

- [5] *W. Hubbell & McConnell*, Proc. nat. Acad. Sci. USA *61*, 12 (1968); *63*, 16 (1969).
 [6] *A. Waggoner, T. Kingzett, S. Rottschaefer & O. Griffith*, Chem. Phys. Lipids *3*, 245 (1969);
J. Hsia, H. Schneider & I. Smith, *ibid.* *4*, 120 (1970).
 [7] *L. Libertini, A. Waggoner, P. Jost & O. Griffith*, Proc. nat. Acad. Sci. USA *64*, 13 (1969);
J. Hsia, H. Schneider & I. Smith, Biochim. biophys. Acta *202*, 399 (1970); *J. Hsia, W. Chen,*
R. Long, L. Wong & W. Kalow, Proc. nat. Acad. Sci. USA *69*, 3412 (1972).
 [8] *I. H. Silman & E. Katchalski*, Ann. Rev. Biochemistry *35*, 873 (1966); *P. Quatrecasas &*
C. B. Anfinsen, *ibid.* *40*, 259 (1971); *J. Turková*, J. Chromatogr. *91*, 267 (1974).
 [9] *G. I. Tesser, H.-U. Fisch & R. Schwyzer*, FEBS Letters *23*, 56 (1972); Helv. *57*, 1718 (1974).
 [10] *C. L. Hamilton & H. M. McConnell*, in 'Structural Chemistry and Molecular Biology', A. Rich &
 N. Davidson, Edit., W. H. Freeman & Co., San Francisco (Cal., USA) 1968, p. 115.
 [11] *O. Keller & J. Rudinger*, Helv., in preparation.
 [12] *B. Riniker, H. Brunner & R. Schwyzer*, Angew. Chem. *74*, 469 (1962); *B. Riniker & R. Schwyzer*,
 Helv. *47*, 2357 (1964).
 [13] *K. Arakawa, R. Smeby & F. M. Bumpus*, J. Amer. chem. Soc. *84*, 1424 (1962); *S. Deodhar*,
 J. exp. Med. *171*, 419 (1960).
 [14] *R. Schwyzer*, Ergebn. Physiol. *53*, 1 (1963).
 [15] *W. Rittel, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker & R. Schwyzer*, Angew. Chem. *69*, 179 (1957);
R. Schwyzer, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker, W. Rittel & H. Zuber, Helv. *41*, 1287 (1958).
 [16] *D. Veber, J. Milkowski, S. Varga, R. Denkwaller & R. Hirschmann*, J. Amer. chem. Soc. *94*,
 5456 (1972).
 [17] *D. Regoli, B. Riniker & H. Brunner*, Biochem. Pharmacol. *12*, 637 (1963); *F. M. Bumpus &*
R. Smeby, in 'Renal Hypertension', I. Page & J. McCubbin, Edit., Medical Year Book,
 Chicago, Ill. USA 1968; *D. Pals, F. Masucci, G. Denning, Jr., F. Sipos & D. Fessler*, Circulation
 Res. *29*, 673 (1971); *R. Türker, M. Hall, M. Yamamoto, C. Sweet & F. M. Bumpus*,
 Science *177*, 1203 (1972).
 [18] *C. F. Chignell, D. K. Starkweather & R. H. Erlich*, J. med. Chemistry *15*, 876 (1972); *R. J. Gar-*
giulo, G. J. Giotta & H. H. Wang, *ibid.* *16*, 707 (1973).
 [19] *L. Stryer & O. H. Griffith*, Proc. nat. Acad. Sci. USA *54*, 1785 (1965); *J. Hsia & L. Piette*, Arch.
 Biochemistry Biophys. *129*, 296 (1969).
 [20] *H. Weiner*, Biochemistry *8*, 526 (1969).
 [21] *J. D. Morrisett, C. A. Broomfield & B. E. Hackley, Jr.*, J. biol. Chemistry *244*, 5758 (1969).
 [22] *R. J. Weinkam & E. C. Jorgensen*, J. Amer. chem. Soc. *93*, 7028, 7033 (1971).
 [23] *H. M. Katzen & D. D. Soderman*, 'The Role of Membranes in Metabolic Regulation', M. A.
 Mehlman & R. W. Hanson, Edit., Academic Press, New York 1972, p. 195.

174. Reaktionen von Glutaminsäuredimethylester im Massenspektrometer

21. Mitteilung über das massenspektrometrische Verhalten von Stickstoffverbindungen^{1) 2)}

von **Elsbeth Lerch** und **Manfred Hesse**

Organisch-chemisches Institut der Universität, CH-8001 Zürich, Rämistr. 76

(18. VI. 74)

Summary: The mass spectral fragmentation of dimethyl glutamate (**1**) and its deuterated derivatives **1a**, **1b** and **1c** has been investigated. By loss of a methoxycarbonyl group from the molecular ion an ion of *m/e* 116 is generated. The latter splits off methanol (*m**), the resulting fragment of *m/e* 84 giving raise to the base peak of the spectrum. Only part of the hydrogen

¹⁾ 20. Mitt., s. [1].

²⁾ E. Lerch, Teil der geplanten Dissertation, Universität Zürich.

transferred to the leaving group originates from the amino group, as was suggested earlier [2] [3]. Basing on experiments with deuterated compounds we propose an additional mechanism for the reaction, *i.e.* hydrogen transfer from C(3) to methoxyl. The fragment generated by both processes is most likely to be a pyrrolinonium ion. Thermal side reactions in the mass spectrometer (formation of pyroglutamic acid ester) followed by fragmentation may lead to the same ion. - The mechanisms discussed are supported by the mass spectral fragmentation of N-acetyl-glutamic acid diesters **3**, **3a**, **3b** and **3d** and of the N,N-dimethyl derivatives **4** and **4a**. - The fragmentation reactions investigated are similar to some of 1,3-trimethylenediamine derivatives [7]. This means that there are parallels in the mass spectral fragmentation of difunctional compounds irrespective of the nature of the functional groups.

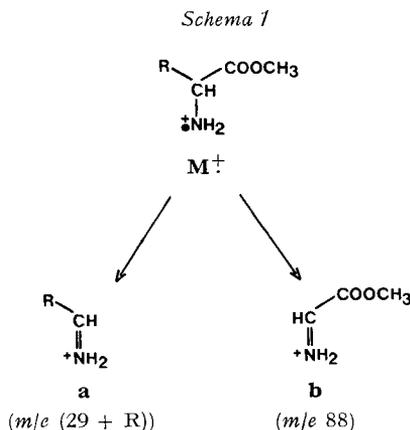
In der Peptidchemie kommt der Charakterisierung von Aminosäuren grosse Bedeutung zu. Schon zu Beginn der sechziger Jahre erkannte man, dass die üblichen Methoden, insbesondere Chromatographie und chemischer Abbau, durch die massenspektrometrische Analyse wenn nicht ersetzt, so doch in wertvoller Weise ergänzt werden können [2] [3].

Dabei ist allerdings zu beachten, dass Aminosäuren wegen ihres polaren Charakters schwer verdampfbar sind und daher massenspektroskopisch bei relativ hohen Temperaturen untersucht werden müssen, so dass thermische Zersetzungsreaktionen auftreten können. Das Problem lässt sich im allgemeinen durch Maskierung der Säure- und/oder Aminofunktion umgehen, wobei die abgeänderte Gruppe den massenspektrometrischen Zerfall des Grundgerüsts nicht stören oder einen für die Einzelaminosäure neuartigen aber charakteristischen Abbau haben soll. Als eine gute Lösung hat sich die Veresterung der Carboxylgruppe nach *Fischer* erwiesen; sie verläuft meist mit hoher Ausbeute und die Produkte sind leicht verdampfbar, vgl. [4].

In [2] wurden die Äthylester verschiedener α -Aminosäuren bezüglich ihres massenspektrometrischen Verhaltens untersucht und für die Entstehung der Hauptfragment-Ionen Mechanismen vorgeschlagen:

Fast allen aliphatischen α -Aminosäureestern gemeinsam ist die Spaltung der α -Bindungen zur Amino-Gruppe (*Schema 1*), wobei die Ionen **a** und **b** gebildet werden.

Die übrigen Zerfallsmechanismen sind, je nach Natur des Restes R, für die individuellen Aminosäuren charakteristisch. Dabei sind entweder Fragmentierungen des Molekular-Ions selbst oder Folgereaktionen aus **a** möglich.



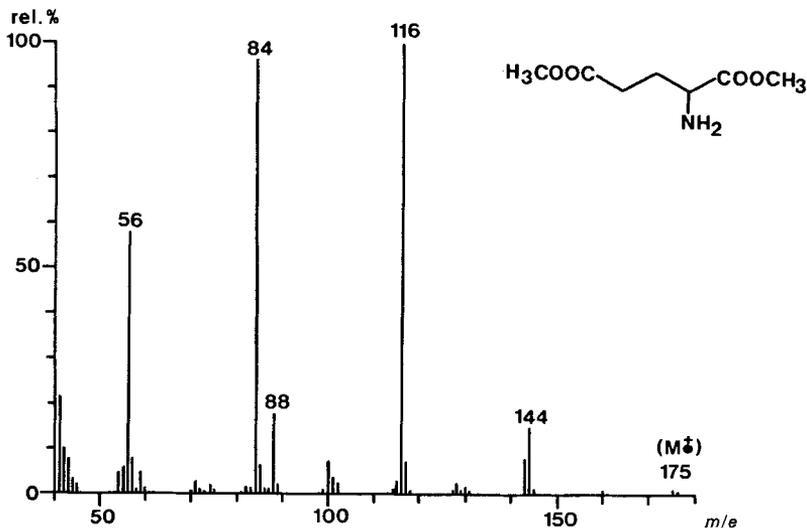


Fig. 1. Massenspektrum von Glutaminsäuredimethylester (1) als Hydrochlorid (70 eV, Direkteinlass 120°, 8 KV)⁶⁾

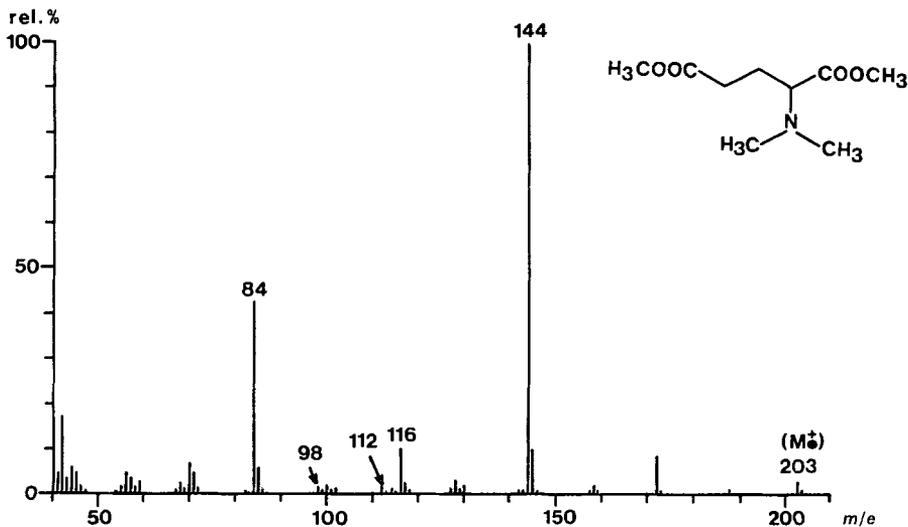


Fig. 2. Massenspektrum von N,N-Dimethyl-glutaminsäuredimethylester (4) (gleiche Aufnahmebedingungen wie bei Fig. 1)

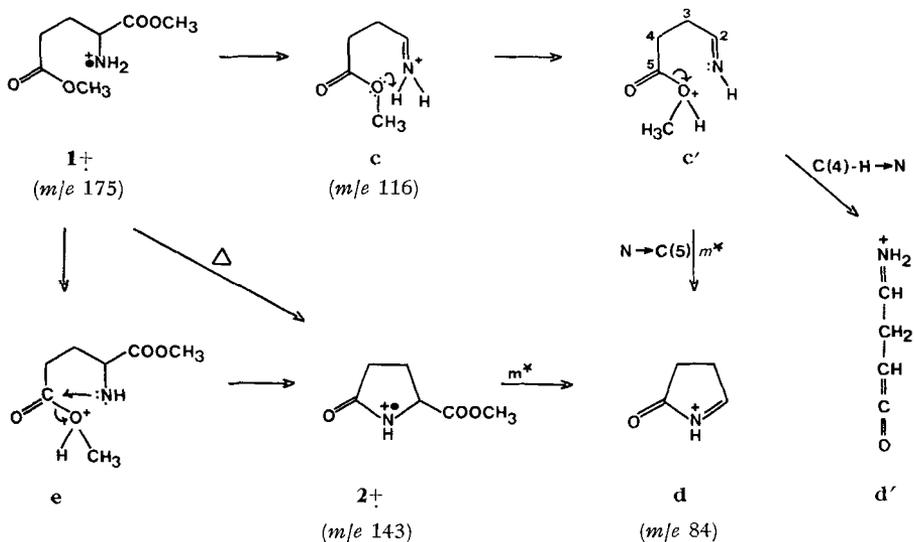
⁶⁾ Es sei erwähnt, dass aus Glutaminsäure-5-amid (Glutamin) im Massenspektrometer Ammoniak abgespalten wird (in Ähnlichkeit zur Abspaltung von Äthanol aus 5): 146 (M⁺, 0), 129 (4), 85 (6), 84 (100), 83 (12), 57 (5), 56 (30), 55 (10), 54 (10), 45 (18), 44 (10), 43 (7), 42 (10), 41 (30), 40 (5).

Signale für die Ionen m/e 116 und 84 kein signifikanter Unterschied besteht. Hingegen ist ein deutlicher Mindergehalt an Deuterium (*ca.* 15%) im leichteren Ion der Verbindung **1b** festzustellen.

Das Ion 84 kann, wie bereits angedeutet, die Struktur **d** besitzen: Ausgehend vom Molekular-Ion (**1⁺**) wird die 2-ständige⁷⁾ Methoxycarbonyl-Gruppe unter Bildung von **c** (m/e 116) abgespalten. Dieses Ion geht unter Eliminierung von Methanol (m^*) in **d** (m/e 84) über. Bei diesem Prozess wird ein $H(N)$ an die Methoxygruppe des Esters übertragen (\rightarrow **c'**). Beim anschließenden Cyclisierungsschritt erfolgt ein nukleophiler Angriff des Stickstoffatoms an das C(5) unter Methanol-Verlust (vgl. *Schema 2*). Glutaminsäurederivate, die in 5-Stellung nicht mit Methanol, sondern mit einem anderen Alkohol verestert sind, spalten diesen Alkohol ab⁷⁾. Es wurde nicht direkt bewiesen, dass beim Übergang **c'** \rightarrow **d** ein $H(N)$ mit abgespalten wird.

Der untere in *Schema 2* angegebene Mechanismus (**1⁺** \rightarrow **e** \rightarrow **2⁺** \rightarrow **d**), der über das Ion der Masse 143 abläuft, kann ebenfalls zur Bildung von **d** Anlass geben, wie durch Messung metastabiler Pike gezeigt werden konnte. Die Bildung von Pyroglutaminsäuremethylester (= 2-Oxo-pyrrolidin-5-carbonsäuremethylester (**2**)) aus Glutaminsäuredimethylester (**1**) kann sowohl rein thermisch als auch massenspektrometrisch (s. *Schema 2*) erfolgen. Durch Pyrolyse aus **1** hergestelltes **2** zeigt im Massenspektrum als Basispek m/e 84 (**2⁺** \rightarrow 84: m^*), dem zweifellos die Struktur **d** zuzuordnen ist. Das Verhältnis des durch Pyrolyse im Einlaßsystem des Massenspektro-

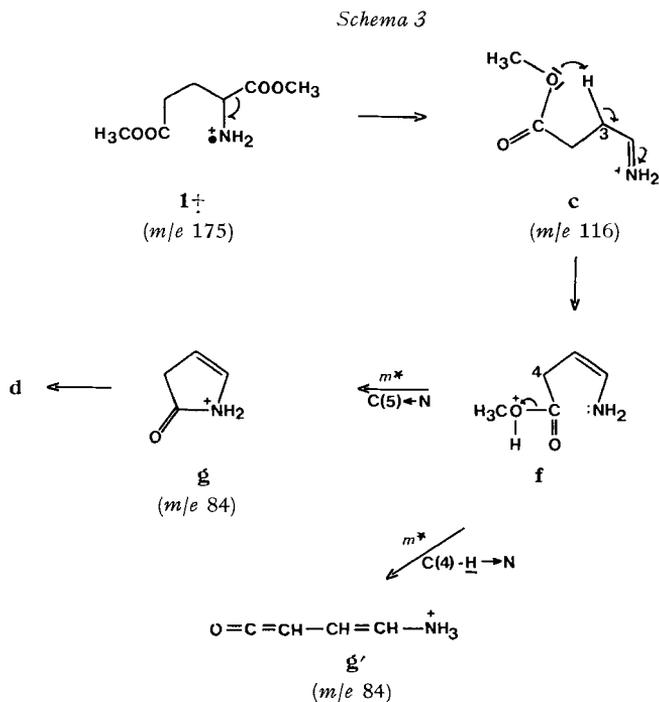
Schema 2



⁷⁾ Im Spektrum des gemischten Esters Glutaminsäure-5-äthylester-1-methylester (**6**) ($M = 189$) wird das mit **c** (m/e 116) korrespondierende Ion bei m/e 130 gefunden, während m/e 84 nicht verschoben wird ($m^* 54,3; m/e 130 \rightarrow 84$). Ein analoges Verhalten zeigt auch Glutaminsäure-5-äthylester (s. exper. Teil).

meters gebildeten **2** zu dem rein massenspektrometrisch gebildeten **2⁺** lässt sich nicht exakt bestimmen⁸⁾.

Wären die in *Schema 2* postulierten Methanolabspaltungen unter Verlust der 5-ständigen Methoxylgruppe und eines *H(N)* [2] [3] die einzigen Mechanismen, die zur Bildung des Ions *m/e* 84 führen, so könnten die D-Verschiebungen im Spektrum von 3,3-Dideuterio-glutaminsäure-dimethylester (**1b**) nicht erklärt werden (s. Tab. 1).



⁸⁾ Das Intensitätsverhältnis $(m/e \ 116)/(m/e \ 143)$ im Spektrum von Glutaminsäuredimethylester ist je nach Art des Präparates Schwankungen unterworfen:

| Verbindung | Ionisierungsspannung in eV | $(m/e \ 116)/(m/e \ 143)$ |
|--|----------------------------|---------------------------|
| 1 , als freie Base | 70 | 13,5 |
| | 12 | 13,3 |
| 1 , als freie Base, vorgängig dest. (50–65°/0,01 Torr) | 70 | 12,5 |
| | 12 | 8,3 |
| 1 , als Hydrochlorid | 70 | 11,6 |
| | 12 | 8,7 |
| 1 , als Hydrochlorid, vorgängig dest. (110–120°/0,01 Torr) | 70 | 6,3 |
| | 12 | 4,4 |

Aus dem Spektrum von **2** wird das $(m/e \ 116)/(m/e \ 143)$ -Intensitätsverhältnis bei 70 und 12 eV zu 0,0 bestimmt (für alle Messungen CEC-21-110 B, Direkteinlass).

Bei der Untersuchung massenspektrometrischer Abbaureaktionen, die zu cyclischen Ionen führen, hat sich gezeigt, dass die Intensität der entsprechenden Ionensignale von der Ringgrösse abhängig ist, vgl. [6] [17]. Es sollte deshalb auch möglich sein, durch Vergleich der Intensitäten der zu m/e 84 (*Schema 3*) homologen Ionen zwischen den beiden Strukturmöglichkeiten – cyclisch (**g**) oder offenkettig (**g'**) – zu entscheiden. Zu diesem Zweck wurden die homologen α -Aminodicarbonsäuredimethylester synthetisiert und massenspektrometrisch untersucht. Für m/e 84 und seine Homologen erhielt man die folgenden Werte (gemessen wurden in allen Fällen die Dimethylester, die Prozentzahlen sind Σ_{40}): m/e 70 (aus Asparaginsäure: 12,8%); m/e 84 (aus **1**: 22,3%); m/e 98 (aus α -Aminoadipinsäure: 13,4%); m/e 112 (aus α -Aminopimelinsäure: 9,9%); m/e 126 (aus α -Aminokorksäure: 4,9%)¹³. Aus diesen Befunden ergibt sich, dass m/e 84 aus **1** das intensivste Ion der homologen Reihe darstellt, was bedeuten würde, dass der fünfgliedrige ungesättigte Lactam-Ring besonders begünstigt ist. Wie an dem voranstehend diskutierten Zerfall von Glutaminsäuredimethylester (**1**) gezeigt wurde, ist eine Unterscheidung der offenkettigen (**d'**, **g'**) und der cyclischen (**d**, **g**) Strukturen neben den zwei verschiedene Wasserstoffatome involvierenden Abbaueisen nicht möglich. Ähnliche Verhältnisse sind bei den höheren Homologen zu erwarten. Hingegen ist für das Ion m/e 70 aus Asparaginsäuredimethylester aus Gründen, die in [5] an anderen Beispielen dargelegt wurden, eine offenkettige Struktur (ähnlich **d'** und **g'**; $\text{O}=\text{C}=\text{CH}-\text{CH}=\overset{+}{\text{N}}\text{H}_2$) zu bevorzugen. (Auch für dieses Ion ergeben sich wiederum mindestens zwei verschiedene Bildungsmöglichkeiten, nämlich Abspaltung von $\text{CH}_3\text{OH}(\text{N})$ und $\text{CH}_3\text{OH}(3)$ aus dem $[M - \text{COOCH}_3]$ -Ion).

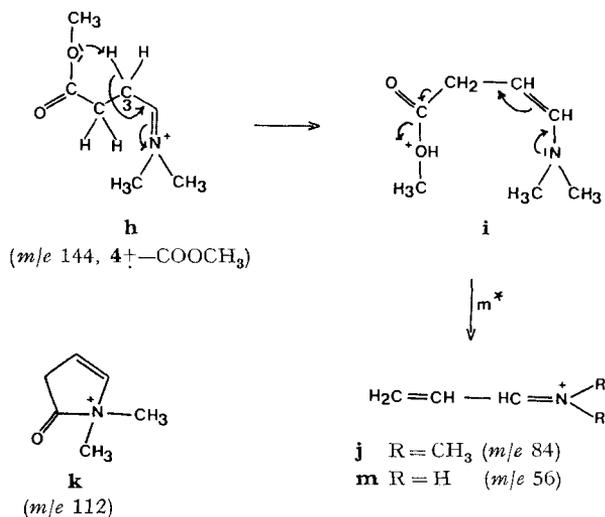
Als weitere Modellsubstanz zur Untersuchung der Bildungsmechanismen der Ionen 84 aus **1** diente der unzersetzt destillierbare N,N-Dimethyl-glutaminsäuredimethylester (**4**). Falls einer der in *Schema 2* angegebenen Genesewege auch für die Fragmentierung von **4** zutrifft, müsste **d** (m/e 84) nach 98 verschoben werden; das Signal bei m/e 98 im Spektrum von **4** besitzt jedoch nur eine Intensität von 1 rel.% (vgl. Fig. 2), d.h. Dimethyläther wird nicht aus **4** abgespalten wie Methanol aus **1**. Ebenso wenig werden die Analogen zu **g** resp. **g'** gebildet, da m/e 112 (**k**, m/e 84 + 28 amu) ebenfalls nur mit 1 rel.% angezeigt wird. Im Spektrum von **4** ist ausser dem Basispek m/e 144 ($M - \text{COOCH}_3$) noch m/e 84 von grosser Intensität. Letzterer enthält im Gegensatz zu m/e 84 aus **1** keinen Sauerstoff; seine Zusammensetzung wurde zu $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}^{14}$) bestimmt.

Dagegen enthält das Ion 84 beide N-Methylgruppen (Verschiebung des Signals um 6 amu im Spektrum von N,N-Di(trideuteriomethyl)-glutaminsäuredimethylester (**4a**)). Ein metastabiler Pik zeigt an, dass m/e 84 aus 144 gebildet wird. Aus diesen Befunden drängt sich **j** als Struktur für m/e 84 aus **4** auf. Wie in *Schema 4* dargestellt, ist eine Wasserstoffübertragung vom allylisch aktivierten C(3)H im $[M - \text{COOCH}_3]$ -Ion (**h**) an das Methoxylsauerstoffatom anzunehmen. Aus dem so gebildeten Ion **i** geht in der darauffolgenden Ladungstransfer-Reaktion **j** hervor. Das m/e 84 ent-

¹³) Ausser Glutaminsäure- und α -Aminoadipinsäuredimethylester sind die anderen untersuchten α -Aminocarbonsäurediester als Hydrochloride unzersetzt bei ca. 0,01 Torr destillierbar.

¹⁴) Herrn Dr. W. Vetter, Basel, danken wir auch an dieser Stelle für die Anfertigung der Elementenliste von **4**.

Schema 4



sprechende Ion im Spektrum von Glutaminsäuredimethylester (**1**) ist *m/e* 56 (C₃H₆N, **m**), dessen Verschiebungen in den Spektren der deuterierten Verbindungen in Übereinstimmung mit den getroffenen Zuordnungen 1 amu (**1a**) bzw. 2 amu (**1c**) betragen¹⁵).

Zwischen der Fragmentierung von **1** zu **g** und **m** bzw. von **4** zu **j** einerseits und gewissen Zerfallsmechanismen von 1,3-Trimethyldiamin-Derivaten andererseits besteht eine auffallende Ähnlichkeit, vgl. [7]. Damit wird deutlich, dass 1,3-difunktionalisierte Alkane, auch wenn sie verschiedenen Verbindungsklassen angehören, massenspektrometrisch ähnliche Zerfallsmuster aufweisen.

Synthesen. - 2-Deuterio-DL-glutaminsäure (**11**) wurde durch Umsetzen von N-Acetylglutaminsäure in Essigsäureanhydrid/D₂O [8] und anschliessende saure Hydrolyse gewonnen. - Die Darstellung von 3,3-Dideuterio-DL-glutaminsäure (**12**) erfolgte nach der von *Gansow & Holm* [9] für die Synthese von 3,3,3-Trideuterioalanin verwendeten Methode mit Pyridoxamin und 2-Ketoglutarinsäure. - 4,4-Dideuterio-L-glutaminsäure (**13**) wurde durch DCl/D₂O - Austausch von L-Glutaminsäure erhalten. - Alle Aminosäuren wurden nach *Fischer* verestert. Selektive Umesterung mit Äthanol von Glutaminsäure-5-*t*-butylester-1-methylester (**7**) führte zum gemischten L-Glutaminsäure-5-äthylester-1-methylester (**6**). Die N,N-Dimethylderivate **4** und **4a** resultierten aus der katalytischen Reduktion von **1** (L-Glutaminsäure-dimethylester) in Methanol/Formaldehyd, wobei für die Bereitung der Verbindung **4a** deuterierte Reagentien zur Verwendung gelangten [2] [10]. Die N-Acetylglutaminsäure-dimethylester **3**, **3a** und **3b** gewann man durch Acetylierung von **1**, **1a** bzw. **1b** in Essigsäureanhydrid/Natriumacetat; das Derivat **3d** durch Umsetzung von **1** in (CD₃CO)₂O/CD₃COONa [16].

¹⁵ Für **1b** wird bei **m** ein Mindergehalt an D von ca. 25% gegenüber dem [**1b**⁺-COOCH₃]-Ion gefunden. Es sei daran erinnert, dass bei **1** auch (N)-H anstelle von C(3)-H auf die Methoxylgruppe übertragen werden kann, was bei **4** nicht möglich ist.

Die nicht käuflichen homologen Aminosäuren (α -Amino adipinsäure (**14**) und α -Aminokorksäure (**15**) wurden nach der Phthalimido- [14] bzw. Acetamidomalonester-Methode [15] dargestellt und ebenfalls nach *Fischer* verestert.

Frau Dr. *Annalaura Lorenzi* und Herrn *N. Bild* (Universität Zürich) danken wir für die Aufnahme der Massenspektren. Auch diese Arbeit wurde wieder vom *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* unterstützt.

Experimenteller Teil

Allgemeine Bemerkungen: vgl. [1]. Dünnschichtchromatogramme (DC.) an Kieselgel HF₂₅₄ bzw. PF₂₅₄ *Merck*; Laufmittel: Chloroform/Methanol 19:1 (A), 15:1 (B), 23:2 (C). ¹H-NMR-Spektren bei 60 MHz (*Varian*, T60) und bei 100 MHz (*Varian*, HA 100); chemische Verschiebungen in ppm relativ zu Tetramethylsilan als internem Standard = 0; *s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *q* = Quartett, *m* = Multiplett. Massenspektren (MS.), wenn nicht anders angegeben, auf CEC-Gerät, Typ 21–110 B (70 eV, Direkteinlass, 8 KV); Angaben in *m/e* (rel. %) ab *m/e* 40 ($\geq 5\%$). Hochoflösung der Substanz **4** mit MS-Gerät 902/DS 20, von **1** mit *Varian* MAT 711. – Da keine signifikanten Unterschiede zwischen den 70 eV- und 12 eV-Spektren festzustellen waren, wurden die letzteren nicht angeführt.

1. *3,3-Dideuterio-2-ketoglutarinsäure* (**9**) [9]. 1,43 g Natrium-2-ketoglutarat (hergestellt aus 2-Ketoglutarinsäure (**8**) (*Fluka*, puriss.) durch Versetzen mit Natriummethanolat in Methanol) und 195 mg Pyridoxamin-dihydrochlorid (*Fluka*, puriss.) wurden unter trockenem Ar mit 7,5 ml D₂O (99,7–99,8% D-Gehalt) versetzt und die Lösung mit 2N NaOD–D₂O auf pH 7,3 eingestellt. Das Lösungsmittel wurde bei 0,01 Torr abgezogen, 8 ml D₂O zugegeben und diese Operation 3mal wiederholt. Anschliessend hielt man das Gemisch während 24 Std. bei 40°. Durch Zugabe von DCl (20%, *Merck*, Deuterierungsgrad min. 99%) stellte man auf pH 4,5, engte die Lösung auf ca. 4 ml ein, senkte den pH durch weitere DCl-Zugabe auf 1–2 und schüttelte mehrmals mit Äther aus. Die vereinigten Ätherphasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel abgezogen. 461 mg **9**, Smp. des Rohproduktes 107–111° (Smp. von **8**: 112–113°). – MS.: 148 (*M*⁺, 0), 105 (5), 104 (65), 103 (100), 102 (49), 101 (13), 85 (5), 78 (8), 77 (33), 76 (39), 75 (38), 74 (18), 73 (5), 59 (8), 58 (15), 57 (34), 56 (44), 55 (18), 48 (9), 47 (14), 46 (68), 45 (67), 44 (72), 43 (13), 42 (10), 41 (5).

2. *3,3-Dideuterio-2-oximinoglutarinsäure* (**10**) [13]. – 460 mg **9** wurden in 5 ml Wasser gelöst, mit 230 mg Hydroxylaminhydrochlorid in 1,5 ml Wasser versetzt und 2 Std. bei 20° belassen, dann während 12 Std. auf 5° gekühlt. Die Lösung wurde eingengt und das ausgefallene Produkt **10** abgenutscht, mit Wasser und Äther gewaschen und getrocknet. 238 mg Rohprodukt. – MS.: 163 (*M*⁺, 0), 145 (2), 84 (10), 57 (18), 56 (66), 55 (45), 54 (9), 53 (7), 52 (5), 45 (35), 44 (100), 42 (6).

3. *Deuterierte Glutaminsäurederivate.* – 3.1. *2-Deuterio-DL-glutaminsäure* (**11**) [8]. 603 mg N-Acetyl-L-glutaminsäure (*Fluka*, puriss.) wurden in CH₃OD gelöst, die Lösung unter leichtem Erwärmen eingedampft und die Operation einmal wiederholt. 11,5 ml Essigsäureanhydrid wurden mit 2 ml D₂O versetzt, leicht erwärmt, bis die Lösung klar war und zum vorbehandelten Substrat gegeben. Das Gemisch wurde während ca. 15 Min. bei 100° gerührt und das Lösungsmittel bei 0,01 Torr/60° abgezogen. Der Rückstand wurde mit 6 ml 5N Salzsäure (3 Std., Rückfluss) zum Hydrochlorid von **11** hydrolysiert, dann wurde das Lösungsmittel abgezogen, das Hydrochlorid in wenig Wasser gelöst und **11** durch Zugabe von 0,5 ml Triäthylamin und ca. 10 ml Aceton [11] ausgefällt. Umkristallisation aus Wasser/Äthanol. Farblose Kristalle (369 mg), Smp. 191–192°. – MS.: 148 (*M*⁺, 0), 130 (4), 103 (45), 102 (10), 86 (10), 85 (100), 84 (18), 75 (15), 57 (28), 56 (8), 45 (7), 44 (6), 43 (6), 42 (20), 41 (6).

3.2. *3,3-Dideuterio-DL-glutaminsäure* (**12**). 238 mg der dideuterierten Verbindung **10** in 20 ml 0,3N methanolischer Salzsäure gelöst, wurden in Gegenwart von 240 mg 10proz. Pd/C (*Fluka*, puriss.) hydriert. Nach der Filtration wurde das Lösungsmittel abgedampft und **12** aus dem rohen Hydrochlorid analog Versuch 3.1. in Freiheit gesetzt und 2mal aus Wasser/Äthanol umkristallisiert: 69 mg, Smp.: 194–196°. – MS.: 149 (*M*⁺, 0), 131 (4), 104 (25), 103 (6), 87 (8), 86 (100), 85 (31), 84 (7), 74 (16), 59 (6), 58 (45), 57 (37), 56 (14), 55 (7), 46 (12), 45 (30), 44 (28), 43 (62), 42 (27), 41 (12), 40 (10).

3.3. *4,4-Dideuterio-L-glutaminsäure (13)*. 117 mg L-Glutaminsäure (Fluka, puriss.) wurden mit 5 ml 20proz. DCl/D₂O unter getrocknetem Ar 24 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Abdampfen (60°/0,01 Torr) des Lösungsmittels und Wiederholung des Austauschprozesses wurde analog Versuch 3.1 aufgearbeitet und umkristallisiert: 56,1 mg **13**, Smp. 219–220°. – MS.: 149 (M⁺, 0), 131 (5), 105 (5), 104 (22), 103 (18), 102 (5), 87 (14), 86 (100), 85 (70), 84 (20), 74 (15), 58 (23), 57 (21), 56 (11), 55 (7), 45 (12), 44 (10), 43 (21), 42 (34), 41 (16), 40 (5).

4. *Glutaminsäureester*. – 4.1. L-Glutaminsäuredimethylester-hydrochlorid (**1**) (Fluka, puriss.). – MS.: 175 (M⁺, vgl. Fig. 1). Hochauflösung: 175 (C₇H₁₃NO₄), 144 (C₆H₁₀NO₃), 143 (C₆H₉NO₃), 116 (C₅H₁₀NO₂), 88 (C₃H₆NO₂), 84 (C₄H₆NO), 56 (ca. 98% C₃H₆N, ca. 2% C₃H₄O). – NMR. (CDCl₃, 100 MHz): 2,3–2,9 (*d*-artiges *m*, C(3)H₂ + C(4)H₂); 3,68 und 3,84 (2 *s*, 2 COOCH₃); 4,37 (*t*, C(2)H); 8,71 (*s*, breit, NH₂).

4.2. 2-Deuterio-DL-glutaminsäuredimethylester-hydrochlorid (**1a**)¹⁶. 114 mg 2-Deuterio-DL-glutaminsäure (**11**) ergaben bei der Veresterung nach Fischer (CH₃OH/HCl) 110 mg **1a**, Smp. 152–154°. – MS.: 176 (M⁺, 1), 145 (9), 144 (7), 118 (8), 117 (100), 116 (14), 89 (16), 86 (6), 85 (83), 84 (12), 59 (5), 58 (6), 57 (48), 56 (10), 44 (5), 43 (7), 42 (13). – NMR. (CD₃OD, 100 MHz): 2,1–2,7 (2 *m*, C(3)H₂, C(4)H₂); 3,68 und 3,82 (2 *s*, 2 COOCH₃). Kein Signal in der Nähe von 4,4 ppm.

4.3. 3,3-Dideuterio-DL-glutaminsäuredimethylester-hydrochlorid (**1b**)¹⁶. Aus 61 mg 3,3-Dideuterio-DL-glutaminsäure (**12**) erhielt man bei der Veresterung nach Fischer 73 mg **1b**, Smp. 148–149°. – MS.: 177 (M⁺, 0,5), 146 (11), 145 (7), 119 (7), 118 (100), 117 (16), 102 (11), 88 (18), 87 (6), 86 (81), 85 (44), 84 (6), 60 (6), 59 (30), 58 (76), 57 (72), 56 (13), 55 (8), 45 (17), 44 (19), 43 (23), 42 (15), 41 (5), 40 (5). – NMR. (CD₃OD, 100 MHz): 2,65 (*s*, C(4)H₂); 3,75 und 3,89 (2 *s*, 2 COOCH₃); 4,20 (*s*, C(2)H).

4.4. 4,4-Dideuterio-L-glutaminsäuredimethylester-hydrochlorid (**1c**)¹⁶. 56 mg 4,4-Dideuterio-L-glutaminsäure (**13**) mit CH₃OD/DCl (vgl. Versuch 10) ergaben, nach Fischer verestert, ein öliges Hydrochlorid, welches zur chromatographischen Reinigung (Kieselgel, A) in die freie Base überführt wurde [12]. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde mit CH₃OH/HCl zum Hydrochlorid **1c** umgesetzt. Umkristallisation: 2-Propanol/Diisopropyläther: 10,2 mg. Smp. 89–91°. – MS.: 177 (M⁺, 1), 146 (12), 145 (14), 144 (6), 119 (9), 118 (100), 117 (66), 116 (12), 102 (10), 101 (10), 88 (31), 87 (8), 86 (99), 85 (74), 84 (15), 59 (20), 58 (74), 57 (57), 56 (18), 55 (8), 45 (6), 44 (10), 43 (24), 42 (35), 41 (12). – NMR. (CDCl₃, 100 MHz): 2,24–2,8 (nicht aufgelöst, breit, hauptsächlich C(3)H₂, wenig C(4)H₂); 3,64 und 3,80 (2 *s*, 2 COOCH₃); 4,32 (*t*-artiges Signal, C(2)H).

4.5. L-Glutaminsäure-5-äthylester-1-methylester-hydrochlorid (**1d**). 176 mg L-Glutaminsäure-5-*t*-butylester-1-methylester-hydrochlorid (**7**) (Fluka, puriss.) wurden mit 3 ml abs. Äthanol versetzt. Nach Einleitung von trockenem HCl-Gas bis zur Sättigung wurde die Lösung 3 Std. bei 20° gelassen und aufgearbeitet. Mehrfache Umkristallisation aus 2-Propanol/Diisopropyläther ergab 34,3 mg **1d**, Smp. 86–88°. – MS.: 189 (M⁺, 2), 157 (6), 144 (29), 143 (5), 131 (8), 130 (96), 116 (9), 100 (9), 88 (16), 85 (8), 84 (100), 55 (7), 56 (44), 43 (5), 42 (6), 41 (10). – NMR. (CDCl₃, 100 MHz): 1,28 (*t*, COOCH₂CH₃); 2,36–2,90 (*m*, C(3)H₂, C(4)H₂); 3,84 (*s*, COOCH₃); 4,16 (*q*, COOCH₂CH₃); 4,39 (*t*, C(2)H); 8,77 (*s*, breit, NH₂).

C₈H₁₆NO₄Cl (225,681) Ber. C 42,57 H 7,14 N 6,20% Gef. C 42,72 H 6,97 N 6,34%

4.6. *Massenspektren käuflicher* (Fluka puriss.) *Glutaminsäureester*. – L-Glutaminsäurediäthylester-hydrochlorid (**5**). 203 (M⁺, 2), 158 (18), 131 (8), 130 (92), 102 (9), 100 (9), 85 (9), 84 (100), 74 (8), 57 (14), 56 (73), 55 (5), 54 (6), 45 (6), 44 (5), 43 (15), 42 (11), 41 (14).

L-Glutaminsäure-5-äthylester. – 175 (M⁺, 0), 157 (1), 130 (25), 100 (6), 86 (5), 85 (9), 84 (100), 74 (15), 73 (6), 60 (6), 58 (12), 57 (13), 56 (95), 55 (16), 54 (10), 46 (13), 45 (35), 44 (20), 43 (25), 42 (35), 41 (65), 40 (5).

L-Glutaminsäure-5-*t*-butylester-1-methylester-hydrochlorid (**7**). 217 (M⁺, 0), 161 (10), 160 (5), 158 (17), 144 (35), 116 (5), 103 (5), 102 (100), 101 (5), 88 (10), 85 (5), 84 (55), 59 (6), 57 (40), 56 (25), 55 (5), 43 (10), 42 (1), 41 (20).

5. *N,N-Dimethyl-glutaminsäuredimethylester*. – 5.1. *N,N-Dimethyl-L-glutaminsäuredimethylester (4)* [2] [10]. Aus 438 mg L-Glutaminsäuredimethylester-hydrochlorid (**1** · HCl) wurden mit wasserfreier ammoniakalischer Chloroformlösung 361 mg freie Base hergestellt [12]. Diese wurde in 35 ml Methanol und 4 ml 38proz. Formalin-Lösung in Gegenwart von 762 mg 10proz. Pd/C

¹⁶ Bezüglich des *d*-Gehaltes der Verbindung **1a**, **1b** und **1c**, vgl. Tab. 1.

hydriert. Nach der Filtration wurde das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und 4mal mit wenig gesättigter Natriumcarbonatlösung ausgeschüttelt. Wiederholte Chromatographie (Kieselgel, B) und anschließende Kugelrohrdestillation (50–65°/0,01 Torr, Luftbad) ergaben 60 mg farbloses Öl. – MS.: s. Fig. 2. Hoचाуflösung: 203 (C₉H₁₇NO₄), 144 (C₇H₁₄NO₂), 116 (C₅H₁₀NO₂), 84 (C₅H₁₀N). – NMR. (CDCl₃, 60 MHz): 1,7–2,6 (*m*, C(3)H₂+C(4)H₂), darin bei 2,32 (*s*, N(CH₃)₂); 3,18 (C(2)H); 3,65 und 3,68 (2 *s*, 2 COOCH₃).

5.2. *N,N*-Di(trideuteriomethyl)-glutaminsäuredimethylester (**4a**). Analog Versuch 5.1 wurden unter Verwendung von D₂ (Fluka, puriss., 99,8 Mol %), 10 ml CD₃OD, 1,25 ml CD₂O (Merck, 30% in D₂O, Deuterierungsgrad min. 99%, mit ca. 11% CD₃OD stabilisiert) und 215 mg 10proz. Pd/C, 154 mg L-Glutaminsäuredimethylester-hydrochlorid (**1** · HCl) zu 20 mg **4a** umgesetzt. – MS.: 209 (*M*⁺, 4), 178 (8), 150 (100), 122 (10), 91 (7), 90 (55), 89 (10), 59 (7), 49 (8), 46 (5), 45 (19), 44 (10), 43 (5). – NMR. (CDCl₃, 100 MHz): 1,8–2,6 (*m*); 3,19 (*t*); 3,66 (*s*); 3,70 (*s*).

6. *N*-Acetyl-glutaminsäuredimethylester. – 6.1. *N*-Acetyl-L-glutaminsäuredimethylester (**3**). Variante 1: Eine frisch bereitete Diazomethanlösung (3,24 g *N*-Nitrosotoluol-4-sulfomethylamid (Fluka, purum) in 60 ml Äther unter Eiskühlung zu 0,6 g Kaliumhydroxid in 15 ml Äthanol getropft) wurde destilliert und portionenweise bis zur bleibenden Gelbfärbung zu 354 mg *N*-Acetyl-L-glutaminsäure (Fluka, puriss.), gelöst in Methanol, Äther und 2 Tropfen Dimethylformamid, gegeben. Der Äther wurde abgezogen und das zurückbleibende Öl durch Kugelrohrdestillation gereinigt (130–140°/0,01 Torr, Luftbad). Das Destillat, zähflüssiges, farbloses Öl, erstarrte nach einigen Tagen.

Variante 2 [16]: 103 mg **1** · HCl wurden zu einer Suspension von 106 mg wasserfreiem Natriumacetat in 1 ml Essigsäureanhydrid gegeben, 1 Std. bei ca. 100° gerührt; das Reaktionsgemisch mit etwas Chloroform versetzt, filtriert und die Lösung eingengt. Die Reinigung erfolgte durch Kugelrohrdestillation (125–135°/0,01 Torr, Luftbad): 97,2 mg – MS.¹⁷⁾: 217 (*M*⁺, 5), 186 (6), 185 (5), 174 (7), 159 (7), 158 (70), 144 (33), 126 (7), 117 (7), 116 (100), 114 (7), 100 (5), 99 (8), 98 (28), 88 (32), 85 (8), 84 (100), 82 (9), 60 (7), 59 (13), 57 (18), 56 (63), 55 (12), 54 (8), 45 (5), 44 (10), 43 (129), 42 (16), 41 (20). – NMR. (CDCl₃, 60 MHz): 1,80–2,60 (*m*, C(3)H₂+C(4)H₂), darin bei 2,00 (*s*, NCOCH₃); 3,66 und 3,75 (2 *s*, 2 COOCH₃); 4,3–4,9 (*m*, C(2)H); 6,60 (*d*, sehr breit, N–H).

C₉H₁₅NO₅ (217,227) Ber. C 49,76 H 6,96 N 6,44% Gef. C 49,50 H 6,93 N 6,28%

6.2. *N*-Acetyl-2-deuterio-DL-glutaminsäuredimethylester (**3a**). Aus 24,2 mg **1a** wurden entsprechend Versuch 6.1, Variante 2, 22 mg *N*-Acetylderivat **3a** erhalten. Nach DC war das Produkt mit dem undeutierten Analogon identisch. – MS.¹⁷⁾: 218 (*M*⁺, 4), 187 (6), 175 (6), 160 (7), 159 (63), 158 (9), 145 (30), 127 (6), 118 (7), 117 (100), 116 (16), 115 (8), 101 (29), 100 (22), 99 (34), 98 (5), 89 (56), 88 (20), 87 (13), 86 (21), 85 (170), 84 (31), 83 (16), 82 (9), 75 (6), 74 (6), 73 (5), 72 (15), 71 (9), 70 (8), 69 (18), 68 (6), 61 (16), 60 (24), 59 (298), 58 (74), 57 (300), 56 (95), 55 (89), 54 (52), 53 (15), 52 (16), 46 (7), 45 (65), 44 (76), 43 (1350), 42 (270), 41 (69), 40 (73). – NMR. (CDCl₃, 60 MHz): 2,1 (*s*); 1,85–2,65 (*m*), darin bei 2,02 (*s*); 3,68 (*s*); 3,77 (*s*); 6,3 (*s*, breit).

6.3. *N*-Acetyl-3,3-dideuterio-DL-glutaminsäuredimethylester (**3b**). Aus 20,2 mg **1b** wurden analog Versuch 6.1, Variante 2, 19,6 mg *N*-Acetyl-3,3-dideuterio-DL-glutaminsäuredimethylester (**3b**) erhalten, der denselben Rf-Wert wie **3** aufweist. – MS.¹⁷⁾: 219 (*M*⁺, 2), 160 (40), 159 (6), 146 (22), 145 (5), 119 (6), 118 (100), 117 (13), 116 (8), 102 (11), 101 (6), 100 (24), 99 (15), 89 (7), 88 (42), 87 (12), 86 (100), 85 (51), 84 (13), 83 (9), 74 (6), 72 (6), 61 (6), 60 (12), 59 (74), 58 (104), 57 (102), 56 (28), 55 (17), 54 (6), 46 (5), 45 (32), 44 (34), 43 (435), 42 (64), 41 (20), 40 (19). – NMR. (CDCl₃, 60 MHz): 2,01 (*s*); 2,37 (*s*, C(4)H₂); 3,70 (*s*); 3,77 (*s*); 4,6 (*d*); 6,1–6,5 (breit).

6.4. *N*-Trideuterioacetyl-L-glutaminsäuredimethylester (**3d**). Aus 107 mg **1** · HCl wurden entsprechend Versuch 6.1, Variante 2, durch Umsetzen mit 1 ml d₆-Essigsäureanhydrid (Fluka, purum) und 103 mg CD₃COONa (Merck, Sharp & Dohme, Canada) 92 mg **3d** bereit. Nach DC, erhalten sich **3** und **3d** gleich. – MS.¹⁷⁾: 220 (*M*⁺, 8), 189 (10), 188 (8), 174 (12), 162 (10), 161 (88), 156 (6), 145 (48), 129 (13), 118 (9), 117 (100), 116 (8), 115 (8), 114 (10), 103 (10), 102 (11), 101 (10), 100 (9), 99 (10), 98 (43), 90 (6), 89 (46), 88 (10), 87 (9), 86 (11), 85 (110), 84 (40), 83 (5), 82 (12), 63 (9), 59 (28), 58 (39), 57 (80), 56 (37), 55 (26), 54 (19), 47 (10), 46 (305), 45 (26), 44 (46),

¹⁷⁾ In den MS. der Verbindungen **3**, **3a**, **3b** und **3d** wurde das *c* entsprechende Signal bei *m/c* 116, 117, 118 bzw. 117 = 100 rel. % gesetzt, vgl. Schema 2.

43 (38), 42 (30), 41 (39), 40 (6). – NMR. (CDCl₃, 60 MHz): 1,60–2,60 (*m*); 3,64 (*s*); 3,70 (*s*); 4,3–4,8 (*m*); 6,66 (*d*, breit).

7. *Homologe α-Aminosäuren*. – 7.1. DL-2-Amino adipinsäure (**14**) [14]. 9,15 g Phthalimidomalonsäurediäthylester (*Fluka*, purum) wurden zu 690 mg Natrium, gelöst in 30 ml abs. Äthanol, gegeben. Die Lösung wurde unter leichtem Erwärmen gerührt, bis eine orange gefärbte feste Masse entstanden war. Darauf wurden bei ca. 80° 2,9 ml 4-Brombutyronitril zugetropft. Nach 24. Std. Rückfluss wurde filtriert, die klare Lösung etwas eingengt, mit Wasserdampf destilliert und von der Rücklage das Lösungsmittel abgezogen. Die Extraktion des Rückstandes mit Äther ergab 8,05 g gelbes Öl, welches nach der Hydrolyse (32 ml konz. Salzsäure, 18 Std., Rückfluss), Filtration und nach dem Eindampfen des Filtrates das rohe Hydrochlorid von **14** lieferte. Dieses wurde durch Röhren der Masse in 50 ml 1,2-Dimethoxyäthan [11], Filtration und Eindampfen des Lösungsmittels weiter gereinigt und durch Zugabe von 6 ml Wasser, 3,3 ml Triäthylamin und 15 ml Aceton (unter Kühlung im Eisbad) in die freie Aminosäure überführt. Eine erste Umkristallisation ergab 725 mg **14**, weitere 184 mg wurden aus der Mutterlauge isoliert. Ersteres gab nach der zweiten Umkristallisation (nach Trocknung über Phosphorpentoxid bei 0,001 Torr) 432 mg **14**, Smp. 205–210°. – MS.: 161 (*M*⁺, 0), 116 (20), 99 (7), 98 (100), 74 (12), 70 (5), 56 (21), 55 (66), 44 (6), 43 (7), 42 (9), 41 (7).

C₆H₁₁NO₄ (161,162) Ber. C 44,71 H 6,88 N 8,69% Gef. C 44,93 H 7,14 N 8,95%

7.2. DL-2-Aminokorksäure (**15**) [15]. 3,66 g Äthylacetaminomalonester (*Fluka*) wurden zu einer Lösung von 368 mg Natrium in 16 ml trockenem Äthanol gegeben, auf 80° erwärmt, 2,27 g ε-Chloro-capronitril (*Merck*) zugetropft, das Reaktionsgemisch 7 Std. unter Rückfluss gekocht und über Nacht stehen gelassen. Nach Filtration, Eindampfen des Filtrates, Aufnahme des Rückstandes in Äther und einmaligem Ausschütteln mit Wasser sowie Abdampfen des Äthers erhielt man 2,5 g Öl. Dieses wurde mit 15 ml konz. Salzsäure versetzt und 20 Std. gekocht. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand mit Wasser aufgenommen, einmal mit Äther ausgeschüttelt und die wässrige Phase mit Ammoniak auf pH 3 eingestellt, worauf 315 mg Monohydrat der Säure auskristallisierten. Durch mehrfache Umkristallisation aus Wasser erhielt man schliesslich nach Trocknung (90°/0,001 Torr) 141 mg **15**. Aus der Mutterlauge wurden weitere 34 mg isoliert. Smp. 227–232°. – MS.: 189 (*M*⁺, 0), 145 (9), 144 (100), 130 (7), 127 (5), 126 (23), 98 (35), 86 (5), 84 (10), 83 (23), 82 (29), 81 (40), 75 (10), 74 (62), 73 (9), 71 (5), 70 (10), 69 (9), 68 (5), 67 (8), 60 (7), 59 (6), 57 (17), 56 (63), 55 (51), 54 (9), 53 (9), 46 (15), 45 (30), 44 (41), 43 (57), 42 (34), 41 (47), 40 (6).

C₈H₁₅NO₄ (189,216) Ber. C 50,78 H 7,99 N 7,40% Gef. C 50,62 H 8,06 N 7,23%

8. *Homologe α-Aminosäuredimethylester*. – 8.1. L-Asparaginsäuredimethylester-hydrochlorid (**16** · HCl). 375,5 mg L-Asparaginsäure (*Fluka*, puriss.) ergaben bei der Veresterung nach *Fischer* (CH₃OH/HCl) 402 mg **16**, Smp. 116–117°. – MS.: 161 (*M*⁺, 0,5), 103 (6), 102 (100), 88 (28), 70 (35), 60 (21), 59 (10), 43 (30), 42 (14), 41 (5). – NMR. (CDCl₃, 60 MHz): 3,2 (*d*, C(3)H₂); 3,73 und 3,83 (2 *s*, 2 COOCH₃); 4,6 (*t*, C(2)H); 8,7 (*s*, breit, NH₂).

C₆H₁₂ClNO₄ (197,627) Ber. C 36,46 H 6,12 N 7,08% Gef. C 36,39 H 6,29 N 7,12%

16 · HCl lässt sich unzersetzt destillieren (Kugelrohr, 120°/0,01 Torr; massenspektrometrische Evidenz).

8.2. DL-2-Amino adipinsäuredimethylester-hydrochlorid (**17** · HCl). Aus 161 mg DL-2-Amino adipinsäure (**14**) erhielt man bei der Veresterung nach *Fischer* (CH₃OH/HCl) 89,6 mg **17** als Öl. – MS.: 189 (*M*⁺, 1), 158 (17), 157 (6), 131 (7), 130 (100), 98 (62), 88 (19), 87 (6), 70 (7), 59 (7), 56 (72), 55 (36), 44 (7), 43 (25), 42 (14), 41 (8).

8.3. 2-Aminopimelinsäuredimethylester-hydrochlorid (**18** · HCl). Aus 206,7 mg 2-Aminopimelinsäure (*Fluka*, puriss.) liessen sich bei der Veresterung nach *Fischer* (CH₃OH/HCl) und nach mehrfacher Umkristallisation 90 mg **18** · HCl gewinnen, Smp. 105–107°. – MS.: 203 (*M*⁺, 0,5), 172 (17), 145 (9), 144 (100), 112 (38), 88 (19), 84 (16), 70 (5), 69 (14), 67 (14), 59 (8), 56 (17), 55 (6), 45 (6), 44 (10), 43 (6), 42 (7), 41 (7), 40 (8). – NMR. (CDCl₃, 60 MHz): 1,30–2,60 (*m*, 8 H); 3,66 und 3,84 (2 *s*, 2 COOCH₃); 4,2 (breites *t*, C(2)H); 8,73 (*s*, breit, NH₂).

C₉H₁₈ClNO₄ (239,708) Ber. C 45,09 H 7,56 N 5,84% Gef. C 44,85 H 7,48 N 5,61%

18 · HCl lässt sich bei 120–130°/0,001 Torr unzersetzt destillieren (Evidenz: Smp., MS.).

8.4. DL-2-Aminokorksäuredimethylester-hydrochlorid (**9d** · HCl). 127 mg DL-2-Aminokorksäure (**15**) ergaben bei der Veresterung mit CH₃OH/HCl 89 mg **19** · HCl, Smp. 85–87°. – MS.: 217 (M⁺; 0,5), 186 (11), 159 (10), 158 (100), 126 (14), 98 (12), 88 (15), 83 (8), 82 (8), 81 (13), 59 (5), 56 (15), 55 (9), 43 (10), 42 (6), 41 (6). – NMR. (CDCl₃, 100 MHz): 1,2–2,5 (m, 10 H); 3,68 und 3,85 (2 s, 2 COOCH₃); 4,18 (t, C(2)H).

C₁₀H₂₀ClNO₄ (253,735) Ber. C 47,33 H 7,94 N 5,52% Gef. C 47,50 H 8,01 N 5,75%

9. 2-Oxo-5-pyrrolidincarbonsäuremethylester (**2**). 100 mg L-**1** · HCl wurden wie unter 5.1 beschrieben in die freie Base überführt, diese im Bombenrohr 8 Std. bei 120° erhitzt und anschliessend das farblose Öl durch Chromatographie (Kieselgel, C) und Kugelrohrdestillation (80–100°/0,005 Torr) gereinigt. Ausbeute eines nicht ganz reinen Präparates: 20 mg. – MS.: 143 (M⁺, 10), 85 (7), 84 (100), 59 (6), 58 (5), 56 (21), 55 (6), 44 (7), 43 (20), 42 (7), 41 (29).

10. CH₃OD/DCl. 5 ml D₂SO₄ (94 mmol) (Merck, 96–98%, Deuterierungsgrad min. 99%) wurden unter getrocknetem Ar in ein 250 ml-Reaktionsgefäss pipettiert und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Dazu wurden 3,9 g (65 mmol) Kochsalz (bei 0,01 Torr über Phosphorpentoxid/100° getrocknet) gegeben, das Gefäss evakuiert und anschliessend unter periodischer Druckkontrolle das Reaktionsgemisch aufgetaut und das entstehende DCl-Gas in einer Kühlfalle eingefroren. Nachdem die Gasentwicklung (auch beim Erwärmen) abgeklungen war, kondensierte man das Deuteriumchlorid bei –80° unter Rühren in CH₃OD (Fluka, puriss., 99,5% D), das zuvor 3mal entgast worden war. Normalität 4,4. Dieses Reagens wurde für Veresterungen verwendet, vgl. Versuch 4.4.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. Wild & M. Hesse, Helv. 57, 452 (1974).
- [2] K. Biemann, J. Seibl & F. Gapp, J. Amer. chem. Soc. 83, 3795 (1961).
- [3] K. Biemann, 'Mass Spectrometry, Organic Chemical Applications', McGraw-Hill Inc., New York, 1962, S. 260.
- [4] W. Vetter in G. R. Waller 'Biochemical Applications of Mass Spectrometry', Wiley-Interscience, New York, 1972, S. 387.
- [5] H. Bosshardt & M. Hesse, Angew. Chem. 86, 256 (1974).
- [6] H. J. Veith, A. Guggisberg & M. Hesse, Helv. 54, 653 (1971).
- [7] E. Lerch & M. Hesse, Helv. 55, 1883 (1972).
- [8] M. C. Hochreiter & K. A. Schellenberg, J. Labelled Compounds 5, 270 (1969).
- [9] O. A. Gansow & R. H. Holm, J. Amer. chem. Soc. 91, 573 (1969); O. A. Gansow & R. H. Holm, ibid. 91, 5984 (1969); J. B. Longenecker & E. E. Snell, ibid. 79, 142 (1967).
- [10] M. Pinar, M. Hanaoka, M. Hesse & H. Schmid, Helv. 54, 15 (1971).
- [11] A. T. Blomquist, B. F. Hiscock & D. N. Harpp, J. org. Chemistry 31, 4121 (1966).
- [12] G. Hillmann, Z. Naturforsch. 1, 682 (1946).
- [13] E. E. Blaise & H. Gault, Bull. Soc. chim. France 9, 457 (1911).
- [14] H. Borsook, C. L. Deasy, A. J. Haagen-Smit, G. Keighley & H. P. Lowy, J. biol. Chemistry 176, 1383 (1948).
- [15] S. Hase, R. Kiyoi & S. Sakakibara, Bull. chem. Soc. Japan 41, 1266 (1968).
- [16] E. Cherbuliez & P. Plattner, Helv. 12, 317 (1929).
- [17] J. R. Dias & C. Djerassi, Organic Mass Spectrometry 6, 385 (1972).