

GÜNTER LOSSE

RACEMATSPALTUNG DER **DL-GLYCYL-AMINOBUTTERSÄURE<sup>1)</sup>**

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Halle (Saale)

(Eingegangen am 7. Juni 1957)

Es wird die Darstellung der optisch reinen Antipoden der Glycyl-aminobuttersäure und des Glycyl-aminobuttersäure-benzylesters über die diastereomeren Benzylester-dibenzoyl-D-hydrogentartrate beschrieben. Die so gewonnenen antipodischen Peptidester lassen sich zur Synthese höherer aktiver Peptide heranziehen.

Nachdem in einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> über die Racematspaltung des Alanyl-glycins mit Dibenzoyl-D-weinsäure berichtet wurde, soll im folgenden die Spaltung der Glycyl-aminobuttersäure als Beispiel eines einfachen Peptides mit *N*-endständigem Glycin beschrieben werden.

Auf Spaltbarkeit durch Dibenzoylweinsäure untersucht wurde der Methyl-, Äthyl- und Benzylester dieses Peptides. Die besten Ergebnisse liefert dabei der Benzylester, wenn er mit dem Hilfsstoff im Mengenverhältnis des Hydrogentartrates in methanol. Lösung angesetzt wird. Man erhält so 50% des gebildeten Salzes als L-Glycyl-aminobuttersäure-benzylester-dibenzoyl-D-hydrogentartrat mit einem opt. Reinheitsgrad von 60–70%. In der Mutterlauge verbleibt das D-Estersalz in 60-proz. opt. Reinheit.

Aus den Tartraten sind in entsprechenden opt. Reinheitsgraden mit alkohol. Salzsäure<sup>2)</sup> die opt. Antipoden des Esterhydrochlorides, daraus wieder die antipodischen Ester<sup>3)</sup> und Peptide<sup>4)</sup> leicht zugänglich. Einwirkung von ammoniakalischem Chloroform oder ammoniakalischem Äther auf die umkristallisierten diastereomeren Estertartrate oder gereinigten antipodischen Esterhydrochloride führt zu praktisch opt. reinen Estern. Aus diesen und opt. aktiven Anhydro-*N*-carboxy- $\alpha$ -aminoäuren lassen sich bequem höhere Peptide wie L- $\alpha$ -Aminobutyryl-glycyl-L- $\alpha$ -aminobuttersäure darstellen. Alle Schritte verlaufen in guten Ausbeuten.

Durch Hydrolyse der opt. reinen Antipoden des Glycyl-aminobuttersäure-benzylesters oder der gereinigten Esterdibenzoyltartrate mit 0.37 *n* Ba(OH)<sub>2</sub> sind die Antipoden der freien Glycyl-aminobuttersäure zugänglich. Um dabei eine partielle Racemisierung zu vermeiden und zu opt. reinen Verbindungen zu gelangen, war es nötig, die übliche Hydrolysezeit<sup>4)</sup> auf 5–10 Min. abzukürzen, da sich Glycyl-aminobuttersäure wesentlich empfindlicher gegen Alkali erwies als Alanyl-glycin. Zur Gewinnung des freien Peptides hydrolysiert man deshalb zweckmäßig die Rohestertartrate<sup>1)</sup> oder die aus diesen isolierten Rohester. So entstehen die Antipoden der Glycyl-

<sup>1)</sup> II. Mitteil. über die Racematspaltung von Peptidestern; I. Mitteil.: G. LOSSE, Chem. Ber. **90**, 1379 [1957].

<sup>2)</sup> G. LOSSE und H. JESCHKEIT, Chem. Ber. **90**, 1375 [1957].

<sup>3)</sup> G. HILLMANN, Z. Naturforsch. **1**, 682 [1946].

<sup>4)</sup> J. L. BAILEY, J. chem. Soc. [London] **1950**, 3461; W. LANGENBECK und P. KRESSE, J. prakt. Chem. IV **274**, 261 [1955].

aminobuttersäure in etwa 60-proz. opt. Reinheit, die sich durch 1- bis 2maliges Umkristallisieren aus Wasser-Aceton opt. rein gewinnen lassen.

Herrn Professor Dr. W. LANGENBECK danke ich für sein Entgegenkommen bei dieser Arbeit.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

#### a) Ausgangsstoffe

**DL-Glycyl-aminobuttersäure:** Durch Umsetzung von **DL- $\alpha$ -Aminobuttersäure** mit Chloracetylchlorid und anschließende Aminierung<sup>5)</sup>; Schmp. 231° (korrig.).

**DL-Glycyl-aminobuttersäure-äthylester-hydrochlorid:** Aus **DL-Glycyl-aminobuttersäure** durch zweimalige Veresterung mit absolutem Alkohol und Chlorwasserstoff; Ausb. 82 % d. Th.; Schmp. 138—139° (korrig.).

C8H16O3N2·HCl (224.6) Ber. C 42.90 H 7.59 N 12.50 Gef. C 43.20 H 7.25 N 12.84

**DL-Glycyl-aminobuttersäure-benzylester-hydrochlorid:** Entsprechend wie das Äthylesterhydrochlorid dargestellt. Ausb. 67 % d. Th.; Schmp. 182—184° (korrig.).

C13H18O3N2·HCl (286.6) Ber. C 54.54 H 6.64 N 9.86 Gef. C 54.40 H 6.55 N 10.12

Aus den Ester-hydrochloriden wurden die Ester nach HILLMANN<sup>3)</sup> in 80—90-proz. Ausbeute in Freiheit gesetzt.

**Dibenzoyl-D-weinsäure:** Nach C. L. BUTLER und L. H. CRETCHER<sup>6)</sup>; Schmp. 89—90° (korrig.);  $[\alpha]_D^{20} : -110.2^\circ$  ( $c = 0.92$ , in Äthanol).

#### b) Spaltung des **DL-Glycyl-aminobuttersäure-benzylesters mit Dibenzoyl-D-weinsäure**

16.0 g **DL-Glycyl-aminobuttersäure-benzylester** werden mit einer filtrierten Lösung von 23.5 g **Dibenzoyl-weinsäure** in 45 ccm absolutem Methanol bei Zimmertemp. vereinigt. Nach zweitägigem Stehenlassen hat sich das **L-Glycyl-aminobuttersäure-benzylester-dibenzoyl-D-hydrogentartrat** praktisch vollständig ausgeschieden.

Ausb. 16.2 g; Schmp. 152—155° (korrig.);  $[\alpha]_D^{20} : -73.1^\circ$  ( $c = 0.42$ , in Äthanol).

C31H32O11N2 (608.3) Ber. C 61.18 H 5.26 N 4.60 Gef. C 61.42 H 5.46 N 4.92

Die Mutterlauge des Spaltansatzes wird i. Vak. eingeengt und mit viel absolutem Äther das **D-Glycyl-aminobuttersäure-benzylester-hydrogentartrat** gefällt.

Ausb. 15.8 g; Schmp. 141—142° (korrig.);  $[\alpha]_D^{20} : -59.4^\circ$  ( $c = 0.39$ , in Äthanol).

#### c) Aufarbeitung der diastereomeren Estersalze auf die Antipoden des Esters und des Peptides

Das **L**-Estersalz aus dem Spaltansatz wird einmal aus absolutem Äthanol umkristallisiert. Ausb. 10.8 g; Schmp. 163—165° (korrig.);  $[\alpha]_D^{20} : -75.0^\circ$  ( $c = 0.37$ , in Äthanol).

Gef. C 61.13 H 5.25 N 4.81

Ebenso reinigt man das **D**-Estersalz durch Umkristall. aus Alkohol und Gewinnung der leichter löslichen Anteile. Ausb. 9.2 g.

Zur Überführung in die Ester-hydrochloride werden die so gereinigten Tartrate in wenig absolutem Äthanol suspendiert, mit Chlorwasserstoff gesättigt und mit viel Äther<sup>2)</sup> gefällt. Ausbeute prakt. quantitativ.

<sup>5)</sup> E. ABBERHALDEN, H. LANG CHANG und E. WURM, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **72**, 31 [1911].

<sup>6)</sup> J. Amer. chem. Soc. **55**, 2605 [1933].

*Glycyl-aminobuttersäure-benzylester-hydrochlorid:***L-Verbindung:** Schmp. 163–165° (korrig.);  $[\alpha]_D^{21}:$  –31.5° (c = 3.12, in Methanol)**D-Verbindung:** Schmp. 160–164° (korrig.);  $[\alpha]_D^{21}:$  +27.8° (c = 2.17, in Methanol)

Umkristallisation aus Äthanol führt zu den opt. reinen Ester-hydrochloriden:

**L:** Schmp. 167–169° (korrig.);  $[\alpha]_D^{21}:$  –35.8° (c = 3.22, in Methanol)**D:** Schmp. 166–167° (korrig.);  $[\alpha]_D^{21}:$  +34.2° (c = 3.14, in Methanol)

L: Gef. C 54.23 H 6.46 N 10.19

D: Gef. C 54.18 H 6.55 N 10.13

Die aus den Hydrochloriden mit Ammoniak in Chloroform freisetzbaren aktiven *Glycyl-aminobuttersäure-ester* besitzen eine spezif. Drehung von  $[\alpha]_D^{20}:$  –26.8° (c = 7.53, in Alkohol; L-Verbindung) und  $[\alpha]_D^{20}:$  +27.4° (c = 11.80, in Alkohol; D-Verbindung).

Die direkte Freisetzung der Ester aus den Tartraten<sup>1)</sup> führt gleichfalls zu Verbindungen mit denselben opt. Reinheitsgraden, wie sie bei den Ausgangsstoffen vorliegen. Diese betragen beim umkristallisierten Ester-tartrat 80–90 %.

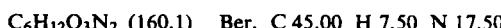
Aus den Antipoden des *Glycyl-aminobuttersäure-benzylesters* erhält man durch Hydrolyse mit 0.37 n  $Ba(OH)_2$  (5 Min., 20°) das freie L- und D-Peptid; Ausb. 70–80 % d. Th.

**L-Glycyl-aminobuttersäure:** Schmp. 220–223° (korrig.);  $[\alpha]_D^{20}:$  –23.6° (c = 1.25, in Wasser)**D-Glycyl-aminobuttersäure:** Schmp. 218–222° (korrig.);  $[\alpha]_D^{20}:$  +22.0° (c = 2.14, in Wasser)

Durch einmaliges Umfällen werden hieraus die opt. reinen Peptide gewonnen.

**L-Peptid:** Schmp. 217–219° (korrig.);  $[\alpha]_D^{20}:$  –28.7° (c = 1.81, in Wasser)**D-Peptid:** Schmp. 219–221° (korrig.);  $[\alpha]_D^{20}:$  +27.2° (c = 2.12, in Wasser)

D. S. ROBINSON sowie K. R. RAO und Mitarb.<sup>7)</sup> geben für L- und D-Glycyl-aminobuttersäure eine spezif. Drehung von  $[\alpha]_D^{20}:$  –31.5° bzw. +31° an.



L: Gef. C 44.47 H 7.66 N 17.35

D: Gef. C 44.80 H 7.36 N 17.57

Die entsprechende Aufarbeitung der rohen diastereomeren Estersalze, wie sie direkt beim Spaltansatz anfallen, führt in der L-Reihe zu Estern und Peptiden mit opt. Reinheitsgraden von 60–70 %, in der D-Reihe zu Produkten mit etwa 60-proz. opt. Reinheit.

**L-Ester-hydrochlorid:** Schmp. 166–168° (korrig.);  $[\alpha]_D^{20}:$  –21.8° (c = 4.30, in Methanol)**D-Ester-hydrochlorid:** Schmp. 165–166° (korrig.);  $[\alpha]_D^{20}:$  +18.3° (c = 3.21, in Methanol)**L-Ester:**  $[\alpha]_D^{21}:$  –15.5° (c = 8.70, in Äthanol)**D-Ester:**  $[\alpha]_D^{21}:$  +14.7° (c = 5.41, in Äthanol)**L-Glycyl-aminobuttersäure:**  $[\alpha]_D^{21}:$  –16.8° (c = 1.80, in Wasser)

Nach zweimaligem Umfällen aus Wasser-Aceton:

Schmp. 217–219° (korrig.);  $[\alpha]_D^{20}:$  –29.3° (c = 2.08, in Wasser); Gef. N 17.28**D-Glycyl-aminobuttersäure:**  $[\alpha]_D^{20}:$  +15.3° (c = 2.08, in Wasser)

Nach dem Umkristallisieren:

Schmp. 217–219° (korrig.);  $[\alpha]_D^{21}:$  +27.1° (c = 1.92, in Wasser); Gef. N 17.30

Die rohen Antipoden der Glycyl-aminobuttersäure sind auch direkt durch Hydrolyse der Rohtartrate mit  $Ba(OH)_2$  zugänglich<sup>1)</sup>.

<sup>7)</sup> D. S. ROBINSON, S. M. BIRNBAUM und J. P. GREENSTEIN, J. biol. Chemistry 202, 1 [1953]; K. R. RAO und Mitarb., ebenda 198, 507 [1952].

d) *Darstellung von L-a-Aminobutyryl-glycyl-L-a-aminobuttersäure*

L(+) $\alpha$ -Aminobuttersäure wurde durch Racematspaltung des DL-Benzylesters mit Di-benzoylweinsäure<sup>8)</sup> gewonnen.

*Anhydro-N-carboxy-L-a-aminobuttersäure* aus *L-a-Aminobuttersäure-hydrochlorid* ( $[\alpha]_D^{21}$ : +13.6°;  $c = 0.98$ , in Wasser) mit *Phosgen* bei 60° in Tetrahydrofuran. Nach Umkristallisation aus Tetrahydrofuran und Dioxan-Petroläther: Schmp. 72 – 74° (korr.); Schmp. der DL-Verbindung: 116 – 118° (korr.).

$C_5H_7O_3N$  (129.1) Ber. C 46.51 H 5.42 N 10.84 Gef. C 46.24 H 5.16 N 10.92

Zur Darstellung des Tripeptides wurden nach der Vorschrift von BAILEY<sup>4)</sup> 0.7 g des Anhydrides in Tetrahydrofuran mit 1.1 g L-Glycyl-aminobuttersäure-benzylester und 0.5 g Triäthylamin in Chloroform bei –80° vereinigt und 8 Stdn. stehengelassen. Nach Aufarbeitung und Reinigung: *L-a-Aminobutyryl-glycyl-L-a-aminobuttersäure*: Schmp. 239 – 241° (korr.);  $[\alpha]_D^{21}$ : +14.30° ( $c = 1.72$ , in Wasser).

KARL W. ROSEN MUND und KLAUS PFROEPFFER

## ÜBER DIE GELENKTE BROMIERUNG VON PHENOLKETONEN

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Kiel

(Eingegangen am 13. Juni 1957)

Es werden die Möglichkeiten untersucht, unter denen Phenolketone 1. nur im Benzolkern, 2. nur in der Seitenkette und 3. im Benzolkern sowie in der Seitenkette bromiert werden. Bei Abwesenheit von Wasser und Gegenwart starker Säuren, also unter Bedingungen, die die Entstehung einer salzartigen Bindung der Säure an den Carbonylsauerstoff möglich erscheinen lassen, erfolgt Reaktion 3. Wird das Phenolhydroxyl durch Acylierung geschützt, die Bromierung aber unter den obengenannten Bedingungen durchgeführt, so erfolgt Reaktion 2. In Gegenwart von säurebindenden Mitteln bzw. von Wasser werden Phenolketone nur im Kern bromiert.

Phenolketone reagieren leicht mit Brom, wobei sie vermöge der durch die OH-Gruppe aktivierten Ortho- und Parastellung des Benzolkerns und der durch die CO-Gruppe aktivierten Seitenketten mehr als ein Atom Brom aufzunehmen vermögen. Phenolketone, die nur im Benzolkern oder nur in der Seitenkette Brom enthalten, sind daher nicht ohne weiteres durch einfache Bromierung herzustellen. Soweit sie bekannt sind, wurden für ihre Gewinnung von Fall zu Fall verschiedene Methoden benutzt. Wegen der Bedeutung, welche diesen einfach bromierten Verbindungen kommt, haben wir uns mit ihren Darstellungsbedingungen beschäftigt.

Nach K. W. ROSEN MUND und H. H. GRANDJEAN<sup>1)</sup> nehmen Ketone ätherischer Öle bei der Behandlung mit Brom dieses nicht auf, wenn die Reaktion in mit Natriumacetat gesättigtem Eisessig durchgeführt wird. Ebenso werden Phenole nicht bromiert,

<sup>8)</sup> G. LOSSE, Chem. Ber. **87**, 1279 [1954].

<sup>11)</sup> Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **286/58**, 531 [1953].