

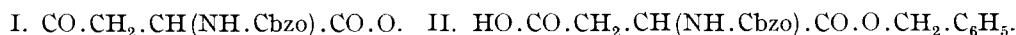
270. Max Bergmann, Leonidas Zervas und Leo Salzmann: Synthese von *l*-Asparagin und *d*-Glutamin.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Lederforschung in Dresden.]

(Eingegangen am 10. August 1933.)

Für verschiedene biologische Fragestellungen suchten wir nach Methoden, die erlauben, β -Peptide der Asparaginsäure und γ -Peptide der Glutaminsäure zu gewinnen. Wir haben sie mit Hilfe des Carbobenzoxy-Verfahrens¹⁾ ausgearbeitet und verwenden sie im nachfolgenden zur Synthese des natürlichen Asparagins und des natürlichen Glutamins.

Carbobenzoxy-*l*-asparaginsäure wurde in der bereits früher beschriebenen Weise²⁾ in ihr Anhydrid (I) verwandelt. Dieses gab beim Erwärmen mit Benzylalkohol vorzugsweise den α -Benzylester (II). Mit Phosphorpentachlorid bereiteten wir daraus das Ester-Chlorid (III) und verwandelten es mit Ammoniak in das Ester-Amid (IV). Bei der katalytischen Hydrierung wurden in einer Operation die Carbobenzoxygruppe und die Benzyl-Estergruppe abgespalten unter Bildung des natürlichen *l*-Asparagins (V) neben Toluol und Kohlendioxyd.



(Cbzo = $\text{CO} \cdot \text{O} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$).

In ganz analoger Weise vollzogen wir die Synthese des *d*-Glutamins (VI). Durch diese Synthese wird das Glutamin — bisher bekanntlich eine Kostbarkeit — dem physiologischen Chemiker für eingehendere präparative und fermentative Untersuchungen verhältnismäßig bequem zugänglich. Über die Verwendung des Verfahrens zur Synthese von γ -Peptiden der Glutaminsäure, zu denen auch das Glutathion gehört, werden wir späterhin berichten.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danken wir ganz ergebenst für die Gewährung von Mitteln zu dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche.

Synthese von *l*-Asparagin.

Carbobenzoxy-*l*-asparaginsäure- α -benzylester (II): 9.0 g Carbobenzoxy-*l*-asparaginsäure-anhydrid³⁾ wurden mit 5.7 g frisch destilliertem Benzylalkohol im zugeschmolzenen Rohr $3\frac{1}{2}$ Stdn. im siedenden Wasserbade erhitzt, der klare Sirup in Äther aufgenommen und die ätherische Lösung 2-mal mit Bicarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Aus

¹⁾ B. 65, 1192 [1932].

²⁾ a. a. O., S. 1198.

³⁾ Der Schmelzpunkt dieser Verbindung wurde a. a. O. irrtümlicherweise mit 84° angegeben. Die Substanz schmilzt bei 124° (korr.).

der Bicarbonat-Lösung, welche noch 1-mal mit Äther gewaschen wurde, fiel der Benzylester beim Ansäuern mit verd. Salzsäure erst ölig aus, erstarre aber bald zu farblosen Stäbchen vom Schmp. 76°. Ausbeute 11 g. Nach wiederholter Umkrystallisation aus Äther-Petroläther und zum Schluß aus Essigester-Petroläther lag der Schmp. bei 84—85°.

$C_{19}H_{19}O_6N$ (357.1). Ber. C 63.84, H 5.36, N 3.92.
Gef., „ 63.94, „ 5.51, „ 3.95.

Zur Umwandlung in das Säure-chlorid III wurden 3.0 g Benzylester vom Schmp. 84° in 12 ccm trockenem Äther gelöst und unter Eis-Kochsalz-Kühlung mit 1.9 g Phosphorpentachlorid geschüttelt. Bereits nach 5 Min. war das Pentachlorid verbraucht. Nun wurde filtriert und unter verminderterem Druck ohne Bad zur Trockne verdampft, das sofort auskrystallisierende Chlorid mit viel trockenem Petroläther behandelt, abgesaugt und mehrmals mit Petroläther nachgewaschen. Feine, farblose Nadelchen vom Schmp. 81—82°. Ausbeute fast quantitativ. Das Chlorid muß sofort weiterverarbeitet werden.

Carbobenzoxy-*l*-asparagin-benzylester (IV): Das eben beschriebene Chlorid wurde in der notwendigen Menge trockenem Äther gelöst und unter Eiskühlung mit 50 ccm vorgekühltem, wäßrigem Ammoniak (etwa 10-proz.) geschüttelt. Der ausfallende krystalline Niederschlag wurde sofort abgesaugt und mehrmals mit Wasser gewaschen. Ausbeute 1.65 g vom Schmp. 122—124°. Beim Umkrystallisieren aus Benzol und weiterhin aus wenig Methanol wurden Nadeln vom Schmp. 132° (korrig.) erhalten.

$C_{19}H_{20}O_5N_2$ (356.1). Ber. C 64.03, H 5.66, N 7.87.
Gef., „ 63.88, „ 5.80, „ 7.74.

***l*-Asparagin (V):** 1.2 g Carbobenzoxy-asparagin-benzylester wurden in 40 ccm reinem Methanol und 10 ccm Wasser gelöst, mit einigen Tropfen Eisessig versetzt und wie üblich in Gegenwart von Palladium-schwarz in offener Apparatur hydriert. Die Kohlensäure-Entwicklung war nach 25 Min. zum Stillstand gekommen. Die in der Birne auskrystallisierte Substanz wurde durch Wasser-Zusatz wieder in Lösung gebracht, und die Hydrierung in geschlossener Birne solange fortgesetzt, bis praktisch kein Wasserstoff mehr aufgenommen wurde. Nach dem Eindampfen unter verminderterem Druck bei 35° schied sich das *l*-Asparagin in farblosen, rhomboedrischen Täfelchen aus. Zur Reinigung wurde in absol. Alkohol suspendiert und in der Siedehitze bis zur Lösung mit Wasser versetzt. Ausbeute mindestens 70 % d. Th. Zers.-Pkt. 217°.

Im Hochvakuum bei 78° über P_2O_5 verlor die Substanz langsam 1 Mol. Krystallwasser (H_2O Ber. 12.0 %, gef. 11.9 %).

$C_4H_8O_3N_2$ (132.08). Ber. N 21.2. Gef. N 20.9.

$[\alpha]_D^{25} = +0.280 \times 1.8825 / 1 \times 1.025 \times 0.0250 = +20.6^0$ (getr. Substanz, in der berechneten Menge $n/10$ -Salzsäure).

Das synthetische *l*-Asparagin haben wir, um es noch weiter zu charakterisieren, in die früher⁴⁾ beschriebene Carbobenzoxy-Verbindung umgewandelt. Schmp. und Misch-Schmp. 165° (korrig.).

⁴⁾ a. a. O., S. 1197.

Synthese von *d*-Glutamin.

Carbobenzoxy-*d*-glutaminsäure- α -benzylester: 8.5 g Carbobenzoxy-*d*-glutaminsäure-anhydrid⁵⁾ wurden mit 4.2 g frisch destilliertem Benzylalkohol 3 Stdn. im Rohr auf 100° erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgte wie beim Carbobenzoxy-*l*-asparaginsäure- α -benzylester. Der Carbobenzoxy-glutaminsäure- α -benzylester konnte aber bisher größtenteils nur als farbloser Sirup gewonnen werden. Ausbeute 10.2 g.

Carbobenzoxy-*d*-glutamin-benzylester: 3.0 g des eben beschriebenen Benzylesters wurden in 15 ccm trocknem Äther gelöst und unter Eis-Kochsalz-Kühlung mit 1.8 g Phosphorpentachlorid geschüttelt. Das Pentachlorid wurde sehr rasch verbraucht⁶⁾. Nach dem Filtrieren wurde unter verminderter Druck bei Zimmer-Temperatur und Ausschluß der Luft-Feuchtigkeit zur Trockne verdampft und der sirupöse Rückstand mehrmals mit kaltem, trocknem Petroläther gewaschen. Das so erhaltene rohe Säure-chlorid wurde nun in 25 ccm trocknem Äther gelöst und unter Eiskühlung mit 50 ccm einer ätherischen Ammoniak-Lösung übergossen, welche durch Einleiten von trocknem Ammoniak in trocknen Äther während 15 Min. gewonnen wurde (10 ccm Äther enthielten etwa 0.085 g Ammoniak). Der sofort entstandene Niederschlag wurde abgesaugt und mehrmals mit Wasser gewaschen. Ausbeute 2.4 g Rohprodukt vom Schmp. 99°. Nach dem Umfällen aus Alkohol/Wasser und nach der Umkristallisation aus wenig Methanol wurden Nadeln vom Schmp. 123° (korrig.) erhalten.

$C_{20}H_{22}O_5N_2$ (370.2). Ber. C 64.84, H 5.99, N 7.56.

Gef., „, 65.00, „, 5.74, „, 7.39.

***d*-Glutamin (VI):** 1.2 g Carbobenzoxy-*d*-glutamin-benzylester wurden in 15 ccm reinem Methylalkohol gelöst und nach Zugabe von 0.5 ccm Eisessig, wie oben am Beispiel des entsprechenden Asparagin-Derivates geschildert, katalytisch hydriert. Beim Verdampfen der Lösung unter verminderter Druck bei 25–30° schied sich das *d*-Glutamin in Form farbloser Prismen und in einer Ausbeute von 0.4 g ab. Zur Reinigung wurde in wenig Wasser gelöst und bis zur Trübung mit Alkohol versetzt. Nach Stehen über Nacht im Eisschrank hatten sich 0.26 g in farblosen Prismen ausgeschieden. Schmp. 184–185°. Eine Mischung mit natürlichem *d*-Glutamin zeigte keine Depression des Schmp. Aus der Mutterlauge konnten durch Fällen mit Äther noch 0.1 g erhalten werden.

$C_5H_{10}O_3N_2$ (146.1). Ber. N 19.18. Gef. N 19.21.

$$[\alpha]_D^{10} = +0.31^0 \times 1.6759 / 1 \times 1.0154 \times 0.0639 = +8.0^0 \text{ (in Wasser).}$$

Für natürliches *d*-Glutamin wurden in der Literatur⁷⁾ für $[\alpha]_D$ in Wasser Werte von +6° bis +7°, manchmal auch etwas höher, angegeben.

⁵⁾ a. a. O., S. 1196.

⁶⁾ Bei größeren Ansätzen empfiehlt sich portionsweiser Zusatz.

⁷⁾ E. Abderhaldens Biochem. Handlexikon, Band IV, S. 617 und Band IX, S. 122 (J. Springer, Berlin 1911 bzw. 1915).