

# Die Umsetzung von D,L-Phenylalanin mit N,N'-Carbonyl-di-imidazol

Von HEINZ GIESEMANN und DIETER BRAUN<sup>1)</sup>

## Inhaltsübersicht

D,L-Phenylalanin reagiert mit einem Überschuß von N,N'-Carbonyl-di-imidazol in abs. Tetrahydrofuran unter Auflösen der Aminosäure. Nach Abtrennung des bei der Reaktion freigewordenen Imidazols konnte jedoch kein D,L-Phenylalanin-N-carbonsäureanhydrid gefunden werden. Aus dem Rohprodukt wurde das N,N'-Carbonyl-bis-D,L-phenylalanin isoliert und durch Überführung in den Dimethylester und die 5-Benzylhydantoin- $\beta$ -phenylpropionsäure, sowie durch Hydrolyse zum D,L-Phenylalanin identifiziert. Es wird angenommen, daß die Reaktion nicht über das N-Carbonsäureanhydrid verläuft, da dieses bei Gegenwart von Imidazol sofort zu Poly-D,L-phenylalanin kondensiert.

Obwohl das von H. A. STAAB<sup>2)</sup> entdeckte N,N'-Carbonyl-di-imidazol (I) formal die Gruppierung  $\text{>N-CO-N<}$  der sonst so beständigen Harnstoffreihe enthält, zeigt es wie alle N-Acylderivate des Imidazols<sup>3)</sup> ein gänzlich anderes Verhalten. Schon durch Leitfähigkeitswasser wird I stürmisch zu Imidazol und CO<sub>2</sub> zersetzt. Mit Aminen reagiert I bei Zimmertemperatur quantitativ zu disubstituierten Harnstoffderivaten, mit Alkoholen und Phenolen bei etwas höheren Temperaturen zu Kohlen säureestern. I ist also ein Carbonylierungsreagenz von etwa der gleichen Wirksamkeit wie das Phosgen. Gegenüber dem Phosgen bietet es die Vorteile, daß 1. keine Salzsäure, sondern das chemisch inerte Imidazol entwickelt wird, 2. I als kristalline Festsubstanz leichter dosierbar und nicht giftig ist, 3. bei höheren Temperaturen gearbeitet werden kann.

Diese Eigenschaften ließen vermuten, daß durch Reaktion von  $\alpha$ -Aminosäuren mit I in glatter Reaktion analog dem Verfahren von F. FUCHS<sup>4)</sup> die entsprechenden N-Carbonsäureanhydride (LEUCHSSche Körper) entstehen würden. Das dabei freiwerdende Imidazol könnte gleichzeitig als tert. Amin die Reaktion des LEUCHSSchen Körpers zur

<sup>1)</sup> Diplomarbeit D. BRAUN, Halle (Saale) 1958.

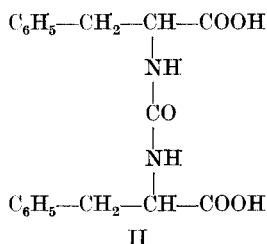
<sup>2)</sup> H. A. STAAB, Angew. Chem. **68**, 754 (1956). H. A. STAAB, Liebigs Ann. Chem. **609**, 75 (1957).

<sup>3)</sup> H. A. STAAB, Chem. Ber. **89**, 1927 (1956).

<sup>4)</sup> F. FUCHS, Ber. dtsh. chem. Ges. **55**, 2943 (1922).

Polyaminosäure katalysieren. Würde diese Möglichkeit eintreten, so hätte man ein einfaches Verfahren in der Hand, um Histidin bzw. 1(3)-Alkylhistidine über die LEUCHSSchen Körper zum Poly-histidin bzw. zu den Poly-alkylhistidinen umzusetzen. Die Darstellung von Poly-L-histidin gelang erst kürzlich E. KATCHALSKI und Mitarbeitern<sup>5)</sup> auf dem Umweg über das Hydrochlorid des LEUCHSSchen Körpers vom 1(3)-Benzylhistidin. Bei der direkten Einwirkung von Phosgen auf Histidin bzw. Histidinhydrochlorid konnten wir durch keine Modifizierung eine Reaktion beobachten. Als Hauptgrund wird von uns die Abspaltung von HCl aus Phosgen angenommen, die das in organischen Lösungsmitteln fast unlösliche Histidin in das noch unlöslichere Hydrochlorid bzw. Dihydrochlorid überführt. Alle diese Nebenreaktionen würden bei der Verwendung von I als Carbonylierungsreagenz vermieden.

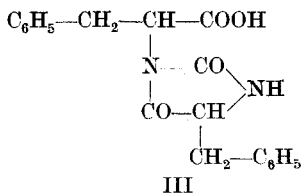
Um eine Modellreaktion durchzuführen, setzten wir zunächst D,L-Phenylalanin mit I in der Erwartung, zum Poly-D,L-phenylalanin zu kommen, um. Beim Sieden einer Aufschlämmung von D,L-Phenylalanin in abs. Tetrahydrofuran mit einem Überschuß von I trat nach 225 Minuten, wie bei der Umsetzung mit Phosgen, vollständige Auflösung der Aminosäure ein. Beim Aufarbeiten der Reaktionslösung konnte jedoch kein D,L-Phenylalanin-N-carbonsäureanhydrid isoliert werden. Nach Beseitigung des entstandenen Imidazols durch Ausfällen als Hydrochlorid oder nach dem Einengen der Reaktionslösung durch Herauslösen mit Wasser erhielten wir ein Rohprodukt, das sich in 10proz. NaOH löste und beim Ansäuern mit HCl wieder ausfiel. Nach wiederholtem Umfällen schmolz das Produkt bei 184° unter starker Gasentwicklung. Die Analysenwerte und der Schmelzpunkt deuteten auf das bereits von F. WESSELY und M. JOHN<sup>6)</sup> dargestellte N,N'-Carbonyl-bis-D,L-phenylalanin (II) hin.



<sup>5)</sup> A. PATCHORNIK, A. BERGER u. E. KATCHALSKI, J. Amer. chem. Soc. **79**, 5227 (1957).

<sup>6)</sup> F. WESSELY u. M. JOHN, Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch. **170**, 38 (1927).

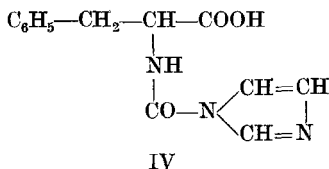
F. WESSELY und M. JOHN<sup>6)</sup> führten II durch Erhitzen mit einem Gemisch von konz. HCl und Eisessig in die 5-Benzyl-hydantoin-3- $\beta$ -phenylpropionsäure (III) über.



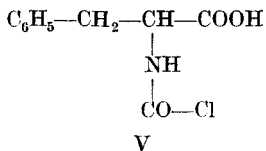
Wir identifizierten unsere Substanz auf dem gleichen Wege durch Überführen in III als N,N'-Carbonyl-bis-D,L-phenylalanin. Weitere Beweise waren die Darstellung und Analyse des Dimethylesters von II durch Umsetzung mit Diazomethan und die Hydrolyse, die zum D,L-Phenylalanin führte. Zur Aufklärung des Reaktionsmechanismus setzten wir D,L-Phenylalanin-N-carbonsäureanhydrid mit Imidazol in abs. Tetrahydrofuran bei Zimmertemperatur und beim Siedepunkt des Lösungsmittels um. Wir erhielten in beiden Fällen unter CO<sub>2</sub>-Entwicklung Poly-D,L-phenylalanin. Das bei Zimmertemperatur entstandene Produkt war sehr hochmolekular und löste sich nur in siedendem Nitrobenzol, während das andere in Tetrahydrofuran und Dioxan löslich war.

Obwohl sich bei der Reaktion von D,L-Phenylalanin mit I auch CO<sub>2</sub> entwickelte, konnten wir kein Poly-D,L-phenylalanin isolieren.

Wir nehmen an, daß sich aus D,L-Phenylalanin mit I zunächst ein nicht isolierbares Zwischenprodukt (IV) bildet.



das als N-Acylimidazol wesentlich unbeständiger ist, als das Carbamylchlorid (V), das bei der Reaktion mit Phosgen entsteht.



IV kann mit einem weiteren Molekül D,L-Phenylalanin sofort zu II reagieren. Da II leicht Wasser abspaltet und in III übergeht, wäre somit eine Freisetzung von CO<sub>2</sub> durch dieses Wasser aus dem überschüssigen I

möglich. III könnte bei der alkalischen Aufarbeitung wieder in II übergehen.

Die Bildung von II wäre theoretisch auch über das N-Carbonsäureanhydrid möglich, das mit einem Mol Aminosäure direkt zu II oder unter Wasserabspaltung zu III reagiert. Zwei Mole dse N-Carbonsäureanhydrids können unter CO<sub>2</sub>-Abspaltung ebenfalls zu III reagieren<sup>3</sup>). Wir nehmen jedoch die Bildung dss D,L-Phenylalanin-N-carbonsäureanhydrids als Zwischenprodukt höchstens als unwesentliche Nebenreaktion an, da in keinem Fall ein polymeres Produkt nachgewiesen wurde.

### Beschreibung der Versuche

N,N'-Carbonyl-di-imidazol (I), dargestellt nach H. A. STAAB<sup>2</sup>).

#### Umsetzung von D,L-Phenylalanin mit I zum N,N'-Carbonyl-bis-D,L-phenylalanin (II)

a) Zu einer Lösung von 9,67 g I in 200 ml abs. Tetrahydrofuran wurden 4,9 g D,L-Phenylalanin gegeben und die Suspension 225 Minuten unter Rühren am Rückfluß gekocht. Nach dieser Zeit war die Aminosäure fast restlos in Lösung gegangen. Danach wurde unter Feuchtigkeitsschluß filtriert und das freigewordene Imidazol mit der berechneten Menge einer abs. Tetrahydrofuran-HCl-Lösung als Hydrochlorid ausgefällt, abfiltriert und das Filtrat eingengt. Der harzartige Rückstand wurde in 200 ml 10proz. NaOH in der Hitze aufgenommen, filtriert, mit 50 ml H<sub>2</sub>O verdünnt und in der Siedehitze mit 20proz. HCl schwach angesäuert. Nach dem Abkühlen fiel ein feinkristallines, voluminöses Produkt aus, das abfiltriert, chloridfrei gewaschen und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet wurde. Ausbeute 2,1 g (39,6% d. Th.). Aus der Mutterlauge kristallisierten beim Stehen in Eis weitere 0,2 g (3,8% d. Th.). Fp.: 184° (Zers.), leichtlöslich in Dioxan und Alkohol, schwerlöslich in siedendem Wasser.

C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub> (356,37) ber. C 64,01 H 5,66 N 7,87,  
gef. C 63,92 H 5,56 N 8,09.

b) Zu einer Lösung von 4,6 g I in 140 ml abs. Tetrahydrofuran wurden 2,33 g D,L-Phenylalanin gegeben und 225 Minuten unter Rühren am Rückfluß gekocht. Dann wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand in 300 ml dest. H<sub>2</sub>O aufgenommen. Es entstand eine weiße Emulsion (p<sub>H</sub> 8–9). Diese wurde filtriert und angesäuert. Der voluminöse Niederschlag wurde abfiltriert, chloridfrei gewaschen und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Ausbeute an Rohprodukt 2,0 g (79,9% d.Th.). Reinigung durch Umfällen wie unter a) beschrieben. Aus Alkohol weiße, glänzende Nadeln, Fp.: 184–185° (Zers.)

C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub> (356,37) ber. C 64,01 H 5,66 N 7,87,  
gef. C 63,78 H 6,01 N 7,95.

#### Darstellung des Dimethylesters von II

500 mg II wurden in 20 ml abs. Methanol gelöst, mit 10 ml einer ätherischen Diazomethanolösung (200 mg Diazomethan/10 ml) versetzt und 1 Stunde stehen gelassen. Dann wurden die Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und der Rückstand in Methanol aufgenommen. Nach längerem Stehen kristallisierte der Ester aus. Er wurde abfiltriert,

mit Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Feines Kristallpulver, Fp.: 163 bis 164°.

$C_{21}H_{24}O_5N_2$  (384,42) ber. N 7,29, gef. N 7,57.

Überführung von II in die 5-Benzyl-hydantoin-3 $\beta$ -phenylpropionsäure nach F. WESSELY und M. JOHN<sup>6)</sup>, Fp.: 228° (Lit.-Fp.: 228–229°).

Hydrolyse von II: 100 mg II wurden mit 1 ml 6n-HCl 24 Stunden bei 110° im zugeschmolzenen Rohr erhitzt. Die Identifizierung erfolgte papierchromatographisch mit Butanol–Eisessig–Wasser, Anfärbung mit Ninhydrin.

$R_f$ -Wert von D,L-Phenylalanin	0,69
$R_f$ -Wert des Hydrolysats	0,70
$R_f$ -Wert von II	keine Anfärbung.

### Umsetzung von D,L-Phenylalanin-N-carbonsäureanhydrid mit Imidazol

a) 2 g D,L-Phenylalanin-N-carbonsäureanhydrid<sup>4)</sup> wurden in 150 ml abs. Tetrahydrofuran mit 1,4 g Imidazol 225 Minuten am Rückfluß gekocht. Die Lösung trübte sich etwas, während CO<sub>2</sub> entwickelt wurde. Danach wurde filtriert, das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand mit 200 ml H<sub>2</sub>O aufgenommen. Beim Ansäuern fiel ein festes, körniges Produkt aus, das chloridfrei gewaschen wurde. Nach dem Trocknen im Vakuum Ausbeute 1,0 g (65% d. Th.) eines gelblichen Pulvers, löslich in Dioxan und Tetrahydrofuran. Das Produkt sinterte bei 100° und färbte sich dann dunkelbraun.

$(C_9H_9ON)_x$  ber. C 73,43 H 6,16, gef. C 72,03<sup>7)</sup> H 7,02.

b) 1,9 g D,L-Phenylalanin-N-carbonsäureanhydrid<sup>4)</sup> wurden in 110 ml abs. Tetrahydrofuran mit 1,4 g Imidazol versetzt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 5 Minuten erfolgte eine CO<sub>2</sub>-Entwicklung, die während des gesamten Versuches anhält. Nach 30 Minuten erfolgte eine Trübung, nach weiteren 15 Minuten Abscheidung eines Niederschlages. Der gallertartige Niederschlag wurde nach 225 Minuten unter Feuchtigkeitsausschluß abfiltriert. Es war nur möglich, einen Teil des Produktes zu gewinnen, da die Filtration unter großen Verlusten erfolgte. Das Produkt wurde mehrmals mit Wasser extrahiert und im Vakuum über P<sub>2</sub>O<sub>4</sub> getrocknet. Ausbeute 200 mg, weißes Pulver, Fp.: 271°, unlöslich in Methanol, Dioxan, Tetrahydrofuran, Äther, Chloroform und 10proz. NaOH, löslich in siedendem Nitrobenzol.

$(C_9H_9ON)_x$  ber. C 73,43 H 6,16 N 9,52, gef. C 71,02<sup>7)</sup> H 6,25 H 9,39.

Beide polymeren D,L-Phenylalanine gaben nach der Hydrolyse mit 6n-HCl bei 110° 24 Stunden im Papierchromatogramm einen  $R_f$ -Wert von 0,69.

Wir möchten Herrn Prof. W. LANGENBECK für sein Interesse, das er dieser Arbeit entgegenbrachte, herzlich danken.

<sup>7)</sup> TH. CURTIUS u. W. SIEBER, Ber. dtsch. chem. Ges. **55**, 1552 (1922), fanden ebenfalls für Poly-D,L-phenylalanin einen um 1% zu tiefen C-Wert.

*Halle (Saale), Justus-v.-Liebig-Institute der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für organ. Chemie.*