

wurde die Suspension stark turbiniert. Dann wurde 3 Stdn. zum Sieden erhitzt, wobei Methylbromid und etwas Bromwasserstoff entwichen. Die abgekühlte Mischung wurde nach beendeter Reaktion auf 100 g Eis und 15 ccm konz. Salzsäure gegossen. Nach einigem Umrühren kristallisierte in der wäßr. Schicht völlig reiner Tetrahydroxybenzoesäure-methylester in langen farblosen Nadeln aus. Ausb. 1.32 g (80% d.Th.).

Der Ester löst sich in Alkohol, Aceton, Dioxan, sehr schwer in Äther und in Benzol. Aus Wasser kristallisiert er mit 1 Mol. Kristallwasser, das beim 12stdg. Trocknen bei 60°/14 Torr über Diphosphorpentoxyd vollständig abgegeben wird. Die wasserfreie Verbindung sublimiert i. Vak. bei 160–180°. Der Schmelzpunkt im zugeschmolzenen Röhrchen beträgt 194–198°.

$C_8H_8O_6$ (200.1) Ber. C 48.01 H 4.03 OCH_3 15.50 Gef. C 47.99 H 4.30 OCH_3 15.35

Der Ester gibt wie die entsprechende Säure eine violettblaue, langsam verblassende Eisen(III)-chloridreaktion. R_F 0.53 \pm 0.02²⁰).

74. Stefan Goldschmidt und Christian Jutz: Über Peptid-Synthesen, IV. Mitteil.¹⁾: Glutaminsäure-Peptide

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München]

(Eingegangen am 2. Oktober 1955)

Herrn Kollegen K. Freudenberg zum 70. Geburtstag gewidmet

Die Synthese verschiedener α - und γ -Peptide der L-Glutaminsäure unter Verwendung der sogenannten „Phosphorazo-Methode“^{2,3}) wird beschrieben. Racemisierungen wurden dabei nicht beobachtet.

Die Knüpfung der Carbonamid-Bindung über eine Aktivierung der Amino-gruppe in Form der Carbonylamino-Derivate²⁾ oder als *N*-substituierte Amide der Phosphorigen und Phosphorsäure^{3,4)} hat in den letzten Jahren steigende Bedeutung in der Peptid-Synthese erlangt. Von den an unserem Institut entwickelten Methoden – Carbonylaminofettsäureester-Methode und die sogenannte Phosphorazo-Methode – zeichnet sich letztere durch folgende Vorteile aus: Geringster experimenteller Aufwand, Erhaltung der optischen Aktivität bei Verwendung optisch aktiver Aminosäuren, Anwendbarkeit auch auf Peptid-ester und direkte Verwendung der Ester-hydrohalogenide zur Synthese. Im Bemühen auch andere natürliche Aminosäuren als die einfachen Monoaminocarbonsäuren umzusetzen, führten wir eine neue Synthese des biologisch bedeutsamen Tripeptides „Gluthation“¹⁾ aus.

In der vorliegenden Arbeit soll von einer Reihe weiterer α - und γ -Peptide der L-Glutaminsäure berichtet werden, die neu dargestellt wurden.

Zur Darstellung der α -Glutamylpeptide nach unserer Methode benötigten wir reinen *N*-Cbzo*)-L-glutaminsäure- γ -äthylester,

$$\text{Cbzo}-\text{NH}\cdot\underset{\text{CO}_2\text{H}}{\underset{|}{\text{CH}}}\cdot[\text{CH}_2]_2\cdot\text{CO}_2\cdot\text{C}_2\text{H}_5$$

¹⁾ III. Mitteil.: St. Goldschmidt u. Ch. Jutz, Chem. Ber. **86**, 1116 [1953].

²⁾ St. Goldschmidt u. M. Wick, Liebigs Ann. Chem. **575**, 217 [1952].

³⁾ St. Goldschmidt u. H. Lautenschlager, Liebigs Ann. Chem. **580**, 68 [1953].

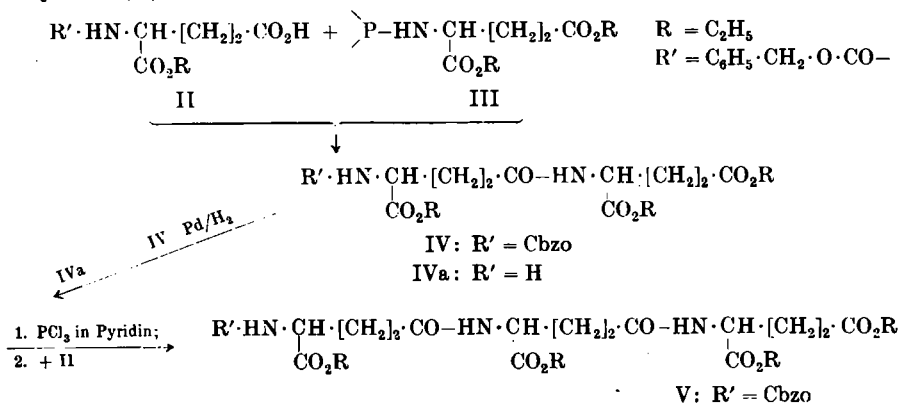
⁴⁾ G. W. Anderson u. Mitarbb., J. Amer. chem. Soc. **74**, 5304; 5309 [1952]; vergl. auch Zusammenfassungen: Th. Wieland, Angew. Chem. **68**, 7 [1951]; **66**, 507 [1954]; St. Goldschmidt u. H. L. Krauß, ebenda **67**, 47 [1955].

*) Cbzo = $C_6H_5\cdot CH_2\cdot O\cdot CO-$

(I), der leicht durch partielle Veresterung der L-Glutaminsäure mit Äthanol und Chlorwasserstoff⁵⁾ und anschließende Carbobenzylierung in ca. 65 bis 70-proz. Ausbeute zugänglich⁶⁾ ist.

Die Synthese der interessanten γ -Glutamylpeptide führten wir mit *N*-Cbzo-L-glutaminsäure- α -äthylester (II) aus. Der kristallisierte Halbester II wurde durch Alkoholyse von *N*-Cbzo-L-glutaminsäure-anhydrid^{7, 8, 1)} mit nachfolgender Verteilung des öligen Rohproduktes zwischen Äther und wäßriger Natriumcarbonatlösung erhalten.

Die Synthese von α - bzw. γ -Glutamylpeptiden erfolgte mit I bzw. II und den Phosphorazoverbindungen von Aminosäureestern bzw. Peptidestern in der üblichen Weise³⁾ in Pyridin als Lösungsmittel in guten Ausbeuten. Der Aufbau komplizierterer Glutaminsäurepeptide, vornehmlich solcher mit mehreren α - bzw. γ -Peptidbindungen, gelang dabei in wenigen Stufen. Durch Umsetzung der Phosphorazoverbindung von L-Glutaminsäure-diäthylester (III) mit der Estersäure II z. B. wurde [*N*-Cbzo-L- γ -glutamyl]-L-glutaminsäure-triäthylester (IV) erhalten. Aus IV wurde die Schutzgruppe abgespalten. Wir erhielten dann aus dem freien Dipeptidester (IVa) über dessen Phosphorazoverbindung durch erneute Umsetzung mit der Estersäure II den acylierten Tripeptidester [*N*-Cbzo-L- γ -glutamyl]-L- γ -glutamyl-L-glutaminsäure-tetraäthylester (V).



Der Weiterbau des Moleküls erfolgte also hier (wie in den in der Tafel aufgeführten Peptiden Nr. 2, 5, 6, 9, 10) vom Aminoende eines zuerst dargestellten Glutamylpeptids aus.

Zur Entfernung der Carbobenzyoxygruppe aus den Peptidestern zogen wir neben der altbewährten Hydrogenolyse mittels Pd-Tierkohle und Wasser-

⁵⁾ J. Habermann, Liebigs Ann. Chem. **179**, 254 [1875]; E. Abderhalden u. H. Nienburg, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **219**, 155 [1953]; M. Bergmann u. L. Zervas, ebenda **221**, 51 [1933].

⁶⁾ B. Hegedüs, Helv. chim. Acta **31**, 737 [1948]; Dissertat. Ch. Jutz, T. H. München 1955.

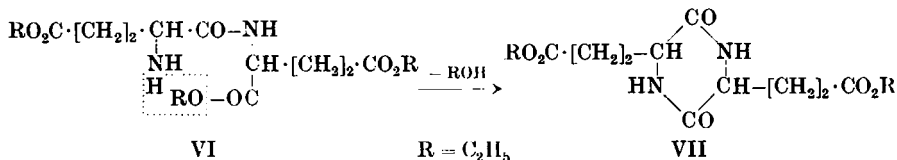
⁷⁾ M. Bergmann u. L. Zervas, Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 1192 [1932].

⁸⁾ W. J. LeQuesne u. G. T. Young, J. chem. Soc. [London] **1950**, 1954.

stoff⁷⁾ auch die protonen-katalysierte Abspaltung mit wasserfreiem Bromwasserstoff in Eisessig nach Ben-Ishai⁸⁾ wegen ihrer schnellen und bequemen Ausführbarkeit heran.

Durch schrittweisen Anbau von Glutaminsäureresten am Aminoende wurden bis vier Reste zum γ -Glutaminsäure-tetrapeptid miteinander verknüpft. Glutaminsäuregruppierungen, wie sie in den Wirkstoffen der Folsäure-Familie¹⁰⁾ und in der Kapselsubstanz des Milzbrandbakteriums (*Bact. anthracis*)¹¹⁾ (in letzterem Beispiel ist D-Glutaminsäure am Aufbau beteiligt) vorkommen.

Der Versuch, in gleicher Weise mehr als zwei Glutaminsäurereste durch normale α -Peptidbindungen miteinander zu verknüpfen, gelang zunächst nicht. Aus α -L-Glutamyl-L-glutaminsäure-triäthylester-hydrobromid (VI·HBr) in Pyridin und der berechneten Menge Phosphortrichlorid wurde durch Erhitzen mit I nicht der erwartete Cbz-Tripeptidester, sondern eine in silbrigen Schuppen kristallisierende Substanz anderer Zusammensetzung VII isoliert. Sie bildete sich auch stets, wenn man versuchte, der Dipeptidester aus VI·HBr durch Lösen in Pyridin oder Umsetzung mit ammoniakalischer Chloroformlösung in Freiheit zu setzen. Es handelt sich daher, wie auch die Analysendaten aufweisen, um das cyclische Kondensationsprodukt des freien Esters, das 3.6-Bis- $[\beta$ -propionsäure-äthylester]-2.5-diketopiperazin (VII):



Die glatte Bildung der gewünschten Peptide, ohne störende Bildung des Diketopiperazins, gelang erst durch Zugabe einer fertigen Mischung der berechneten Menge Phosphortrichlorid und Pyridin zum trockenen Peptidestersalz von VI und übliche Umsetzung mit einer Acylaminosäure, da sich offenbar dann die Bildung der Phosphorazoverbindung viel schneller vollzieht als die Selbstkondensation des Peptidesters zum Diketopiperazin.

Cbz-L-glutamin läßt sich ebenfalls wie andere Acylaminosäuren mit den Phosphorazoverbindungen von Aminosäure- bzw. Peptidestern umsetzen, wobei die sonst oft schwer zugänglichen Glutaminylpeptide entstehen. Auf diesem Weg wurden L-Glutaminyl-glycin und L-Glutaminyl-L-glutaminsäure dargestellt. Die Ausbeuten überstiegen nicht 60 % d. Theorie. H. K. Miller und H. Waelsch¹²⁾ haben ganz analog nach der Phosphitamid-Methode⁴⁾

⁹⁾ D. Ben-Ishai u. A. Berger, J. org. Chemistry 17, 1564 [1952]; D. Ben-Ishai, ebenda 19, 62 [1954].

¹⁰⁾ J. H. Boothe u. Mitarbb., J. Amer. chem. Soc. 70, 1099 [1948].

¹¹⁾ F. Haurowitz u. F. Bursa, Biochem. J. 44, 509 [1949]; W. E. Hanby, S. G. Waley u. J. Watson, J. chem. Soc. [London] 1950, 3239; J. Kovács u. V. Bruckner, ebenda 1952, 4255.

¹²⁾ Arch. Biochem. Biophysics 35, 176 [1952].

L-Asparaginyll-glycin aufgebaut. V. du Vigneaud¹³⁾ und unabhängig J. Rudinger und H. Czurbova¹⁴⁾ gelangten in eleganter Weise durch ammonolytische Spaltung von *N-p*-Toluolsulfonyl-pyrrolidonecarbonsäure-peptiden zu Peptiden des Glutamins.

Tafel. Dargestellte Glutaminsäure-Peptide

Synthetisierter Acylpeptidester	Schmp.	Aminkomponente + Säurekomponente	Aus- beute in %
1. Cbzo- α -glu-glu- $\dot{A}t_3$	104–105°	Glu- $\dot{A}t_2 \cdot HCl$ + Cbzo-glu- γ - $\dot{A}t$	85
2. Cbzo- α -glu- α -glu-glu- $\dot{A}t_4$	114–116°	α -Glu-glu- $\dot{A}t_3 \cdot HBr$ + Cbzo-glu- γ - $\dot{A}t$	88
3. Cbzo-glu(NH ₂)-glu- $\dot{A}t_2$	177–178°	Glu- $\dot{A}t_2 \cdot HCl$ + Cbzo-glu(NH ₂)	54
4. Cbzo- γ -glu-glu- $\dot{A}t_3$	92–93°	Glu- $\dot{A}t_2 \cdot HCl$ + Cbzo-glu- α - $\dot{A}t$	70–85
5. Cbzo- γ -glu- γ -glu-glu- $\dot{A}t_4$	113–114°	γ -Glu-glu- $\dot{A}t_3 \cdot HCl$ + Cbzo-glu- α - $\dot{A}t$	92
6. Cbzo- γ -glu- γ -glu- γ -glu- glu- $\dot{A}t_5$	168–169,5°	γ -Glu- γ -glu-glu- $\dot{A}t_4 \cdot HCl$ + Cbzo-glu- α - $\dot{A}t$	95
7. Cbzo- α -glu-gly- $\dot{A}t_2$	94–94,5°	Gly- $\dot{A}t \cdot HCl$ + Cbzo-glu- γ - $\dot{A}t$	70–90
8. Cbzo- α -glu-gly-gly- $\dot{A}t_2$	112–114°	Gly-gly- $\dot{A}t \cdot HCl$ + Cbzo-glu- γ - $\dot{A}t$	76
9. Cbzo-gly- α -glu-gly-gly- $\dot{A}t_2$	172–173°	α -Glu-gly-gly- $\dot{A}t_2 \cdot HBr$ + Cbzo-gly	65
10. Cbzo- α -glu-glu-gly- $\dot{A}t_3$	143–144°	α -Glu-gly- $\dot{A}t_2 \cdot HBr$ + Cbzo-glu- γ - $\dot{A}t$	55
11. Cbzo-glu(NH ₂)-gly- $\dot{A}t$	151–152°	Gly- $\dot{A}t \cdot HCl$ + Cbzo-glu(NH ₂)	30–60
12. Cbzo- γ -glu-gly (n. Verseifung)	159–161°	Gly- $\dot{A}t \cdot HCl$ + Cbzo-glu- α - $\dot{A}t$	55
13. Cbzo- γ -glu-gly-gly- $\dot{A}t_2$	104–105°	Gly-gly- $\dot{A}t \cdot HCl$ + Cbzo-glu- α - $\dot{A}t$	68
14. Cbzo- γ -glu- <i>S</i> -benzyl-cys- gly- $\dot{A}t_2$ (Cbzo- <i>S</i> -benzyl- glutathionester) ¹⁾	105–107°	<i>S</i> -Benzyl-cys-gly- $\dot{A}t \cdot HCl$ + Cbzo-glu- α - $\dot{A}t$	90
15. Cbzo- α -glu- <i>S</i> -benzyl-cys- gly- $\dot{A}t_2$	125–127°	<i>S</i> -Benzyl-cys-gly- $\dot{A}t \cdot HCl$ + Cbzo-glu- γ - $\dot{A}t$	79
16. Cbzo- α -glu- <i>S</i> -benzyl-cys- $\dot{A}t$, γ -Me	130°	<i>S</i> -Benzyl-cys-Me- $\dot{A}t \cdot HCl$ + Cbzo-glu- γ - $\dot{A}t$	70

Nach dem allgemein üblichen Abkürzungssystem von E. Brand u. J. T. Edsall (Annu. Rev. Biochem. **16**, 223 [1947]) werden die Aminosäuren mit ihren drei ersten Anfangsbuchstaben genannt und in ihrer im Peptid festgelegten Reihenfolge aufgeführt. Die Bezeichnung der optischen Konfiguration war unnötig, da nur mit der L-Form gearbeitet wurde.

Als weitere Abkürzungen wurden eingeführt für: Carbobenzoxy = Cbzo; Benzyl = Bz; Äthyl = $\dot{A}t$; Methyl = Me.

¹³⁾ V. du Vigneaud u. Mitarbb., J. Amer. chem. Soc. **75**, 4879 [1953].

¹⁴⁾ Chem. Listy **48**, 235, 244, 254 [1954].

Beschreibung der Versuche

Phosphorazo-Methode: 0.02 Mol Aminosäure- bzw. Peptidester-hydrochlorid (Hydrobromid) werden in ca. 50 ccm wasserfreiem Pyridin gelöst – wenn nötig unter schwachem Erwärmen – und in Eis-Kochsalz-Mischung gekühlt. Dann läßt man unter Schütteln langsam eine vorgekühlte Lösung von 0.01 Mol = 0.87 ccm Phosphor-trichlorid in 10 ccm Pyridin zutropfen und läßt 15 Min. verschlossen bei Zimmertemperatur stehen. Man gibt 0.02 Mol Cbzo-Aminosäure bzw. Cbzo-Peptid zu und erhitzt 3 Stdn. mit aufgesetztem Steigrohr am siedenden Wasserbad. Aus der durch abgeschiedene Metaphosphorige Säure meist rotbraunen Reaktionsmischung wird das Pyridin bei Wasserbadtemperatur unter vermindertem Druck möglichst weitgehend abdestilliert und der sirupöse Rückstand im Kolben unter Zugabe von etwas Wasser mehrmals mit Essigester – evtl. unter Erwärmen – ausgezogen. Die vereinigten und filtrierten Essigester-Extrakte (je nach Löslichkeit des entstandenen Acylpeptidesters 100–250 ccm) wäscht man nacheinander mit 2 *n* HCl, Wasser und 2–3 mal mit 10-proz. Natriumcarbonatlösung durch, bis eine angesäuerte Probe der letzten Natriumcarbonat-Extraktion klar bleibt.

Die über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknete Essigesterlösung hinterläßt beim Eindampfen i.Vak. den Cbzo-Peptidester, der durch entsprechende Umkristallisation gereinigt wird.

Cbzo-Peptide: Der Cbzo-Peptidester wird in der nötigen Menge Dioxan gelöst, ein 20-proz. Überschuß der für jedes verseifbare Esteräquivalent erforderlichen Menge 2 *n* NaOH zuge tropft und das Gemisch bei Raumtemperatur stehen gelassen, bis ein Zusatz von Wasser keine Trübung mehr hervorruft (etwa 2 Stdn.). Nach Neutralisation mit einigen Tropfen Eisessig destilliert man das Lösungsmittel i.Vak. bei ca. 35° weitgehend ab, nimmt den Kolbenrückstand in wenig Wasser auf und macht mit 2 *n* HCl kongossauer. Scheidet sich dabei nicht das Cbzo-Peptid ab, so wird die saure, wäßrige Lösung 3 mal mit Essigester ausgeschüttelt; die vereinigten Extrakte trocknet man über Natriumsulfat und isoliert das Cbzo-Peptid nach Abdampfen des Essigesters im Vakuum.

Peptide

1. α -L-Glutamyl-glutaminsäure

a) Cbzo-Triäthylester: Aus der PN-Verbindung*) von 4.8 g L-Glutaminsäurediäthylester-hydrochlorid (III) und 6.2 g N-Cbzo-L-glutaminsäure- γ -äthylester (I) erhält man 7.0 g (85% d.Th.) weiße Blättchen vom Schmp. 104–105° aus Essigester-Petroläther oder Tetrachlorkohlenstoff (Lit.¹⁵): 103–104°. $[\alpha]_D^{25}$: –35° (*c* = 1.47, in Alkohol).



b) Cbzo-Säure: Durch Verseifung von 2 g 1a) mit 8 ccm 2 *n* NaOH in 5 ccm Methanol. 1.45 g (88% d.Th.) Kristalle vom Schmp. 176–178° (Zers.) aus Essigester oder Wasser (Lit.⁷): Schmp. 176–178°.

c) Freies Peptid: Aus 1b) durch Hydrierung mit Pd-Wasserstoff. Feine Kristalldrusen aus Wasser-Alkohol vom Schmp. 184° (Zers. unter Aufschäumen; Lit.⁷).

3.6-Bis- $[\beta$ -propionsäure-äthylester]-2.5-diketopiperazin (VII): Nach den Angaben von R. Koniuszy und K. Folkers¹⁶) wurden 3.5 g 1a) hydriert und aufgearbeitet. Es wurden 1.5 g (60–65% d.Th.) eines farblosen, rasch kristallisierenden Öles erhalten. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus heißem Essigester schillernde Blättchen vom Schmp. 163–164°.



2. N-Cbzo- α -L-diglutamyl-glutaminsäure-tetraäthylester: α -L-Glutamyl-glutaminsäure-triäthylester-hydrobromid – aus 5 g 1a) und 5 ccm HBr-

*) PN = Phosphorazo.

¹⁵) R. B. Angier u. Mitarbb., J. Amer. chem. Soc. 71, 2310 [1949].

¹⁶) Amer. Pat. 2538 104 vom 16. I. 1951; C. A. 45, 6656e [1951].

Eisessig-Reagens als gelblicher Sirup – wird unter Kühlung direkt mit einer Mischung von 0.42 ccm PCl_3 und 20 ccm Pyridin übergossen. Zur klaren Lösung fügt man 3.1 g I und weitere 30 ccm Pyridin und erhitzt die Mischung 3 Stdn. auf dem siedenden Wasserbad. Aufarbeitung wie üblich. Ausb. 4.6 g (88% d.Th.). Aus Essigester kommt die Verbindung beim Abkühlen als gallertige Masse. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Essigester-Petroläther undeutlich kristalline, kugelige Aggregate vom Schmp. 114–116°.

$\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{O}_{12}\text{N}_3$ (651.7) Ber. N 6.45 Gef. N 6.53

3. L-Glutaminyl-glutaminsäure

a) Cbz-Diäthylester: Durch Umsetzung der PN-Verbindung aus 2.4 g III und 3.0 g *N*-Cbzo-L-glutamin (Schmp. 137°). Ausb. ca. 2.45 g (54% d.Th.) als amorphe Masse vom Schmp. 177–178° aus Alkohol-Essigester-Petroläther.

b) Cbz-Peptid: In ca. 90-proz. Ausb. durch Verseifen von 3a). Nach 2maligem Umkristallisieren aus Wasser feine Nadeln vom Schmp. 184–185°.

$\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{O}_6\text{N}_3$ (397.4) Äquiv.-Gew. Ber. 198.7 Gef. 201

c) Freies Peptid: Durch Hydrierung einer methanol. Lösung von 1.3 g 3b) mit Palladium-Wasserstoff. Nach 15 Min. beginnt die Abscheidung des in kaltem Wasser schwerlöslichen Peptids in kleinen, silberglänzenden Blättchen vom Schmp. 199–201°; Ausb. 0.7 g (78% d.Th.). $[\alpha]_D^{25}$: + 13.4° ($c = 1.49$, in *n* HCl).

$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{O}_6\text{N}_3$ (275.3) Äquiv.-Gew. Ber. 137.6 Gef. 136

4. γ -L-Glutamyl-glutaminsäure

a) Cbz-Triäthylester: Aus der PN-Verbindung von 4.8 g III und 6.2 g *N*-Cbzo-L-glutaminsäure- α -äthylester (II). Kristallisiert im Eisschrank innerhalb einer Woche aus der Lösung in kleinen weißen Sternchen und Tafeln; Ausb. 70–85% d.Theorie. Nach Umkristallisieren aus Essigester-Petroläther oder Äther, Schmp. 92–93°; $[\alpha]_D^{25}$: –22.7° ($c = 1.154$, in Äthanol) (Lit.¹⁰)).

b) Freies Peptid: 2.5 g 4a) werden in 8 ccm Dioxan-Wasser (1:1) mit 10 ccm 2 *n* NaOH verseift. Die bisher nur ölig erhaltene Cbz-Verbindung wird in wäbrig-methanolischer Lösung hydriert. Nach Eindampfen der filtrierten Reduktionslösung nimmt man den Rückstand in 5 ccm Wasser auf und fügt 50 ccm Aceton zu. Das Peptid fällt als bald erstarrendes Öl aus und wird nach Abgießen der überstehenden Lösung mit Aceton verrieben. In wenig Wasser gelöst, erhält man durch Zusatz von Aceton bis zur beginnenden Trübung weiße Nadeln mit 1 Mol. Kristallwasser. Nach Trocknen über P_2O_5 bei 100°/15 Torr Schmp. 188–190° (Zers. unter Aufschäumen); $[\alpha]_D^{25}$: + 3.6° ($c = 1.6$, in 1 *n* HCl) (Lit.⁸)).

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_7\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (294.2) Äquiv.-Gew. Ber. 98.1 Gef. 98

c) Peptid-triäthylester-hydrochlorid: Durch Abhydrieren der Schutzgruppe aus 6.5 g 4a) in einer Mischung von 45 ccm Methanol, 22 ccm Wasser und 2 ccm Eisessig. Die Reaktionslösung wird i.Vak. eingedampft, der Rückstand in 10 ccm Chloroform gelöst, dann einige Minuten ein trockener HCl-Strom durchgeleitet. Beim Zufügen von ca. 60 ccm absol. Äther zur Chloroformlösung erscheinen feine Sterne und Prismen. Ausb. 3.7–4.3 g (72–80% d.Th.) vom Schmp. 132–133° nach Umkristallisieren aus Chloroform-Äther (Lit.: 132–133°¹⁰)).

5. γ -L-Diglutamyl-glutaminsäure-tetraäthylester

a) Cbz-Tetraäthylester: Aus der PN-Verbindung von 1.4 g 4c) und 1.3 g II, 2.1 g (92% d.Th.). Feine, weiße Nadeln und Drusen aus Chloroform-Äther vom Schmp. 113–114°.

$\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{O}_{12}\text{N}_3$ (651.7) Ber. N 6.45 Gef. N 6.50

b) Peptidester-hydrochlorid: Nach der gleichen Arbeitsweise, wie unter 4c beschrieben, aus 2.0 g 5a); 1.5 g der Verbindung als undeutlich kristallines Pulver (90% d.Th.). Schmp. 146–147°, nach vorherigem Erweichen bei 140°, aus Chloroform-Petroläther.

6. [*N*-Cbzo- γ -L-triglutamyl]-glutaminsäure-pentaäthylester: Aus der PN-Verbindung von 1.27 g 5b) und 1.0 g II. Rückstand der Reaktionsmischung nach Abdestillieren des Pyridins mit einer Mischung von 100 ccm Essigester und 20 ccm Äthanol unter Erwärmen ausziehen. Die Essigesterlösung wird wie üblich aufgearbeitet. Aush. 2.0 g (95% d.Th.); nach Umkristallisieren aus Alkohol-Essigester oder Alkohol-Äther undeutliche Kristalle vom Schmp. 168–169.5°.

$C_{38}H_{66}O_{15}N_4$ (809.9) Ber. N 6.92 Gef. N 7.00

7. α -L-Glutamyl-glycin

a) Cbzo-Diäthylester: Aus der PN-Verbindung von 2.5 g Glycin-äthylester-hydrochlorid und 6.2 g I; 5.5–7.1 g (70–90% d.Th.) feine, verfilzte Nadeln aus Essigester-Petroläther vom Schmp. 88–92°, der nach Umkristallisieren aus Essigester-Petroläther auf 94–94.5° stieg; $[\alpha]_D^{25}$: –11.4° ($c = 4.4$, in Eisessig).

$C_{19}H_{26}O_7N_2$ (394.4) Ber. N 7.10 Gef. N 7.03

b) Cbzo-Peptid: Durch Verseifen von 1.58 g 7a) mit 5 ccm 2 *n* NaOH in methanol. Lösung, 1.05 g (78% d.Th.), in kleinen Nadelchen vom Schmp. 141–145° aus Alkohol-Essigester-Petroläther.

c) Freies Peptid: Durch Abspaltung der Schutzgruppe aus 1.0 g 7b) nach Ben-Ishai⁹). Das Peptid-hydrobromid löst man in wenig Wasser und setzt etwa 0.5 ccm Pyridin und Alkohol bis zur beginnenden Trübung zu. Innerhalb von 24 Stdn. kristallisieren im Eisschrank 0.3 g (50% d.Th.) in schönen, großen Nadeln, die nach Umkristallisieren aus Wasser-Alkohol bei 176–178° (Zers. unter Aufschäumen) schmelzen. $[\alpha]_D^{18}$: +12° ($c = 2.0$, in Wasser); $[\alpha]_D^{25}$: +27° ($c = 1.6$, in 1 *n* HCl).

$C_7H_{12}O_3N_2$ (204.2) Äquiv.-Gew. Ber. 102.1 Gef. 103

8. α -L-Glutamyl-glycyl-glycin

a) Cbzo-Diäthylester: Umsetzung der PN-Verbindung aus 4.1 g Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid mit 6.2 g I geben 6.8 g (76% d.Th.) Sterne und Nadeln vom Schmp. 112–114° aus Essigester-Petroläther.

$C_{21}H_{29}O_8N_3$ (451.5) Ber. N 9.30 Gef. N 9.27

b) Freies Peptid: Die Lösung von 4.52 g 8a) wird mit 12 ccm 2 *n* NaOH in Dioxan-Wasser (1 : 1) verseift. Da das entstandene Cbzo-Tripeptid in Wasser sehr leicht, in Essigester aber fast unlöslich ist und keine Neigung zur Kristallisation zeigt, macht man die Verseifungslösung mit verd. Salzsäure eben kongosauer und dampft dann i.Vak. zur Trockene ein. Der Rückstand wird mit wasserfreiem Dioxan ausgezogen, vom Natriumchlorid abfiltriert und die Dioxanlösung i.Vak. zur Trockene eingedampft. Der ölige Rückstand wird in wasserfreiem Methanol gelöst, filtriert und zur Entfernung der Schutzgruppe wie üblich hydriert. 1.4 g (55% d.Th. bezogen auf 8a)) als feinkristallines Pulver vom Schmp. 185–188 (Zers. unter Aufschäumen) aus Wasser-Alkohol.

$C_6H_{16}O_6N_3$ (261.2) Ber. N 16.05 Gef. N 15.97

c) Peptid-diäthylester-hydrobromid: Aus 2.3 g 8a) mittels HBr-Eisessig-Reagens⁹) als Öl, das unter Äther rasch erstarrt und aus Alkohol-Äther in derben Prismen und Spießen kristallisiert. Ziemlich hygroskopisch. Ausb. 1.9 g (94% d.Th.) vom Schmp. 144–146° (Zers.).

$C_{13}H_{23}O_6N_3 \cdot HBr$ (398.2) Ber. N 10.55 Gef. 10.70

9. [*N*-Cbzo-glycyl]- α -L-glutamyl-glycyl-glycin-diäthylester: Durch Umsetzung der PN-Verbindung von 1.45 g 8c) mit 0.8 g Cbzo-glycin werden 1.0 g (65% d.Th.) feine Täfelchen vom Schmp. 172–173° nach Umkristallisieren aus Essigester-Petroläther gewonnen.

$C_{23}H_{32}O_9N_4$ (508.5) Ber. N 11.02 Gef. N 11.28

10. [*N*-Cbzo- α -L-diglutamyl]-glycin-triäthylester: 1.7 g des aus 7a) gewonnenen Dipeptidester-hydrobromids (gelbes Harz) werden durch Übergießen der berechneten Menge PCl_3 in Pyridin in die PN-Verbindung übergeführt und mit 1.6 g I um-

gesetzt. Rohprodukt 1.5 g (55% d.Th.) vom Schmp. 140–142°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Essigester-Petroläther kugelige Kristallaggregate vom Schmp. 143–144°.

$C_{26}H_{37}O_{10}N_3$ (551.6) Ber. N 7.62 Gef. N 7.75

11. L-Glutaminyl-glycin

a) Cbzo-Äthylester: Aus 1.2 g Glycin-äthylester-hydrochlorid als PN-Verbindung und 2.3 g *N*-Cbzo-L-glutamin, zwischen 1 bis 2 g (30–60% d.Th.) als gallertige, in Essigester schwer lösliche Masse. Aus Alkohol-Essigester-Petroläther oder Wasser umkristallisiert, Schmp. 151–152°.

b) Cbzo-Peptid: Durch Verseifen von 480 mg des Esters 11a) in wenig Aceton mit 0.8 ccm 2 *n* NaOH. Nach Verdampfen des Acetons i.Vak. erhält man beim Ansäuern mit verd. HCl feine Nadeln; Ausb. 410 mg (93% d.Th.) in großen Spießen und Drusen vom Schmp. 180–181° (Zers.) nach Umkristallisieren aus wenig heißem Wasser (Lit.¹²⁾).

$C_{18}H_{18}O_6N_3$ (337.3) Ber. N 12.46 Äquiv.-Gew. 337.3 Gef. N 12.10 Äquiv.-Gew. 332

c) Freies Peptid: Aus 1 g der Cbzo-Verbindung durch Hydrieren in wäßrig-methanolischer Lösung werden 550 mg (91% d.Th.) in Nadeln und Prismen aus Wasser-Alkohol vom Schmp. 170–172° (Zers.) erhalten.

$[\alpha]_D^{25}$: + 76.3° ($c = 2.60$, in Wasser). Lit.: $[\alpha]_D^{25}$: + 76°¹⁷⁾.

12. γ -L-Glutamyl-glycin

a) Cbzo-Peptid: Aus der PN-Verbindung von 0.7 g Glycin-äthylester-hydrochlorid und 1.55 g II wird zunächst öliges Cbzo-Peptidester erhalten, der, in 10 ccm Dioxan gelöst mit 6 ccm 2 *n* NaOH verseift, 0.9 g (55% d.Th.) aus Essigester-Petroläther langsam in feinen Blättchen kristallisierendes Öl gibt. Schmp. 159–161°. Lit.: 159–161°⁸⁾.

b) Freies Peptid: 550 mg (90% d.Th.) als feinkrist. Pulver vom Schmp. 192–195° (Zers. unter Aufschäumen) aus Alkohol-Wasser durch Hydrieren von 1.2 g Cbzo-Verbindung 12a).

$C_7H_{12}O_5N_2$ (204.2) Äquiv.-Gew. Ber. 102.1 Gef. 104

13. γ -L-Glutamyl-glycyl-glycin

a) Cbzo-Diäthylester: Durch Umsetzung der PN-Verbindung von 2.0 g Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid mit 3.2 g II. 3.2 g (68% d.Th.) feine Blättchen vom Schmp. 104–105° (aus Essigester-Petroläther).

$C_{21}H_{29}O_8N_3$ (451.5) Ber. N 9.30 Gef. N 9.56

b) Freies Peptid: Die wäßr. Verseifungslösung von Ester 13a) wird angesäuert und mehrmals mit Essigester-Butanol (3 : 1) ausgeschüttelt. Das ölige Cbzo-Peptid, das nach Verdampfen i.Vak. der über Magnesiumsulfat getrockneten organischen Extrakte zurückbleibt, wird in wäßrig-methanolischer Lösung wie üblich hydriert.

Aus 1.4 g Cbzo-Ester 0.6 g (75% d.Th.) weißes Pulver aus Wasser-Alkohol vom Schmp. 176–179° (Zers.).

$C_9H_{15}O_6N_3$ (261.2) Äquiv.-Gew. Ber. 130.6 Gef. 133

14. [*N*-Cbzo- γ -L-glutamyl]-*S*-benzyl-L-cysteinyl-glycin-diäthylester¹⁾

15. [*N*-Cbzo- α -L-glutamyl]-*S*-benzyl-L-cysteinyl-glycin

a) Diäthylester: Durch Umsetzung der PN-Verbindung von 7.2 g *S*-Benzyl-L-cysteinyl-glycin-äthylester¹⁾ mit 7 g I erhält man 11 g (79% d.Th.) kleine undeutliche Nadeln vom Schmp. 125–127° aus Essigester-Petroläther. Schmp. bleibt auch nach Umkristallisieren aus Dioxan-Wasser unverändert.

b) Cbzo-Peptid (*N*-Cbzo-*S*-benzyl-L-isogluthation): Durch Verseifung von 10 g des Esters 15a) wurden nur 4.22 g (47% d.Th.) nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Dioxan-Wasser vom Schmp. 187–188° (Zers.), Lit. 191–192°¹⁸⁾, erhalten.

$C_{25}H_{29}O_8N_3S$ (531.6) Ber. N 7.90 Gef. N 7.70

¹⁷⁾ J. Melville, Biochem. J. **29**, 179 [1935].

¹⁸⁾ V. du Vigneaud, H. S. Loring u. G. L. Miller, J. biol. Chemistry **118**, 391 [1937].

16. α -L-Glutamyl-S-benzyl-L-cystein

a) Cbz- γ -äthyl- ω -methylester: Aus der PN-Verbindung von 1.84 g S-Benzyl-L-cystein-methylester-hydrochlorid (Schmp. 151–152°) mit 2.16 g I erhält man 2.5 g (70% d.Th.) kleine Nadeln vom Schmp. 130° aus Essigester-Petroläther.

b) Cbz-Peptid: Durch Verseifung von 2.05 g des Esters 16a) mit 5 ccm 2 n NaOH in Dioxan-Wasser, 1.8 g (95% d.Th.) Nadeln, aus Alkohol-Essigester-Petroläther vom Schmp. 183°; $[\alpha]_D^{25}$: -40° ($c = 0.97$, in Alkohol).

$C_{22}H_{26}O_7N_2S$ (474.5) Äquiv.-Gew. Ber. 237.3 Gef. 239

c) Freies Peptid: Aus 1.3 g Cbz-Peptid wurden durch Abspaltung der Schutzgruppe mittels HBr-Eisessig-Reagens 0.5 g (55% d.Th.) feine, in Wasser schwer lösliche Nadeln vom Schmp. 163° (Zers.) gewonnen.

$C_{15}H_{20}O_5N_2S$ (340.3) Äquiv.-Gew. Ber. 170 Gef. 170

Alle angegebenen Schmelzpunkte sind korrigiert.

75. Bengt G. Rånby, Edmund Heinz Immergut und Hermann F. Mark: Neuere physikalisch-chemische Untersuchungen über Cellulose und verwandte Kohlenhydrate

Aus dem Physikalisch-Chemischen Institut der Universität Uppsala, Schweden, und dem Institute of Polymer Research, Polytechnic Institute of Brooklyn, U.S.A.]

(Eingegangen am 8. Oktober 1955)

Diese Arbeit ist Herrn Professor K. Freudenberg zum Anlasse seines 70. Geburtstages ergebenst gewidmet

Die Unterschiede im Verhalten von Cellulosen verschiedenen Ursprungs, insbesondere von Holz- und Baumwoll-Cellulosen, in ihrer Röntgendiffraktion, bei der Mercerisierung, beim Abbau durch heterogene und homogene Hydrolyse werden besprochen und auf eine verschiedene Gitter- und Molekülstruktur der Holz- und Baumwoll-Cellulose zurückgeführt. Durch fraktionierte Extraktion von durch Nitrierung löslich gemachten Cellulosen mit Lösungsmittelgemischen werden Aufschlüsse über ihren Gehalt an Hemicellulosen erhalten.

Cellulosen verschiedenen Ursprungs

Die Eigenschaften von Cellulosen verschiedenen biologischen Ursprungs sind nicht dieselben. Physikalisch-chemische Methoden, wie z. B. Röntgendiffraktion, Wasseradsorption und Quellungsmessungen, haben deutliche und große Unterschiede in der kristallinen Ordnung mit ansteigender Gitterperfektion vorgewiesen: Man beobachtet schärfere und besser aufgelöste Röntgenreflexionen¹⁾ in ansteigender Reihe: Holz, Baumwolle, Bakterien-, Tier- und Algen-Cellulose (Abbild. 1).

Die aus verschiedenen Arten von Hart- und Weichholz gewonnenen Cellulosen scheinen annähernd gleiche Eigenschaften zu besitzen, welche jedoch in gewissem Ausmaß vom Herstellungsprozeß beeinflusst werden²⁾. Der Sulfatprozeß liefert Cellulosen mit größerer Widerstandsfähigkeit gegen intra-

¹⁾ B. G. Rånby, *Fine Structure and Reactions of Native Cellulose*, Dissertat. Uppsala 1952. ²⁾ B. G. Rånby u. H. F. Mark, *Svensk Papperstidn.* 58, 374 [1955].