

$\delta = 2,05$, s ($\text{CH}_3\text{-CO}$); $\delta = 7,10$, s (H-C=C); $\delta = 7,20$, d (H-C(3)); $\delta = 8,00$, d (H-C(4)); $\delta = 8,20$, s (COOH); $\delta = 10$, s (NH). Spectre IR. (pastille de KBr): 3300 (ν_{NH}); 1700 ($\nu_{\text{C=O}}$ acide); 1620 et 1540 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide I et II 1520 et 1335 ($\nu_{\text{N-O}}$ nitro); 1450 et 1050 ($\nu_{\text{C=C}}$ thiophène) cm^{-1} .

$\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$	Calc. C 42,22	H 3,15	N 10,94	S 12,53%
(256,10)	Tr. , 42,05	, 3,18	, 11,12	, 12,43%

Méthyl-2-(acétylamino-5-thénylidène-2)-4-oxazolone-5 (VII): dans un ballon avec agitateur, réfrigérant et thermomètre, on introduit 12 g (0,05 mole) de V, 50 ml d'acide acétique, 10 ml d'anhydride acétique. On porte à 60° et ajoute lentement 14 g (0,25 mole) de limaille de fer. La température s'élève rapidement. A la fin de l'addition du fer, on ajoute un mélange de 30 ml d'acide acétique et 2 ml d'anhydride acétique. On agite le mélange 2 h à 50–60°, puis on filtre le le produit qu'on laisse 20 min dans de l'eau bouillante. On cristallise deux fois dans l'éthanol absolu: 1,85 g (14,70%) de VII, F. 278°.

Phényl-2-(nitro-5-thénylidène-2)-4-oxazolone-5 (VIII): préparée de la même manière que la précédente oxazolone, mais à partir de 15,70 g (0,10 mole) de IV, 13,12 g (0,16 mole) d'acétate de sodium et 23,27 g (0,13 mole) d'acide hippurique. On cristallise deux fois dans le benzène: 24,30 g (81%) de VIII, F. 234° (6).

Acide β -(nitro-5-thiényl-2)- α -benzoylamino-acrylique (IX): au bain-marie bouillant, on dissout 3 g (0,01 mole) de VIII et 1,59 g (0,015 mole) de carbonate de sodium dans 60 ml d'eau. Puis on ajoute du noir végétal et filtre à chaud. Après refroidissement, on acidifie le filtrat par l'acide acétique. On cristallise le produit précipité deux fois dans l'éthanol dilué: 2,80 g (88%) de IX, F. 222–223°. Spectre de RMN.: $\delta = 8,10$, d (H-C(3)); $\delta = 8,15$, d (H-C(4)); $\delta = 7,95$, s (H-C=C); $\delta = 7,65$ à 8,10, massif (phényl); $\delta = 7,50$ à 8,30, massif (COOH); $\delta = 10$, s (NH). Spectre IR. (pastille de KBr): 3200 (ν_{NH}); 2600 (ν_{OH}); 1700 ($\nu_{\text{C=O}}$ acide); 1650 et 1530 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide I et II); 1510 et 1340 (ν_{NO} nitro); 1480 et 1035 ($\nu_{\text{C=C}}$ thiophène) cm^{-1} .

$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$	Calc. C 52,87	H 3,15	N 8,81	S 10,08%
(318,15)	Tr. , 52,72	, 3,21	, 8,85	, 9,98%

Phényl-2-(acétylamino-5-thénylidène-2)-4-oxazolone-5 (X): ce composé a été obtenu de la même manière que précédemment, par réduction-acétylation de VIII. On cristallise dans l'éthanol à 98°. F. 275°.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] B. Miche de Malleray, Helv. 54, 343 (1971).
- [2] E. Campaigne & W. L. Archer, J. Amer. chem. Soc. 75, 989 (1953).
- [3] T. M. Patrick & W. S. Emerson, J. Amer. chem. Soc. 74, 1356 (1952).
- [4] L. M. Jackman & S. Sternhell, dans «Applications of Nuclear Magnetic Resonance, Spectroscopy in Organic Chemistry», Vol. 5, Pergamon Press, London 1968.

37. Note sur la préparation de l'acétylamino-5-acétyl-2-thiophène

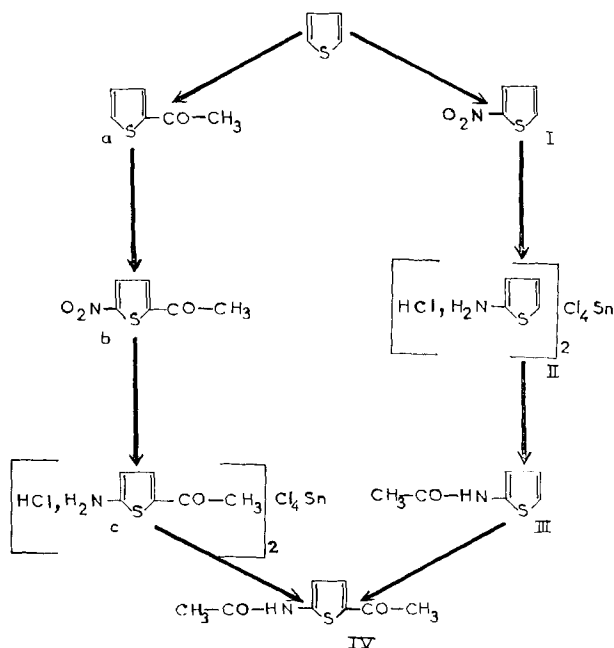
par Bernard Miche de Malleray

51, rue Decamps, F-75-Paris 16ème

(3 IX 70)

Résumé. L'acétylamino-5 acétyl-2-thiophène a été préparé avec un bon rendement par traitement de l'acétylamino-5-thiophène (obtenu à partir du thiophène par des procédés connus) par l'anhydride acétique en présence de faibles quantités d'acide perchlorique.

Jusqu'à maintenant, seul Steinkopf [1] a préparé l'acétylamino-5-acétyl-2-thiophène (IV) qu'il a obtenu à partir du thiophène en passant successivement par l'acétyl-2-thiophène (a), le nitro-5-acétyl-2-thiophène (b) et l'hexachlorostannate d'amino-5-acétyl-2-thiophène (c).



Nous avons préparé le composé IV en nitrant le thiophène selon la méthode de *Hartough* [2], en réduisant le nitro-5-thiophène (I) obtenu en hexachlorostannate d'amino-5-thiophène (II) selon *Steinkopf* [3] et en acétylant ce dernier corps selon *Lew et al.* [4]; l'acétylamino-5 thiophène (III) qui en résultait a été transformé avec un rendement de 92% en acétylamino-5-acétyl-2-thiophène (IV) par traitement avec l'anhydride acétique en présence d'acide perchlorique. Cette méthode d'acétylation de l'acétylamino-5-thiophène (III) n'a jamais été employée. La structure de IV a été confirmée par l'analyse, ainsi que par les spectres de RMN. et IR.

Partie expérimentale. - Le spectre de RMN. a été enregistré d'un appareil *Varian A-60*, sur des solutions dans le diméthylsulfoxyde hexadeutéié à 99,2%, avec comme référence interne, le tétraméthylsilane. Les déplacements chimiques sont mesurés en ppm; à $\pm 0,02$ ppm près. Les constantes de couplage entre les protons du cycle thiophénique trouvées sont conformes à celles données par *Jackman & Sternhell* [5]. Le spectre IR. a été enregistré sur un appareil *Perkin-Elmer 257* en pastille de bromure de potassium.

Acétylamino-5-thiophène (III): ce composé a été préparé suivant *Miche de Malleray* [6].

Acétylamino-5-acétyl-2-thiophène (IV): dans un erlenmeyer muni d'un agitateur magnétique, on mélange 7 g (0,05 mole) d'acétylamino-5-thiophène (III) cristallisé, 50 ml d'anhydride acétique. On ajoute très lentement 2 ml d'acide perchlorique (réaction exothermique). Après quelques heures de repos, on verse le mélange sur de la glace et filtre le produit cristallisé qu'on lave avec beaucoup d'eau. On cristallise deux fois dans l'acide acétique (noir végétal): 8,5 g (92,80%) de IV, F. 271° [1]. Spectre de RMN.: $\delta = 2,45$, s ($\text{CH}_3\text{-CO}$); $\delta = 2,12$, s ($\text{CH}_3\text{-CO-N}$); $\delta = 6,70$, d (H-C(4)); $\delta = 7,25$, d (H-C(3)); $\delta = 11,70$, s (N-H). Spectre IR.: 3250 et 3210 (ν_{NH}); 1680 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1615 et 1570 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide I et II); 1510 et 1030 ($\nu_{\text{C=C}}$ thiophène) cm^{-1} .

$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2\text{S}$	Calc. C 52,49	H 4,95	N 7,63	S 17,50%
(183,12)	Tr. „ 52,38	„ 4,98	„ 7,71	„ 17,44%

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *W. Steinkopf*, Liebigs Ann. Chem. 413, 333 (1916).
[2] *H. D. Hartough*, dans «Thiophene and its derivatives», p. 512, Interscience Publishers, New-York 1952.
[3] *W. Steinkopf*, Liebigs Ann. Chem. 403, 17 (1914).
[4] *H. Y. Lew & C. R. Noller*, J. Amer. chem. Soc. 72, 5715 (1950).
[5] *L. M. Jackman & S. Sternhell*, dans «Applications of Nuclear Magnetic Resonance, Spectroscopy in Organic Chemistry», Vol. 5, Pergamon Press, London 1968.
[6] *B. Miche de Malleray*, Helv. 54, 343 (1971).

38. An Efficient Synthesis of Thyrotropin Releasing Hormone (TRH)

by **Pierre Rivaille** and **Gérard Milhaud**

Laboratoire associé au C.N.R.S., Laboratoire des Isotopes
Service de Biophysique, Faculté de Médecine St-Antoine
27, rue Chaligny, 75 Paris 12^e, France

(26. XII. 70)

Summary. A convenient and simple synthesis of L-pyroglutamyl-L-histidyl-L-prolinamide is described. Two pathways using the solid phase technique have led to the pure tripeptide.

Thyrotropin releasing hormone (TRH) was isolated from porcine hypothalamus by *Schally et al.* [1] and from ovine hypothalamus by *Guillemin et al.* [2], and proved to be identical with L-pyroglutamyl-L-histidyl-L-prolinamide [3]. A classical synthesis of this tripeptide was reported recently [4]; the solid phase technique [5] used here gives better yields, is simpler and quicker.

The following reaction scheme was used. *t*-Butyloxycarbonyl (Boc) is introduced in proline, glutamic acid or glutamine as the amine protecting group [6] using Boc-azide at constant alkaline pH. The purity of the Boc-aminoacids was checked by measuring the rotation and by thin-layer chromatography. The histidine imidazole group was protected with *o*,*p*-dinitrophenyl before condensation, as selective removal of this group can easily be performed by thiolysis at pH 8 [7].

Protected histidine was reacted with proline linked on the chloromethylresin in the presence of dicyclohexyl-carbodiimide (Dcc). The glutamyl residue was introduced in two ways: (A) Boc-pyroglutamic acid was condensed in the presence of Dcc; (B) Boc-glutamine dinitrophenylester [8] was reacted with the dipeptide linked to the resin in dimethylformamide. The tripeptide was split from the resin by aminolysis [9], the imidazole protecting group removed, and the glutamine converted into pyroglutamic acid by boiling acetic acid [10].

The tripeptide was purified by Sephadex G10 filtration followed by silica-gel chromatography. The pure material did not react with ninhydrin, as could be anticipated due to the presence of prolinamide and pyroglutamic acid. After silica-gel thin layer chromatography in several solvent systems [11], the product gave a single spot when detected with *Pauly's* reagent. The optical rotation was of the order of the one published [4]. After acid hydrolysis, the three initial aminoacids could be detected by spraying the thin layer chromatoplaque with ninhydrin.