

Misch-Schmp. (249–250° u. Zers.) sowie durch das Reduktionsvermögen gegen Tillmans-Reagenz sowie die mit FeCl_3 nach Zugabe von Natriumacetat auftretende schwarzbraune Farbreaktion als das offenkettige *Trioseredukton-dianil-hydrochlorid II* ($X = \text{OH}$, $Y = \text{Cl}$) erwiesen¹⁷⁾. Aus der roten Mutterlauge fiel auf Zusatz von Wasser ein amorphes Produkt aus, das sich nicht zum Kristallisieren bringen ließ.

b) In analoger Weise wurde *Brommalondialdehyd* mit *Dianilinomethan* und *Perchlorsäure* in Methanol umgesetzt. Man erhielt das offenkettige *Brommalondialdehyd-dianilperchlorat* vom Schmp. 246° (Zers.); aus der Mutterlauge fielen auf Wasserzusatz ebenfalls amorphe Produkte aus.

*Synthese von Brommalondialdehyd-dianilperchlorat*¹⁸⁾: Zur Lösung von 5 g *Brommalondialdehyd-tetraäthylacetal* in 25 ccm Methanol gab man 5 ccm 60-proz. *Perchlorsäure* und 5 ccm *Anilin* und erwärmte 5 Min. auf dem Wasserbad zum Sieden. Es erfolgte alsbald Ausscheidung gelber Kristalle. Nach einigem Stehenlassen im Eisschrank wurde abgesaugt und mit Methanol gewaschen. Ausb. 7.5 g; gelbe sechseckige Blättchen vom Schmp. 246°. Der Misch-Schmp. mit dem obigen Produkt ergab keine Depression.

$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{BrN}_2 \cdot \text{HClO}_4$ (401.7) Ber. C 44.86 H 3.51 Br 19.90 Cl 8.83 N 6.97 O 16.0
Gef. C 44.68 H 3.55 Br 19.32 Cl 9.00 N 7.18 O 16.6

¹⁷⁾ W. COCKER, R. A. Q. O'MEARA, J. C. P. SCHWARZ und E. R. STUART, J. chem. Soc. [London] **1950**, 2052.

¹⁸⁾ B. EISTERT und F. ARNEMANN, Dissertat. F. ARNEMANN, Techn. Hochschule Darmstadt 1954.

RUDOLF TSCHESCHE und HORST JENSSEN

Untersuchungen an 3.4-Dihydro-2-carbolin-carbonsäuren-(3)

Aus der Biochemischen Abteilung des Organisch-Chemischen Instituts
der Universität Hamburg

(Eingegangen am 26. September 1959)

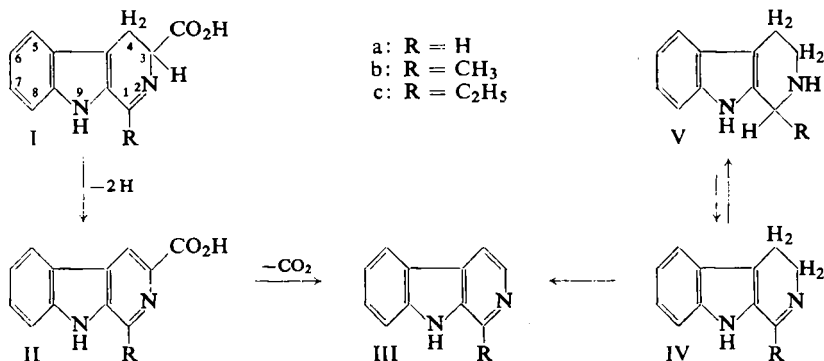
Bildungsbedingungen und Eigenschaften von 3.4-Dihydro-2-carbolin-carbonsäuren-(3) werden untersucht. Für die benötigten *N*-Acyl-tryptophane werden bessere Herstellungsverfahren angegeben. Das Azlacton des *N*-Propionyl-L-tryptophans wurde optisch rein isoliert, seine Umsetzungen wurden studiert.

Bei der Aufklärung der Tryptophanverluste während der sauren Hydrolyse von Proteinen war von R. TSCHESCHE und Mitarbb.¹⁾ die Harmalan-carbonsäure-(3) (1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3)) (Ib) als Reaktionsprodukt erkannt und ihre Synthese beschrieben worden. Da Säuren dieses Typs kaum untersucht worden sind, wurden ihre Eigenschaften näher geprüft. Es gelang, Ib auch in optisch aktiver Form aus L-Tryptophan zu erhalten, vom Racemat ließ sich das Hydrochlorid des sehr empfindlichen Methylesters gewinnen. Die Säure konnte ferner durch Dehydrierung von Tetrahydroharman-dicarbonsäure-(1.3) oder -monocarbonsäure-(3)

¹⁾ R. TSCHESCHE, H. JENSSEN und P. N. RANGACHARI, Chem. Ber. **91**, 1732 [1958].

mit Pd/Kohle erhalten werden. Die homologe 1-Äthyl-3,4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (Ic) ließ sich unter den früher¹⁾ beschriebenen Bedingungen der BISCHLER-NAPIERALSKY-Synthese aus *N*-Propionyl-tryptophan (VIc) oder dem später beschriebenen *N*-Propionyl-tryptophan-azlacton (VIIc), bzw. aus 1-Äthyl-tetrahydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) durch Dehydrierung bereiten. *N*-Formyl-tryptophan (VIa) konnte in gleicher Weise umgesetzt werden. Zwar ließ sich das Reaktionsprodukt Ia wegen seiner Empfindlichkeit nicht isolieren, es wurde jedoch papierchromatographisch nachgewiesen.

Beim Versuch, Ib oder Ic durch Sublimation im Hochvakuum zu reinigen, trat Zersetzung ein, die bei Ib unter Dehydrierung teilweise zu Harman-carbonsäure-(3) (IIb) führte, welche schließlich unter Decarboxylierung in Harman (IIIb) überging. Der Hauptteil der Verbindung jedoch decarboxylierte sofort zu Harmalan (IVb), das weiter in IIIb und Tetrahydroharman¹⁾ (Vb) disproportionierte. Da letzteres leicht zu IVb dehydriert wurde, trat Harman (IIIb) als Endprodukt vorwiegend auf. Entsprechende Dismutierungen sind von C. I. BRODRICK und W. F. SHORT²⁾ an 3,4-Dihydro-isochinolininen aufgefunden worden.



Für die Synthese der vorstehend beschriebenen 2-Carbolin-Derivate war die Herstellung von *N*-Acyl-tryptophanen (VI) notwendig. Reines *N*-Acetyl-L-tryptophan (VIb) wurde erstmals von M. BERGMANN und Mitarbb.³⁾ gewonnen. Bessere Bedingungen mit geringerer Gefahr einer Racemisierung ließen sich in Anlehnung an die Darstellung des *N*-Acetyl-phenylalanins nach F. KNOOP und J. G. BLANCO⁴⁾ in der Umsetzung von L-Tryptophan mit einem Gemisch von Säure und -anhydrid finden. Ähnlich konnte auch das Trifluoracetyl-Derivat des Tryptophans unter Erhaltung der Konfiguration in guter Ausbeute gewonnen werden.

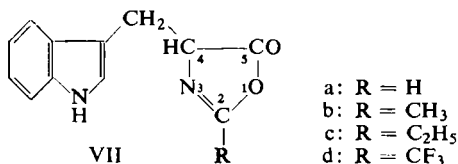
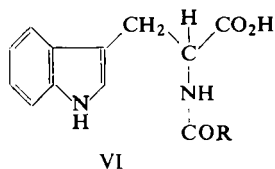
Wurde dagegen die Propionylierung mit Propionsäure-anhydrid in Gegenwart von wenig Pyridin vorgenommen, so wurde ausschließlich das Azlacton VIIc isoliert. Seine Konstitution konnte durch Überführung in das *N*-Propionyl-tryptophan (VIc), dessen Amid bzw. Anilid und die entsprechenden Peptide bei Umsetzung mit Alanin oder Glykokoll-äthylester bewiesen werden. Das Azlacton zeigt scharfe Absorptionsbanden im IR bei 1690/cm (Valenzschwingung der C=N-Bindung), sowie bei 1830/cm.

²⁾ J. chem. Soc. [London] 1949, 2587.

³⁾ M. BERGMANN und L. ZERVAS, Biochem. Z. 203, 208 [1928]; M. BERGMANN und H. KÖSTER, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 159, 179 [1926].

⁴⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 146, 274 [1925].

Diese zweite, wegen ihrer kurzwelligen Lage besonders auffällige Bande ist der C=O-Valenzschwingung zuzuordnen⁵⁾.



- a: R = H
 b: R = CH₃
 c: R = C₂H₅
 d: R = CF₃

Es gelang, das Azlacton VIIc in optisch aktiver Form zu erhalten ($[\alpha]_D^{20}$: $-262 \pm 2^\circ$) und durch Hydrolyse in optisch reines L-VIc überzuführen. Dies ist bemerkenswert, weil es bisher nur selten möglich war, optisch aktive Azlactone mit einem H-Atom in Stellung 4 zu gewinnen⁶⁾; hingegen schlugen alle Versuche fehl, mit seiner Hilfe optisch aktive Peptide aufzubauen. Schon im Bereich von pH 6–7 zeigte sich beim Azlacton eine starke Racemisierung, bei geringeren pH -Werten ließ sich eine Umsetzung mit Aminosäuren nicht mehr erzielen, lediglich die Bildung von optisch aktivem L-VIc wurde beobachtet. Bei der in üblicher Weise nach SCHOTTEN-BAUMANN durchgeführten Propionylierung des Tryptophans konnte neben VIc in ebenfalls wechselnder Menge auch dessen Azlacton VIIc isoliert werden, allerdings nur als Racemat. Dies bestätigt die Annahme von M. BERGMANN und Mitarbb.³⁾, welche die Ursache der Racemisierung bei der Acylierung von Aminosäuren in der Tautomerie der intermediär entstehenden Azlactone sehen. Nach unseren Beobachtungen kann aber bei Vermeidung eines alkalischen Reaktionsmediums in gewissen Fällen das optisch aktive Azlacton gefaßt werden. Auch bei der Acetylierung des Tryptophans nach SCHOTTEN-BAUMANN läßt sich papierchromatographisch die Bildung eines Azlactons nachweisen, doch gelang es hier nicht, die gesuchte Verbindung zu isolieren. Bei der Einwirkung von Trifluoressigsäure-anhydrid auf Tryptophan in Dioxan/Cyclohexan in Gegenwart von Pyridin kommt es sehr wahrscheinlich teilweise ebenfalls zu einer Azlactonbildung, doch ließ sich die Verbindung nicht isolieren. Daneben gab sich durch das Auftreten einer gelbgrünen Fluoreszenz die Bildung von 2-Carbolin-Derivaten zu erkennen, wie auch von R. A. UPHAUS und Mitarbb.⁷⁾ bei der Einwirkung von Trifluoressigsäure auf *N*-Acylderivate des Tryptophans festgestellt wurde.

Wir danken dem FONDS DER CHEMIE für die Unterstützung dieser Arbeit sowie der RESEARCH CORPORATION, New York, für ein Stipendium an H. Jenssen.

⁵⁾ F. MICHEEL und B. SCHLEPPINGHOFF, Chem. Ber. **88**, 763 [1955]; W. BRÜGEL, K. DURY, G. STENGEL und H. SUTER, Angew. Chem. **68**, 440 [1956].

⁶⁾ The Chemistry of Penicillin, Princeton University Press, 1949, S. 742; R. C. ELDERFIELD, Heterocyclic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., New York 1957, Vol. 5, S. 366.

⁷⁾ R. A. UPHAUS, L. I. GROSSWEINER und J. J. KATZ, sowie K. D. KOPPLE, Science [Washington] **129**, 641 [1959].

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Für die Papierchromatographie wurde das Papier Schleicher & Schüll Nr. 2043b verwendet. Im allgemeinen wurde einphasig absteigend chromatographiert, zum Teil aber auch zweiphasig⁸⁾. Für die Fluoreszenzuntersuchungen dienten UV-Lampen der kürzesten Wellenlänge 366 oder 254 m μ .

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Heitzisch nach KOFLER bestimmt. Zur Erkennung der nicht oder nur sehr schwach im kurzwelligen UV-Licht fluoreszierenden Verbindungen auf dem Papierchromatogramm wurde ein von G. M. BARTON und Mitarbb.⁹⁾ für den Nachweis von Phenolen beschriebenes Reagenz angewandt, welches generell auch auf Indolverbindungen ansprach. Dabei wurden die Papierchromatogramme mit einer frisch hergestellten Mischung aus gleichen Teilen 1-proz. Eisen(III)-chlorid- und 1-proz. Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung eingesprüht. Die blauen Flecke wurden durch Entfernen überschüssigen Reagenzes mit verd. Salzsäure fixiert.

Harmalan-carbonsäure-(3) (Ib): 200 mg *Tetrahydroharman-dicarbonsäure-(1.3)*¹⁾ wurden unter Erwärmen in 50 ccm Wasser gelöst und mit ungefähr 100 mg 5% Palladium enthaltender Kohle versetzt. Nach Zugabe von 1–2 Tropfen konz. Salzsäure wurde mehrere Stunden unter Rückfluß erhitzt, anschließend die Palladium-Kohle abfiltriert und das Filtrat etwas eingeeengt. Mit wenig Natronlauge wurde die Lösung alkalisch gemacht und darauf mit reichlich Äther extrahiert. Nach Ansäuern mit Salzsäure wurde fast bis zur Trockne eingedampft und das ausgefallene Natriumchlorid abfiltriert. Sollte bei der nun folgenden Zugabe von Gold(III)-chloridlösung gleich ein Niederschlag, bedingt durch Harman-carbonsäure-(3), ausfallen, muß dieser zunächst abfiltriert werden. Das gebildete *Tetrachloraurat von Ib* fiel etwas verzögert in braunroten Nadeln aus. Ausb. 0.035 g (8.5% d. Th.). Die Substanz wurde in wenig Methanol gelöst und durch Zugabe von 15-proz. Salzsäure und etwas Gold(III)-chloridlösung wieder zur Kristallisation gebracht, Schmp. 175–179° (unter Goldabscheidung). Aus dem Tetrachloraurat ließ sich nach F. WREDE und G. FEUERRIEGEL¹⁰⁾ die freie Säure durch Fällung des Goldes mit Schwefelwasserstoff gewinnen. Der gleiche Reaktionsablauf trat auch bei Einsatz der Tetrahydroharman-carbonsäure-(3) ein.

Ib-Methylester: In die Lösung von 0.400 g *Ib* in 200 ccm absol. *Methanol* wurde unter Eiskühlung 1 Stde. lang trockener Chlorwasserstoff eingeleitet. Der Ansatz wurde 2 Stdn. bei Raumtemperatur und über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt und dann i. Vak. bei einer Wasserbadtemperatur von 30–40° vom Chlorwasserstoff befreit. Dabei wurde mehrmals in absol. Methanol aufgenommen und schließlich zur Trockne gedampft. Der Rückstand wurde in möglichst wenig Methanol gelöst und die Lösung mit Aceton und Äther versetzt. Beim starken Kühlen fiel das *Hydrochlorid* in kleinen, blaßgelben Nadeln aus, die wie beschrieben noch einmal umkristallisiert wurden. Ausb. 0.428 g (89% d. Th.). Schmp. 187–192° (Zers.). $C_{14}H_{14}N_2O_2 \cdot HCl$ (278.7) Ber. C 60.32 H 5.42 N 10.05 Gef.*) C 59.82 H 5.71 N 9.98, 9.96

*) bei 70° i. Hochvak. getrocknet.

Die Substanz wird schon durch die Luftfeuchtigkeit zum Hydrochlorid von *Ib* hydrolysiert; hierdurch erklären sich auch die etwas niedrig gefundenen C-Werte.

Bei der Papierchromatographie mit 3-%. Ammoniumchloridlösung erhält man nur den *Ib* zukommenden Fleck. In 5-proz. Ammoniak läßt sich daneben noch der Fleck des freien Esters beobachten.

8) R. TSCHESCHE, G. GRIMMER und F. SEEHOFER, Chem. Ber. **86**, 1235 [1953].

9) G. M. BARTON, R. S. EVANS und J. A. F. GARDNER, Nature [London] **170**, 249 [1952].

10) Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 1073 [1933].

Zur Gewinnung des freien Methylesters wurden 0.350 g des Hydrochlorids in ganz wenig Methanol aufgenommen und mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Durch unmittelbar folgendes Ausschütteln mit Äther wurde der Ester abgetrennt, jedoch wurde bei der üblichen Aufarbeitung nur ein nicht kristallisierendes Produkt erhalten, das insbesondere durch Harman-carbonsäure-(3)-methylester verunreinigt war. Ausb. 0.253 g (83 % d. Th.). R_F -Werte: 0.58 (in 3-proz. NH_4Cl -Lösung), 0.24 (in 5-proz. Ammoniak), 0.88 (in Butanol/Pyridin/Wasser 3:1:3), 0.13 (in Pentanol/Wasser, zweiphasig), 0.49 (in Methanol/2 n Ammoniak 7:3).

Charakteristisch für das Vorliegen dieses Esters ist eine Zunahme der gelben Fluoreszenz bei Gegenwart von Wasser. Trägt man den in einem organischen Lösungsmittel wie Äther, Benzol aufgenommenen Ester auf Papier auf und feuchtet an, so wird die Intensität der gelben Fluoreszenz im UV-Licht beträchtlich erhöht.

1-Äthyl-3,4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (Ic): 0.750 g trockenes *N-Propionyl-tryptophan* wurden analog dem *N-Acetyl-tryptophan* umgesetzt^{1,7)}. Ausb. 0.384 g (55 % d. Th.). Zum Umkristallisieren wurde die Substanz in konz. Ammoniak gelöst und die Lösung i. Vak. erneut eingengt. Gelbe Kristalle. Schmp. 207–208°. Man kann aus Methanol umkristallisieren, worin die aus wäßriger Lösung ausgefallenen Kristalle zunächst leicht löslich sind. Beim Stehenlassen oder Erwärmen fallen aber bald Kristalle aus, die nunmehr schwer löslich sind und sich nur sehr schlecht aus diesem Lösungsmittel umkristallisieren lassen. Ic bildet Hydrate, die ein sorgfältiges Trocknen bei 120° i. Hochvak. für die Analyse erforderlich machen.

Die Fluoreszenz ist grüngelb. R_F -Werte: 0.65 (in 5-proz. Ammoniak), 0.54 (in 3-proz. NH_4Cl -Lösung).

Ic läßt sich auch ebenso mit etwa gleicher Ausbeute aus dem *N-Propionyl-tryptophan-azlacton* (VIIc) darstellen, ferner auch durch Dehydrierung von *1-Äthyl-tetrahydro-2-carbolin-carbonsäure-(3)*, wie bei Ib beschrieben.

Beim Sublimieren von Ib und auch von Ic i. Hochvak. bei 150–180° zeigten die Sublimate und die gesinterten Rückstände bei der Papierchromatographie in 5-proz. Ammoniak die folgenden Befunde:

Gefundene Verbindung	Fluoreszenz	R_F -Werte	Intensität
IIIc	blauviolett	0.14	sehr stark
IVc	grüngelb	0.24	stark
IIc	blauviolett	0.30	stark
Vc	violett bei 254 m μ erkennbar	0.54	deutlich
Ic	grüngelb	0.65	sehr schwach
IIIb	blauviolett	0.08	sehr stark
IVb	grüngelb	0.18	stark
IIb	blauviolett	0.25	stark
Vb	violett nur bei 254 m μ erkennbar	0.48	deutlich
Ib	grüngelb	0.58	nicht mit Sicherheit erkennbar

3,4-Dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (Ia): 1 g *N-Formyl-tryptophan* (VIa) wurde mit einer Mischung aus 13 g Polyphosphorsäure und 5 g Phosphoroxybromid 1–2 Stdn. auf 60–70° erhitzt. Das Gemisch färbte sich sofort tiefschwarz, hellte sich beim Erwärmen aber

bald wieder nach Braun auf. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Produkt in Wasser aufgenommen und papierchromatographisch geprüft. Dabei konnte nur das Vorhandensein des Ia zukommenden Fleckes festgestellt werden. Nach Auftragen auf eine Dowex-50-Austauschersäule (H^+ -Form) und Auswaschen der Mineralsäuren ließ sich mit 5-proz. Ammoniak die gesuchte Verbindung nicht unzerstört ablösen. Sie wurde insbesondere von der Norharman-carbonsäure-(3) (IIa) und dem Norharman (IIIa) begleitet. Beim Stehenlassen in ammoniakalischer Lösung erfolgte bald restlose Zersetzung. Die Fluoreszenz von Ia ist grüngelb.

R_F -Werte: 0.43 (in 3-proz. NH_4Cl -Lösung), 0.38 (in Butanol/Pyridin/Wasser 6:4:3), 0.33 (in Pentanol/Wasser, zweiphasig).

Die Fluoreszenzen von IIa und IIIa sind blaviolett. Die R_F -Werte in 5-proz. Ammoniak betragen 0.19 und 0.07.

1-Äthyl-tetrahydro-2-carbolin-carbonsäure-(3): Die Lösung von 1 g *DL-Tryptophan* in 5 ccm 1 n H_2SO_4 und 20 ccm Wasser wurde 3 Stdn. mit 3 ccm frisch dest. *Propionaldehyd* bei 40° gehalten und über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Am nächsten Tag wurde zur Beseitigung der Schwefelsäure vorsichtig mit gesätt. Bariumhydroxylösung neutralisiert. Verwendet man zum Entfernen der Schwefelsäure Bariumcarbonat, so geht etwas Barium als Salz der gesuchten Säure in Lösung und muß mit wenig Schwefelsäure gefällt werden. Nach dem Abfiltrieren des Bariumsulfates wurde i. Vak. eingengt, wobei die Säure in Nadeln ausfiel. Ausb. 0.980 g (82% d. Th.), Schmp. 243—244°.

$C_{14}H_{16}N_2O_2$ (244.3) Ber. C 68.83 H 6.60 N 11.47 Gef. C 68.60 H 6.62 N 11.18

Zum Umkristallisieren wurde die Substanz in konz. Ammoniak gelöst und die Lösung i. Vak. eingengt, wobei die freie Säure ausfiel. Aus wäbr. Methanol läßt sie sich ebenfalls umkristallisieren. Erschwerend ist, daß die Substanz in Lösung zur Übersättigung neigt und sich auch in Gelform abscheiden kann. Die Verbindung bildet Hydrate, die ein sorgfältiges Trocknen i. Hochvak. bei 130° erforderlich machen. In Wasser ist die Säure mäßig, in Methanol schwerer löslich. In den üblichen organischen Lösungsmitteln, wie Äther, Chloroform und dergl., ist sie unlöslich. Bei der Einwirkung von Palladium auf Kohle und anderer dehydrierender Stoffe entstehen weitere Umwandlungsprodukte. Die Verbindung fluoresziert unter der kurzwelligen UV-Lampe (254 m μ) nur sehr schwach violett. R_F -Werte: 0.77 (in 5-proz. Ammoniak), 0.62 (in 3-proz. NH_4Cl -Lösung).

N-Acetyl-tryptophan (VIb): 1 g fein pulverisiertes *DL-Tryptophan* wurde mit 15—20 ccm Eisessig und 1 ccm *Acetanhydrid* versetzt. Bei leichtem Erwärmen ging das Tryptophan schnell in Lösung. Nach 24 stdg. Aufbewahren bei Raumtemperatur wurde nach Zugabe von 1—2 ccm Wasser das Lösungsmittel i. Vak. weitgehend abgedampft und die zurückbleibende Lösung in Toluol aufgenommen, wobei das hierin schwerlösliche *VIb* bald in Kristallen ausfiel. Beim Stehenlassen im Exsikkator über Kaliumhydroxyd ließ sich die Ausbeute erhöhen: 1.146 g (95% d. Th.). Die Umkristallisation erfolgte durch Aufnehmen in heißem Methanol und Zugabe von Wasser (Verh. Methanol/Wasser ungefähr 1:1 bis 1:2). Schmp. 206—207°.

Ein Vergleichspräparat wurde durch Acetylierung von *DL-Tryptophan* in natronalkalischer Lösung nach C. P. BERG und Mitarbb.¹¹⁾ erhalten und die Identität sichergestellt.

Bei Verwendung von *L-Tryptophan* war es von Vorteil, schon nach 2—3 Stdn. 1 ccm Wasser hinzuzugeben. Schmp. 187—189°. $[\alpha]_D^{20}$: $+25 \pm 2^\circ$ ($c = 1$, in Methanol).

N-Propionyl-tryptophan (VIc): 0.5 g *DL-Tryptophan* wurden in 15 ccm *Propionsäure-anhydrid* unter Erwärmen gelöst. Nachdem die Reaktionslösung einen Tag bei Raumtemperatur gestanden hatte, wurde 1 ccm Wasser zugegeben und i. Vak. auf etwa 2—3 ccm eingengt,

¹¹⁾ C. P. BERG, W. C. ROSE und C. S. MARVEL, J. biol. Chemistry **85**, 209 [1929].

wobei der größte Teil des Produktes in Kristallen ausfiel. Die überstehende Lösung wurde abgessogen, mit Toluol oder Xylol versetzt und im Exsikkator über Kaliumhydroxyd stehengelassen, wobei weitere Substanz ausfiel. Ausb. 0.53 g (88% d. Th.).

Zum Umkristallisieren wurde in wenig heißem Methanol aufgenommen und mit der gleichen bis doppelten Menge Wasser versetzt. Man kann VIc auch erst in wenig Propionsäure oder Methanol lösen und durch Zugabe von Xylol wieder kristallin abscheiden. Schmp. 163–164°. Bei Verwendung von L-Tryptophan als Ausgangsmaterial konnte optisch aktives VIc erhalten werden, welches bei 172–174° schmolz. $[\alpha]_D^{20}$: $+29 \pm 2^\circ$ ($c = 1$, in Methanol).

Ausgehend von *N*-Propionyl-tryptophan-azlacton, wurden 0.200 g dieser Verbindung in 3 ccm Propionsäure gelöst, zur Lösung wenig Wasser hinzugegeben und bei Raumtemperatur stehengelassen. Beim Aufbewahren der Reaktionslösung im Kühlschrank schied sich VIc kristallin ab. Ausgehend vom optisch aktiven Azlacton, ließ sich so ein sehr reines Produkt erhalten. Zur Erhöhung der Ausbeute wurde die überstehende Lösung wie beschrieben aufgearbeitet. Ausb. 0.183 g (85% d. Th.).

N-Trifluoracetyl-tryptophan (VI_d): 1 g Tryptophan in 40 ccm wasserfreiem Toluol wurde mit 1 ccm Trifluoressigsäure-anhydrid in 40 ccm wasserfreiem Toluol geschüttelt, wobei sich das Tryptophan sehr schnell unter schwacher Gelbfärbung weitgehend löste. Bald darauf trübte sich die anfangs klare Lösung, und es schieden sich feine, gelartig erscheinende Kristalle ab. Sie wurden sofort abfiltriert und mit Toluol und Petroläther (Sdp. 60–70°) gewaschen. Aus dem Filtrat schied sich dabei weiteres Reaktionsprodukt ab. Erhält man dabei ein öliges Produkt, so gießt man die überstehende Lösung ab, nimmt in Dioxan auf – nicht umgesetztes Tryptophan kann hier abgetrennt werden – und gibt nach Einengen i. Vak. Toluol zu, wobei sich die Substanz kristallin abzuscheiden beginnt. Ausb. 1.34 g (95% d. Th.). Nadelartige Balken oder Sternchen. Schmp. 152–154° (aus Toluol). Sie sind schwerlöslich in Toluol, Cyclohexan, Petroläther, leicht in Essigester und Dioxan. Beim Umlösen aus Wasser wurde das Hydrat erhalten, das in Übereinstimmung mit den von E. E. SCHALLENBERG und M. CALVIN¹²⁾ und F. WEYGAND und R. GEIGER¹³⁾ gefundenen Werten bei 161–163° schmolz.

Beim Einsatz von L-Tryptophan wurde optisch aktives *N*-Trifluoracetyl-tryptophan erhalten. $[\alpha]_D^{20}$: $+4.8^\circ$ ($c = 1$, in Methanol). Es wurde bei dessen Aufarbeitung nur das sofort ausfallende Produkt berücksichtigt^{13a)}.

N-Propionyl-tryptophan-azlacton (VIIc): 1 g Tryptophan wurde mit 7.5 ccm dest. Propionsäure-anhydrid und 0.350 g Pyridin, etwas weniger als bei der Reaktion freierdender Propionsäure entsprechend, versetzt. Nach Zugabe von Impfkristallen wurde bei Raumtemperatur unter öfterem Schütteln stehengelassen und das Fortschreiten der Reaktion mikroskopisch verfolgt. Sobald sich das Tryptophan bis auf geringfügige Reste umgesetzt hatte und Kristalle des Reaktionsproduktes gebildet waren, gewöhnlich nach 3–4 Stdn., wurde die Mischung stark gekühlt und anschließend sofort filtriert. Nach dem Waschen mit kaltem Essigester wurde aus diesem Lösungsmittel umkristallisiert. Impfkristalle wurden aus Reaktionslösungen bei ein- bis zweitägigem Aufbewahren spontan erhalten. Ausb. 0.771 g (65% d. Th.).

$C_{14}H_{14}N_2O_2$ (242.3) Ber. C 69.40 H 5.83 N 11.56

Gef.*) C 69.18, 69.25 H 5.91, 5.98 N 11.69, 11.17

*) bei 80° und 40° i. Hochvak. getrocknet.

$[\alpha]_D^{20}$: $-262 \pm 2^\circ$ ($c = 1$, in Dioxan).

¹²⁾ J. Amer. chem. Soc. 77, 2779 [1955].

¹³⁾ Chem. Ber. 89, 647 [1956].

^{13a)} Vgl. F. WEYGAND und A. RÖPSCH, Chem. Ber. 92, 2095 [1959] (erschienen während der Drucklegung der vorliegenden Mitteil.).

DL- und L-Verbindung schmolzen bei 146--148°. Mischungen beider Formen ergaben kleine Depressionen. Die Drehung mußte in Dioxan bestimmt werden, in Pyridin erfolgte bereits nach 3--4 Stdn. vollständige Racemisierung.

Bei der in üblicher Weise nach SCHOTTEN-BAUMANN vorgenommenen Propionylierung von Tryptophan wurde VIIc in wechselnder Ausbeute neben VIc erhalten. Die Trennung erfolgte durch Behandeln des Reaktionsproduktes mit Xylol, in welchem VIc schwer löslich ist. Die folgende Tabelle bringt R_F -Werte von VIIc im Vergleich mit denen von VIb, VIc und dem angenommenen *N*-Acetyl-tryptophan-azlacton (VIIb), welch letzteres bei der Einwirkung von Acetanhydrid auf Tryptophan beobachtet wurde.

Chromatographiergemische	R_F -Werte			
	VIb	VIc	VIIb	VIIc
3-proz. NH_4Cl	0.82	0.79	0.64	0.63
5-proz. Ammoniak	0.87	0.88	0.71	0.72
Isooctanol/Pentanol/Wasser/Formamid (6:2:8:2), zweiphasig	0.91	0.92	0.08	0.07
Pentanol/Wasser, zweiphasig	0.78	0.80	0.15	0.14
Butanol/Pyridin/Wasser (6:4:3)	0.98	0.93	0.63	0.62

N-Propionyl-tryptophyl-amid: 0.120 g *N*-Propionyl-tryptophan-azlacton wurden in einer ausreichenden Menge Äther gelöst und unter Eiskühlung trockenes Ammoniak eingeleitet. Bald begann sich die Lösung zu trüben, und wenig später schied sich das *N*-Propionyl-tryptophyl-amid in farblosen Nadelchen ab. Ausb. 0.104 g (81% d. Th.), Schmp. 180--181° (aus Essigester).

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$ (259.3) Ber. C 64.84 H 6.61 N 16.21 Gef.*) C 65.01 H 6.54 N 15.96

*) bei 80° i. Hochvak. getrocknet.

Die Verbindung ist in Äthanol oder Methanol leicht, in Essigester mäßig und in Wasser, Äther oder Petroläther schwer löslich.

Sie fluoresziert nur im kurzwelligen UV-Licht von 254 m μ schwach violett. R_F -Werte: 0.72 (in 3-proz. NH_4Cl -Lösung), 0.70 (in 5-proz. NH_3), 0.80 (Butanol/Pyridin/Wasser, 6:4:3), 0.36 (Pentanol/Wasser, zweiphasig).

N-Propionyl-tryptophyl-anilid: 0.120 g *N*-Propionyl-tryptophan-azlacton wurden in einer genügenden Menge feuchten Äthers gelöst, mit 0.5 ccm dest. Anilin versetzt und stehengelassen. Die Zugabe von ein wenig Aniliniumchlorid erwies sich dabei als günstig. Bald begann sich die Reaktionslösung zu trüben, und ein farbloser Niederschlag schied sich ab, der sich bei mehrtägigem Aufbewahren in Nadeln umwandelte. Das von der Mutterlauge abgegossene Kristallisat wurde in viel Äther gelöst, die Lösung wieder eingeengt und vorsichtig bis zur Trübung mit Petroläther (30--50°) versetzt. Beim starken Kühlen schied sich das Anilid in schönen Nadeln wieder ab. Aus der Mutterlauge wurde durch Einengen und Versetzen mit Äther und Petroläther weiteres Material gewonnen.

N-Propionyl-tryptophyl-anilid fällt als Hydrat an, und Spuren von Wasser sind für die Reaktion unbedingt erforderlich. Ausb. 0.133 g (76% d. Th.). Die Verbindung wies stets zwei Schmelzpunkte auf, von denen der niedrigere dem Hydrat zukommen dürfte. Der erste Schmelzpunkt schwankte zwischen 93° für kleine Kristalle und 128° für sehr große Kristalle. Zweiter Schmelzpunkt: 162--164°.

$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (353.4) Ber. N 11.89 Gef.*) N 11.86

*) bei 25° i. Hochvak. getrocknet.

$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2$ (335.4) Ber. C 71.62 H 6.31 N 12.53 Gef.*) C 71.35 H 6.38 N 12.58

*) bei 80° i. Hochvak. getrocknet.

Die Kristalle, sechseckige Prismen oder Balken, sind unlöslich in Wasser und Petroläther, in Alkoholen sind sie leicht, in Äther mäßig löslich.

R_F -Werte: 0.50 (3-proz. NH_4Cl -Lösung), 0.10 (Pentanol/Wasser, zweiphasig), 0.91 (Butanol/Pyridin/Wasser, 6:4:3).

N-Propionyl-tryptophyl-alanin: 0.184 g *N-Propionyl-tryptophan-azlacton* wurden in einer ausreichenden Menge Aceton gelöst. Weiter wurden 0.071 g *DL-Alanin* (etwas mehr als die benötigte Menge) in 5 ccm Wasser gelöst und mit 0.070 g trockenem Natriumhydrogencarbonat in das Natriumsalz übergeführt. Nach dem Zusammengeben beider Lösungen wurde, um alles Azlacton in Lösung zu halten, noch etwas Aceton hinzugegeben und die Mischung bei Raumtemperatur stengelassen. Nachdem eine völlige Umsetzung des Azlactons papierchromatographisch nachgewiesen worden war, wurde zur Trockne eingedampft, das zurückbleibende Natriumsalz in 50 ccm Wasser aufgenommen und über eine Austauschersäule genügender Kapazität (Amberlite IR 120 H^+ -Form) gegeben. Natriumionen und basische Verunreinigungen wurden zurückgehalten, während das Peptid in wäßriger Lösung durchlief.

Nach kurzer Zeit fielen aus der übersättigten Lösung balkenförmige Nadeln und Prismen aus; zum Teil waren beide Formen miteinander verwachsen, doch zeigten sie einen einheitlichen Schmelzpunkt. Ausb. 0.110 g (43 % d. Th.), Schmp. 199–200°.

Zum Umkristallisieren wurde in Essigester aufgenommen und Benzol hinzugegeben. Die Substanz fiel nun nur in Prismen an; Schmp. 201–202°. Umkristallisation aus Wasser ist, wenn auch weniger gut, gleichfalls möglich.

$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4$ (331.4) Ber. C 61.62 H 6.39 N 12.68 Gef. *) C 61.37 H 6.39 N 12.34

*) bei 80° i. Hochvak. getrocknet.

Zur Hydrolyse wurde die Verbindung 2 Stdn. mit 10-proz. Salzsäure auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nachdem von ausgefallenen Zersetzungsprodukten abfiltriert worden war, wurde die Papierchromatographie im Vergleich mit Alanin und Tryptophan in Butanol/Eisessig/Wasser (70:7:23) vorgenommen. Die Flecken wurden mit Ninhydrin angefärbt.

R_F -Werte				
Hydrolysat	(0.49)	0.39	0.20	(0.10)
Tryptophan		0.40		
Alanin			0.20	

Die Substanz ist leicht löslich in Alkoholen, in Wasser ist sie wenig, in Essigester mäßig löslich. R_F -Werte: 0.88 (5-proz. Ammoniak), 0.81 (3-proz. NH_4Cl -Lösung).

N-Propionyl-tryptophyl-aminoessigsäure-äthylester: 250 mg *N-Propionyl-tryptophan-azlacton* wurden in einer ausreichenden Menge Benzol aufgenommen und eine entsprechende Menge einer alkohol. Lösung von *Glycin-äthylester*, bereitet aus *Glycin-äthylester-hydrochlorid* und Natrium in Alkohol, hinzugegeben. Da das alkalische Milieu, bedingt durch den freien Glycinester, der Kondensation abträglich war, wurde noch etwas *Glycin-äthylester-hydrochlorid*, gelöst in Äthanol, hinzugegeben, bis etwa pH 7 erreicht war. Nach mehrstädigem Aufbewahren zeigte das Papierchromatogramm die Umsetzung des Azlactons und die Bildung zweier neuer Substanzen an. Nach dem Eindampfen zur Trockne hinterblieb ein gelber Schaum, der nach Aufnehmen in Benzol und Abfiltrieren des Ungelösten an wenig Aluminiumoxyd (neutral „Woelm“) adsorbiert und über 25 g Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Benzol/Chloroform 9:1, 4:1 und reines Chloroform lösten zunächst 5 mg ätherlösliche ölige Substanz ab. 70 mg kristallines Reaktionsprodukt wurden dann mit Chloroform/Methanol 97.5:2.5 und 95:5 eluiert. Reines Methanol löste eine ätherunlösliche, nicht um-

kristallisierbare Substanz ab. Das kristalline Reaktionsprodukt wurde in Benzol aufgenommen und mit Petroläther versetzt. Schmp. 101–102°.

Die Verbindung wurde in Prismen erhalten, während sie aus Äther/Petroläther in Nadeln ausfiel.

$C_{18}H_{23}N_3O_4$ (345.4) Ber. C 62.59 H 6.71 N 12.17 Gef. C 62.97, 63.09 H 6.98 N 11.87

Durch 3 stdg. Kochen mit 5-proz. Salzsäure wurde die Verbindung hydrolysiert und im Hydrolysat papierchromatographisch bei Verwendung von Butanol/Eisessig/Wasser (70:7:23) als Laufmittel Tryptophan und Glycin mit Ninhydrin nachgewiesen.

	<i>R_F</i> -Werte		
Hydrolysat	0.07	0.24	(0.52)
Glycin	0.07		
Tryptophan		0.24	

HEINRICH HAUPTMANN und PAULO ANA BOBBIO¹⁾

Notiz über 7-Mercapto-cholesterin

Aus dem Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras und dem Instituto Zimotécnico da Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz der Universität São Paulo, Brasilien

(Eingegangen am 8. Juni 1959)

7-Mercapto-cholesterin wurde durch Hydrogenolyse des aus 7-Brom-cholesterylbenzoat hergestellten 7-Acetylmercapto-cholesterylbenzoats erhalten. Seine Konfiguration am Kohlenstoff 7 wird diskutiert.

3-Mercapto-steroiden sind seit längerer Zeit bekannt²⁾, während 17-Mercapto-steroiden erst vor kurzem beschrieben worden sind³⁾. Vor einigen Jahren hat jedoch FREDERIKSEN⁴⁾ ein 7-Mercapto-cholesterin durch Reduktion des durch direkte Rhodanierung von Cholesterin mit Rhodan unter UV-Bestrahlung dargestellten 7-Rhodan-cholesterins erhalten.

Im Rahmen unserer Untersuchungen über geschwefelte Steroide haben wir 7 α -Brom-cholesterylbenzoat⁵⁾ mit Kaliumthioacetat zu 7-Acetylmercapto-cholesterylbenzoat vom

¹⁾ Teil der voraussichtlichen Dissertat. P. A. BOBBIO, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo.

²⁾ TH. WAGNER-JAUREGG und T. LENNARTZ, Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 27 [1941]; A. MÜLLER und E. BÁTÝKA, Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 705 [1941]; L. C. KING, J. Amer. chem. Soc. **70**, 7176 [1948]; J. W. RALLS, R. M. DODSON und B. RIEGEL, J. Amer. chem. Soc. **71**, 3320 [1949]; J. STRATING und H. J. BACKER, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **69**, 638, 909 [1950]; J. BERNSTEIN und K. J. SAX, J. org. Chemistry **16**, 679 [1951]; J. A. K. BUISMAN und P. WESTERHOF, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **71**, 592 [1952]; PHILIPS' GLOELAMPENFABRIEKEN, Engl. Pat. 681216, 681217; C. A. **47**, 12429, 12430 [1953]; R. BOURDON, Bull. Soc. chim. France **1958**, 722, 1117.

³⁾ R. M. DODSON und P. B. SOLLMAN, Amer. Pat. 2763669; C. A. **51**, 5134a [1957].

⁴⁾ E. FREDERIKSEN und Sv. LIISBERG, Chem. Ber. **88**, 648 [1955].

⁵⁾ a) A. E. BIDE, H. B. HENBEST, E. R. H. JONES, R. W. PEEVERS und P. A. WILKINSON, J. chem. Soc. [London] **1948**, 1783; b) H. SCHALTEGGER, Helv. chim. Acta **33**, 2101 [1950]; **34**, 1096 [1951].