

FRIEDRICH WEYGAND*) und WOLFGANG SWODENK

N-Trifluoracetyl-aminosäuren, XVI¹⁾

***N*-TFA-Aminosäure-hydrazide aus den Methylestern und Diketopiperazinbildung aus *N*-TFA-Dipeptid-methylestern mit Hydrazin**

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität Berlin

(Eingegangen am 3. Mai 1960)

Herrn Professor Dr. Fritz Micheel zum 60. Geburtstag

N-TFA-Aminosäure-methylester¹⁾ geben bei der Hydrazinolyse in 50–70-proz. Ausbeute *N*-TFA-Aminosäure-hydrazide, *N*-TFA-Dipeptid-ester hingegen im allgemeinen Diketopiperazine. Lediglich bei einem am Aminoende sterisch stark gehinderten *N*-TFA-Dipeptid-ester, wie *N*-TFA-Valyl-alanin-methylester, bildet sich in 40–60-proz. Ausbeute ein *N*-TFA-Dipeptid-hydrazid.

Da nach F. WEYGAND und R. GEIGER¹⁾ die optisch aktiven *N*-TFA-Aminosäure-methylester vieler Aminosäuren aus Proteinhydrolysaten leicht zugänglich sind, wurde geprüft, ob sich diese ohne Umwandlung in die freien Aminosäuren in solche Derivate überführen lassen, die für Peptidsynthesen wertvoll sind. Es wurde schon berichtet, daß man durch Erhitzen mit Methanol-HCl leicht die Aminosäure-methylester-hydrochloride erhält. Ein weiteres Beispiel dieser Art ist im Versuchsteil aufgeführt. Hingegen war nicht von vornherein klar, ob bei der Umsetzung der *N*-TFA-Aminosäure-methylester mit Hydrazin nur *N*-TFA-Aminosäure-hydrazide entstehen oder ob außer der Hydrazinolyse der Estergruppe auch der *N*-TFA-Rest abgespalten wird.

Es zeigte sich, daß mit wasserfreiem Hydrazin allein oder in wenig Methanol bei 48stdg. Aufbewahren bei Raumtemperatur 50 bis 70% d. Th. an *N*-TFA-Aminosäure-hydraziden erhalten werden. Daneben bilden sich die freien Aminosäure-hydrazide. Diese können durch fraktionierte Sublimation oder bei größeren Ansätzen mit Hilfe eines schwach saueren Ionenaustauschers abgetrennt werden, da sie viel basischer sind als die *N*-TFA-Aminosäure-hydrazide.

In bekannter Weise können die *N*-TFA-Aminosäure-hydrazide über die Azide mit Aminosäureestern zu *N*-TFA-Dipeptid-estern umgesetzt werden²⁾. Es fragte sich nun, ob auch diese unter Erhaltung der Trifluoracetyl-amid-Gruppierung eine Hydrazinolyse der Estergruppierung erleiden. Aus den untersuchten *N*-TFA-Dipeptid-methylestern (von L-Leucyl-L-prolin, L-Prolyl-L-leucin und Glycyl-L-alanin) entstanden mit wasserfreiem Hydrazin in wenig Methanol jedoch in 70–85-proz. Ausbeuten die entsprechenden Diketopiperazine. Dies bedeutet, daß der Trifluoracetyl-rest schneller abgespalten wird als die Estergruppe eine Hydrazinolyse erleidet. Die

*) Neue Anschrift: Organisch-Chemisches Institut der Technischen Hochschule München.

¹⁾ XV. Mitteil.: F. WEYGAND und R. GEIGER, Chem. Ber. **92**, 2099 [1959].

²⁾ Sie lassen sich auch mit Tritylchlorid in die *N*-TFA-Aminosäure-tritylhydrazide (F. WEYGAND und W. STEGLICH, Chem. Ber. **92**, 313 [1959]) verwandeln.

Dipeptid-methylester kondensieren dann in üblicher Weise zu Diketopiperazinen. Lediglich *N*-TFA-*L*-Valyl-*L*-alanin-methylester ging zu 40–60% in *N*-TFA-*L*-Valyl-*L*-alanin-hydrazid über. In diesem Falle geht also die Hydrazinolyse der Estergruppe schneller vor sich als diejenige der $F_3CCO-NH$ -Gruppierung infolge der sterischen Hinderung durch die Isopropylgruppe des Valylrestes. Daß aus *N*-TFA-Aminosäure-methylestern in beträchtlichem Umfange die *N*-TFA-Aminosäure-hydrazide entstehen, muß auf einer Aktivierung der Estergruppe durch den induktiven Effekt der Trifluormethylgruppe beruhen. In den *N*-TFA-Dipeptid-estern kann sich dieser Effekt infolge der Zwischenschaltung einer $-CO-NHCHR$ -Gruppe nicht mehr auswirken.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE*)

L-Leucin-methylester-hydrochlorid aus *N*-TFA-*L*-Leucin-methylester: 18.7 g (77 mMol) *N*-TFA-*L*-Leucin-methylester wurden mit 150 ccm absol. Methanol unter Durchleiten eines HCl-Stromes gekocht. Es wurde sodann i. Vak. zur Trockne gebracht und das Eindampfen nach Zusatz von absol. Methanol mehrmals wiederholt. Nach dem Umfällen aus Methanol + Äther lagen 11.1 g (79% d. Th.) an *L*-Leucin-methylester-hydrochlorid, Schmp. 138–140° (wie Lit.³⁾⁾ vor.

N-TFA-*L*-Valin-hydrazid: 0.567 g (2.5 mMol) *N*-TFA-*L*-Valin-methylester wurden mit 0.120 g (0.119 ccm, 1.5–2.5 mMol) wasserfreiem Hydrazin 48 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen. Unter 14 Torr wurden nichtverbrauchtes Hydrazin und evtl. unumgesetzter Ester abdestilliert. Die zurückbleibende Kristallmasse wurde im waagerechten Rohr mit Temperaturgefälle sublimiert (10^{-4} Torr, 160° an der heißesten Stelle). Ausb. 0.380 g (67% d. Th.) *N*-TFA-*L*-Valin-hydrazid, Schmp. 178–179°, das zur Analyse nochmals sublimiert wurde, Schmp. 180°, $[\alpha]_D^{20}$: -55.5° ($c = 1.8$, in absol. Methanol).

$C_7H_{12}F_3N_3O_2$ (227.2) Ber. C 37.00 H 5.33 N 18.50 Gef. C 37.06 H 5.28 N 18.68

N-TFA-*L*-Valin-hydrazid-hydrochlorid, mit alkohol. Salzsäure erhalten, Schmp. und Misch-Schmp. 197°.

L-Valin-hydrazid: Bei der voranstehend beschriebenen Sublimation schlug sich in den kälteren Teilen des Rohres ein Öl nieder, das allmählich kristallisierte: 0.044 g (13.4% d. Th.), Schmp. 74–76°, $[\alpha]_D^{20}$: $+42.5^\circ$ ($c = 1$, in absol. Methanol).

$C_5H_{13}N_3O$ (131.2) Ber. C 45.77 H 10.00 Gef. C 46.30 H 10.49

Weitere Versuche zur Darstellung von *N*-TFA-*L*-Valin-hydrazid aus *N*-TFA-*L*-Valin-methylester unter veränderten Reaktionsbedingungen

<i>N</i> -TFA- <i>L</i> -Valin-methylester mMol	wasser- freies Hydrazin mMol	absol. Äthanol ccm	Stdn. bei 20°	Ausbeute in % d. Th. an <i>N</i> -TFA- <i>L</i> -Valin- hydrazid	% d. Th. an <i>L</i> -Valin- hydrazid
2.5	10	10	45	32	8
2.5	60	—	45	16	70
2.5	5	—	16	51	39

N-TFA-*L*-Leucin-hydrazid-hydrochlorid: 27.5 g (0.114 Mol) *N*-TFA-*L*-Leucin-methylester wurden mit 4.38 g (1.2–0.114 Mol) wasserfreiem Hydrazin 48 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen. Nicht verbrauchtes Hydrazin wurde unter 14 Torr abdestilliert. Der ölige

*) Für die Mikroanalysen danken wir Frl. Dr. U. FAASS bestens.

³⁾ E. ABDERHALDEN und H. SPINNER, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 107, 5 [1919].

Rückstand wurde in 400 ccm Alkohol/Wasser (1:1 vol.) gelöst und bis zum Erreichen neutraler Reaktion mit Amberlite XE 64 versetzt. Die i. Vak. eingedampfte Lösung wurde mit äthanol. Salzsäure versetzt. Ausb. 16.16 g (51% d. Th.), zunächst glasig und hygroskopisch. Nach mehrfachem Umkristallisieren aus absol. Essigester Schmp. 121–125°, $[\alpha]_D^{20}$: –28.9° ($c = 1.73$, in Wasser).

$C_8H_{14}F_3N_3O_2 \cdot HCl$ (277.6) Ber. C 34.61 H 5.44 Cl 12.77 Gef. C 34.32 H 5.66 Cl 12.14

L-Leucin-hydrazid: Das beim voranstehenden Versuch auf dem Austauscher haftende L-Leucin-hydrazid wurde mit verd. Ammoniak eluiert. Im Hochvak. doppelt sublimiert, Schmp. 47–48°, $[\alpha]_D^{25}$: +21.9° ($c = 0.80$, in Wasser).

N-TFA-L-Prolin-hydrazid: 0.372 g (1.65 mMol) *N-TFA-L-Prolin-methylester* wurden durch leichtes Erwärmen geschmolzen und nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur mit 0.0582 g (0.0577 ccm = 1.1 · 1.65 mMol) wasserfreiem Hydrazin versetzt. Nach 15 Min. langem Schütteln wurde 48 Stdn. bei Raumtemperatur stengelassen. Nach dem Abdestillieren der leicht flüchtigen Bestandteile wurde das verbleibende Öl im waagerechten Rohr mit Temperaturgefälle unter 10^{-4} Torr (heißeste Stelle 160°) sublimiert. Um ein Verlaufen der einzelnen Zonen zu vermeiden, wurde ein gewelltes Rohr verwendet: Sublimationsrückstand 0.015 g (4%, bezogen auf eingesetzten Ester). Es destillierten ab: 0.190 g (51% d. Th.) *N-TFA-L-Prolin-hydrazid* als glasig erstarrendes Öl und 0.066 g (40% d. Th.) *L-Prolin-hydrazid*. Zur Analyse wurde das *N-TFA-L-Prolin-hydrazid* durch Kochen in wasserfreiem Aceton in das *Isopropyliden-N-TFA-L-prolin-hydrazid* verwandelt. Aus Alkohol Schmp. 178–180°, $[\alpha]_D^{25}$: –39.0° ($c = 0.90$, in Aceton).

$C_{10}H_{14}F_3N_3O_2$ (265.2) Ber. C 45.28 H 5.32 N 15.85 Gef. C 45.63 H 5.54 N 16.30

N-TFA-L-Prolin-hydrazid-hydrochlorid wurde mit alkohol. Salzsäure erhalten und mit Äther gefällt. Es ist sehr hygroskopisch und zeigt keinen scharfen Schmelzpunkt. Bei 80° tritt Zers. unter Gasentwicklung ein. $[\alpha]_D^{20}$: –30.0° ($c = 1.66$, in 1 *n* HCl).

$C_7H_{10}F_3N_3O_2 \cdot HCl$ (261.4) Ber. Cl 13.55 Gef. Cl 13.77

Zur Gewinnung größerer Mengen *N-TFA-L-Prolin-hydrazid* wird analog zur Darstellung des oben beschriebenen *N-TFA-L-Leucin-hydrazids* die Reinigung über Ionenaustauscher vorgenommen. Man erhielt so aus 29.5 g (0.131 Mol) *N-TFA-L-Prolin-methylester* und 4.62 g (4.57 ccm = 1.1 · 0.131 Mol) wasserfreiem Hydrazin nach 48stdg. Aufbewahren bei Raumtemperatur 17.6 g (51.5%) *N-TFA-L-Prolin-hydrazid-hydrochlorid*. Das gleichzeitig entstandene *L-Prolin-hydrazid* wurde durch Hydrolyse mit Salzsäure in *L-Prolin* verwandelt, das vom freigesetzten Hydrazin durch Adsorption an Dowex 50 und Elution des Prolins mit verd. Ammoniak getrennt wurde.

N-TFA-L-Valin-tritylhydrazid aus N-TFA-L-Valin-hydrazid: 0.454 g (2 mMol) *N-TFA-L-Valin-hydrazid* wurden in 10 ccm absol. Tetrahydrofuran mit 0.556 g (2 mMol) *Triphenylchlormethan* und 0.33 ccm Triäthylamin (2 mMol) versetzt und 15 Stdn. bei Raumtemperatur stengelassen. Es schieden sich 0.264 g (96% d. Th.) an Triäthylamin-hydrochlorid aus. Das Filtrat wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand in Essigester aufgenommen und mit 0.5 *n* HCl, 3-proz. Natriumhydrogencarbonatlösung und mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen mit Natriumsulfat wurde der Essigester abdestilliert und der Rückstand aus Benzol/Petroläther umkristallisiert: 0.67 g (71% d. Th.) *N-TFA-L-Valin-tritylhydrazid*, Schmp. und Misch-Schmp. 174–176° (wie Lit.²⁾, ebenso wie optische Drehung).

N-TFA-L-Leucyl-L-prolin-methylester nach der Azid-Methode: Eine Lösung von 6.93 g (25 mMol) *N-TFA-L-Leucin-hydrazid-hydrochlorid* in 25 ccm 1 *n* HCl und 5 ccm Eisessig versetzte man mit 200 ccm Essigester, kühlte mit einer Eis-Kochsalzmischung und fügte

innerhalb von 15 Min. unter Rühren die Lösung von 1.90 g (1.1·25 mMol) *Natriumnitrit* in wenig Wasser hinzu. Nach der Trennung der Phasen wurde die wäßrige Schicht mit weiterem Essigester ausgezogen. Die vereinigten Essigesterlösungen wurden mit Eiswasser, kalter Natriumhydrogencarbonatlösung und wieder mit Eiswasser gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Der aus 4.98 g (1.2·25 mMol) *L*-Prolin-methylester-hydrochlorid mit Triäthylamin in Chloroform freigemachte *L*-Prolin-methylester (Triäthylamin-hydrochlorid wurde abfiltriert und das Chloroform i. Vak. verdampft) wurde zugefügt, worauf zunächst 14 Stdn. im Eisschrank und nochmals 14 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen wurde.

Zur Aufarbeitung¹ wurde die Essigesterlösung zunächst mit 1 *n* HCl, gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung und mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und der Essigester i. Vak. abdestilliert. Nach Umkristallisation aus Äthanol/Wasser Ausb. 5.90 g (70% d. Th.) *N*-TFA-*L*-Leucyl-*L*-prolin-methylester, Schmp. 87–89°. Zur Analyse wurde i. Hochvak. sublimiert, Schmp. 89–91°, $[\alpha]_D^{20}$: –88.4° (*c* = 2.00, in absol. Alkohol).

$C_{14}H_{21}F_3N_2O_4$ (338.3) Ber. C 49.72 H 6.26 N 8.28 Gef. C 49.93 H 6.35 N 8.37

N-TFA-*L*-Prolyl-*L*-leucin-methylester wurde nach der Azid-Methode analog der voranstehenden Verbindung aus 9.15 g (35 mMol) *N*-TFA-*L*-Prolin-hydrazid-hydrochlorid und 7.63 g (1.2·35 mMol) *L*-Leucin-methylester-hydrochlorid erhalten. Ausb. an zunächst öligere Verbindung 8.3 g (70% d. Th.). Nach der Destillation unter 10^{-3} Torr (Bad 90°) erfolgte an einem geheizten Kühlfinger (50°) Kristallisation; Schmp. 97–98°. Zur Analyse wurde eine Probe nochmals i. Hochvak. sublimiert. $[\alpha]_D^{20}$: –71.5° (*c* = 1.36, in absol. Alkohol).

$C_{14}H_{21}F_3N_2O_4$ (338.3) Ber. C 49.72 H 6.26 N 8.28 Gef. C 50.09 H 6.46 N 8.18

Umsetzung von *N*-TFA-Dipeptid-methylestern mit Hydrazin

<i>N</i> -TFA-Dipeptid-methylester von	mMol	Hydrazin mMol	Methanol ccm	Reaktionszeit bei 20° Stdn.	<i>N</i> -TFA-Dipeptid-hydrazid % d. Th.	Entsprechendes Diketopiperazin % d. Th.
<i>L</i> -Valyl- <i>L</i> -alanin	2	3.4	1	45	40–60	58–40
<i>L</i> -Prolyl- <i>L</i> -leucin	2.32	3.7	1	48		84
<i>L</i> -Leucyl- <i>L</i> -prolin	1.77	2.84	1	48		86
Glycyl- <i>L</i> -alanin-äthylester)	2.49	4.98	1	48		69

Zur Aufarbeitung wurden die leichtflüchtigen Bestandteile i. Vak. abdestilliert und der Rückstand im waagerechten Rohr mit Temperaturgefälle i. Hochvak. sublimiert (Temp. an der heißesten Stelle 200°). Die Diketopiperazine sublimierten ab und das *N*-TFA-Dipeptid-hydrazid blieb zurück.

© Verlag Chemie, GmbH. 1960

Verantwortlich für den Inhalt: Prof. Dr. Rudolf Criegee, Karlsruhe. Redaktion: Dr. Wilhelm Merz, München. Verantwortlich für den Anzeigenteil: W. Thiel. Verlag Chemie, GmbH. (Geschäftsführer Eduard Kreuzhage), Weinheim/Bergstr., Pappelallee 3 · Fernsprecher Sammelnummer 3635 · Fernschreiber 04 65516 chemieverl wnh. Telegramm-Adresse: Chemieverlag Weinheimbergstr.

Gesetzt aus der Monotype-Times-Schrift; Druck: Buchdruckerei Dr. Alexander Krebs, Weinheim/Bergstr. Printed in Germany. Alle Rechte, auch die der Übersetzung sowie der photomechanischen Wiedergabe sind vorbehalten. — All rights reserved (including those of translations into foreign languages). No part of this issue may be reproduced in any form, by photoprint, microfilm, or any other means, without written permission from the publishers. — Preis jährlich DM 190. — zuzügl. Versandgebühren; Einzelheft DM 16. — Die Bezugsbedingungen für die Mitglieder der Gesellschaft Deutscher Chemiker werden auf Anfrage von der Geschäftsstelle, Frankfurt/M., Haus der Chemie, Karlstraße 21, mitgeteilt. — Zahlungen an: Verlag Chemie, GmbH., Weinheim/Bergstr. — Postcheckkonten: Frankfurt a. M. Nr. 145314, Berlin-West Nr. 7430, Wien 108750, Zürich VIII 47055, Stockholm 74137. Banken: Dresdner Bank AG., Mannheim, P 2, 10/13, Volksbank eGmbH., Deutsche Bank AG., Weinheim/Bergstr. — Abbestellungen nur bis spätestens 6 Wochen vor Ablauf des Kalenderjahres. Gerichtsstand und Erfüllungsort Weinheim/Bergstr. Lieferung erfolgt auf Rechnung und Gefahr des Empfängers.