieren aus Chloroform/Petroläther: sehr feine Nadeln, Smp. 142-144°, 3,1 g (86%).

N-Benzoyl-S-benzyl-L-cysteinyl-glycin-methylester. Aus der Säure in Chloroform und Diazomethan in Äther. Kristallisieren aus Methanol/Wasser: Nadeln, Smp. 114-115°.

$C_{20}H_{22}O_4N_2S$	Ber. C 62,15	H 5,74	O 16,56	N 7,25	S 8,30%
(386,50)	Gef. „ 62,30	„ 5,78	„ 16,70	„ 7,46	„ 8,30%

N-Benzoyl-S-benzyl-L-cysteinyl-glycinamid (IIa). Aus dem Methylester mit kalt gesättigtem methanolischem Ammoniak, 24 Std. Zimmertemperatur. Aus Methanol/Wasser feine haarartige Kristalle, Smp. 138-139°, $[\alpha]_D^{20} = 29,7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1$, EtOH).

$C_{19}H_{21}O_2N_2S$	Ber. C 61,43	H 5,70	O 12,92	N 11,31	S 8,63%
(371,49)	Gef. „ 61,24	„ 5,90	„ 13,16	„ 11,30	„ 8,62%

S-Benzyl-L-cystein-methylester-hydrochlorid. Man verestert 20,7 g (100 mMol) L-Cys(BZL) [14] nach der Thionylchlorid-Methode [18], versetzt die ätherische Lösung des freigesetzten Esters mit ätherischem HCl und kristallisiert das ausgeschiedene Hydrochlorid aus Methanol/Äther 1:5. Smp. 153-154°; 21,6 g (82%) (Lit.: Smp. 150° [14]).

$C_{11}H_{16}O_2NCIS$ (261,77)	Ber. C 50,47	H 6,16	N 5,35%	Gef. C 50,81	H 6,15	N 5,27%
--------------------------------	--------------	--------	---------	--------------	--------	---------

N-Benzoyl-S-benzyl-L-cystein-methylester. Man suspendiert 21,5 g (82 mMol) L-Cys(BZL)-OCH₃, HCl in 40 ml Chloroform, gibt bei -5° langsam 25 ml Pyridin, dann tropfenweise 13,90 g (99 mMol) Benzoylchlorid zu. Die zunächst resultierende Lösung erstarrt bald zu einer festen kristallinen Masse. Nach 24 Std. bei 5° wird mit 5 ml Methanol verrührt und nach etwa einer Stunde im Vakuum bei 100° von leichtflüchtigen Anteilen befreit. Übliches Aufarbeiten und Kristallisieren aus Essigester oder Benzol/Pentan 5:3 liefert 26,5 g (98%) Produkt, Smp. 120-121°.

$C_{18}H_{19}O_2NS$ (329,41)	Ber. C 65,63	H 5,81	N 4,25%	Gef. C 65,88	H 5,99	N 4,25%
------------------------------	--------------	--------	---------	--------------	--------	---------

N-Benzoyl-S-benzyl-L-cysteinamid (IVa). Aus dem Methylester mit methanolischem Ammoniak. Nadeln aus Äthanol, Smp. 162-164°. Zur Analyse wird aus der 20fachen Menge Methanol umkristallisiert: haarartige Nadeln, Smp. 166-168°.

$C_{17}H_{18}O_2N_2S$	Ber. C 64,94	H 5,77	O 10,18	S 10,20%
(314,40)	Gef. „ 65,00	„ 5,83	„ 10,08	„ 10,23%

S-Benzyl-N-(benzoyl-glycyl)-L-cystein [16]. 1,5 g (5 mMol) S-Benzyl-L-cystein [14] werden in 5 ml 1N Natronlauge gelöst. Unter Rühren trägt man in die auf 65° erwärmte Lösung portionenweise 1,11 g (5,5 mMol) frisch hergestelltes, noch feuchtes Hippursäureazid ein [15]. Durch tropfenweises Zugeben von 2N Natronlauge wird die Lösung schwach alkalisch gehalten. Nach 40 bis 60 Min. lässt man erkalten, extrahiert (die alkalische Lösung zweimal mit Chloroform und säuert mit konz. Salzsäure auf Kongo an. Es fällt ein weisses mikrokristallines Pulver aus. Nach dem Waschen mit Eiswasser und Trocknen über Schwefelsäure im Vakuum verbleiben 1,65 g (92%) vom Smp. 129-132°.

Zur Reinigung wird der Rückstand in etwa 350 ml Essigester gelöst und zuerst mit drei Portionen 2N Salzsäure von je 20 ml, dann 3mal mit je 20 ml kalt gesättigter Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert. (Bei Ausbildung von drei Phasen muss so lang: gesättigte Hydrogencarbonat-Lösung hinzugefügt werden, bis nur noch zwei Phasen verbleiben.) Die Essigester-Lösung wird nun 4mal abwechselungsweise mit den gleichen Volumina Wasser und gesättigter Kaliumhydrogencarbonat-Lösung geschüttelt und die entsprechenden Extrakte getrennt gesammelt. Beim Ansäuern des wässrigen Extraktes mit wenig Salzsäure auf Kongo fällt das Kupplungsprodukt als feines, weisses Pulver an. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit Eiswasser gewaschen und nach dem Trocknen aus heissem Essigester umkristallisiert: 1,26 g (70%) farblose Prismen vom Smp. 134-135°, $[\alpha]_D^{20} = -26^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,3$, EtOH 95%).

$C_{19}H_{20}O_4N_2S$	Ber. C 61,27	H 5,41	N 7,52	S 8,61%
(372,37)	Gef. „ 61,39	„ 5,47	„ 7,73	„ 8,52%

S-Benzyl-N-(benzoyl-glycyl)-L-cystein-methylester [16]. Aus der Säure in Methanol und Diazo-methan in Äther: Prismen aus Methanol/Wasser oder aus Essigester/Petroläther, Smp. 101–102°, $[\alpha]_D^{24} = -40^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,04$, Methanol).

$C_{20}H_{22}O_4N_2S$	Ber. C 62,15	H 5,74	N 7,25	O 16,75%
(386,39)	Gef. ,, 61,90	,, 5,89	,, 7,15	,, 16,78%

S-Benzyl-N-(benzoyl-glycyl)-L-cysteinamid (VIIa) [16]. Aus dem Methylester mit kalt gesättigtem methanolischen Ammoniak, 48 Std., Raumtemperatur. Das ölige Rohprodukt (0,3 g) wurde an Aluminiumoxid, sauer «WOELM», Aktivitätsstufe I, chromatographiert (8 g Alox, 25 ml Fraktionen; Elutionsmittel: Essigester). Kristallisation aus Methanol-Wasser gab 0,2 g (58%) farblose Prismen vom Doppel-Smp. 122–123° und 160–161°; $[\alpha]_D^{24} = -28,2^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 0,89$, EtOH 95%); IR.-Spektrum in Fig. 2.

$C_{19}H_{21}O_3N_3S$	Ber. C 61,43	H 5,70	O 12,92	N 11,31	S 8,63%
(371,38)	Gef. ,, 61,42	,, 5,77	,, 13,06	,, 11,51	,, 8,48%

N,N'-Dibenzoyl-L-cystinamid (V). Man suspendiert 0,99 g (3,15 mMol) Bz-L-Cys(BZL)-NH₂ (IVa) in ca. 100 ml flüssigem Ammoniak, gibt bis zur dauernden Blaufärbung blank geschnittenes Natrium zu (Verbrauch 1,1 g, 48 mMol), trägt nach 30 Min. 3 g NH₄Cl (57 mMol) in kleinen Portionen ein (Entfärbung), lässt den Ammoniak verdampfen, nimmt in Wasser auf und leitet bis zur negativen Nitroprussid-Reaktion Luft durch die Lösung. Das ausgefallene Disulfid wird abfiltriert und gründlich mit Wasser gewaschen: 0,6 g (86%). Umkristallisieren aus Dimethylformamid/Essigester: Smp. 227–228°, $[\alpha]_D^{25} = -193^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1$, abs. Dimethylformamid), dünn-schichtchromatographisch rein. Tüpfel-Test auf Papier: Nitroprussid + NH₃, negativ; Nitroprussid + NaCN, positiv.

N,N'-Dibenzoyl-L-cystin-diglycinamid (III). Man versetzt die Lösung von 0,150 g (0,4 mMol) Bz-L-Cys(BZL)-Gly-NH₂ (IIa) in 30 ml Ammoniak bis zur bleibenden Blaufärbung mit blankgeschnittenem Natrium (Verbrauch 0,8 g; 35 mMol), setzt nach 30 Min. 2,1 g (40 mMol) NH₄Cl in kleinen Portionen zu (Entfärbung), lässt anschliessend den Ammoniak verdampfen, löst den Rückstand in Wasser und leitet bis zur negativen Nitroprussid-Reaktion Luft durch. Die Disulfid-Verbindung fällt aus, wird abfiltriert, gründlich mit Wasser und Essigester gewaschen, getrocknet, aus Dimethylformamid/Essigester zunächst ausgeölt und dann aus demselben Gemisch umkristallisiert: 0,040 g (36%), Smp. 200–215°. Nochmalige Kristallisation aus Dimethylformamid/Äther: Smp. 234–236°; dünn-schichtchromatographisch rein. Tüpfel-Test auf Papier: Nitroprussid + NH₃, negativ; Nitroprussid + NaCN, positiv.

$C_{24}H_{28}O_6N_4S_2$	(560,72)	Ber. N 14,99	S 11,48%	Gef. N 15,05	S 11,51%
-------------------------	----------	--------------	----------	--------------	----------

SUMMARY

The aminoacyl insertion reaction previously demonstrated with O-aminoacyl derivatives of β -hydroxycarboxylic acid amides, including serine amide, is shown to occur with a sulfur analogue, *i.e.* an S-aminoacyl derivative of cysteine amide. In spite of an increase in driving force, due to attachment of the aminoacyl group to sulfur instead of oxygen, there is no decrease in the catalytic requirements of the rearrangement; the reaction still demands the presence of a strong base such as the *t*-butoxide ion.

Institut für Organische Chemie
Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. BRENNER & J. P. ZIMMERMANN, *Helv.* 41, 467 (1958).
- [2] M. BRENNER, *J. cellular comparat. Physiology* 54, Suppl. 1, 221 (1959).
- [3] DISS. A. HARTMANN, Basel 1958, im Druck erschienen 1964.
- [4] TH. WIELAND, E. BOKELMANN, L. BAUER, H. U. LANG & H. LAU, *Liebigs Ann. Chem.* 583, 129 (1953).

- [5] M. BRENNER & H.-CH. CURTIUS, *Helv.* 46, 2126 (1963).
 [6] TH. WIELAND, W. SCHÄFER & E. BOKELMANN, *Liebigs Ann. Chem.* 573, 99 (1951); TH. WIELAND & W. SCHÄFER, *ibid.* 576, 104 (1952); TH. WIELAND & E. BOKELMANN, *Angew. Chem.* 64, 59 (1952).
 [7] R. SCHWYZER, *Helv.* 37, 647 (1954).
 [8] L. A. SHCHUKINA, S. N. KARA-MURZA & G. P. GROMOVA, *Doklady Akad. Nauk SSSR* 136, 135 (1961).
 [9] E. M. FRY, *J. org. Chemistry* 15, 438 (1950).
 [10] J. WEHRMÜLLER, *Diss.* Basel 1955.
 [11] I. PHOTAKI, *J. Amer. chem. Soc.* 85, 1123 (1963).
 [12] C. ZILOUDROU, M. WILCHEK, M. SOKOLOVSKY & A. PATCHORNIK, *Israel J. Chemistry* 2, 326 (1964).
 [13] M. W. CRONIN, *J. Amer. chem. Soc.* 74, 4726 (1952).
 [14] V. DU VIGNEAUD & G. L. MILLER, *Biochem. Prep.* 2, 74 (1952).
 [15] TH. CURTIUS, *J. prakt. Chem.* [2] 52, 252 (1889).
 [16] A. HARTMANN, nicht publiziert.
 [17] E. STAHL, *Dünnschichtchromatogr.*, Springer 1962, S. 501.
 [18] M. BRENNER & W. HUBER, *Helv.* 36, 1109 (1953).

30. Die Glykoside der Blätter von *Digitalis obscura* L. ssp. *obscura*¹⁾

von Kurt Huber und Kuno Meyer

(7. X. 65)

Digitalis obscura L. ssp. *obscura* kommt im Osten von Spanien (vom südlichen Teil Kataloniens bis hinab zur Sierra Nevada) ziemlich verbreitet vor. In der Literatur [1] werden auch zwei Fundorte für diese *Digitalis*-Art in Marokko angegeben.

Frühere chemische Untersuchungen. Diese Pflanze wurde erstmals von NOVELLA & LONZANO [2] auf ihren Gehalt an Glykosiden hin untersucht. Diese Autoren berichteten über die Isolierung einer als «Obscuraglykosid» bezeichneten Substanz, die, wie weitere Untersuchungen [3] zeigten, keine positive LEGAL- und RAYMOND-Reaktion gab und auch im UV. keine für Cardenolide typische selektive Absorption zwischen 215 und 218 nm zeigte.

Beschaffung des Untersuchungsmaterials. Herr Dr. C. R. GAVILANES²⁾ hatte die Freundlichkeit, uns das Pflanzenmaterial auf der Sierra de Mainò (Alicante) sammeln zu lassen³⁾.

Extraktion und Vortrennung. Die Extraktion der staubfein gemahlten Blätterdroge erfolgte mit 95-proz. Äthanol. Der (im Vakuum) konzentrierte Auszug wurde mit einer wässrigen Pb(OH)₂-Suspension gereinigt, filtriert und im Vakuum vom Äthanol befreit. Die so gewonnene wässrige Glykosidlösung extrahierte man der Reihe nach erschöpfend mit den in der folgenden Tabelle genannten Lösungsmitteln.

¹⁾ Zur Taxonomie siehe WERNER [1].

²⁾ Wir danken Herrn Dr. GAVILANES (Las Palmas, Gran Canaria) bestens für seine Hilfe bei der Beschaffung des Drogenmaterials.

³⁾ Als Sammeldaten wurden uns angegeben: 13. 5. 1963, 26. 6. 1963 und 19. 12. 1963. Die Trocknung der Blätter erfolgte bei 45°.