

## Umlagerungen in der Chemie der Aminosäuren und Peptide

Von Dr. LOUIS A. COHEN und Dr. BERNHARD WITKOP\*)

Laboratory of Chemistry, National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA

Umlagerungsreaktionen sind in der Peptidchemie u. a. zur Synthese von Aminosäuren und höhermolekularen Verbindungen oder als Verfahrensschritte beim Abbau zur Bestimmung von Aminosäuresequenzen von Bedeutung. Andererseits können unkontrollierte Umlagerungen, wie der Disulfid-Austausch, Sequenzanalysen empfindlich stören. Es ist daher wichtig, die Bedingungen zu kennen, unter denen Umlagerungen eintreten bzw. sich vermeiden lassen. Die Arbeit gibt einen Überblick über dieses Gebiet. Wo eine theoretische Deutung des Reaktionsverlaufs möglich ist, wurde sie beschrieben.

- |  |  |
|--|--|
| <p>I. Einleitung</p> <p>II. Intramolekulare Umlagerungen</p> <p>A. Alkyl-Wanderungen</p> <p>B. Hydrid-Verschiebungen</p> <p>C. Verschiebung von Doppelbindungen</p> <p>D. Sauerstoff-Verschiebungen</p> <p>E. Vierzentren-Prozesse</p> <p>III. Umlagerungen, an denen Stickstoff beteiligt ist</p> <p>A. Curtius-Umlagerung</p> <p>B. Hofmann-Umlagerung</p> <p>C. Schmidt-Umlagerung</p> <p>D. Lossen-Umlagerung</p> <p>E. Beckmann-Umlagerung</p> <p>F. Wolffsche Umlagerung</p> | <p>IV. Umlagerungen, an denen Amidbindungen beteiligt sind</p> <p>A. Acyl-Wanderungen (N—O)</p> <p>B. Acyl-Wanderungen (N—S)</p> <p>C. Kovalente Anlagerung an die Carbonamidgruppe</p> <p>D. Kovalente Anlagerung des Amid-Stickstoffs</p> <p>E. Umlagerungen über Diacylimide</p> <p>F. Umlagerungen über cyclische Imide</p> <p>G. Umlagerungen über Anhydride</p> <p>H. Reaktionen unter Beteiligung des Carbonamid-Sauerstoffs</p> <p>V. Verschiedenartige Umlagerungen</p> <p>A. Sequenzänderung und Transpeptidierung</p> <p>B. Umlagerung von Hydantoinen</p> <p>C. Disulfid-Austausch</p> <p>D. Umwandlungen von Ringen</p> |
|--|--|

### I. Einleitung

Früher schien es nahezu, als hätten unter allen Naturstoffen die Alkaloide ein Monopol auf Umlagerungen und Nachbargruppeneffekte. Während der letzten zehn Jahre haben die Aminosäuren durch besondere enzymatische Umwandlungen und ihr Verhalten als Bausteine von Proteinen die Aufmerksamkeit des organischen Chemikers immer stärker auf sich gezogen. Untersuchungen mit Isotopen führten zur Entdeckung von Umlagerungen des Kohlenstoffgerüsts, verbesserte analytische Techniken ermöglichten die Bestimmung der Aminosäuresequenzen in Proteinen, und die Röntgenstrukturanalyse ergab Feinheiten der sekundären und tertiären Struktur der Proteine. Meilensteine dieser Entwicklung waren die Sequenzanalyse und Synthese von Peptid-Hormonen [Oxytocin, Vasopressin, melanocyten-stimulierendes Hormon (MSH), adrenocorticotropes Hormon (ACTH)] sowie die Strukturaufklärung komplizierter Proteine [Insulin (51 Aminosäuren), Ribonuclease (124 Aminosäuren), Proteinkomponente des Tabakmosaikvirus (157 Aminosäuren)]. Mit fortschreitender Kenntnis von der Struktur der Proteine werden diese mehr als leblose polyfunktionelle chemische Einheiten denn als integrierende Bestandteile der lebenden Zelle betrachtet,

und man versucht, die bemerkenswerten Eigenschaften, die sie als Enzyme, Hormone und Antigene besitzen, mit Hilfe chemischer Vorstellungen zu deuten. Die Kenntnis der chemischen Reaktionen von Aminosäuren und Peptiden ist dazu nötig.

Unter den chemischen und enzymatischen Reaktionen der Aminosäuren und Peptide gibt es Umlagerungen, wie man sie auch auf anderen Gebieten der organischen Chemie trifft und solche, die infolge der besonderen strukturellen Verhältnisse mehr auf diese Substanzklasse beschränkt sind. Wir haben nicht versucht, hier eine dieser Reaktionen erschöpfend zu beschreiben. Vielmehr sei eine größere Zahl von Umlagerungen an Hand von Beispielen illustriert.

### II. Intramolekulare Umlagerungen

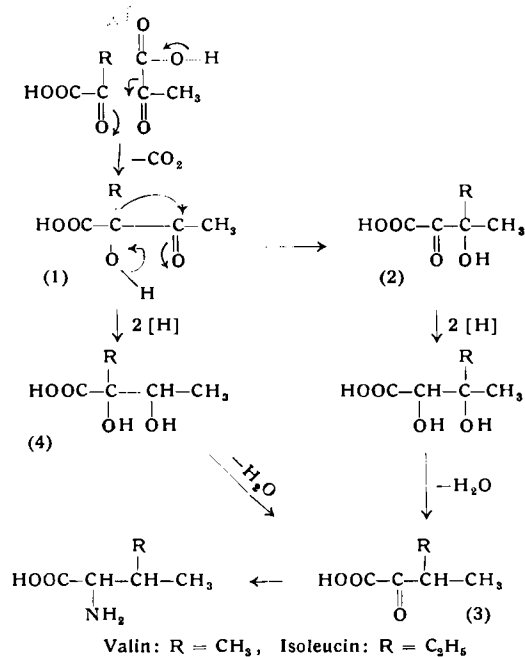
#### A. Alkyl-Wanderungen

Die Wanderung von Alkylgruppen zwischen zwei C-Atomen ist in der nicht-enzymatischen Chemie der Aminosäuren und Peptide noch unbekannt. Dagegen gibt es mehrere enzymatische Reaktionen dieser Art, z. B. die Acyloln-Umlagerung bei der Biosynthese des Valins und Isoleucins<sup>1)</sup>: zunächst wird Brenztraubensäure decarboxyliert und mit einer zweiten  $\alpha$ -Ketosäure zu einer  $\alpha$ -Hydroxy- $\beta$ -

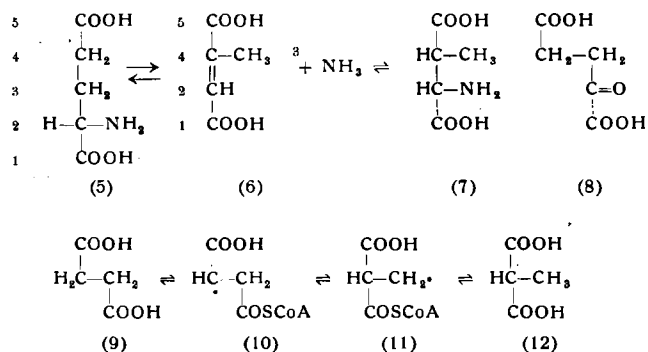
\*) Vorabdruck eines Beitrages, der später in der Monographie „Rearrangements in Organic Chemistry“ bei Interscience Publishers erscheinen wird. Wir danken dem Verlag für die Erlaubnis zur Veröffentlichung.

<sup>1)</sup> M. Strassman, J. B. Shatton, M. E. Corsey u. S. Weinhouse, J. Amer. chem. Soc. 80, 1771 [1958].

ketosäure (1) kondensiert. Dann folgt die enzym-katalysierte Acyloin-Umlagerung, der sich Reduktion,  $\beta$ -Eliminierung und Transaminierung zum Valin ( $R = CH_3$ ) oder Isoleucin ( $R = C_2H_5$ ) anschließen. Mit  $^{14}C$ -markierten Verbindungen ließ sich das Schicksal jedes C-Atoms feststellen und die Alkylwanderung eindeutig beweisen<sup>2,3</sup>. Daß es sich um eine Acyloin- (1 $\rightarrow$ 2) und nicht um eine Pinakolin-Umlagerung (4 $\rightarrow$ 3) handelt<sup>3</sup>, konnte durch Versuche mit bakteriellen Mutanten und gereinigten Enzymen, die nur mit Zwischenprodukten der Acyloin-Sequenz reagieren, gezeigt werden<sup>4,5</sup>.



Eine weitere enzym-katalysierte Umlagerung einer Kohlenstoffkette tritt bei der reversiblen Umwandlung von L-Glutaminsäure (5) in L-threo- $\beta$ -Methyl-asparaginsäure (7) auf<sup>6</sup>. Mesoconsäure (6) ist Zwischenprodukt<sup>7,8</sup>. Versuche mit Isotopen sprechen dafür, daß die Kohlenstoffkette beim Übergang von (5) zu (6) zwischen C-2 und C-3 gespalten wird. Der Mechanismus dieser Reaktion ist zwar unbekannt, doch ist eine Analogie zur Umwandlung von Bernsteinsäure (9) in Methylmalonsäure (12) denkbar, umso mehr als beide Umlagerungen kobalthaltige Cofaktoren erfordern. Da



<sup>1</sup>) M. Strassman, A. J. Thomas u. S. Weinhouse, J. Amer. chem. Soc. 75, 5135 [1953]; 77, 1261 [1955].

<sup>2</sup>) E. A. Adelberg, J. biol. Chemistry 216, 431 [1955].

<sup>3</sup>) H. E. Umbarger, B. Brown u. E. J. Eyring, J. Amer. chem. Soc. 79, 2980 [1957].

<sup>4</sup>) R. P. Wagner, A. N. Radhakrishnan u. E. E. Snell, Proc. nat. Acad. Sci. USA 44, 1047 [1958].

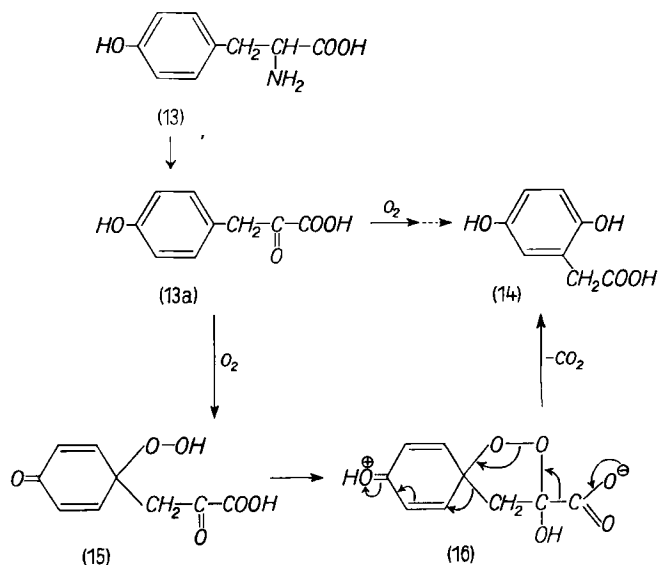
<sup>5</sup>) A. Munch-Peterson u. H. A. Barker, J. biol. Chemistry 230, 649 [1958].

<sup>7</sup>) H. A. Barker, R. D. Smyth, R. M. Wilson u. H. Weissbach, J. biol. Chemistry 234, 320 [1959].

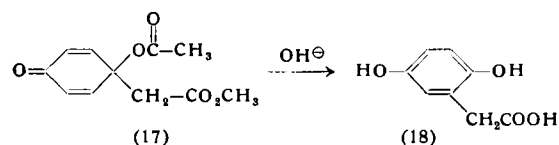
<sup>8</sup>) H. A. Barker, H. Weissbach u. R. D. Smyth, Proc. nat. Acad. Sci. USA 44, 1093 [1958].

Kobalt-Ionen radikalisch verlaufende Reaktionen starten können, ist angenommen worden, daß die Umlagerung (9) $\rightarrow$ (12) über die Radikale (10) und (11) verläuft<sup>9</sup>. Schreibt man statt Glutaminsäure (5) die entsprechende  $\alpha$ -Ketosäure (8), so wird die strukturelle Analogie zu (9) evident.

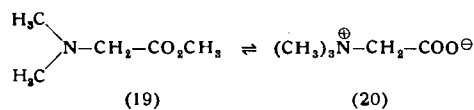
Im Verlauf einer Dienon-Phenol-Umlagerung tritt auch beim Abbau des Tyrosins (13) zur Homogentisinsäure (14) im Stoffwechsel eine Alkyl-Wanderung auf<sup>10,11</sup>. Es ist vorgeschlagen worden, daß ein einziges Enzym Hydroxylierung, Umlagerung und oxydative Decarboxylierung katalysiert<sup>12</sup>. Nimmt man als Zwischenstufe ein Hydroperoxyd an, so läßt sich ein Mechanismus formulieren, der alle drei



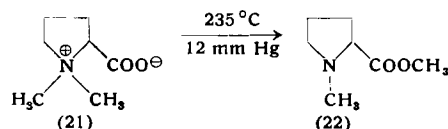
Schritte erklärt (13a $\rightarrow$ 15 $\rightarrow$ 16 $\rightarrow$ 14). Die in etwa analoge Dienon-Phenol-Umlagerung (17 $\rightarrow$ 18) tritt ohne enzymatische Katalyse in alkalischem Medium ein<sup>13</sup>.



Die Wanderung von Methylgruppen bei der reversiblen Umwandlung von Aminosäure-estern in  $\beta$ -betaine ist seit 1902 bekannt. So existiert N,N-Dimethylglycin-methylester (19) unterhalb 135 °C neben seinem Betain (20), geht aber bei höherer Temperatur quantitativ in dieses über<sup>14</sup>.



Beim Stachydrin (21) kann das Gleichgewicht durch Entfernen des leicht flüchtigen Esters (22) zu dessen Gunsten verschoben werden<sup>15</sup>. In Betainen, die eine N-Methyl-



<sup>9</sup>) H. Eggerer, P. Overath, F. Lynen u. E. R. Stadtman, J. Amer. chem. Soc. 82, 2643 [1960].

<sup>10</sup>) S. Weinhouse u. R. H. Millington, J. biol. Chemistry 181, 645 [1949].

<sup>11</sup>) R. Dische u. D. Rittenberg, J. biol. Chemistry 211, 199 [1954].

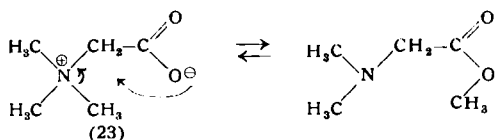
<sup>12</sup>) S. E. Hager, R. I. Gregerman u. W. E. Knox, J. biol. Chemistry 225, 935 [1957].

<sup>13</sup>) S. Goodwin u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 79, 179 [1957].

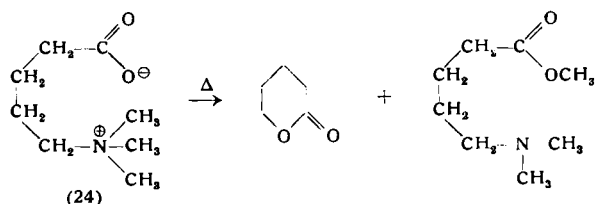
<sup>14</sup>) R. Willstätter, Ber. dtsch. chem. Ges. 35, 584 [1902].

<sup>15</sup>) G. Trier, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 67, 324 [1910].

neben einer N-Äthylgruppe enthalten, wandert nur der Methylrest<sup>14)</sup>. Alkyl-Verschiebungen dieser Art lassen sich bei  $\alpha$ -Aminosäuren als intramolekulare Umlagerungen (23) formulieren.



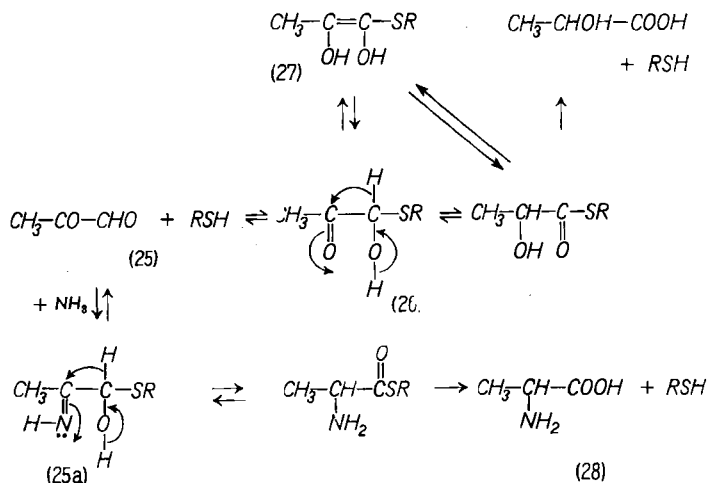
Aus dem Betain des  $\beta$ -Alanins entsteht dagegen unter Eliminierung Acrylsäure, während das Betain der  $\gamma$ -Aminobuttersäure unter intramolekularer Substitution Butyrolacton und Trimethylamin bildet<sup>14)</sup>. Erst bei der Pyrolyse des Betains der  $\delta$ -Aminovaleriansäure (24) erhält man



neben dem Lacton wieder den Ester<sup>16)</sup>. Auch Betaine, in denen die geladenen Gruppen durch noch längere Kohlenstoffketten voneinander getrennt sind, gehen beim Erhitzen in die Ester über<sup>17)</sup>. In diesen Fällen wird eine intermolekulare Alkyl-Übertragung angenommen.

## B. Hydrid-Verschiebungen

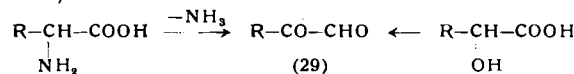
Hydrid-Verschiebungen sind bei mehreren Redox-Reaktionen in der Aminosäure-Chemie angenommen worden. Methylglyoxal (25) wird enzymatisch in Milchsäure umge-



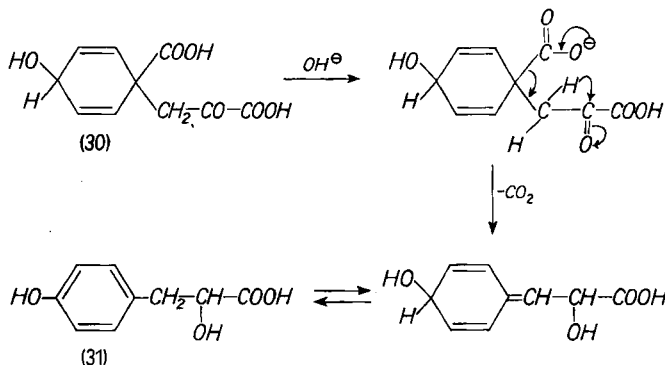
wandelt, wobei Glutathion als Coenzym fungiert<sup>18)</sup>. Die Reaktion gelingt mit einigen Mercaptanen auch ohne Enzym. Als stabile Zwischenprodukte bilden sich die Thioester<sup>19, 20)</sup>. Da die Milchsäure kein Wasserstoff-Isotop enthält, wenn man die nicht-enzymatische Reaktion in  $^3\text{H}_2\text{O}$ <sup>21)</sup> oder die enzymatische Reaktion mit Glyoxalase in  $\text{D}_2\text{O}$ <sup>22)</sup> ablaufen läßt, erscheint die intramolekulare Verschiebung eines Hydrid-Ions (26) wahrscheinlicher als der Weg über das Endiol (27). In Gegenwart von Ammoniak erhält man als Ergebnis einer Kondensation zur Schiff-Base (25a) eine Aminosäure. Beispielsweise reagieren Methylglyoxal, Ammoniak und Glutathion miteinander zum Alanin (28)<sup>19)</sup>.

<sup>14)</sup> R. Willstätter u. W. Kahn, Ber. dtsch. chem. Ges. 37, 1853 [1904].  
<sup>15)</sup> R. Kuhn u. F. Giral, Ber. dtsch. chem. Ges. 68, 387 [1935].  
<sup>16)</sup> E. Racker, J. biol. Chemistry 190, 685 [1951].  
<sup>17)</sup> T. Wieland, J. Franz u. G. Pfeleiderer, Chem. Ber. 88, 641 [1955].  
<sup>18)</sup> V. Franzen, Chem. Ber. 88, 1361 [1955].  
<sup>19)</sup> T. Wieland u. F. Jaenicke, Chem. Ber. 88, 1967 [1955].  
<sup>20)</sup> V. Franzen, Chem. Ber. 89, 1020 [1956].

Überraschenderweise wurde die weniger günstige Reaktion in entgegengesetzter Richtung sehr viel eher entdeckt: aus der wäßrigen Lösung einer  $\alpha$ -Amino- oder  $\alpha$ -Hydroxysäure, die p-Nitrophenylhydrazin enthält, fällt allmählich das Osazon des entsprechend substituierten Glyoxals (29) aus<sup>23)</sup>.

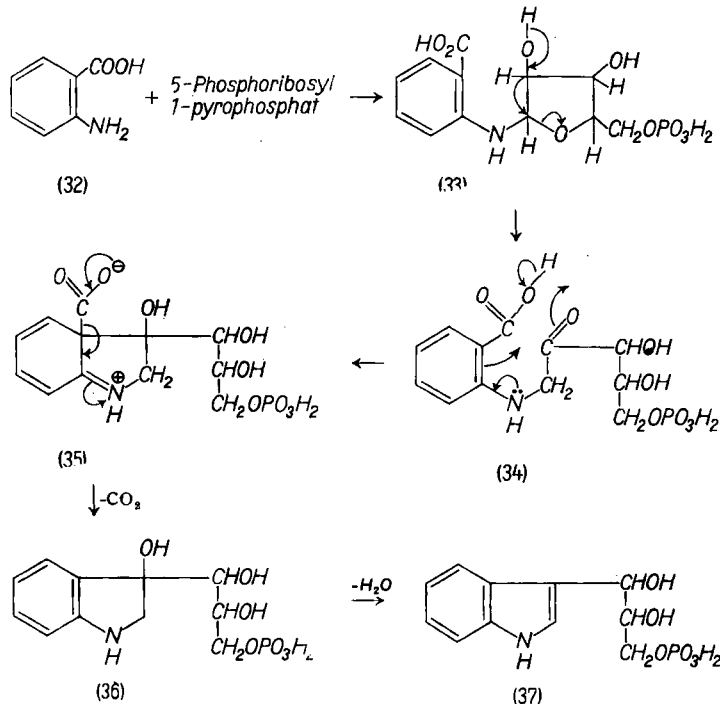


Prephensäure (30), eine Vorstufe des Phenylalanins in *Escherichia coli* reagiert mit wäßrigem Alkali zur p-Hydroxyphenyl-milchsäure (31)<sup>24, 25)</sup>. Möglicherweise sind bei dieser Umlagerung Decarboxylierung und Hydrid-Wanderung miteinander gekoppelt,



aber Untersuchungen zum Mechanismus liegen nicht vor. Durch enzymatische Oxydation und Transaminierung könnte aus (31) in *E. coli* Tyrosin entstehen<sup>26)</sup>.

An der Biosynthese von Tryptophan aus Anthranilsäure (32) in *Neurospora crassa* ist eine enzymatisch katalysierte Amadori-Umlagerung (33) beteiligt<sup>27-29)</sup>. Ihr könnten sich Cyclisierung (34), Decarboxylierung (35) und Aromatisierung (36) anschließen, so daß schließlich Indolyl-glycerinphosphat (37), eine Vorstufe des

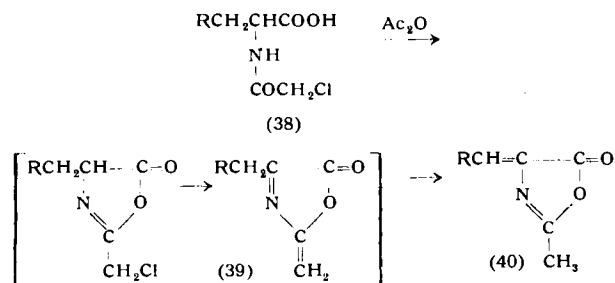


Tryptophans, entsteht. Im Ergebnis analog ist die nicht-enzymatische Bildung von N-Methylindol aus N-Methyl-anthranilsäure und Glykolaldehyd<sup>30)</sup>.

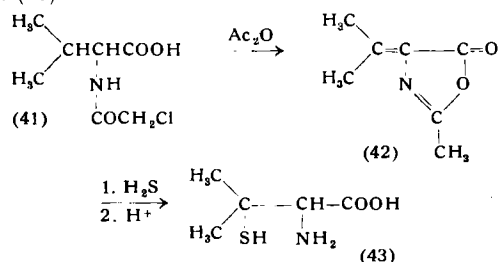
<sup>23)</sup> H. D. Dakin u. H. W. Dudley, J. biol. Chemistry 15, 127 [1913]; 18, 30 [1914].  
<sup>24)</sup> B. D. Davis, Science [Washington] 118, 251 [1953].  
<sup>25)</sup> C. Gilvarg in W. D. McElroy u. H. B. Glass: Amino Acid Metabolism. Johns Hopkins Press, Baltimore 1955, S. 812.  
<sup>26)</sup> I. Schwinck u. E. Adams, Biochim. biophys. Acta 36, 102 [1959].  
<sup>27)</sup> C. Yanofsky, J. biol. Chemistry 223, 171 [1956].  
<sup>28)</sup> O. H. Smith u. C. Yanofsky, J. biol. Chemistry 235, 2051 [1960].  
<sup>29)</sup> C. H. Doy u. F. Gibson, Biochem. J. 72, 586 [1959].  
<sup>30)</sup> J. Harley-Mason, Chem. and Ind. 1955, 355.

### C. Verschiebung von Doppelbindungen

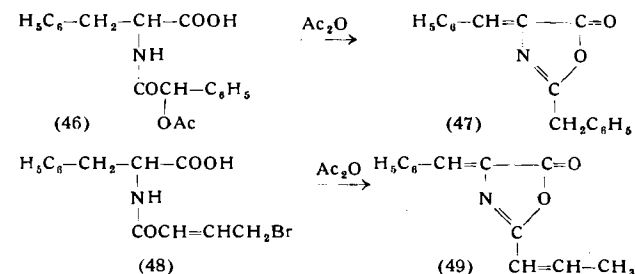
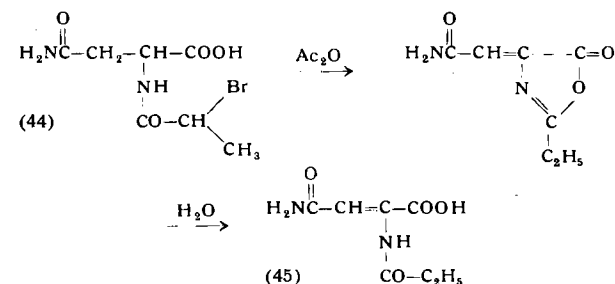
Behandelt man N-Chloracetyl-aminosäuren (38) mit Essigsäureanhydrid, so gehen sie, vermutlich durch Umlagerung eines intermediär auftretenden Diens (39), in ungesättigte Azlactone (40) über<sup>31</sup>. Hohe Ausbeuten an Azlacton erhält man aus N-Chloracetyl-phenylalanin und



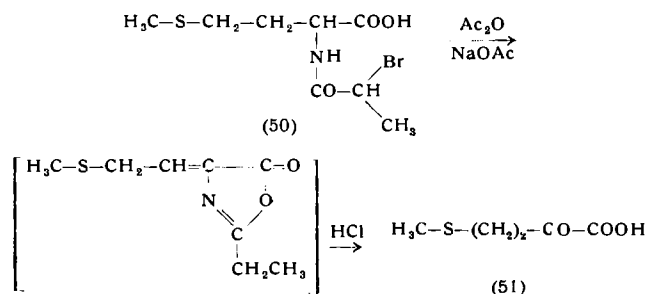
-tyrosin. In Gegenwart von Natriumacetat<sup>31</sup> oder Piperidin<sup>32</sup> verläuft die Reaktion glatt bei Raumtemperatur, was am Beispiel des N-( $\alpha$ -Brompropionyl)-alanins und des N-Chloracetyl-leucins gezeigt wurde<sup>33</sup>. Das Azlacton (42) aus N-Chloracetyl-valin (41) bildete ein wertvolles Zwischenprodukt bei der in-vitro-Synthese<sup>34</sup> des Penicillamins (43).



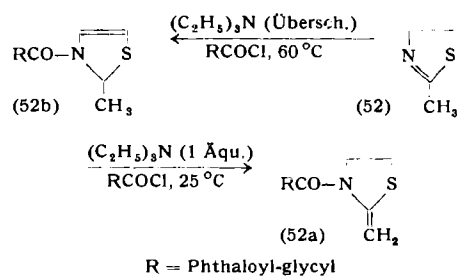
Propionylamino-fumaram- (oder-maleam-) säure (45) konnte durch Dehydrohalogenierung von N-( $\alpha$ -Brompropionyl)-asparagin (44) und hydrolytische Öffnung des Azlacton-Ringes dargestellt werden<sup>35</sup>. Aus N-Dichloracetyl- und N-Trichloracetyl-phenylalanin bilden sich glatt die ungesättigten Azlactone, wobei jedesmal nur ein Halogen-



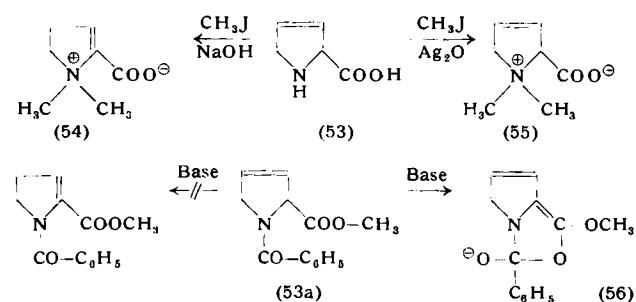
atom abgegeben wird<sup>36</sup>. Die Eliminierungsreaktion ist nicht auf  $\alpha$ -Halogenacyl-aminosäuren beschränkt, denn aus (46) entsteht (47) und die vinyloge Verbindung (48) wird in (49) umgewandelt<sup>36</sup>. Die saure Hydrolyse der Azlactone führt zu  $\alpha$ -Ketosäuren, eine Reaktion, die zur Synthese von (51) aus N-( $\alpha$ -Brompropionyl)-methionin (50) verwendet wurde<sup>37</sup>.



Eine Wanderung der Doppelbindung beobachtet man auch bei der Acylierung des 2-Methyl- $\Delta^1$ -thiazolins (52). Die Reaktionsbedingungen bestimmen die Natur des Produktes<sup>38</sup>: mit Phthaloylglycyl-chlorid und einem Äquivalent Base entsteht bei 25 °C das exocyclische Olefin (52a). Dagegen bildet sich bei 60 °C und mit überschüssiger Base das endocyclische Isomer (52b).



Die Alkylierung von 3,4-Dehydro-prolin (53) führt in alkalischem Milieu unter Verschiebung der Doppelbindung zum Dehydrostachydrin (54), während in Abwesenheit von Base die Doppelbindung in ihrer Stellung bleibt und das isomere Betain (55) entsteht. Überraschenderweise bewirkt eine Base beim N-Benzoylmethylester (53a) keine Verlagerung der Doppelbindung; vielmehr stabilisiert sich das Anion als (56)<sup>39</sup>.

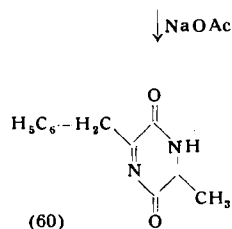
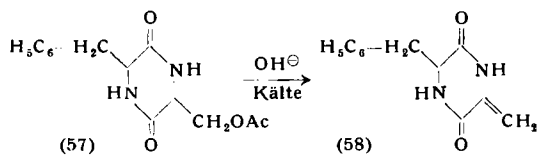


Ungesättigte Diketopiperazine zeigen mehrere interessante Umwandlungen: Behandelt man Phenylalanin-serin-diketopiperazin-O-acetat (57) mit kaltem Alkali, so entsteht unter Eliminierung von Essigsäure das Olefin (58), das durch heißes Alkali zu (59) isomerisiert wird<sup>40</sup>. Mit Natriumacetat reagiert (57) zu (60) und dieses mit stärkerer Base wiederum zu (59). Dabei könnte eine heteroaromatische Struktur wie (61) als Zwischenstufe auftreten.

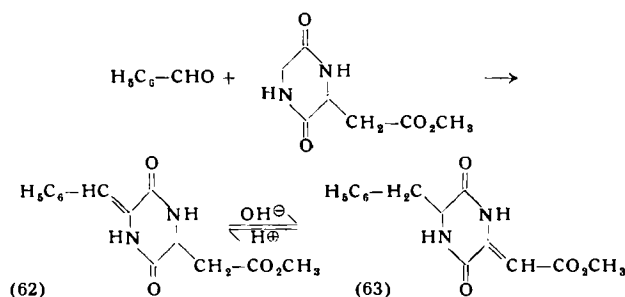
Die Abwanderung einer Doppelbindung aus der Konjugation mit einem aromatischen Ring ist bei der Einwirkung von Alkali auf (62) beobachtet worden. Es entsteht das Isomer (63). Während man bei der sauren Hydrolyse von (62) nur Phenyl-brenz-

<sup>31</sup> M. Bergmann u. F. Stern, Liebigs Ann. Chem. 448, 20 [1926].  
<sup>32</sup> M. Bergmann, L. Zervas u. F. Le Brecht, Ber. dtsch. chem. Ges. 64, 2315 [1931].  
<sup>33</sup> D. G. Doherty, J. E. Tietzman u. M. Bergmann, J. biol. Chemistry 147, 617 [1943].  
<sup>34</sup> H. M. Crooks jr. in H. T. Clarke: The Chemistry of Penicillin, Princeton Univ. Press, Princeton 1949, S. 455.  
<sup>35</sup> M. Bergmann, E. Kann u. A. Mickleley, Liebigs Ann. Chem. 449, 135 [1926].

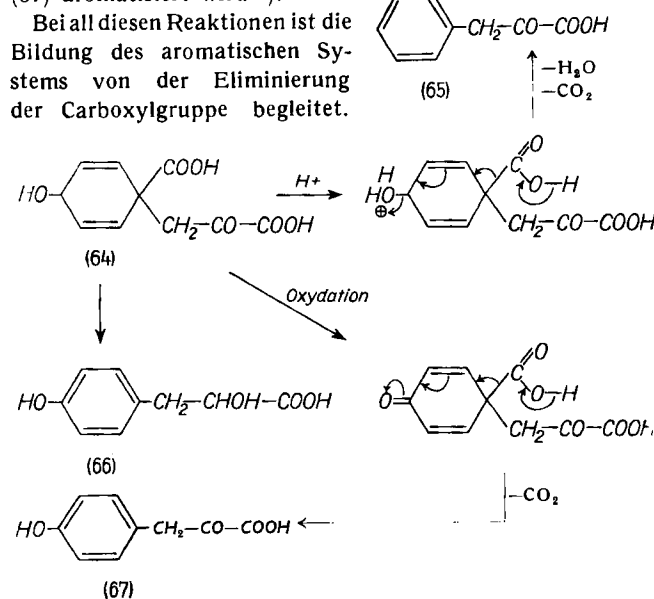
<sup>36</sup> J. C. Sheehan u. W. E. Duggins, J. Amer. chem. Soc. 72, 2475 [1950].  
<sup>37</sup> W. M. Cahill u. G. G. Rudolph, J. biol. Chemistry 145, 201 [1942].  
<sup>38</sup> J. C. Sheehan, K. W. Beck, K. R. Henery-Logan u. J. J. Ryan, J. Amer. chem. Soc. 78, 4478 [1956].  
<sup>39</sup> J. E. Francis u. B. Witkop, unveröffentl.  
<sup>40</sup> M. Bergmann u. A. Mickleley, Liebigs Ann. Chem. 458, 40 [1927].



traubensäure und Asparaginsäure erhält, liefert die saure Hydrolyse von (63) daneben noch Phenylalanin und Brenztraubensäure (durch Decarboxylierung von Oxalessigsäure<sup>41</sup>). Offenbar bildet sich im sauren Medium (62) zum Teil zurück.

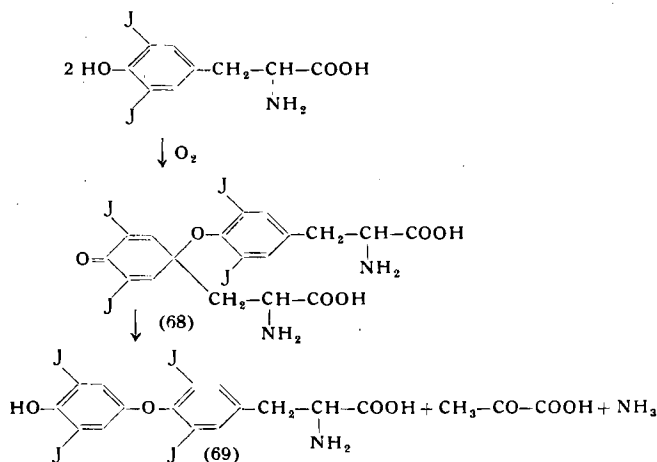


Prephensäure (64) wird enzymatisch zur Phenylbrenztraubensäure (65), der Vorstufe des Phenylalanins, aromatisiert<sup>42, 43</sup>. Die gleiche Reaktion findet nicht-enzymatisch in saurer Lösung statt<sup>42</sup>. Es wurde bereits erwähnt, daß Prephensäure auch Vorstufe des Tyrosins ist, indem sie sich zur p-Hydroxyphenyl-milchsäure (66) umlagert<sup>25</sup> oder oxydativ zur p-Hydroxyphenyl-brenztraubensäure (67) aromatisiert wird<sup>26</sup>.

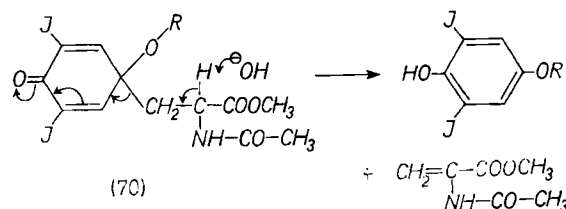


Dagegen aromatisiert sich im Verlauf der Biosynthese des Thyroxins (69) das Dienon (68) unter Eliminierung der

Alkyl-Seitenkette<sup>44</sup>. (68) entsteht durch radikalische Dimerisierung von Dijodtyrosin in Gegenwart von Sauerstoff.

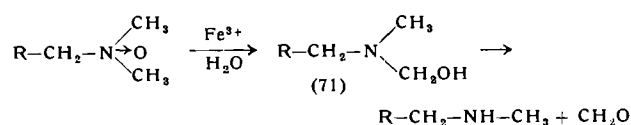


In nicht-enzymatischen Versuchen sind die Ausbeuten an Thyroxin oder seinen Derivaten höher, wenn man von N-Acyl-Verbindungen oder Estern des Dijodtyrosins ausgeht<sup>45</sup>. Die Dienon-Phenol-Umlagerung scheint also umso leichter einzutreten, je saurer das  $\alpha$ -H-Atom der Seitenkette ist (70).

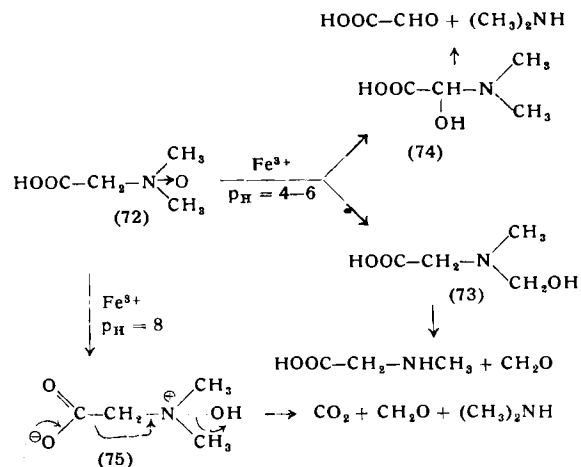


## D. Sauerstoff-Verschiebungen

In Gegenwart von Eisen(III)-Ionen lagern sich tertiäre Aminooxyde zu sekundären Aminen (71) und Aldehyden



um<sup>46</sup>. Die Umlagerung des Oxyds von N,N-Dimethylglycin (72) kann in zwei Richtungen verlaufen (73 oder 74). In alkalischem Medium wird das Aminooxyd (72) decarboxy-



<sup>41</sup>) M. Bergmann u. H. Ensslin, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 174, 76 [1928].

<sup>42</sup>) U. Weiss, C. Gilvarg, E. S. Mingioli u. B. D. Davis, Science [Washington] 119, 774 [1954].

<sup>43</sup>) J. J. Ghosh, Fed. Proc. 15, 261 [1956].

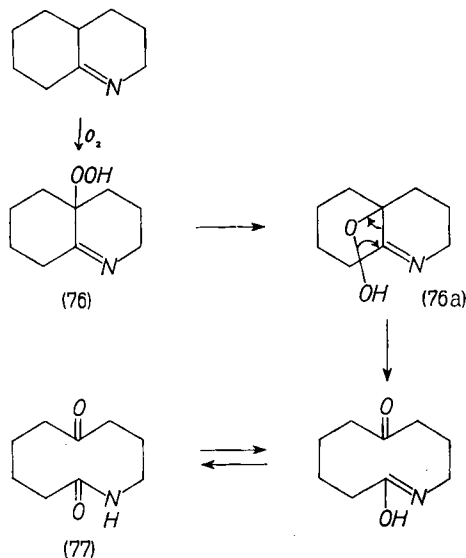
<sup>44</sup>) R. Pitt-Rivers u. A. J. James, Biochem. J. 70, 173 [1958].

<sup>45</sup>) R. Pitt-Rivers, Physiol. Rev. 30, 194 [1950].

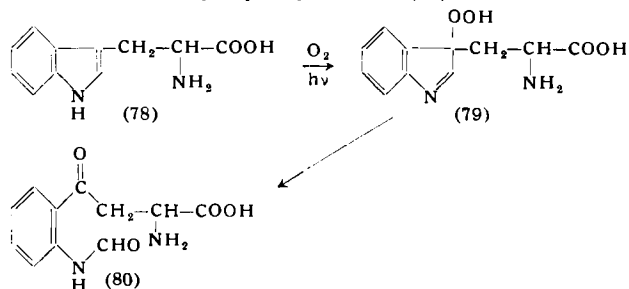
<sup>46</sup>) C. C. Sweeley u. E. C. Horning, J. Amer. chem. Soc. 79, 2620 [1957].

liert und hydrolysiert (75)<sup>47)</sup>. Aus N,N-Dimethyltyrosin-oxyd und N,N-Dimethyltryptophan-oxyd bilden sich bei  $p_H = 5$  bis 7 in Gegenwart des Eisen(III)-Weinsäure-Komplexes N-Methyltyrosin bzw. N-Methyltryptophan<sup>47)</sup>. Möglicherweise handelt es sich dabei um radikalische Reaktionen. Gereinigte Monoaminoxidase baut im Gegensatz zur N-Demethylase aus Mikrosomen N,N-Dimethyltryptamin-oxyd anaerob zum Indolyl-acetaldehyd ab<sup>47a)</sup>.

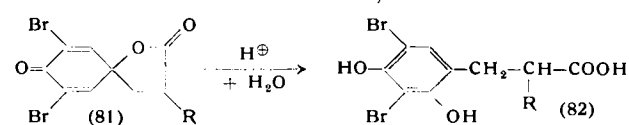
Bei der säure-katalysierten Umwandlung des Octahydrochinolin-Derivates (76) zum zehngliedrigen Ketolactam (77) wandert Sauerstoff aus einer Hydroperoxy-Gruppe an das C-Atom eines Imins, vermutlich in einem Vierzentren-Prozeß (76a)<sup>48)</sup>. Ähnlich



könnte die mit UV-Licht katalysierte Oxydation des Tryptophans (78) zum Formylkynurenin (80) verlaufen<sup>49)</sup>. Als Zwischenprodukt wäre dann 3-Hydroperoxy-indolenin (79) anzunehmen.



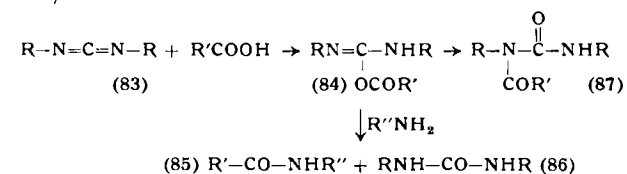
Die Bildung des Resorcin-Derivates (82) ( $R = H$ <sup>50)</sup>,  $R = NH-CO-C_6H_5$ <sup>51)</sup>) aus dem Spirodienon-lacton (81) zeigt eine Dienon-Phenol-Umlagerung mit Sauerstoff-Wanderung, doch kann hier von einer Umlagerung des Sauerstoffs eigentlich nur noch in formalem Sinn die Rede sein<sup>50)</sup>.



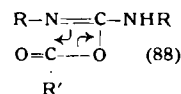
## E. Vierzentren-Prozesse

In den letzten Jahren sind N,N'-Dialkyl-carbodiimide (83) in großem Umfang zur Peptidsynthese verwendet worden<sup>52)</sup>. Das Carbodiimid reagiert mit einer Carbonsäure zu einem O-Acyl-isoharnstoff (84). Dieser acyliert ein Amin,

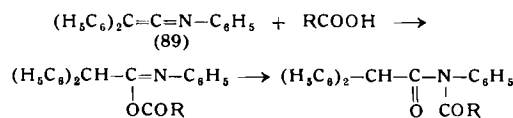
so daß neben unlöslichem Dialkylharnstoff (86) das Peptid (85) entsteht. In polaren Lösungsmitteln oder beim Erhitzen kann sich der Acyl-isoharnstoff (84) zum N-Acylharnstoff (87) umlagern, der nicht mehr mit der Aminokomponente reagiert und in mehreren nach dieser Methode synthetisierten Peptiden als Verunreinigung gefunden wurde<sup>53)</sup>.



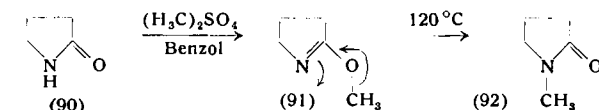
Die Umlagerung (84→87) kann als 1,2-Verschiebung oder Vierzentren-Prozeß (88) formuliert werden.



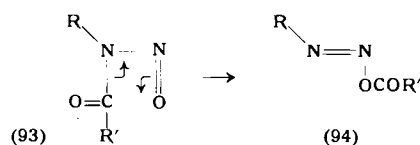
Ketimine (89) reagieren mit Carbonsäuren<sup>54)</sup> zu Imidolestern, die sich ähnlich zu Diacylimiden umlagern können.



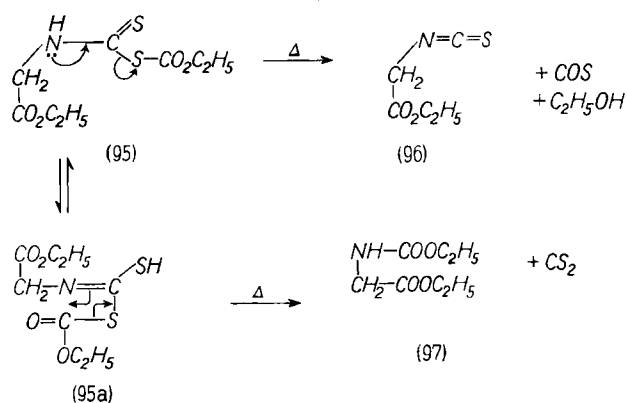
Auch die Umlagerung von Iminoäthern zu N-Alkylamiden läßt sich als Vierzentren-Reaktion auffassen. Neuerdings hat man Butyrolactam (90) und einige höhere Homologe mit Dimethylsulfat in Benzol in ihre O-Methyläther übergeführt<sup>55)</sup>. Wird (91) einige Stunden auf 120 °C erhitzt, so lagert es sich zum N-Alkyl-Derivat (92) um.



Die interessante Umwandlung eines Nitrosoamids in einen Diazoester ist ebenfalls ein Vierzentren-Prozeß: aus (93) entsteht beim Erhitzen in inerten Lösungsmitteln der Diazoester (94)<sup>56)</sup>,



der sich unter Stickstoffentwicklung zersetzt. Zwei Zersetzungsreaktionen beobachtet man bei der Pyrolyse des Dithiocarbamates (95)<sup>57)</sup>: die direkte Eliminierung führt zum Isothiocyanat (96), während sich nach Umlagerung des Ausgangsmaterials zur tautomeren Form (95a) das Urethan (97) bildet.



<sup>47)</sup> M. S. Fish, C. C. Sweeley, N. M. Johnson, E. P. Lawrence u. E. C. Horning, *Biochim. biophysica Acta* 21, 196 [1956].

<sup>47a)</sup> H. Weissbach, T. Smith u. S. Udenfriend, *Science* [Washington], im Druck.

<sup>48)</sup> L. A. Cohen u. B. Witkop, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 6595 [1955].

<sup>49)</sup> A. A. Hakim u. K. A. Thiele, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 2, 242 [1960]; vgl. A. Ek, H. M. Kissman, J. B. Patrick u. B. Witkop, *Experientia* 8, 38 [1952].

<sup>50)</sup> G. L. Schmir, L. A. Cohen u. B. Witkop, *J. Amer. chem. Soc.* 81, 2228 [1959].

<sup>51)</sup> L. A. Cohen, unveröffentl.

<sup>52)</sup> H. G. Khorana, *Chem. Reviews* 53, 145 [1953].

<sup>53)</sup> H. G. Khorana, *Chem. and Ind.* 1955, 1087.

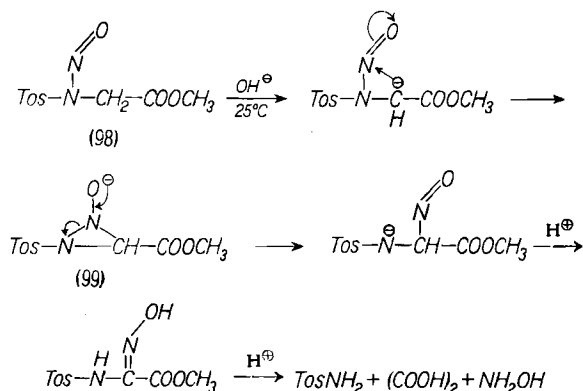
<sup>54)</sup> C. L. Stevens u. M. E. Munk, *J. Amer. chem. Soc.* 80, 4065 [1958].

<sup>55)</sup> S. Peterson u. E. Tietze, *Chem. Ber.* 90, 909 [1957].

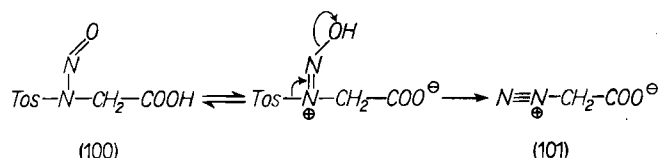
<sup>56)</sup> R. Huisgen u. H. Reimlinger, *Liebigs Ann. Chem.* 599, 161 [1956].

<sup>57)</sup> T. B. Johnson u. A. G. Renfrew, *J. Amer. chem. Soc.* 47, 240 [1925].

Ungewöhnlich verläuft die Reaktion von N-Nitroso-N-tosyl-glycinmethylester (98) mit Alkali<sup>58</sup>. Man nimmt eine intramolekulare Umlagerung an, denn die Reaktion ist erster Ordnung und in Gegenwart von Methyl-äthyl-keton entsteht kein Ketoxim. Als Zwischenstufe ist der dreigliedrige Ring (99) vorgeschlagen worden. Dagegen reagiert die



freie Carbonsäure (100) mit Alkali zur Diazoessigsäure (101), denn die Bildung eines Carbanions ist hier wesentlich schwieriger. Der Methylester des N-Tosyl-β-alanins bildet gleichfalls eine Diazoverbindung, ohne daß eine Umlagerung einträte.

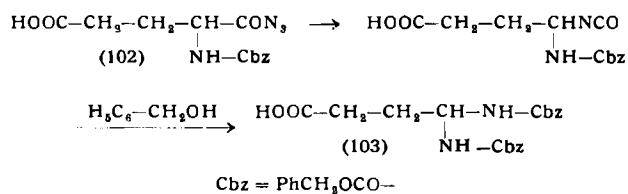


riger. Der Methylester des N-Tosyl-β-alanins bildet gleichfalls eine Diazoverbindung, ohne daß eine Umlagerung einträte.

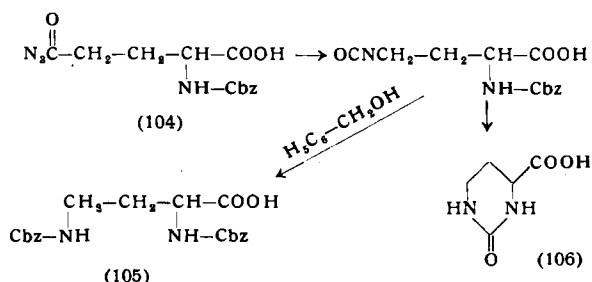
### III. Umlagerungen, an denen Stickstoff beteiligt ist

#### A. Curtius-Umlagerung

Im Verlauf seiner frühen Untersuchungen über die Anwendungsbreite der Azid-Umlagerung stellte Curtius mehrere α-Aminosäuren aus Alkylmalonsäure-monohydraziden dar. Das Verfahren wurde später weiter ausgebaut<sup>59</sup>. Im



allgemeinen ist die Synthese nach Curtius anderen Methoden zur Darstellung racemischer Aminosäuren nicht überlegen. Läßt man die Umlagerung von Carbobenzoxy-L-glutaminsäure-α-azid (102) in Gegenwart von Benzylalkohol ablaufen, so entsteht das interessante Bernstein-semi-

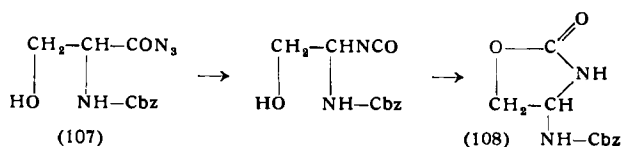


<sup>58</sup> W. Kirmse u. L. Horner, Chem. Ber. 89, 1674 [1956].

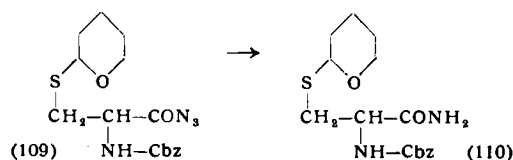
<sup>59</sup> P. A. S. Smith in R. Adams: Organic Reactions. Wiley, New York 1946, Bd. III, S. 337.

aldehyd-Derivat (103)<sup>60</sup>. Ähnlich führt die Umlagerung des γ-Azids (104) zur Diaminobuttersäure, deren beide Aminogruppen blockiert sind (105). In Abwesenheit von Benzylalkohol erhält man aus (104) das cyclische Harnstoff-Derivat (106), das zur α,γ-Diaminobuttersäure hydrolysiert werden kann<sup>61</sup>. In jedem Fall bleibt die Konfiguration am asymmetrischen C-Atom der Glutaminsäure erhalten.

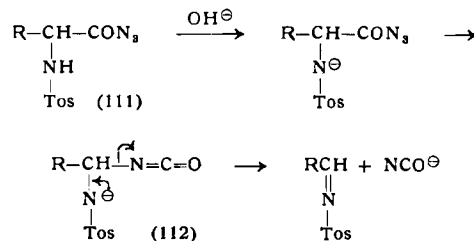
Verwendet man N-Carbobenzoxy-aminosäure-azide zur Peptid-Synthese, so treten praktisch keine Umlagerungsprodukte auf, denn der nucleophile Angriff eines Amins auf das Carbonyl-C-Atom verläuft schneller als die Umlagerung des Azids. Wird die nucleophile Substitution aber durch voluminöse Gruppen behindert, so kann die Curtius-Umlagerung eintreten und man erhält durch Reaktion mit der Aminokomponente ein Harnstoff-Derivat. Dies ist z. B. bei der Umsetzung von Carbobenzoxy-S-benzylcystein-azid mit Glycinester der Fall<sup>62</sup>. N-Benzoylvalin-azid reagiert mit Valinester zu einem Harnstoff-Derivat, und andere N-Benzoyl-aminosäure-azide verhalten sich ähnlich<sup>63</sup>. In diesen Fällen dürfte die Benzamidgruppe in der Imidol-Form die Umlagerung beschleunigen. Carbobenzoxy-L-serin-azid (107) lagert sich beim Versuch, es zur Peptidsynthese zu verwenden, um, und es entsteht das Oxazolidon (108)<sup>64, 65</sup>.



Die Umlagerung läßt sich vermeiden, indem man die Peptid-synthese mit Serinazid bei 0 °C ausführt. Das Cystein-Derivat (109) liefert gleichfalls kein Peptid, aber hier lagerte sich das Azid nicht um, sondern wurde zum Amid (110) reduziert, möglicherweise durch verunreinigende Stickstoffoxyde<sup>66</sup>.



N-Tosyl-α-aminosäure-azide (111) reagieren in alkalischem Medium unter Umlagerung und Eliminierung zu N-Tosyliminen (112) und sind daher unter diesen Bedingungen zur Peptidsynthese unbrauchbar<sup>67</sup>.



Bergmann und Zervas<sup>68</sup> haben versucht, mit Hilfe der Curtius-Umlagerung Peptidketten schrittweise abzubauen (113). Zwar mag eine endständige Amidgruppe (114) stets bevorzugt zum

<sup>60</sup> W. J. LeQuessne u. G. T. Young, J. chem. Soc. [London] 1950, 1959.

<sup>61</sup> H. Kawasaki, J. chem. Soc. Japan 87, 280 [1960].

<sup>62</sup> K. C. Hooper, H. N. Rydon, J. A. Schofield u. G. S. Heaton, J. chem. Soc. [London] 1956, 3148.

<sup>63</sup> J. W. Hinman, E. L. Caron u. H. N. Christensen, J. Amer. chem. Soc. 72, 1620 [1950].

<sup>64</sup> J. S. Fruton, J. biol. Chemistry 146, 463 [1942].

<sup>65</sup> A. Stoll u. T. Petrzilka, Helv. chim. Acta 35, 594 [1952].

<sup>66</sup> G. F. Holland u. L. A. Cohen, J. Amer. chem. Soc. 80, 3765 [1958].

<sup>67</sup> A. F. Beecham, J. Amer. chem. Soc. 79, 3257 [1957].

<sup>68</sup> M. Bergmann u. L. Zervas, J. biol. Chemistry 173, 341 [1936].

$$\begin{array}{c}
 \text{O} \qquad \qquad \text{O} \\
 \parallel \qquad \qquad \parallel \\
 \cdots - \text{C} - \text{NH} - \text{CH} - \text{C} - \text{NH} - \text{CH} - \text{COOH} \\
 \qquad \qquad \text{R} \qquad \qquad \qquad \text{R}' \\
 \text{(113)}
 \end{array}
 \xrightarrow[\text{3. HNO}_2]{\begin{array}{l} \text{1. H}_3\text{COH/HCl} \\ \text{2. N}_2\text{H}_4 \end{array}} \text{Azid}$$

$$\begin{array}{c}
 \text{H}_2\text{C}_6\text{H}_4 - \text{CH}_2\text{OH} \\
 \xrightarrow{80^\circ\text{C}} \cdots - \text{C} - \text{NH} - \text{CH} - \text{C} - \text{NH} - \text{CH} - \text{NH} - \text{C} - \text{OCH}_2 - \text{C}_6\text{H}_5 \\
 \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \text{R} \qquad \qquad \qquad \text{R}'
 \end{array}$$

$$\xrightarrow{\text{H}_2/\text{Pd}} \cdots - \text{C} - \text{NH} - \text{CH} - \text{C} - \text{NH} - \text{CH} - \text{NH}_2 \\
 \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \text{R} \qquad \qquad \qquad \text{R}'$$

$$\begin{array}{c}
 \text{H}^\oplus \\
 \xrightarrow{-\text{NH}_2} \cdots - \text{C} - \text{NH} - \text{CH} - \text{C} - \text{NH}_2 + \text{R}' - \text{CHO} \xrightarrow{\text{N}_2\text{H}_4} \text{usw.} \\
 \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \text{R}
 \end{array}
 \quad \text{(114)}$$

### B. Hofmann-Umlagerung

$$\begin{array}{ccc}
 \begin{array}{c} \text{R} \quad \text{COOC}_2\text{H}_5 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{R} \quad \text{CONH}_2 \end{array} & \xrightarrow[\text{KOH}]{\text{Br}_2} & \begin{array}{c} \text{R} \quad \text{COOH} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{R} \quad \text{NH}_2 \end{array} \\
 (115) & & (116)
 \end{array}$$

$\text{R} = \text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, i\text{-C}_4\text{H}_9$

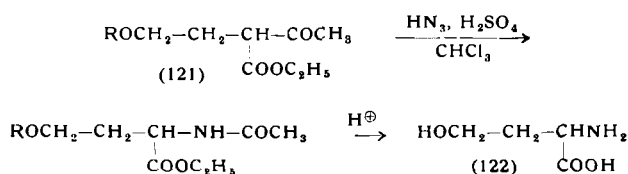
$$\begin{array}{c}
 \text{HOOC}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CONH}_2 \\
 | \\
 \text{NH}-\text{COR}
 \end{array}
 \xrightarrow[\text{Ba(OH)}_2]{\text{Br}_2}
 \begin{array}{c}
 \text{COOH} \\
 | \\
 \text{HN} \cdots \text{NH} \\
 | \quad | \\
 \text{O} \quad \text{O}
 \end{array}
 \xrightarrow{\text{H}^+}
 \begin{array}{c}
 \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\
 | \quad | \\
 \text{HO} \quad \text{OH}
 \end{array}
 \quad (117)$$
  

$$\begin{array}{c}
 \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\
 | \quad | \\
 \text{H}_2\text{N} \quad \text{NH}_2
 \end{array}
 \xrightarrow{\text{HNO}_2}
 \begin{array}{c}
 \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\
 | \quad | \\
 \text{H}_2\text{N} \quad \text{OH}
 \end{array}
 \quad (118)$$
  

$$\begin{array}{c}
 \text{HOOC}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CONH}_2 \\
 | \\
 \text{OH}
 \end{array}
 \quad (119)
 \xrightarrow[\text{KOH}]{\text{Br}_2}
 \begin{array}{c}
 \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\
 | \quad | \\
 \text{H}_2\text{N} \quad \text{OH}
 \end{array}
 \quad (120)$$

Es wird allgemein angenommen, daß in Proteinen nur Glutaminreste mit  $\gamma$ -Carbonamidgruppen vorkommen. Man hat versucht, mit Hilfe des Hofmannschen Abbaues das Auftreten von  $\alpha$ -Carbonamidgruppen nachzuweisen. Chymotrypsin wurde mit alkalischer Hypochlorit-Lösung behandelt und anschließend mit Säure hydrolysiert<sup>77)</sup>. Bernsteinsemialdehyd, der sich beim Vorhandensein von  $\alpha$ -Carbonamidgruppen als Umlagerungsprodukt bilden sollte, trat nicht auf. Dagegen findet man ihn in Hydrolysaten von umgelagertem Gliadin und Insulin<sup>78)</sup>, was auf  $\alpha$ -Carbonamidgruppen in diesen Proteinen schließen läßt. Um sicher zu sein, daß sich  $\alpha$ -Carbonamidgruppen in alkalischem Medium nicht isomerisieren, wurden synthetisches Polyglutamin<sup>79)</sup> und Polyisoglutamin ( $\alpha$ -Amid)<sup>80, 81)</sup> untersucht. In beiden Fällen entstanden nach Hofmannschem Abbau nur die erwarteten Hydrolyseprodukte, Diaminobuttersäure bzw. Bernsteinsemialdehyd.

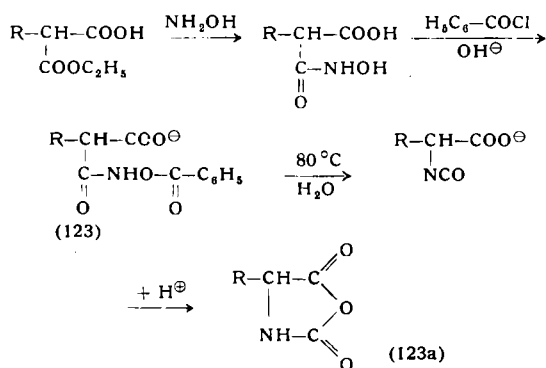
Einige Alkylmalonsäuren und  $\alpha$ -Alkyl- $\beta$ -ketosäure-ester sind mit  $\text{HN}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$  in Chloroform zu  $\alpha$ -Aminosäuren abgebaut worden<sup>82)</sup>. Neuerdings hat man  $\omega$ -Aminosäuren nach diesem Verfahren aus Dicarbonsäure-halbestern darstellen können<sup>83)</sup>. Homoserin (122) läßt sich aus dem substituierten  $\beta$ -Ketosäure-ester (121) mit guter Ausbeute und ohne Isolierung eines Zwischenproduktes gewinnen<sup>84)</sup>.



Die Lössen-Umlagerung der Monohydroxamate von Alkylmalonsäuren führt nicht — wie andere Stickstoff-Umlagerungen — zu Aminosäuren, sondern zu Leuchsschen Anhydriden<sup>85)</sup> oder weiter zu Polyaminosäuren. Im allgemeinen erhitzt man das Benzoat einer Hydroxamsäure (123) in Wasser, Äthanol oder Benzol. Dabei bildet sich das Leuchssche Anhydrid (123a), das spontan polymerisiert. So wurden Polyphenylalanin<sup>86)</sup> und Polytryptophan<sup>87)</sup>

- <sup>75)</sup> K. Freudenberg, Ber. dtsch. chem. Ges. 47, 2027 [1914].
- <sup>76)</sup> P. Karrer, K. Escher u. R. Widmer, Helv. chim. Acta 9, 301 [1926].
- <sup>77)</sup> J. Kovács, I. Kandel, M. Kandel u. V. Bruckner, Experientia 11, 96 [1955].
- <sup>78)</sup> I. Kandel, M. Kandel, J. Kovács u. V. Bruckner, Naturwissenschaften 41, 281 [1954].
- <sup>79)</sup> V. Bruckner, J. Kovács u. K. Kovács, J. chem. Soc. [London] 1953, 1512.
- <sup>80)</sup> V. Bruckner, J. Kovács u. H. Nagy, J. chem. Soc. [London] 1953, 148.
- <sup>81)</sup> V. Bruckner, M. Szchorke u. J. Kovács, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 309, 25 [1957].
- <sup>82)</sup> H. Wolff in R. Adams: Organic Reactions, Wiley, New York 1946, Bd. III, S. 307.
- <sup>83)</sup> S. Takagi u. K. Hayashi, Pharm. Bull. [Japan] 7, 96, 99, 183 [1959].
- <sup>84)</sup> S. Takagi u. K. Hayashi, Pharm. Bull. [Japan] 7, 187 [1959].
- <sup>85)</sup> C. D. Hurd u. C. M. Buess, J. Amer. chem. Soc. 73, 2409 [1951].
- <sup>86)</sup> C. D. Hurd u. L. Bauer, J. Amer. chem. Soc. 73, 4387 [1951].
- <sup>87)</sup> C. D. Hurd u. L. Bauer, J. org. Chemistry 18, 1440 [1953].

angewendet worden<sup>95)</sup>. Die Gesamtausbeute betrug 60%. Das Ausgangsmaterial (124) erhält man glatt aus Cyclohexanon und Methylnitrit.

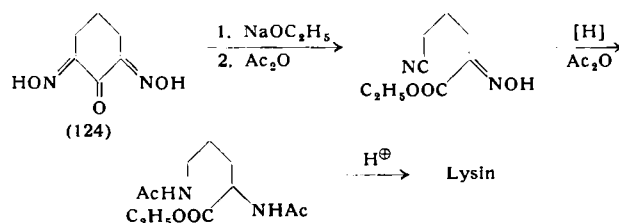


Es ist versucht worden, die Lossen-Umlagerung zum schrittweisen Abbau von Polypeptidketten zu verwenden<sup>89</sup>). Die endständige Carboxylgruppe wurde über Ester und Hydroxamat in das O-Benzoyl-hydroxamat übergeführt und dieses in 0,1 N NaOH umgelagert. Durch saure Hydrolyse des quantitativ ausgefallenen, symmetrisch substituierten Harnstoff-Derivates gewinnt man die endständige Aminosäure in Form des um ein C-Atom ärmeren Aldehyds. Die nunmehr endständige Aminosäure besitzt eine Carbonamidgruppe. Wie der Curtiusche Abbau verliert auch die Lossen-Umlagerung an diesem Punkt ihren Wert, denn bei der Umsetzung des Amids mit Hydroxylamin wird die Peptidkette an mehreren Stellen gespalten.

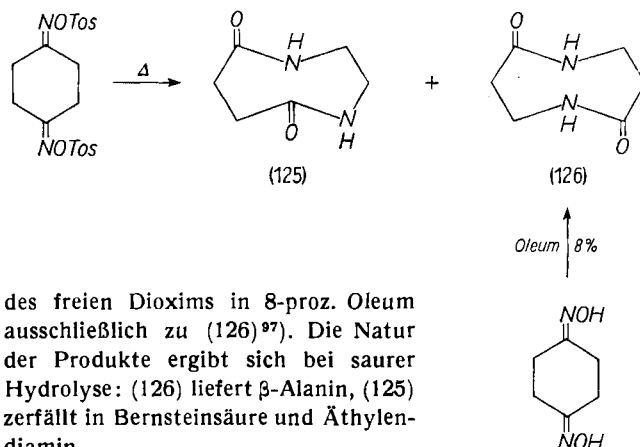
Mit Hilfe der Lossen-Umlagerung läßt sich auch die Frage untersuchen, ob Peptide  $\beta$ -Aspartyl und  $\gamma$ -Glutamyl-Bindungen enthalten<sup>50</sup>). Freie Carboxylgruppen werden verestert, die Ester über die Hydroxamsäuren mit Fluor-dinitrobenzol zu 2,4-Dinitrophenylhydroxamaten umgesetzt. Zur Umlagerung erhitzt man das modifizierte Protein 2 bis 10 min mit 0,01 bis 0,1 N NaOH auf 100 °C. Das freigesetzte 2,4-Dinitrophenol bestimmt man an Hand seiner Absorption bei 360 m $\mu$ . Nach der Hydrolyse des Proteins können auch die Umlagerungsprodukte (Diaminosäuren bzw. stickstofffreie Aldehyde) nachgewiesen werden. Da nur milde Bedingungen notwendig sind, um das Dinitrophenylhydroxamat zu bilden und um das Dinitrophenol freizusetzen, und da sich die Umlagerung spektroskopisch verfolgen läßt, besitzt der Lossensche Abbau einige Vorteile gegenüber den Verfahren von Curtius und Hofmann. Doch gelang es bisher auf keinem dieser Wege, die Umlagerungsprodukte mit quantitativer Ausbeute zu isolieren.

### E. Beckmann-Umlagerung

Die durch Schwefelsäure katalysierte Umlagerung der Oxime von Cyclopentanon<sup>91)</sup>, Cyclohexanon<sup>92)</sup> und Cycloheptanon<sup>93, 94)</sup> ist besonders zur Darstellung der entsprechenden Lactame und  $\omega$ -Aminosäuren wertvoll. Eine Beckmann-Umlagerung „zweiter Ordnung“ ist kürzlich zur Darstellung von Lysin aus 2,6-Dioximino-cyclohexanon (124)

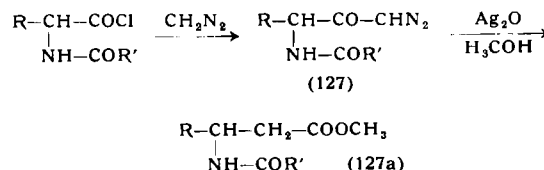


Besonderes Interesse verdient die Beckmann-Umlagerung cyclischer Diketone als Verfahren zur Synthese mittelgroßer Ringe. Erhitzt man das Ditosylat des 1.4-Cyclohexandiondioxims in Methanol, so entsteht ein Gemisch der isomeren Lactame (125) und (126)<sup>98</sup>. Dagegen führt die Umlagerung



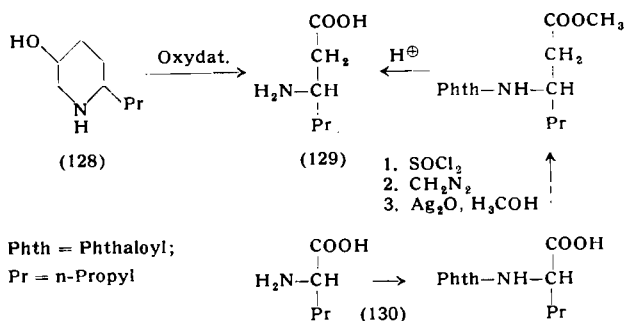
### F. Wolffsche Umlagerung

Mehrere N-Acyl- $\alpha$ -amino-säuren sind über ihre Chloride in die Diazoketone (127) übergeführt worden, aus denen man durch Wolffsche Umlagerung mit Silberoxyd in Methanol<sup>98</sup>) die um ein C-Atom reicheren Aminosäuren (127a)



erhält. Mit optisch aktiven Aminosäuren als Ausgangsmaterial ließen sich so einige schwierig zugängliche  $\beta$ -Aminosäuren bekannter Konfiguration herstellen, die zum Vergleich mit Alkaloid-Abbauprodukten gebraucht wurden.

Beispielsweise entsteht beim oxydativen Abbau des Pseudoconhydrins (128)  $\beta$ -Aminocapronsäure (129). Die L-Form dieser Verbindung wurde aus L-Norvalin (130) durch *Wolfsche* Umlagerung synthetisiert. Sie war mit dem Abbauprodukt des Pseudoconhydrins identisch<sup>99</sup>. Mit Homologen des Diazomethans kommt



<sup>88)</sup> L. Bauer, J. org. Chemistry 21, 1182 [1956].

<sup>89)</sup> T. Wieland u. H. Fritz, Chem. Ber. 86, 1186 [1953].

<sup>90)</sup> P. M. Gallop, S. Seifter, M. Lukin u. E. Meilman, J. biol. Chemistry 235, 2619 [1960].

<sup>91)</sup> S. W. Fox, M. S. Dunn u. M. P. Stoddard, J. org. Chemistry 6, 410 [1941].

<sup>92)</sup> J. C. Eck u. C. S. Marvel in A. H. Blatt: Organic Syntheses. Wiley, New York 1943, Coll. Vol. II, S. 76.

<sup>93)</sup> F. F. Blicke u. N. J. Doorenbos, J. Amer. chem. Soc. 76, 2317 [1954].

<sup>94)</sup> A. Novotný, Chem. Listy 52, 718 [1958]; Chem. Abstr. 52, 13623 [1958].

<sup>95)</sup> A. F. Ferris, F. E. Gould, G. S. Johnson, H. K. Latourette u. H. Stange, *Chem. and Ind.* 1959, 996.

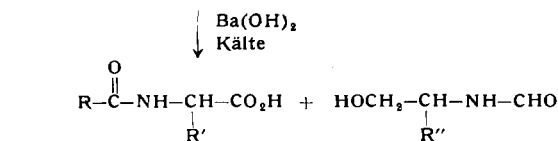
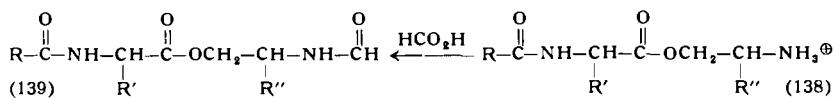
<sup>96)</sup> I. L. Knunyants u. B. P. Fabrichnyĭ, Ber. Akad. Wiss. UdSSR 68, 701 [1949]; durch Chem. Abstr. 44, 1918 [1950].

<sup>97)</sup> M. Rothe, Acta chim. Acad. Sci. hung. 18, 449 [1959].

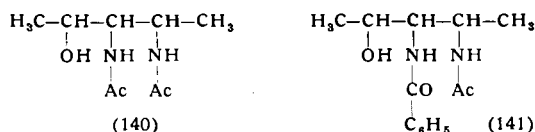
88) K. Balenović in G. E. W. Wolstenholme u. C. M. O'Connor: Amino Acids and Peptides with Antimetabolic Activity. Little, Brown, Boston 1958, S. 5.

<sup>10b)</sup> K. Balenović u. N. Štimac, Croat. chem. Acta 29, 153 [1957].

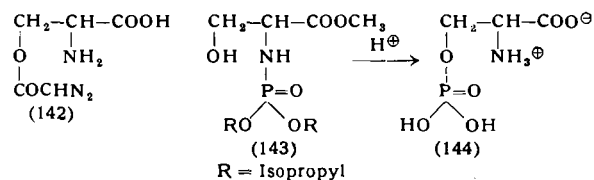




nur eine 1.2-Wanderung. Dagegen wandert in (141) bevorzugt der Acetylrest zur OH-Gruppe, obwohl dies eine 1.3-Verschiebung ist.



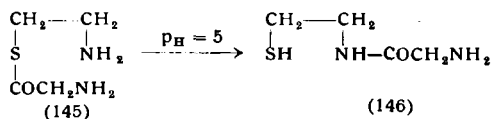
Ein anderes Beispiel für strukturelle Einflüsse bietet das O-Di-azoacetyl-serin (Azaserin, 142), in dem der Acylrest sehr viel langsamer zum Stickstoff wandert als im O-Acetyl- oder O-Glycolyl-serin<sup>125</sup>. Daß die Acyl-Umlagerung nicht auf Carbonsäure-Derivate beschränkt ist, zeigt die säure-katalysierte Umwandlung



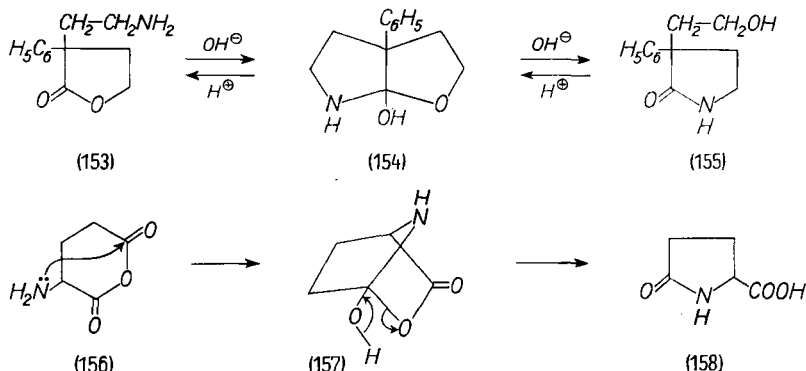
von N-(Diisopropyl-phosphoryl)-serin-methylester (143) in O-Phosphoryl-serin (144)<sup>126</sup>. Die Acylgruppe wandert vermutlich vor der Hydrolyse der Isopropylester-Bindungen.

## B. Acyl-Wanderungen (N-S)

In 2-Mercapto-äthylaminen wandert eine Acylgruppe bei ungefähr neutralem  $p_H$  glatt vom Schwefel zum Stickstoff. So braucht S-Glycyl-cysteamin (145) bei  $p_H = 5$  und 15°C nur 2 Minuten, um sich quantitativ in die N-Glycyl-Verbindung

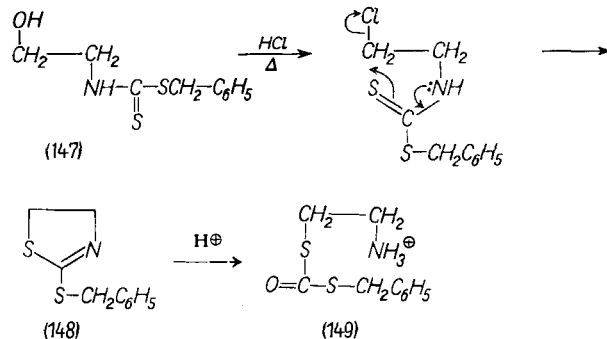


(146) umzulagern<sup>127</sup>. Erhöht man systematisch die Zahl der Methylengruppen zwischen N und S, so erfordert die intramolekulare Acyl-Verschiebung immer höhere  $p_H$ -Werte bis schließlich die bimolekulare Hydrolyse des Thioesters überwiegt<sup>128</sup>. Wie bei der Wanderung vom O zum N ist auch bei der Wanderung vom S zum N ein fünfgliedriger Ring die günstigste Zwischenstufe. Die umgekehrte Acyl-Verschiebung vom N zum S ist schwieriger nachzuweisen als die Wanderung von N zum O. Spektrophotometrisch findet man, daß in stark saurem Medium die N-Acetylgruppe im N-Acetyl-β-mercapto-äthylamin

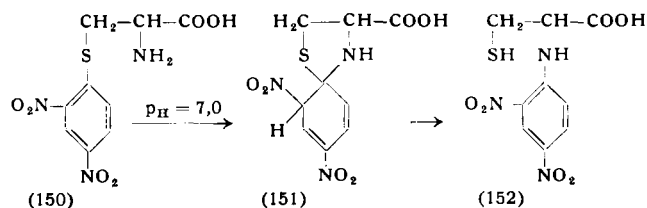


<sup>125</sup> S. A. Fusari, T. H. Haskell, R. P. Frohardt u. Q. R. Bartz, J. Amer. chem. Soc. 76, 2881 [1954].  
<sup>126</sup> R. E. Plapinger u. T. Wagner-Jauregg, J. Amer. chem. Soc. 75, 5757 [1953].  
<sup>127</sup> T. Wieland u. E. Bokelmann, Liebigs Ann. Chem. 576, 20 [1952].  
<sup>128</sup> T. Wieland u. H. Hornig, Liebigs Ann. Chem. 600, 12 [1956].

zum S wandert<sup>129</sup>). Versuche zur Isolierung des Produktes sind nicht beschrieben worden. Heiße äthanolische Salzsäure cyclisiert (147) zum Thiazolin (148), dessen Ring sich zum stabilen Dithiocarbonat (149) öffnet<sup>130</sup>. In diesem Fall gelingt es, das Produkt zu isolieren, vermutlich weil das Dithiocarbonat stabiler ist als ein Thioester.



Eine mit der Acyl-Wanderung verwandte Umlagerung zeigt das S-Dinitrophenyl-cystein (150), aus dem bei  $p_H = 7$  N-Dinitrophenyl-cystein (152) entsteht<sup>131</sup>. Als Zwischenstufe ist (151) anzunehmen, in der sich die  $\text{NH}_2$ -Gruppe an eine aktivierte Doppelbindung des Benzolringes statt an die einer Carbonylfunktion angelagert hat<sup>132</sup>.

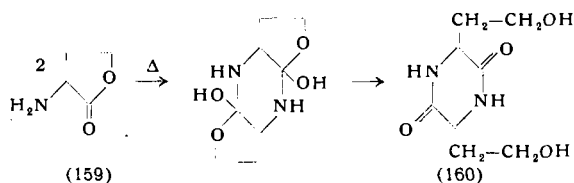


## C. Kovalente Anlagerung an die Carbonamid-Gruppe

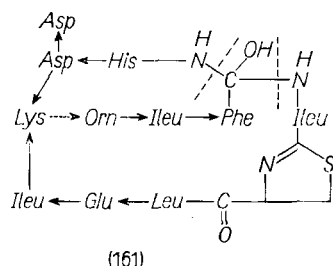
Das bei der Acyl-Wanderung als Zwischenstufe auftretende Hydroxy-oxazolidin (135) entsteht durch kovalente Anlagerung an die C=O-Doppelbindung einer Carbonamid- oder -ester-Gruppe. Intramolekulare Anlagerungen dieser Art sind auch zur Erklärung anderer Umlagerungen angenommen worden. In Gegenwart von Alkali geht das Aminolacton (153) in das Pyrrolidon-Derivat (155) über, das sich mit Säure glatt in (153) zurückverwandeln läßt<sup>133, 134</sup>. Wahrscheinlich tritt dabei die bicyclische Zwischenstufe (154) auf. Ein bicyclisches Zwischenprodukt (157) ist auch für die Umlagerung von Glutaminsäure-anhydrid (156) in

<sup>129</sup> R. B. Martin, S. Lowey, E. L. Elson u. J. T. Edsall, J. Amer. chem. Soc. 81, 5089 [1959].  
<sup>130</sup> J. C. Crawhall u. D. F. Elliott, J. chem. Soc. [London] 1952, 3094.  
<sup>131</sup> H. P. Burchfield, Nature [London] 181, 49 [1958].  
<sup>132</sup> J. F. Bunnett, Quart. Rev. (Chem. Soc. London) 12, 1 [1958].  
<sup>133</sup> E. Walton u. M. B. Green, J. chem. Soc. [London] 1945, 315.  
<sup>134</sup> A. P. Phillips u. R. Baltzly, J. Amer. chem. Soc. 69, 200 [1947].

Pyrrolidon-2-carbonsäure (158) anzunehmen<sup>135</sup>), denn bei einer intermolekularen Reaktion sollten sich Polymere bilden. Eine solche Reaktion wäre aber im sauren Medium irreversibel, wie dies von der bimolekularen Umwandlung von (159) in (160) bekannt ist<sup>136</sup>). Die saure Partialhydrolyse



des Antibiotikums Bacitracin liefert Phenylalanyl-histidin und Phenylalanyl-isoleucin, obwohl das Polypeptid nur einen Phenylalanin-Rest enthält<sup>137,138</sup>). Das Phänomen läßt sich durch die kovalente Anlagerung einer endständigen Aminogruppe an ein Peptid-Carbonyl unter Bildung einer relativ stabilen „Ortho“-Peptidbindung (161) erklären. Bei der



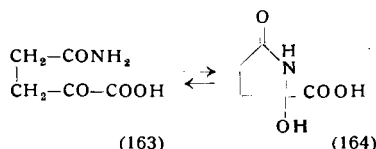
sauren Hydrolyse führt die Spaltung der einen C–N-Bindung zum Dipeptid Phe → His, die Spaltung der anderen zum Dipeptid Phe → Ileu. Eine ähnliche „Ortho“-Peptidbindung ist für die Verknüpfung des Äthanolamins im Gramicidin A angenommen worden<sup>139</sup>).

#### D. Kovalente Anlagerung des Amid-Stickstoffs

Die im vorangehenden Abschnitt C beschriebenen Umlagerungen beruhen auf der kovalenten Wechselwirkung einer freien Aminogruppe mit dem Peptid-Carbonyl. Daß sich auch zwischen einer Aminogruppe, die an der Peptid-Verknüpfung beteiligt ist, und einem Carbonyl-C-Atom eine kovalente Bindung bilden kann, wurde mehrfach bewiesen. Die transannulare Carbinolamin-Bildung (162) in



mittelgroßen Ringen ist eine rasch verlaufende und — in den bisher untersuchten Fällen — offenbar irreversible Reaktion<sup>140</sup>). Ähnlich verhält sich das α-Keto-Analog des Glutamins (163), das nicht die Eigenschaften eines Ketons



<sup>135</sup>) W. E. Hanby, S. G. Waley u. J. Watson, J. chem. Soc. [London] 1950, 3239.

<sup>136</sup>) H. R. Snyder, J. H. Andreen, G. W. Cannon u. C. F. Peters, J. Amer. chem. Soc. 64, 2082 [1942].

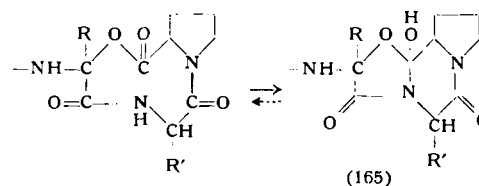
<sup>137</sup>) W. Hausmann, J. R. Weisiger u. L. C. Craig, J. Amer. chem. Soc. 77, 723 [1955].

<sup>138</sup>) E. P. Abraham: Biochemistry of Some Peptide and Steroid Antibiotics, Wiley, New York 1957, S. 22.

<sup>139</sup>) A. T. James u. R. L. M. Syngé, Biochem. J. 50, 109 [1951].

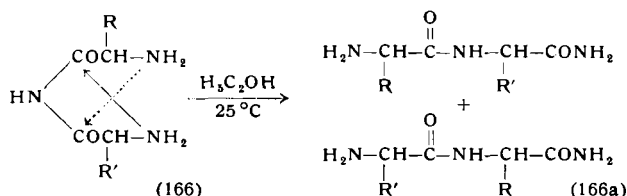
<sup>140</sup>) L. A. Cohen u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 77, 6595 [1955].

aufweist<sup>141</sup>). Hier bildet sich aber aus der cyclischen Form (164) in alkalischem Medium die offenkettige Verbindung (163) zurück. Daß eine solche Wechselwirkung nicht auf ketonische Carbonylgruppen beschränkt ist, zeigt die transannulare Anlagerung eines Amidstickstoffes an ein Lacton-Carbonyl im Peptidteil der Ergot-Alkaloide (165)<sup>142</sup>.



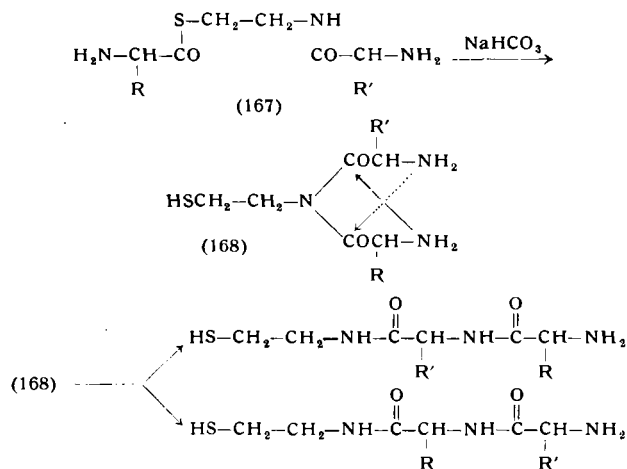
#### E. Umlagerungen über Diacylimide

Reaktionsfähigere Carbonyl-Verbindungen, wie Diacylimide vom Typ (166), lagern sich glatt zu einem Gemisch der isomeren Dipeptid-amide (166a) um<sup>143</sup>). So entstehen



aus Glycyl-alanyl-imid 54% Glycyl-alanyl-amid und 46% Alanyl-glycyl-amid. Die Reaktion wird stark durch sterische Faktoren beeinflusst, denn Glycyl-valyl-imid liefert 94% Glycyl-valyl-amid und nur 6% des isomeren Dipeptid-amids. Kürzlich wurde auch die durch Basen katalysierte gegenseitige Umwandlung der Dipeptid-amide beschrieben<sup>144</sup>). In Gegenwart starker Basen bildet sich beispielsweise aus Glycyl-leucyl-amid ein Gleichgewichtsgemisch, das neben dem Ausgangsmaterial Leucyl-glycyl-amid enthält. Meistens scheint im Gleichgewicht die Form begünstigt zu sein, in der Glycin am Amid-Ende steht. Zwei Mechanismen mit einem überbrückten Diketopiperazin bzw. einem Diacylimid als Zwischenstufe sind für die Umlagerung vorgeschlagen worden<sup>144</sup>).

Bei S,N-Diacyl-cysteaminen (167) folgen zwei Umlagerungen aufeinander. Zunächst wandert die S-Acylgruppe zum Stickstoff. Das so entstandene Diacylimid (168) lagert sich dann in zwei Richtungen um<sup>145</sup>). Aus einer komplexe-



<sup>141</sup>) T. T. Otani u. A. Meister, J. biol. Chemistry 224, 137 [1957].

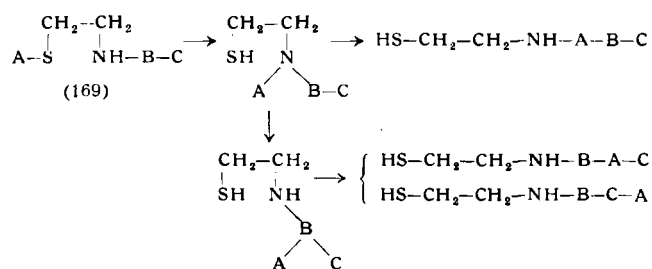
<sup>142</sup>) A. Stoll in L. Zechmeister: Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe, Springer, Wien 1952, Bd. IX, S. 134.

<sup>143</sup>) T. Wieland u. H. Urbach, Liebigs Ann. Chem. 613, 84 [1958].

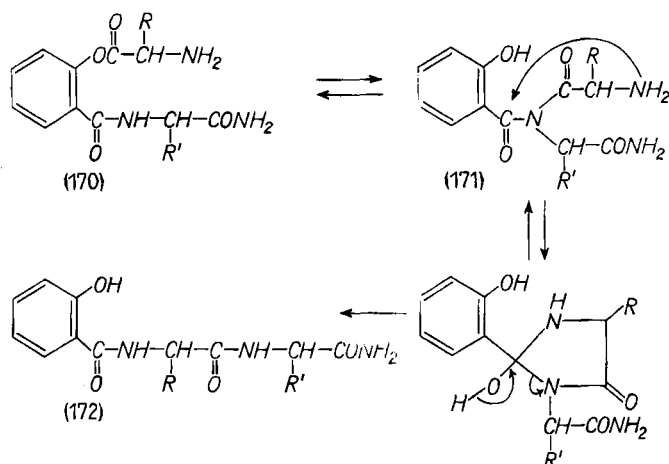
<sup>144</sup>) M. Brenner, M. A. Stevens u. E. Walton: Abstracts 138th Meeting, American Chemical Society, 1960, S. 85 P.

<sup>145</sup>) T. Wieland, H. U. Lang u. D. Liebsch, Liebigs Ann. Chem. 597, 227 [1955].

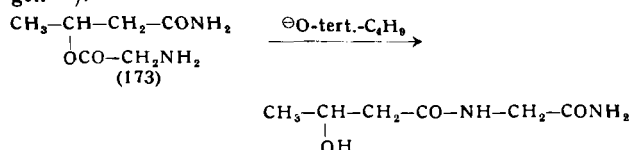
ren Diacylverbindung, etwa vom Typ (169), erhält man schließlich drei Peptide<sup>146</sup>). *Brenner* und Mitarbeiter<sup>147</sup>



haben das Verfahren der Peptid-Synthese durch intramolekulare Umlagerung als „Aminoacyl-Einlagerung“ bezeichnet. Sie aktivierten die Komponenten durch die Bildung von Salicylsäureestern (170). Nachdem die Acylgruppe vom Phenolsauerstoff an das benachbarte N-Atom gewandert ist, rührt die Umlagerung des Diacylimids (171) zum Salicyl-dipeptid-amid (172). Nach *Brenner* soll die Umlagerung nicht über ein Diacylimid, sondern über mehrere cyclische

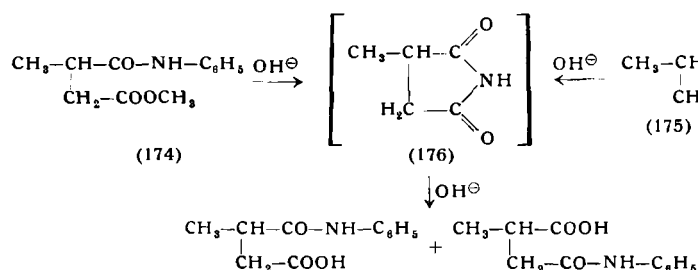


Zwischenstufen verlaufen. Die gleiche Umlagerung ist bei einigen nicht-aromatischen Estern wie (173) gelungen, allerdings bedarf es hier sehr viel stärker basischer Bedingungen<sup>147</sup>).



#### F. Umlagerungen über cyclische Imide

Es sei betont, daß es sich bei den soeben als Zwischenstufen beschriebenen Diacylimiden häufig nur um hypothetische Strukturen handelt, denn nur wenige Verbindungen dieser Art konnten isoliert werden. Das intermediäre Auftreten von Diacylimiden ist sicherer, wenn substituierte

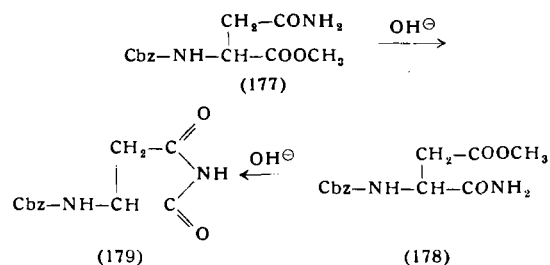


<sup>146</sup> T. Wieland, E. Bokelmann, L. Bauer, H. U. Lang u. H. Lau, Liebig's Ann. Chem. 583, 129 [1953].

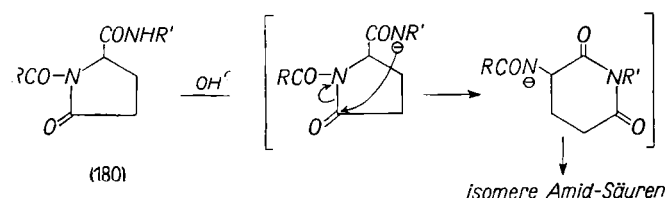
<sup>147</sup> M. Brenner, J. cellular comparat Physiol. 54, Suppl. 1, 221 [1959].

<sup>148</sup> J. E. H. Hancock u. R. P. Linstead, J. chem. Soc. [London] 1953, 3490.

Succinimide oder Glutarimide an den Reaktionen beteiligt sind. So führt die alkalische Hydrolyse der beiden Anilid-ester (174) und (175) zum gleichen Gemisch isomerer Anilid-säuren, und das Imid (176) tritt als gemeinsames Zwischenprodukt auf<sup>148</sup>). Die entsprechenden N-Methylanilide lagern sich nicht um, denn sie können kein Imid bilden. Bei der Verseifung von Carbobenzoxy-asparagin-methylester (177) und dem isomeren Ester-amid (178) hat man das intermediäre Imid (179) in kristalliner Form isolieren können<sup>149</sup>). Längere Behandlung mit Alkali öffnet den Ring



des Succinimids und es entsteht ein Gemisch isomerer Säureamide. Die alkalische Hydrolyse von Carbobenzoxy-glutamin-methylester führt direkt zu den isomeren Säure-amiden, doch läßt sich das als Zwischenprodukt erwartete Glutarimid isolieren, wenn man das Ester-amid mit Natriummethylat in Benzylalkohol umsetzt. Daß Glutarimide gegenüber Alkali empfindlicher sind als Succinimide, war bekannt<sup>150</sup>). Benzamido-succinimid reagiert mit kalter, verdünnter Natronlauge zu Benzoyl-asparagin und nur spurenweise zu Benzoyl-isoasparagin<sup>151</sup>). Einige Succinimido- und Glutarimido-peptide öffnen den Ring bevorzugt so, daß das β- bzw. γ-Amid entsteht<sup>151, 152</sup>). Das Acylpyrrolidon (180) wird durch Alkali – vermutlich über ein Glutarimid – in ein Gemisch von Glutamyl-peptiden umgewandelt<sup>153</sup>).



Man kennt bei den natürlichen Polypeptiden mindestens einen Fall von Succinimid-Bildung und Aspartyl-Umlagerung: wird Bacitracin A mit konzentrierter Salzsäure erhitzt, so öffnen sich alle Peptidbindungen bis auf eine, die des Aspartyl-ε-lysins<sup>154</sup>). Das Dipeptid wurde isoliert und erwies sich als das gegen saure Hydrolyse beständige Imid. Bei der Hydrolyse von Bacitracin mit 0,1 N HCl wird die Aspartyl-Lysin-Bindung gespalten, denn unter diesen Bedingungen kann sich ein Imid nicht bilden.

Sogar bei neutralem p<sub>H</sub> kann eine Aspartyl-Umlagerung eintreten: kocht man α-Aspartyl-tyrosin, -glutaminsäure oder -valin einige Stunden mit Wasser, so entstehen die β-Aspartyl-Isomere<sup>155</sup>). Beim Erhitzen von Asparaginsäure auf 180–200 °C bildet sich ein Polyimid<sup>156</sup>), das in 0,1 N Natronlauge in ein Polyamid übergeht, welches α- und β-Aspartyl-Bindungen im Verhältnis 1:1,3 enthält<sup>157</sup>). Bei

<sup>149</sup> E. Sondheimer u. R. W. Holley, J. Amer. chem. Soc. 76, 2467 [1954].

<sup>150</sup> S. S. G. Sircar, J. chem. Soc. [London] 1927, 600, 1952.

<sup>151</sup> A. R. Battersby u. J. C. Robinson, J. chem. Soc. [London] 1955, 259.

<sup>152</sup> D. W. Clayton, G. W. Kenner u. R. C. Sheppard, J. chem. Soc. [London] 1956, 371.

<sup>153</sup> A. R. Battersby u. J. C. Robinson, J. chem. Soc. [London] 1956, 2076.

<sup>154</sup> D. L. Swallow u. E. P. Abraham, Biochem. J. 70, 364 [1958].

<sup>155</sup> W. D. John u. G. T. Young, J. chem. Soc. [London] 1954, 2870.

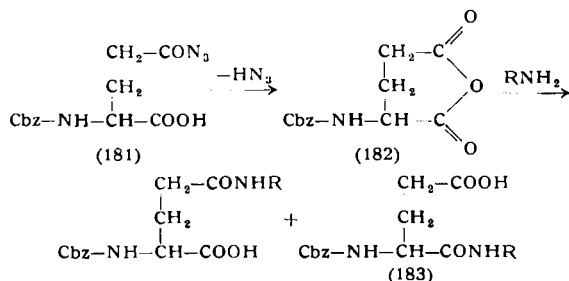
<sup>156</sup> J. Kovács, I. Könyves u. A. Pusztai, Experientia 9, 459 [1953].

<sup>157</sup> J. Kovács u. I. Könyves, Naturwissenschaften 41, 333 [1954].

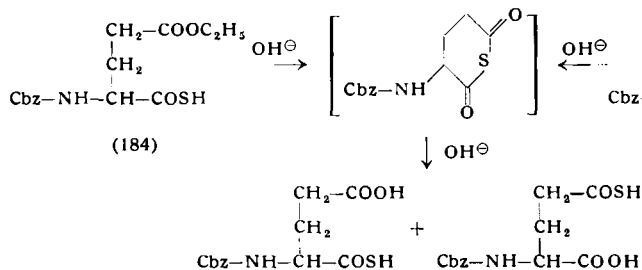
der Polyglutaminsäure liefert die Öffnung der Imid-Ringe  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Bindungen im Verhältnis 1:10<sup>158, 159</sup>).

### G. Umlagerungen über Anhydride

Carbobenzoxy- $\gamma$ -glutamyl-azid (181) reagiert mit Aminosäure-estern zu Gemischen, die in einigen Fällen 10–17% des entsprechenden  $\alpha$ -Glutamyl-peptides (183) enthalten.



Dessen Menge variiert etwas mit der Art der als Ester eingesetzten Aminosäure<sup>160–162</sup>. Da das erwünschte  $\gamma$ -Peptid gewöhnlich glatt kristallisiert, bedeutet die Umlagerung für die Synthese kein ernsthaftes Problem. Dagegen entstehen die  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Isomere bei der Kupplung des Azids (181) mit Homocysteinyl-glycin im Verhältnis 50:50 und lassen sich selbst papierchromatographisch nicht trennen<sup>163</sup>. Möglicherweise geht das Azid intermediär in Stickstoffwasserstoffsäure und das Anhydrid (182) über, doch hat sich bisher noch nicht gezeigt, daß aus dem  $\alpha$ -Azid die Isomere im gleichen Verhältnis entstehen. Eine Analogie bietet die Verseifung der Isomere (184) und (185), die

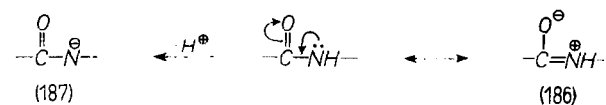


beide das gleiche Gemisch aus  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Thiosäure liefern<sup>164</sup>. Wie zu erwarten, erhält man auch bei der Synthese von Aspartyl-peptiden nach der Azid-Methode Isomereengemische<sup>165</sup>.

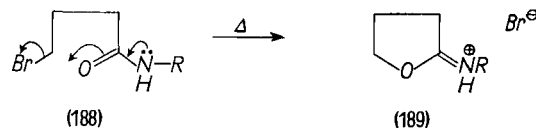
### H. Reaktionen unter Beteiligung des Carbonamid-Sauerstoffs

Die 1,2-Addition nucleophiler Reagentien an eine C=O-Funktion verläuft bei der Carbonamidgruppe viel weniger glatt als bei Ketonen oder Aldehyden. Einflüsse der Umgebung oder günstige sterische Bedingungen, vor allem in cyclischen Peptiden, stabilisieren in einigen Fällen intramolekular gebildete Orthopeptide oder Carbinolamide<sup>137–142</sup>. Andererseits ermöglicht der nucleophile Charakter einer Carbonamidgruppe zahlreiche Verdrängungsreaktionen<sup>166</sup>. Solche Verdrängungen verlaufen entweder über das Imidolat-Anion (186) oder — unter stark alkalischen Bedingungen — über das Amid-Anion (187). Ein instruk-

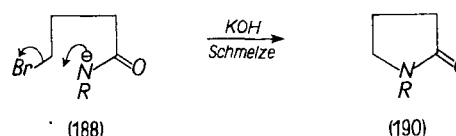
tives und einfaches Beispiel für die zwei Möglichkeiten einer solchen Substitution ist die Isomerisierung eines



$\gamma$ -Brom-buttersäureamids (188): beim Erhitzen auf 100 °C oder durch Äthanolyse entsteht<sup>167</sup> das Imino-valerolacton-hydrobromid (Imino-tetrahydrofuran-hydrobromid) (189). Die Pyrolyse liefert (189) in quantitativer Ausbeute, bei



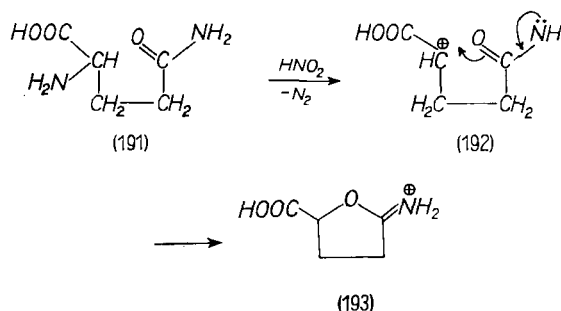
der Äthanolyse erhält man als Nebenprodukt  $\gamma$ -Äthoxy-buttersäureamid. Andererseits geht (188) beim Verschmelzen mit Alkali in das Pyrrolidon (190) über. Die Stabili-



tät des Iminolactons (189) hängt von der Natur des Restes R am Stickstoff ab. Cyclohexyl- und n-Butyl-iminolactone sind deutlich beständiger als die analogen Phenyl- oder Benzyl-Verbindungen. Die meisten Iminolactone werden aber schon durch kaltes oder heißes Wasser leicht hydrolysiert.

Voraussetzung für die Beteiligung des Carbonamid-Sauerstoffs an solchen Reaktionen ist, daß in  $\gamma$ - oder  $\delta$ -Stellung eine positive Ladung vorhanden ist oder entstehen kann. Eine  $\beta$ , $\gamma$ - oder  $\gamma$ , $\delta$ -Doppelbindung, eine stark elektrophile Gruppe oder die Bildung eines  $\gamma$ - bzw.  $\delta$ -Carbonium-Ions erfüllen diese Voraussetzung.

Glutamin (191) ist bekannt dafür, daß es bei der van-Slyke-Bestimmung anomal reagiert. Statt nur 50% seines Stickstoffs abzugeben, wird dieser vollständig freigesetzt, es sei denn, man hielte die Nitrit-Konzentration gering. Das Carbonium-Ion im Zwischenprodukt (192) veranlaßt die Carbonamidgruppe so zu reagieren, daß das Iminolacton (193) oder möglicherweise dessen Hydrat entsteht, welches zum 4-Carboxy- $\gamma$ -butyrolacton hydrolysiert. Dabei wird



entweder Ammoniak oder — bei genügender Nitrit-Konzentration — Stickstoff frei<sup>168</sup>. Ein ähnliches Iminolacton (195) muß als Zwischenstufe bei der Behandlung von  $\gamma$ -

<sup>158</sup>) J. Kovács, K. Medzihradszky u. V. Bruckner, *Naturwissenschaften* 41, 450 [1954].

<sup>159</sup>) V. Bruckner, M. Kajtar, J. Kovács, H. Nagy u. J. Wein, *Tetrahedron* 2, 211 [1958].

<sup>160</sup>) H. Sachs u. E. Brand, *J. Amer. chem. Soc.* 76, 1815 [1954].

<sup>161</sup>) D. A. Rowlands u. G. T. Young, *Biochem. J.* 65, 516 [1957].

<sup>162</sup>) E. P. Abraham u. G. G. F. Newton, *Biochem. J.* 58, 266 [1954].

<sup>163</sup>) O. Gawron u. A. Draus, *J. org. Chemistry* 24, 1392 [1959].

<sup>164</sup>) H. Sachs u. H. Waelsch, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 6600 [1955].

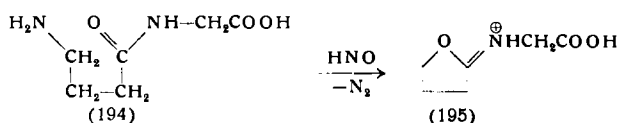
<sup>165</sup>) T. T. Otani u. A. Meister, *J. biol. Chemistry* 224, 137 [1957].

<sup>166</sup>) S. Winstein u. R. Boschan, *J. Amer. chem. Soc.* 72, 4669 [1950].

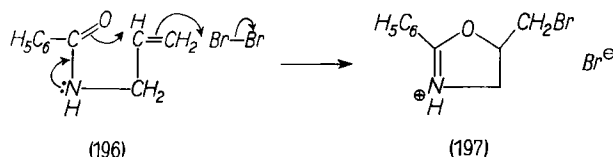
<sup>167</sup>) C. J. M. Stirling, *J. chem. Soc. [London]* 1960, 255.

<sup>168</sup>) A. T. Austin u. J. Howard, *Chem. and Ind.* 1959, 1413.

Aminobutyl-glycin (194) mit salpetriger Säure auftreten, denn die Produkte dieser Reaktion sind Glycin und  $\gamma$ -Butyrolacton<sup>169</sup>.

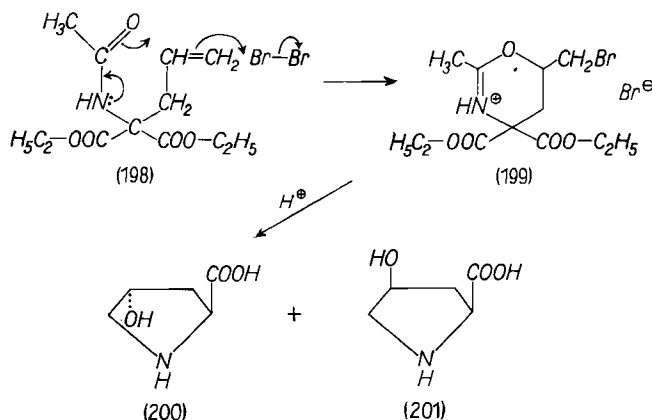


Die Teilnahme einer benachbarten Carbonamidgruppe an elektrophilen Additionsreaktionen einer olefinischen Doppelbindung ist sorgfältig untersucht worden, z.B. beim 3-Benzamido-propen (196)<sup>170</sup>. Die Ausbeute an Oxazolin

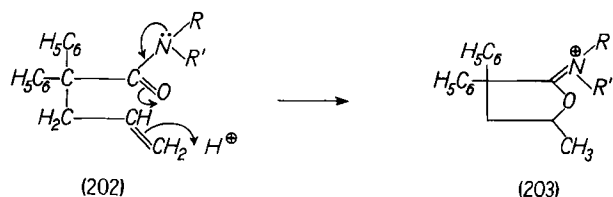


(197) ist am höchsten, wenn man die Anlagerung des Broms in einem schwach nucleophilen Lösungsmittel wie Essigsäure ausführt. In Methanol und anderen nucleophilen Solventien treten Nebenreaktionen auf, die zu Dibromiden und Bromäthern führen.

Eine 1,6-Wechselwirkung beobachtet man bei der Anlagerung von Brom an Allyl-acetamino-malonsäure-diäthylester (198) in Chloroform. Sowohl die Dibrom-Verbindung als auch das Hydrobromid des 5,6-Dihydro-2-methyl-6-brommethyl-4,4-dicarboxy-1,3-oxazins (199) entstehen. Letzteres wird durch Säure zu einem Gemisch aus Hydroxyprolin (200) und dessen allo-Isomer (201) umgelagert<sup>171</sup>.



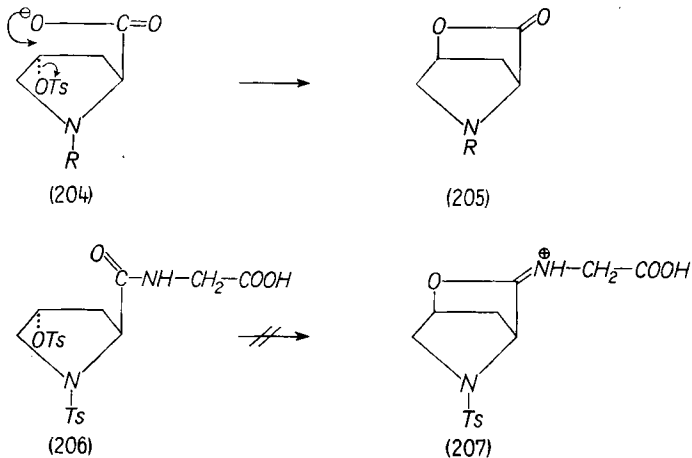
Auch die Protonisierung einer Doppelbindung bringt eine benachbarte Carbonamidgruppe mit ins Spiel. So führt z. B. die Einwirkung von HCl auf 2,2-Diphenyl-4-penten-säure-amide (202) unter Iminolactonisierung zur Bildung quartärer Salze des 3,3-Diphenyl-5-methyl-2-imino-tetrahydrofurans (203). Diese Salze werden leicht zum Lacton



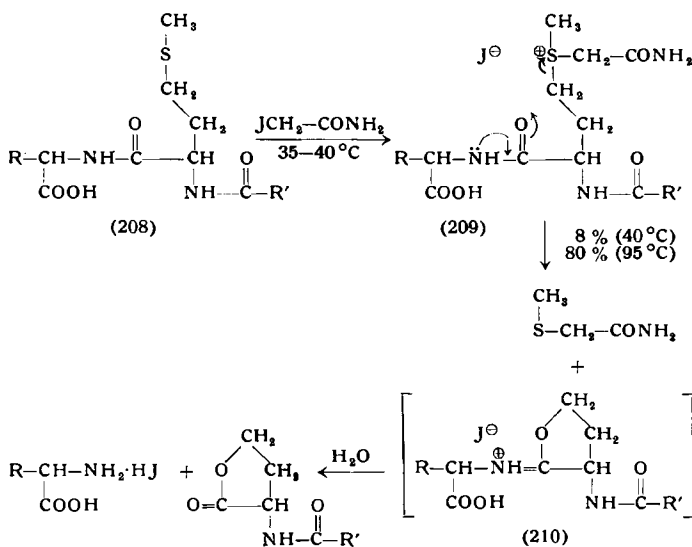
und Amin hydrolysiert<sup>172</sup>. Überträgt man diese Reaktion auf ein Glycin-peptid (204, R = H, R' = -CH<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>), so entsteht sogleich Glycin-äthylester, ohne daß ein stabiles Iminolacton auftritt. Unter verschiedenen Bedingungen

betrug die Ausbeute an Glycin-äthylester nie mehr als 30% und lag damit viel tiefer als die Ausbeuten bei anderen gleichartigen Reaktionen<sup>173</sup>.

Die Iminolactonisierung bleibt u. U. aus, wenn bicyclische Zwischenstufen auftreten müßten. Obwohl sich N-acylierte O-Tosylate des Hydroxy-L-prolins (204, R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>O-CO-, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CO-, CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-SO<sub>2</sub>-) leicht in bicyclische Lactone (205) überführen lassen<sup>174</sup>, beobachtet man beim N,O-Ditosylhydroxy-L-prolyl-glycin (206) unter den Bedingungen der Solvolyse keine intramolekulare Substitution unter Bildung des Iminolactons (207) oder seiner Hydrolyseprodukte<sup>175</sup>.



Von Sulfonium-Derivaten des Methionins weiß man, daß sie die Schwefel-Funktion leicht eliminieren und dabei ins Homoserin-lacton übergehen<sup>176-178</sup>. In Methionin-peptiden (208) verläuft diese intramolekulare Substitution am  $\gamma$ -C-Atom über die Zwischenstufen (209) und (210) unter Teilnahme und Spaltung der Peptidbindung<sup>179</sup>.



Modifizieren und verbessern läßt sich diese Spaltung durch Verwendung von Bromcyan. Das in diesem Fall zunächst entstehende Cyansulfonium-Salz (211) zerfällt leichter als das Carbamylmethyl-sulfonium-Salz (209). Schon in neutraler wäßriger Lösung und bei Raumtemperatur wird rasch Methyl-thiocyanat abgespalten und es bildet

<sup>169</sup>) J. E. Francis u. B. Witkop, unveröffentl.

<sup>170</sup>) L. Goodman u. S. Winstein, J. Amer. chem. Soc. 79, 4788 [1957].

<sup>171</sup>) T. Wieland u. U. Wintermeyer, Chem. Ber. 90, 1721 [1957].

<sup>172</sup>) P. N. Craig, J. Amer. chem. Soc. 74, 129 [1952].

<sup>173</sup>) W. B. Lawson u. B. Witkop, J. org. Chemistry, 26, 247 [1961].

<sup>174</sup>) A. A. Patchett u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 79, 185 [1957].

<sup>175</sup>) J. E. Francis u. B. Witkop, unveröffentl.

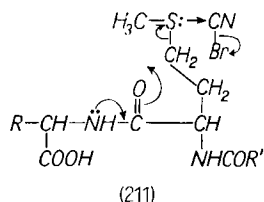
<sup>176</sup>) G. Toennies u. J. J. Kolb, J. Amer. chem. Soc. 67, 1141 [1945].

<sup>177</sup>) R. A. McRorie, G. L. Sutherland, M. I. Lewis, A. D. Barton, M. R. Glazener u. W. Shive, J. Amer. chem. Soc. 76, 115 [1954].

<sup>178</sup>) H. G. Gundlach, W. H. Stein u. S. Moore, J. biol. Chemistry 234, 1754, 1761 [1959].

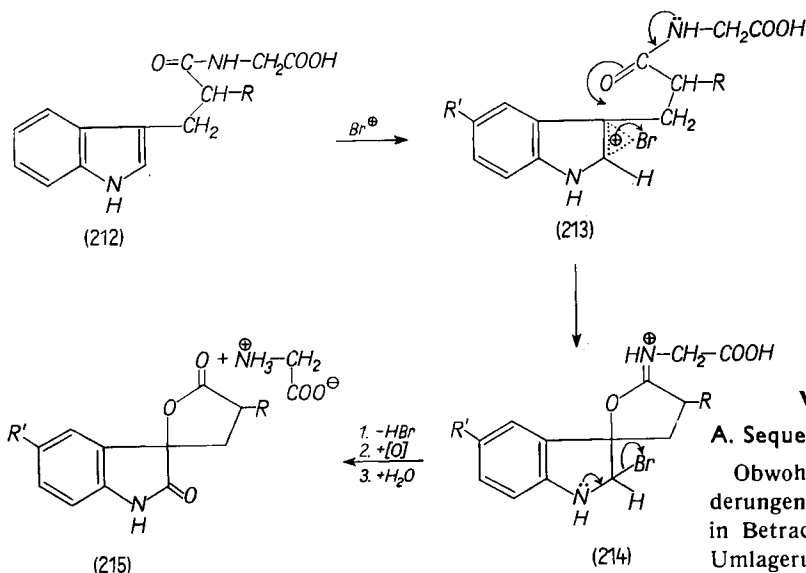
<sup>179</sup>) W. B. Lawson, E. Gross, C. M. Foltz u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc., im Druck.

sich C-terminales Homoserin-lacton sowie eine Verbindung mit endständiger freier Aminogruppe<sup>180</sup>). Diese Reaktion ermöglicht die selektive Spaltung von Methionen-Peptid-

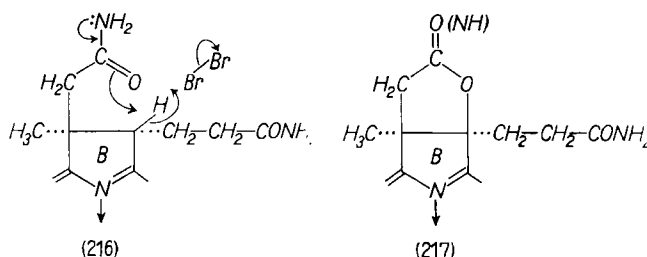


bindungen an „strategisch“ wichtigen Stellen, z. B. im „Schwanz“ der Ribonuclease<sup>180</sup>).

Die  $\gamma,\delta$ -Doppelbindung „verbirgt“ sich manchmal in aromatischen Strukturen, z. B. beim Tyrosin und Tryptophan. Die ringständigen Doppelbindungen dieser Aminosäuren reagieren — unter Beteiligung der Carbonamidgruppe — mit vielen elektrophilen Verbindungen, zu denen als Prototyp das N-Bromsuccinimid gehört.  $\beta$ -Indolyl-propionyl-glycin (212, R = H) wird durch N-Bromsuccinimid in wässrigem Acetatpuffer in (5-Brom)Spiro-oxindol- $\gamma$ -propiionsäure-lacton (215, R' = Br oder H, R = H) und Glycin umgewandelt<sup>181</sup>). Die gleiche Spaltung beobachtet man bei



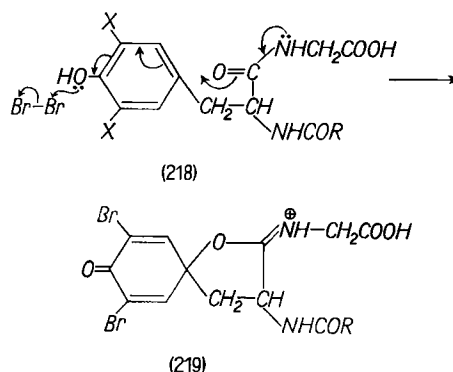
Tryptophan-peptiden (212, R =  $-\text{NH}-\text{CO}-\dots$ ) oder bei Tryptophan-Resten in Proteinen<sup>182</sup>). Ein instabiles Iminolacton vom Typ (214) bildet sich wahrscheinlich über eine Bromonium-Verbindung (213), in der die Anlagerung des Carbonyl-Sauerstoffs an die  $\beta$ -Stellung des Indol-Systems



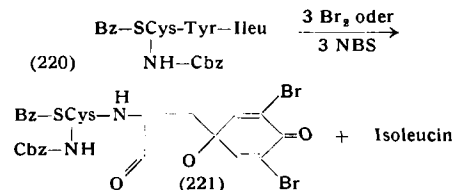
leichter vonstatten gehen sollte als in einem  $\beta$ -Brom-indolemin. Ein vergleichbares  $\beta$ -Pyrrolenin ist als Zwischenstufe bei der Reaktion von Vitamin B<sub>12</sub> (Teilstruktur 216) mit

3 Äquivalenten Chloramin-T oder 1 Äquivalent Brom angenommen worden, die bei  $p_H = 4$  zu einem neuen, kristallinen, biologisch inaktiven Lacton (217) führt<sup>183</sup>).

Das Tyrosin-peptid (218, X = H, R =  $\text{C}_6\text{H}_5$  oder  $-\text{OCH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ ) reagiert mit 3 Mol N-Bromsuccinimid oder mit Brom in wässrigem Puffer bei saurem  $p_H$  über ein o,o'-Dibrom-Derivat (218, X = Br)



zu einem instabilen Iminolacton (219), das bei der Hydrolyse Glycin und das Lacton-Analog von (219) liefert<sup>184</sup>). Die von Du Vigneaud und Mitarbeitern<sup>185</sup> beobachtete ungewöhnliche Spaltung von Oxytocin und Vasopressin mit Bromwasser findet damit ihre Erklärung. Ähnlich spaltet N-Bromsuccinimid (NBS) oder wässriges Brom das mit Oxytocin verwandte Tripeptid N-Carboxybenzyl-L-cysteinyl-L-tyrosyl-L-isoleucin (220) in das Spirodienonlacton (221) und Isoleucin<sup>184</sup>). Andere mit Ninhydrin reagierende Substanzen entstehen nicht.

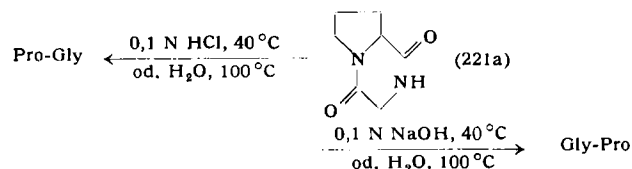


## V. Verschiedenartige Umlagerungen

### A. Sequenzänderung und Transpeptidierung

Obwohl viele Forscher die Möglichkeit von Sequenzänderungen bei der Bestimmung von Polypeptid-Strukturen in Betracht gezogen haben, wurde bisher keine derartige Umlagerung gefunden. Sie läßt sich aber leicht bei einfacheren Peptiden hervorrufen: kocht man Glycyl-valin 24 Stunden in 0,1 N Salzsäure, so enthält die Lösung danach neben dem Ausgangsmaterial auch Valyl-glycin, das sich vermutlich über ein intermediäres Diketopiperazin gebildet hat<sup>186</sup>). Die gleiche Umlagerung bleibt aus, wenn man das Dipeptid mit 12 N HCl bei 37 °C stehen läßt. Auch die vielen Insulin-Fragmente, die durch Partialhydrolyse unter diesen Bedingungen erhalten worden sind, ließen keine Umlagerung erkennen.

Die Richtung, in der sich ein Diketopiperazin-Ring öffnet, kann vom  $p_H$  abhängen, so beispielsweise beim Prolyl-glycin-diketopiperazin (221a)<sup>187</sup>. In kochendem Wasser



<sup>180</sup> E. Gross u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc., im Druck.

<sup>181</sup> A. Patchornik, W. B. Lawson u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 80, 4748, 4747 [1958].

<sup>182</sup> L. K. Ramachandran u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 81, 4028 [1959].

<sup>183</sup> R. Bonnett, J. R. Cannon, V. M. Clark, A. W. Johnson, L. F. J. Parker, R. Lester-Smith u. A. Todd, J. chem. Soc. [London] 1957, 1158.

<sup>184</sup> G. L. Schmir, L. A. Cohen u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 81, 2228 [1959]; E. J. Corey u. L. F. Haebele, ebenda 81, 2225 [1959]; G. L. Schmir u. L. A. Cohen, ebenda 83, 723 [1961].

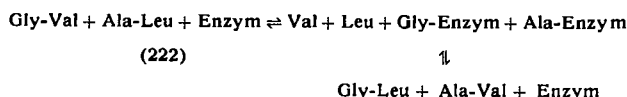
<sup>185</sup> C. Ressler u. V. Du Vigneaud, J. biol. Chemistry 217, 809 [1954].

<sup>186</sup> F. Sanger u. E. O. P. Thompson, Biochim. biophysica Acta 9, 225 [1952].

<sup>187</sup> K. T. Poroshin, T. D. Kozarenko u. V. A. Shibnev, Nachr. Akad. Wiss. UdSSR 9, 1129 [1958].

liefert jedoch jedes der beiden reinen Dipeptide ein Gleichgewichtsgemisch aus allen drei Komponenten. O-Phosphoserinyl-glycin wird durch 2,5-stündiges Kochen mit 2 N HCl teilweise zum Glycyl-O-phosphoserin isomerisiert, wogegen 12 N HCl bei 37 °C selbst innerhalb drei Tagen noch keine Veränderung hervorruft<sup>188</sup>). Cystinyl-alanyl-alanin und  $\beta$ -Sulfoalanyl-alanin erleiden eine Sequenzumkehr, wenn man sie in 20-proz. Schwefelsäure 4 Stunden auf 100 °C erhitzt<sup>189</sup>).

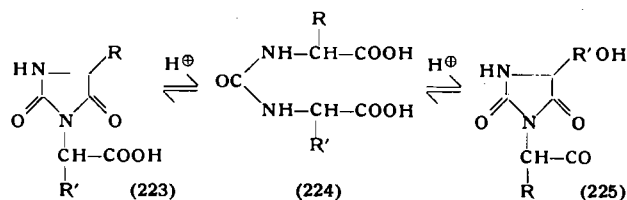
Mehrere Peptide, z. B. (222), tauschen intermolekular Aminosäuren aus, d. h. sie transpeptidieren, wenn sie mit proteolytischen Enzymen inkubiert werden<sup>190</sup>). Versuche



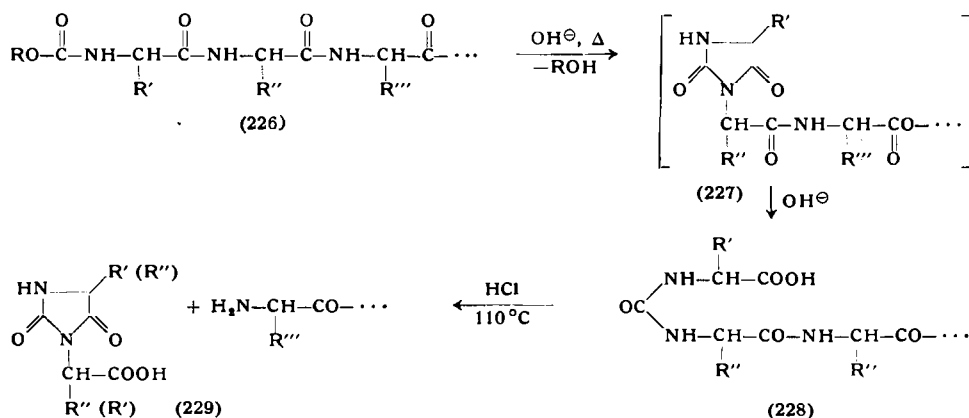
mit radioaktiven Isotopen zeigen, daß die gleiche Reaktion beim enzymatischen Abbau von Polypeptiden auftreten kann. Lactat-Dehydrogenase wurde mit <sup>14</sup>C-Alanylthiophenol umgesetzt, um den radioaktiv markierten Alanin-Rest aminoendständig in das Protein einzuführen. Die enzymatische Aktivität ändert sich dabei nicht. Spaltet man das Enzym nun mit Subtilisin, so entstehen mehrere radioaktive Peptide, die nur zum Teil aminoendständiges Alanin enthalten<sup>191</sup>). Es scheint also Wege zu geben, auf denen eine Aminosäure in ein bereits bestehendes Peptid eingelagert werden kann.

## B. Umlagerung von Hydantoinen

In sauren Medien liegen substituierte Hydantoin-3-essigsäuren überwiegend in der cyclischen Form (223, 225) vor. Diese können sich über die offenkettige Form (224) leicht

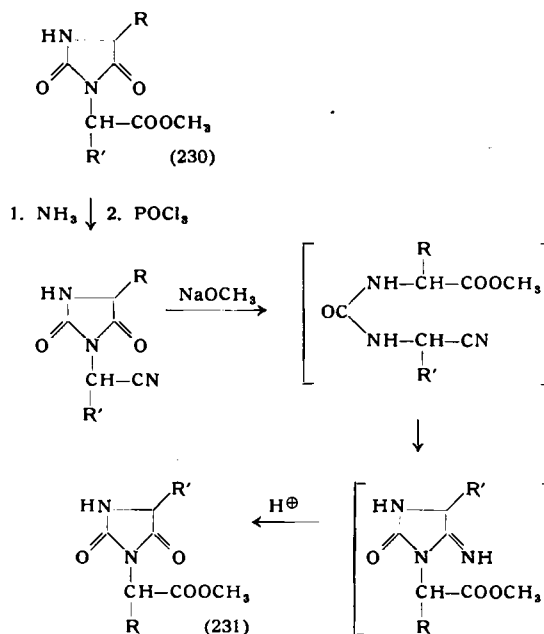


ineinander umlagern. Welches Hydantoin im Gleichgewicht vorherrscht, hängt vor allem von der Größe der Reste R und R' ab: die voluminösere Gruppe bevorzugt fast immer



die Ringstellung<sup>192</sup>). Die Leichtigkeit, mit der die Umlagerung eintritt, bringt Komplikationen bei der Sequenzanalyse von Polypeptiden (226) nach der Hydantoin-Methode (227–229) mit sich<sup>193–195</sup>). Da R und R' unter den sauren Bedingungen beim letzten Schritt ihre Plätze vertauschen können, läßt sich nach dieser Methode nur die Aufeinanderfolge von Aminosäurepaaren, nicht aber die Aminosäuresequenz innerhalb dieser Paare mit Sicherheit bestimmen.

Ein vielstufiges Verfahren (230→231) gestattet es, die stabilere Hydantoin-3-essigsäure in die weniger stabile zu überführen und damit die spontane Umlagerung rückgängig zu machen<sup>196</sup>).



Beim Edmanschen Verfahren der Sequenzanalyse wird das Amino-Ende einer Polypeptidkette mit Phenyl-isothiocyanat in einen Phenyl-thioharnstoff (232) umgewandelt und dieser durch Erhitzen mit Säure zum Thiohydantoin (233) cyclisiert. Der Rest der Peptidkette (234) spaltet sich dabei ab. Die sorgfältige Untersuchung des Reaktionsverlaufes ergab, daß sich im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt zunächst das Thiazolinon (235) bildet, das im

<sup>188</sup>) N. K. Shaffer, S. Harshman u. R. R. Engle, J. biol. Chemistry 214, 799 [1955].

<sup>189</sup>) H. Tuppy u. G. Bodo, Mh. Chem. 85, 807 [1954].

<sup>190</sup>) J. S. Fruton u. S. Simmonds: General Biochemistry. Wiley, New York 1953, S. 626.

<sup>191</sup>) T. Wieland u. G. Pfeleiderer in F. F. Nord: Advances in Enzymology. Interscience, New York, 1957, Bd. XIX, S. 262.

<sup>192</sup>) E. Ware, Chem. Rev. 46, 447 [1950].

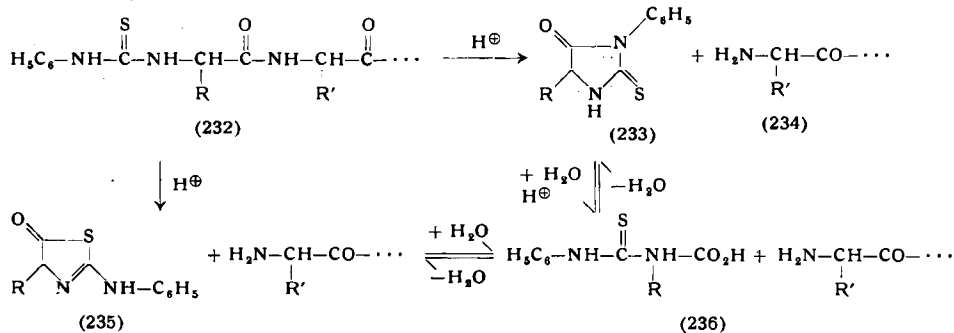
<sup>193</sup>) K. Schlögl, F. Wessely u. G. Korger, Mh. Chem. 83, 502 [1952].

<sup>194</sup>) F. Wessely, K. Schlögl u. G. Korger, Mh. Chem. 83, 1156 [1952].

<sup>195</sup>) K. Schlögl, A. Siegel u. F. Wessely, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 291, 265 [1952].

<sup>196</sup>) L. A. Cohen u. E. M. Fry, J. Amer. chem. Soc. 78, 5863 [1956].

Gleichgewicht mit der offenkettigen Säure (236) steht. Erst diese geht in das thermodynamisch beständige Thiohydantoin über<sup>197</sup>.

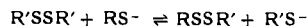
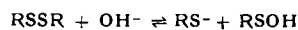


### C. Disulfid-Austausch

Als Disulfid-Austausch bezeichnet man die Tatsache, daß Disulfide paarweise ihre Substituenten austauschen können:

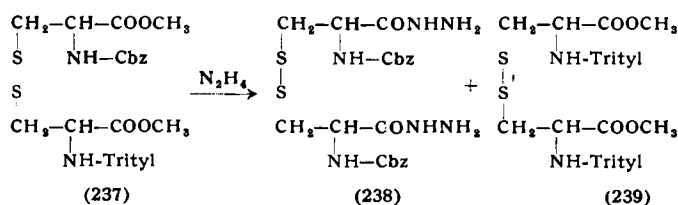


Gleichgewichte dieser Art komplizieren die Sequenzanalyse und die Lokalisierung von Disulfidbrücken in Polypeptiden. In neutraler oder alkalischer Lösung wird der Disulfid-Austausch durch Mercaptane katalysiert, und durch SH-bindende Reagentien gehemmt, was vermuten läßt, daß ein Mercaptan als Zwischenstufe auftritt:



Die gleiche Reaktion beobachtet man in stark saurer Lösung, aber hier wirken Mercaptane als Inhibitoren. So kann man Insulin durch 10-tägiges Stehen mit 10 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bei 37 °C ohne Disulfid-Austausch hydrolysieren, wenn man dem Ansatz Cystein als Inhibitor zufügt<sup>198</sup>.

Austauschreaktionen sind auch bei einfacheren Derivaten des Cysteins beobachtet worden<sup>199</sup>. Behandelt man N-Carbobenzoxycystin (237) mit Hydrazin, so entsteht ein



Gemisch aus (238) und (239), d. h. aus einem asymmetrischen Disulfid wird ein Paar symmetrischer Disulfide. Ähnlich lagert sich Monocarbonylcystin bei p<sub>H</sub> = 7,5 in ein Gemisch aus Biscarbonylcystin und Cystin um, ist aber bei p<sub>H</sub> = 6,5 stabil.

### D. Umwandlungen von Ringen

Einige Ring-Umwandlungen besitzen für die Chemie der Aminosäuren besonderes Interesse. Da es eine große Zahl solcher Umlagerungen gibt, sei die folgende Betrachtung auf einige ungewöhnliche Fälle beschränkt.

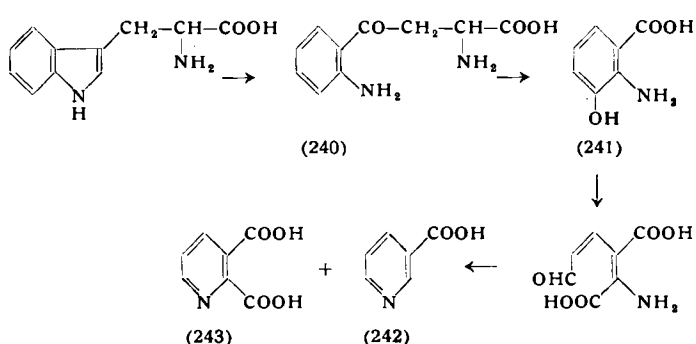
<sup>197</sup> P. Edman, Nature [London] 177, 667 [1956]; Acta chem. scand. 10, 761 [1956].

<sup>198</sup> A. P. Ryle u. F. Sanger, Biochem. J. 60, 535 [1955].

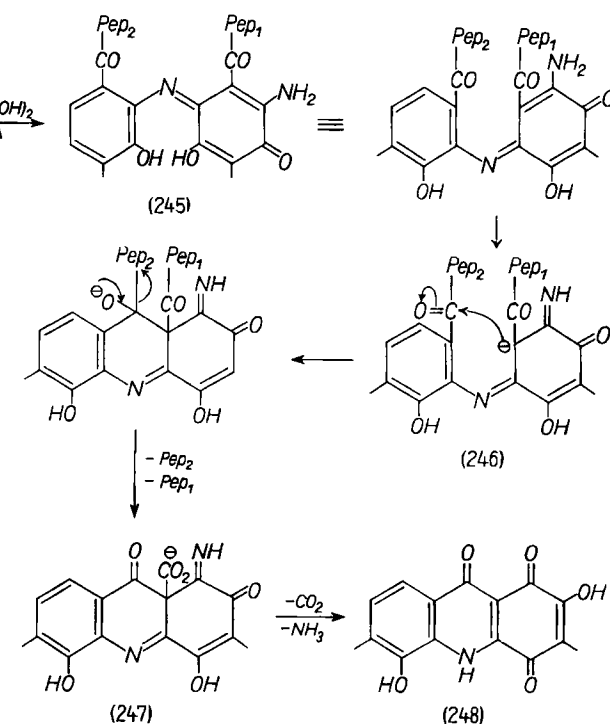
<sup>199</sup> L. Zervas, L. Benoiton, E. Weiss, M. Winitz u. J. P. Greenstein, J. Amer. chem. Soc. 81, 1729 [1959].

Die enzymatische Oxydation des Tryptophans führt über Kynurenin (240) und 3-Hydroxy-anthranilsäure (241) zu Nicotinsäure (242) und Chinolinsäure (243)<sup>200</sup>. Nicotinsäure entsteht dabei offenbar nicht durch Decarboxylierung der Chinolinsäure.

Das Peptid-Antibiotikum Actinomycin (244) wird durch heiße, wäßrige Bariumhydroxyd-Lösung stark verändert<sup>201, 202</sup>: die Peptid-Seitenketten werden abgespalten und es bildet sich Actinomycinol (248). Die Umwandlung des Phenoxazon-Gerüsts in das Acridon-Gerüst verläuft



unter Spaltung der Ätherbrücke (245), Dieckmann-Kondensation (246), Decarboxylierung (247) und Doppelbindungs-Verschiebung (248).



Untersuchungen am Penicillin haben zur Entdeckung vieler interessanter Umwandlungen geführt, z. B. der Umlagerung von Penicillin (249) in Penicillinsäure (251)<sup>203</sup>.

<sup>200</sup> A. H. Mehler, J. biol. Chemistry 218, 241 [1956].

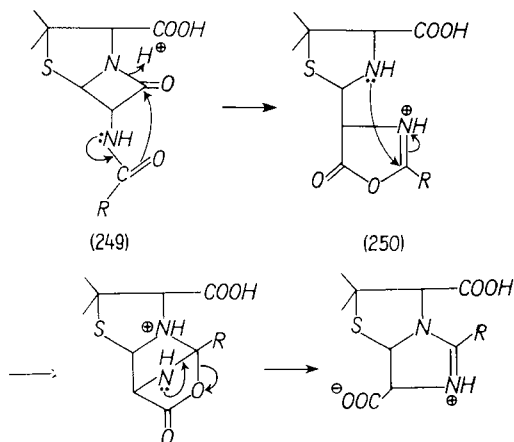
<sup>201</sup> S. J. Angyal, E. Bullock, W. G. Hanger u. A. W. Johnson, Chem. and Ind. 1955, 1295.

<sup>202</sup> H. Brockmann u. H. Muxfeldt, Chem. Ber. 89, 1379 [1956].

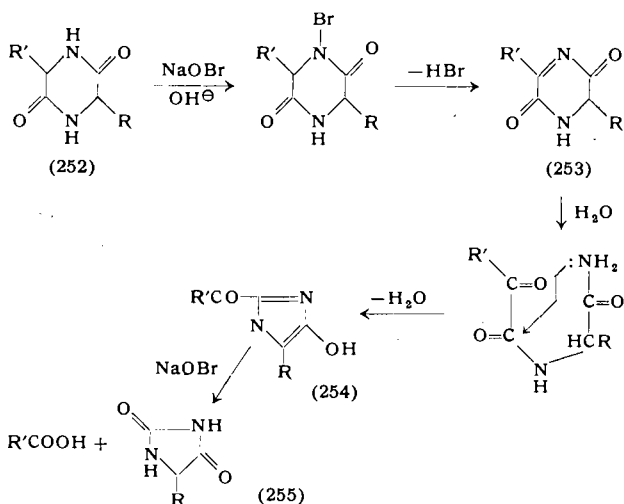
<sup>203</sup> J. R. Johnson, R. B. Woodward u. R. Robinson in H. T. Clarke: Chemistry of Penicillin, Princeton Univ. Press, Princeton 1949, S. 440.

Das zunächst entstehende Azlacton (250) geht durch Aminolyse und Ringöffnung in Penicillinsäure (251), das Imidazolin-Isomer des Penicillins, über.

Eine ungewöhnliche Ringverengung beobachtet man bei der Behandlung von Diketopiperazinen (252) mit alkalischer Hypobromit-Lösung: es entstehen Hydantoine<sup>204</sup>.



<sup>204</sup>) S. Goldschmidt, E. Wiberg, F. Nagel u. K. Martin, Liebigs Ann. Chem. 456, 1 [1927].



Die Reaktion führt über das Dehydro-diketopiperazin (253) durch Hydrolyse und Recyclisierung zum Hydroxy-imidazol (254) und von dort durch weitere Oxydation zum Hydantoin (255).

Übersetzt von Dr. H. Grünwald, Heidelberg

Eingegangen am 20. Dezember 1960 [A 123]

## Analytisch-technische Untersuchungen

# Verwendung des Rechenschiebers zur Berechnung der log $\epsilon$ -Werte in der Spektroskopie

Von Dr. G. LUDWIG

Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen

Die weite Verbreitung nichtregistrierender Spektralgeräte läßt es gerechtfertigt erscheinen, einen Hinweis auf die Verwendungsmöglichkeit des Rechenschiebers zur Berechnung der log  $\epsilon$ -Werte aus den Extinktionen zu geben.

UV-Spektren werden in der Literatur, besonders in der deutschsprachigen, meist als Funktionen des dekadischen Logarithmus des molaren Extinktionskoeffizienten ( $\epsilon$ ) von der Wellenlänge oder von der Wellenzahl wiedergegeben<sup>1)</sup>. Die handelsüblichen Spektralgeräte zeigen im allgemeinen die konzentrations- und schichtdickenabhängige Extinktion an. Die Umrechnungsgrundlage bildet das Lambert-Beersche Gesetz:

$$(I) \quad E = {}^{10}\log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot c \cdot d$$

- E Extinktion (Definition nach Bunsen 1857)
- $I_0$  Lichtintensität vor,
- I Lichtintensität nach Durchstrahlung der Probe
- $\epsilon$  molarer Extinktionskoeffizient
- c Konzentration in Mol pro l Lösung
- d Schichtdicke in cm

Daraus ist

$$(II) \quad {}^{10}\log \epsilon = {}^{10}\log E - {}^{10}\log (c \cdot d) = {}^{10}\log E - A$$

A ist eine versuchsbedingte, additive Konstante.

Da die logarithmische Skala des Rechenschiebers linear ist, läßt sich das Umrechnungsschema ohne weiteres auf den Rechenschieber übertragen.

Die Mantisse von log E findet man durch Einstellen von E auf der Numerus-Skala und Ablesen auf der logarithmi-

schen Skala. Verschafft man sich nun auf irgendeine Weise, am besten mit Hilfe der Zunge, eine Strecke, die der Mantisse von  $(-A)$  im Maßstab der (linearen) Logarithmenskala gleichwertig ist, so braucht man diese Strecke nur an die Stelle von log E anzusetzen, um an ihrem Ende die Mantisse des log  $\epsilon$  abzulesen.

Ein Beispiel:

$$\begin{aligned} c &= 3,42 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l} \\ d &= 2 \text{ cm} \\ c \cdot d &= 6,84 \cdot 10^{-5} \\ A &= \log 6,84 - 5 \\ (III) \quad -A &= 5 - \log 6,84 = 4 + (1 - 0,835) \\ &= 4 + 0,165 \end{aligned}$$

0,165 im Maßstab der logarithmischen Skala ist die gesuchte additive Strecke. Stellt man den Anfang der Zungenskala des Rechenschiebers über die Zahl 684 ( $c \cdot d$ ), so greift

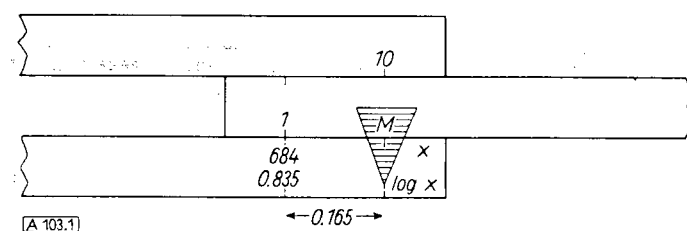


Abb. 1. Markierung des Punktes M

<sup>1)</sup> M. Pestemer u. G. Scheibe, Angew. Chem. 66, 553 [1954].