

erhitzt; dabei schied sich langsam Triäthylamin-hydrochlorid aus. Nach dem Erkalten wurde in der üblichen Weise aufgearbeitet. Aus dem alkalischen Auszuge konnten 0,3 g (7%) Carbobenzoxylglycin durch Ansäubern zurückgewonnen werden. Der Neutralteil war ein Öl (5,2 g), welches aus Äther-Petroläther kristallisiert wurde: 4,1 g (83%) farblose Kristalle (Smp. 62–63°) von Carbobenzoxyl-glycin-cyanmethylester. Zur Analyse wurde eine Probe zweimal aus Äther umkristallisiert; der Smp. blieb unverändert 69–70°.

$C_{12}H_{12}O_4N_2$  Ber. N 11,29% Gef. N 11,09%

Carbobenzoxylglycin-cyanmethylester (I), Methode II: 20,9 g (0,1 Mol) Carbobenzoxylglycin wurden mit 21 ml (0,15 Mol) Triäthylamin übergossen, wobei unter Erwärmung eine viskose Masse entstand. Zugabe von 19,1 ml (0,3 Mol) Chloracetonitril liess eine Lösung entstehen, welche sich spontan auf 50–60° erwärmt. Die Mischung wurde ½ Std. auf 70° erwärmt, wobei sie sich gelb färbte und etwas Triäthylamin-hydrochlorid ausschied. Nach üblicher Aufarbeitung wurde ein fast farbloses, kristallierendes Öl erhalten, welches aus Äther 23,4 g (94%) Carbobenzoxylglycin-cyanmethylester in farblosen, tafelförmigen Kristallen vom Smp. 69–70° lieferte. Misch-Smp. mit dem Analysenpräparate (Smp. 69–70°) ohne Depression.

Die Elementaranalysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung unter der Leitung von Herrn Dr. H. Gysel ausgeführt.

#### SUMMARY.

The syntheses of a number of crystalline *cyanomethyl esters* and of some other activated esters of aminoacid and peptide derivatives are described.

Forschungslaboratorien der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel  
Pharmazeutische Abteilung.

## 10. Über aktivierte Ester.

### III. Umsetzungen aktivierter Ester von Aminosäure- und Peptid-Derivaten mit Aminen und Aminosäureestern

von R. Schwyzer, M. Feurer und B. Iselin.

(19. XI. 54.)

Um die weitere Anwendbarkeit der aktivierten Ester für die Synthese von Amiden und Peptiden zu prüfen, haben wir die in der letzten Mitteilung<sup>1)</sup> beschriebenen Verbindungen mit verschiedenen Aminen und Aminosäureestern umgesetzt.

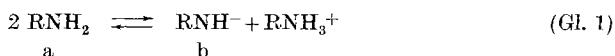
Die Cyanmethylester reagierten mit Benzylamin in Essigesterlösung bereits bei Zimmertemperatur, und die Ausbeuten an Säureamid betrugen meistens über 90% (Tab. 1, Nr. I–IV). Wie zu erwarten war, übten weder die Seitenkette des Aminosäurerestes noch

<sup>1)</sup> R. Schwyzer, M. Feurer, B. Iselin & H. Kägi, *Helv.* **38**, 80 (1955). Die IV. Mitt. ist Prof. A. I. Virtanen gewidmet und erscheint in den Annalen der Finnischen Akademie der Wissenschaften (Festschrift *Virtanen*).

der am Stickstoff haftende Substituent einen wesentlichen Einfluss auf den Verlauf der Reaktion und auf die Ausbeute aus. Sogar der Di-cyanmethylester der p-Nitrobenzoyl-L-glutaminsäure reagierte ohne weiteres zum Diamid (IV). Weniger reaktionsfähig waren die beiden Carbäthoxymethyl-ester (V und VI) sowie der p-Nitrobenzyl-ester, der erst in siedendem Essigester eine befriedigende Ausbeute ergab (VII).

In einigen Versuchen mit Cyanmethylestern wurde der Anwendungsbereich in bezug auf das Amin festgelegt. Nach den heutigen Vorstellungen über die Aminolyse von Estern hängt die Reaktionsgeschwindigkeit stark von der Basizität der Amine und von den sterischen Verhältnissen ab<sup>1)</sup>. Die Reaktionsbedingungen, welche wir anwenden mussten, und die Ausbeuten, welche mit verschiedenen Aminen erzielt wurden, entsprechen durchaus diesen Erwartungen (Tab. 2). Primäre aliphatische Amine, wie Isopropylamin (VIII), Cyclohexylamin (IX) und Äthylendiamin (X) reagierten bei Zimmertemperatur mit ähnlichen Ausbeuten wie Benzylamin. Dagegen lieferte das schwächer basische Anilin erst bei längerem Erhitzen eine ansehnliche Ausbeute an Hippursäureanilid (XI). Ähnlich verhielten sich die sterisch gehinderten sekundären Amine: Piperidin bedurfte ebenfalls höherer Temperatur für die Umsetzung<sup>2)</sup> (XII) und Diäthylamin reagierte bei Zimmertemperatur nur in geringem Masse (XIII).

An den beiden Beispielen der Reaktion von Hippursäure-cyanmethylester mit Anilin und mit Diäthylamin wurde die Katalyse durch Basen und Säuren untersucht (Tab. 3). *R. L. Betts & L. P. Hammett*<sup>3)</sup> deuteten ihre kinetischen Befunde dahin, dass neben dem freien Amin (a, Gl. 1, in ihrem Falle Ammoniak) die durch intermolekulare Protonverschiebung in kleiner Menge entstehende Imin-Anion-Form (b, Gl. 1) als nucleophiles Reagens in der Aminolyse von Estern eine wichtige Rolle spielt und zur beobachtbaren Reaktionsgeschwindigkeit einen bedeutenden Beitrag liefert.



Damit wird auch die Katalyse der Reaktion durch Alkoholat verständlich. In unserem Falle liess sich die Umsetzung von Anilin mit Hippursäure-cyanmethylester durch Zugabe einer äquivalenten Menge der stärkeren Base Triäthylamin verbessern (XV, vgl. XIV).

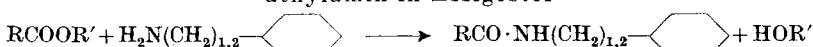
<sup>1)</sup> Vgl. E. McC. Arnett, J. G. Miller & A. R. Day, J. Amer. chem. Soc. **72**, 5635 (1950); F. H. Wetzel, J. G. Miller & A. R. Day, ibid. **75**, 1150 (1953).

2) Nach E. McC. Arnett, J. G. Miller & A. R. Day, J. Amer. chem. Soc. **73**, 5393 (1951), reagiert Piperidin ebenso schnell mit Phenylacetat wie Äthylamin. Dieser abweichende Befund lässt sich vielleicht durch besonders günstige räumliche Verhältnisse des Acetylrestes erklären.

<sup>3)</sup> J. Amer. chem. Soc., **59**, 1568 (1937).

Tabelle 1.

Umsetzungen verschiedener aktivierter Ester mit Benzylamin und Phenyläthylamin in Essigester



Cbo = Carbobenzoxy-, p-Nbz = p-Nitrobenzoyl-, Nebo = p-Nitrocacbonyloxy-.

Nr.	Aktivierter Ester + Amin	Smp., des Amids	Reaktions-		Molverh. Ester/ Amin	Aus- beute %
			Dauer (Std.)	Temp.		
I	Cbo-glycin-cyanmethylester + Benzylamin	114°	1	20°	1:1	90
II	Tosylglycin-cyanmethylester + Benzylamin	115° <sup>1)</sup>	1	20°	1:1	92
III	N,O-Di-cbo-L-tyrosin-cyanmethylester + Benzylamin	190° <sup>2)</sup>	5	20°	1:2	93
IV	p-Nbz-L-glutaminsäure-dicyanmethylester + Benzylamin	220° <sup>3)</sup>	15	20°	1:10	89
V	Tosyl-DL-methionin-carbäthoxymethylester + Phenyläthylamin	96° <sup>4)</sup>	5	20°	1:2	84
VI	N,O-Di-cbo-L-tyrosin-carbäthoxymethylester + Benzylamin	190° <sup>2)</sup>	5	20°	1:2	33
VII	Nebo-DL-leucin-p-nitrobenzylester + Benzylamin	131° <sup>5)</sup>	5	77°	1:2	68

Natriummethylat dagegen ( $1/5$  äquivalent) verschlechterte die Ausbeute, was wohl auf Umesterung zum inaktiven Hippursäure-methylester zurückzuführen ist. Entsprechend der grösseren Basizität des Diäthylamins liess sich seine Reaktion mit Hippursäure-cyanmethylester durch Zusatz von Triäthylamin nicht katalysieren. Auch die Anwendung eines grossen Überschusses von Diäthylamin führte zu keiner wesentlichen Verbesserung der Ausbeute (XXIII, vgl. XIII).

*L. F. Audrieth und Mitarbeiter<sup>6)</sup> haben eine katalytische Wirkung von Säuren (besonders der Essigsäure) auf die Ammonolyse und*

<sup>1)</sup> Tosylglycin-benzylamid krist. aus Alkohol.  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{N}_2\text{S}$ : ber. N 8,80%; gef. N 8,72%.

<sup>2)</sup> Dicarbobenzoxy-L-tyrosin-benzylamid krist. aus Aceton-Äther.  $[\alpha]_D^{21} = +1^{\circ}$  (c = 1 in  $\text{CHCl}_3$ ).  $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{N}_2$ : ber. N 5,20%; gef. N 5,46%.

<sup>3)</sup> p-Nitrobenzoyl-L-glutaminsäure-dibenzylamid krist. aus Dimethylformamid-Acetonitril.  $[\alpha]_D^{22} = +12^{\circ}$  (c = 1,1 in Dimethylformamid).  $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{N}_4$ : ber. C 65,81, H 5,52, N 11,81%; gef. C 65,80, H 5,53, N 11,60%.

<sup>4)</sup> Tosyl-DL-methionin-phenyläthylamid krist. aus Äther-Petroläther und aus Aceton-Äther.  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{N}_2\text{S}_2$ : ber. N 6,88%; gef. N 6,89%.

<sup>5)</sup> p-Nitrocacbonyloxy-DL-leucin-benzylamid krist. aus Äther und aus Aceton-Äther.  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{N}_3$ : ber. N 10,52%; gef. N 10,29%.

<sup>6)</sup> L. L. Fellinger & L. F. Audrieth, J. Amer. chem. Soc. **60**, 579 (1938); L. F. Audrieth & J. Kleinberg, J. Org. Chemistry **3**, 312 (1938); P. K. Glasoe, J. Kleinberg & L. F. Audrieth, J. Amer. chem. Soc. **61**, 2387 (1939).

Tabelle 2.

Umsetzungen von Cyanmethylestern mit verschiedenen Aminen in Essigester.

Nr.	Reaktionsprodukt	Smp.	Reaktions-		Molverh. Ester/ Amin	Aus- beute %
			Dauer (Std.)	Temp.		
VIII	Hippursäure-isopropylamid <sup>1)</sup>	186°	5	20°	1:1,2	95
IX	Hippursäure-cyclohexylamid <sup>2)</sup>	162°	5	20°	1:1,2	92
X	N,N'-Di-carbobenzoxyglycyl-äthylen- diamin <sup>3)</sup>	201°	23	20°	1:0,6	71
XI	Hippursäureanilid	215°	24	77°	1:4	63 <sup>4)</sup>
XII	Phtalyl- $\beta$ -alanin-piperidid <sup>5)</sup>	138°	3	60°	1:2,4	85
XIII	Hippursäurediäthylamid <sup>6)</sup>	—	5	20°	1:1,2	<5 <sup>4)</sup>

Aminolyse von Estern in flüssigem Ammoniak und in n-Butylamin gefunden, welche in Übereinstimmung war mit Beobachtungen von *A. I. Shatenshtein*<sup>7)</sup> am System Santonin-flüssiger Ammoniak. *S. L. Jung, J. G. Miller & A. R. Day*<sup>8)</sup> haben eine ähnliche Wirkung von Säuren in Lösungen von Phenyl-äthylamin und Essigsäure-methyl-ester in Wasser-Dioxan, Methanol-Dioxan und Methanol-Cyclohexan nachgewiesen. Diese Befunde widersprachen denen von *R. L. Betts & L. P. Hammett*<sup>9)</sup>, welche bei der Ammonolyse verschiedener Ester in Methanolösung eine Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit durch Ammoniumsalz beobachteten. Bei unsren Reaktionen von Hippursäure-cyanmethylester mit Anilin (XVII, XVIII, XXI, XXII) und mit Diäthylamin (XXIV) war die Verbesserung des Umsatzes durch Säuren, besonders durch Essigsäure, sehr ausgeprägt.

<sup>1)</sup> Krist. aus Aceton.  $C_{12}H_{10}O_2N_2$ : ber. C 65,43, H 7,32, N 12,72%; gef. C 65,46, H 7,26, N 12,57%.

<sup>2)</sup> Krist. aus Aceton-Äther.  $C_{15}H_{20}O_2N_2$ : ber. N 10,76%; gef. N 10,79%.

<sup>3)</sup> Krist. aus Acetonitril-Wasser.  $C_{22}H_{26}O_6N_4$ : ber. C 59,72, H 5,92, N 12,66%; gef. C 59,59, H 6,02, N 12,85%. Die Gesamtausbeute, ausgehend von Carbobenzoxy-glycin, betrug 59%; nach der gemischten Anhydrid-Methode (vgl. *R. A. Boissonnas*, *Helv.* **34**, 874 (1951)) wurden, vergleichsweise, nur 43% erhalten.

<sup>4)</sup> Vgl. Tab. 3.

<sup>5)</sup> Krist. aus Methylenechlorid-Petroläther.  $C_{16}H_{18}O_3N_2$ : ber. C 67,11, H 6,34, N 9,78%; gef. C 66,86, H 6,34, N 9,52%.

<sup>6)</sup> Isolierung durch Destillation, Sdp. 148—155°/0,01 mm. Krist. aus Aceton-Äther.  $C_{13}H_{18}O_2N_2$ : ber. N 11,96%; gef. N 11,69%; die Verbindung ist schon von *Ch. Gränacher*, *Helv.* **8**, 211 (1925), beschrieben worden.

<sup>7)</sup> *J. Amer. chem. Soc.* **59**, 432 (1937).

<sup>8)</sup> *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 4664 (1953).

<sup>9)</sup> *J. Amer. chem. Soc.* **59**, 1568 (1937).

**Tabelle 3.**  
Säure- und Basenkatalyse der Aminolyse von Hippursäure-cyanmethylester.

Nr.	Amin	Lösungsmittel	Molverh. Ester/ Amin	Ester (Mol/l)	Katalysator (Mol/l)	Reaktions- zeit (Std.)		Ausbeute %
						Reaktions- zeit (Std.)	Temp.	
XIV	Anilin	Essigester	1:4	0,5	—	5	77°	5
XV	Anilin	Essigester	1:4	0,5	Triäthylamin 0,5	5	77°	50
XVI	Anilin	Essigester	1:4	0,5	NaOCH <sub>3</sub> 0,1	5	77°	1
XVII	Anilin	Essigester	1:4	0,5	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,01	5	77°	5—17
XVIII	Anilin	Essigester	1:4	0,5	Eisessig 0,01	5	77°	63
XIX	Anilin	Anilin	1:10	1	—	5	95°	58—65
XX	Anilin	Anilin	1:10	1	—	2	95°	23
XXI	Anilin	Anilin	1:10	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,02	2	95°	24
XXII	Anilin	Anilin	1:10	1	Eisessig 0,02	2	95°	96
XXIII	Diäthylamin	Diäthylamin	1:20	0,5	—	5	55°	~ 51)
XXIV	Diäthylamin	Diäthylamin	1:20	0,5	Eisessig 0,02	3	55°	~ 341)

<sup>1)</sup> Wegen Verlusten bei der Aufarbeitung dürfte die wirkliche Ausbeute um 20—50% der angegebenen Werte grösser sein.

Ausser mit primären aliphatischen Aminen reagieren die Cyanmethylester mit Aminosäureestern in erstaunlich guten Ausbeuten zu Peptidderivaten. Die Ergebnisse sind in Tab. 4 zusammengestellt.

Tabelle 4.

Umsetzungen aktivierter Ester mit Aminosäureestern in Essigester<sup>1)</sup>



Nr.	Aktivierter Ester + Aminosäureester	Smp. ([α] <sub>D</sub> ) des Prod.	Reaktions-		Mol- verh. Ester/ Amin	Aus- beute %
			Dauer (Std.)	Temp.		
XXIV	Hippursäure-cyanmethylester + Glycinäthylester	117°	2,5	20°	1:2	94
XXV	p-Neko-DL-leucin-cyanmethylester <sup>2)</sup> + Glycinäthylester	91°	2	20°	1:2	72
XXVI	N,O-Dicbo-L-tyrosin-cyanmethylester + Glycinäthylester	165° (-2° <sup>3)</sup>	8	20°	1:2	94
XXVII	Tosyl-L-glutamin-cyanmethylester + Glycinäthylester	170° (-2°)	2	77°	1:2	90
XXVIII	Cbo-glycyl-DL-alanylglycincyanmethylester <sup>2)</sup> + Glycine-methylester	145°	20	20°	1:1,8	92
XXIX	Hippursäure-cyanmethylester + O-Benzoyl-L-tyrosin-äthylester	148° (+27°)	10 bis 60	20°	1:1,3	>95
XXX	Hippursäure-cyanmethylester + L-Isoleucin-äthylester	Öl, Sdp. 195—200°/ 0,01 (+15°)	24	20°	1:1,2	90
XXXI	Hippursäure-cyanmethylester + L-Tyrosin-äthylester	— <sup>4)</sup>	24	20°	1:1,2	~90
XXXII	N,O-Dicbo-L-tyrosin-cyanmethylester <sup>2)</sup> + DL-Leucin-äthylester	160° (-1,4°)	48	20°	1:1,1	71

Es erwies sich als vorteilhaft, mit relativ konzentrierten Lösungen zu arbeiten und besonders bei Umsetzungen zwischen Reaktionsteil-

<sup>1)</sup> Für weitere Einzelheiten und Literaturangaben vgl. exp. Teil.

<sup>2)</sup> Cbo = Carbobenzoxy-, p-Neko = p-Nitrocobenzoxy-.

<sup>3)</sup> Verseifung und Decarbobenzoxylierung ergab L-Tyrosylglycin,  $[\alpha]_D^{23} + 70^\circ$  ( $c = 3$ , in Wasser). *E. Abderhalden & A. Bahn*, Z. physiol. Chem. **219**, 72 (1933), fanden  $[\alpha]_D^{20} = +69,6^\circ$  ( $c = 3$ , in Wasser); *S. Simmonds, E. L. Tatum & J. S. Fruton*, J. biol. Chemistry **169**, 91 (1947) fanden  $[\alpha]_D^{25} = +65,9^\circ$  ( $c = 2$ , in Wasser) für das HCl-Salz.

<sup>4)</sup> Der erhaltene Ester wurde sofort weiter verseift zu Hippuryl-L-tyrosin, Smp. 199—200°,  $[\alpha]_D = +56^\circ$  ( $c = 1$ , in 1-n. NaOH), vgl. exp. Teil.

nehmern, deren Aminosäurereste grössere Seitenketten aufweisen<sup>1)</sup>, die Reaktionsdauer auszudehnen (XXXII). Auch Carbobenzoxy-glycyl-DL-alanylglycin-cyanmethylester liess sich leicht mit Glycin-äthylester umsetzen (XXVIII). Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, mit Hilfe der aktivierten Ester auf einfache Weise Peptide aufzubauen.

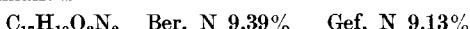
### Experimenteller Teil.

Die übliche Aufarbeitung auf Neutralteile umfasste Verdünnen mit Essigester auf ein handliches Volumen, Waschen mit verdünnter Salzsäure, verdünnter Natrium-hydrogencarbonat-Lösung und Wasser, Trocknen der organischen Phase über Natrium-sulfat, Filtration und Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum.

Die Smp. ( $\pm 2^\circ$ ) wurden in einer Kapillare im Heizblock bestimmt.

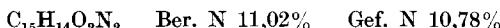
Analysenpräparate wurden mindestens 2 Std. bei  $10^{-2}$  bis  $10^{-3}$  mm Hg über  $P_2O_5$  getrocknet. Die Temperatur lag zwischen 20 und  $100^\circ$ , je nach Smp. der betreffenden Substanz.

Carbobenzoxyglycin-benzylamid (I): 1,24 g (0,005 Mol) Carbobenzoxy-glycin-cyanmethylester, 0,53 g (0,005 Mol) Benzylamin, 10 ml Essigester, bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach 10 Min. begann die Kristallisation des Reaktionsproduktes. Nach insgesamt 30 Min. wurden 1,2 g (80%) Carbobenzoxyglycin-benzylamid abfiltriert, Smp.  $109$ – $111^\circ$  (bei längerem Stehen erhöhte sich die Ausbeute bis über 90%). Nach 2 Kristallisationen aus Aceton-Äther Smp.  $113,5$ – $114^\circ$ . unlöslich in Wasser, verd. Säuren und verd. Alkalien.



Die Beispiele Nr. II bis X und XII, sowie XXIII und XXIV wurden auf prinzipiell gleiche Weise ausgeführt; die nötigen experimentellen Angaben sind aus den Tab. 1, 2 und 3 ersichtlich.

Hippursäureanilid<sup>2)</sup> (XI, XIV–XXII): 1,1 g (0,005 Mol) Hippursäure-cyanmethylester, 1,66 g (0,02 Mol) Anilin, 10 ml Essigester, 24 Std. am Rückfluss gekocht. Beim Abkühlen schieden sich 0,81 g (63%) Hippursäureanilid aus, Smp.  $208$ – $210^\circ$ . Die Analysenprobe wurde mehrmals aus Äthanol umkristallisiert, Smp.  $211$ – $212^\circ$  (Lit.  $208,5^\circ$ <sup>3)</sup>).



Die übrigen, in den Tab. 2 und 3 angegebenen Ansätze wurden ähnlich ausgeführt. Wo das Reaktionsprodukt nicht von selbst auskristallisiert, wurde es durch Lösen in Essigester auf übliche Weise isoliert. Die Ausbeuten beziehen sich auf kristallisiertes Anilid mit Smp. mindestens  $205^\circ$ .

Hippurylglycin-äthylester (XXIV)<sup>4)</sup>: 2,18 g (0,01 Mol) Hippursäure-cyanmethylester, 2,06 g (0,02 Mol) Glycin-äthylester<sup>5)</sup>, 20 ml Essigester,  $2\frac{1}{2}$  Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde ein Rückstand erhalten, der aus Äther 2,4 g (94%) Hippurylglycin-äthylester ergab; Smp.  $104$ – $105^\circ$ . Die Analysenprobe wurde aus Wasser umkristallisiert, Smp.  $116$ – $117^\circ$  (Lit.  $117^\circ$ ).



1,68 g (0,012 Mol) Glycin-äthylester-hydrochlorid wurden in 20 ml Acetonitril suspendiert und mit 2,02 g (0,02 Mol) Triäthylamin unter Erwärmen ( $50^\circ$ ) und Schütteln in Lösung gebracht. Nach dem Kühlen auf Zimmertemperatur wurden 2,18 g (0,01 Mol) Hippursäure-cyanmethylester zugegeben und die Mischung 6 Std. bei Zimmertem-

<sup>1)</sup> Verschiedene Einflüsse auf die Reaktionsgeschwindigkeit, darunter auch sterische, sollen noch eingehender untersucht werden.

<sup>2)</sup> Th. Curtius, J. prakt. Chem. [2] **52**, 257 (1895).

<sup>3)</sup> Vgl. R. A. Boissonas, Helv. **34**, 874 (1951).

<sup>4)</sup> Th. Curtius, J. prakt. Chem. [2] **26**, 192 (1882); **70**, 77, 194 (1904); E. Fischer, Ber. deutsch. chem. Ges. **38**, 605 (1905).

<sup>5)</sup> E. Fischer, Ber. deutsch. chem. Ges. **34**, 433 (1901).

peratur aufbewahrt. Nach der üblichen Aufarbeitung wurden 2,1 g (80%) kristalliner Hippurylglycin-äthylester erhalten.

*p*-Nitrocarbobenzoxy-DL-leucylglycin-äthylester (XXV): 1,75 g (0,005 Mol) *p*-Nitrocarbobenzoxy-DL-leucin-cyanmethylester, 1,03 g (0,01 Mol) Glycin-äthylester, 10 ml Essigester, 2 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Lösung wurde mit Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand, 2,58 g, wurde aus Äther kristallisiert; 1,11 g (56%), Smp. 90–91°. Aus der Mutterlauge wurden nach dem Einengen nochmals 0,3 g kristallisiertes Material, Smp. 90–91°, gewonnen, wodurch die Ausbeute sich auf 72% erhöhte. Das Material war bereits sehr rein, nach zweimaliger Kristallisation aus Alkohol-Äther war der Smp. nicht erhöht.

$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{O}_8\text{N}_3$  Ber. N 10,63% Gef. N 10,76%

N, O-Dicarbobenzoxy-L-tyrosylglycin-äthylester (XXVI): 3,90 g (0,0073 Mol) N, O-Dicarbobenzoxy-L-tyrosin-cyanmethylester, 1,55 g (0,015 Mol) Glycin-äthylester, 10 ml Essigester, bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach etwa 1 Std. begann sich eine Kristallmasse abzuscheiden, welche nach 3 Std. die ganze Lösung durchsetzte. Nach insgesamt 8 Std. wurde abfiltriert; 2,35 g, Smp. 142–144°. Aus der Mutterlauge wurden, nach der üblichen Aufarbeitung, durch Kristallisation des Rückstandes aus Essigester weitere 1,65 g erhalten. Ausbeute: 4,0 g (94%). Der N, O-Dicarbobenzoxy-L-tyrosylglycin-äthylester wurde dreimal aus Aceton-Äther umkristallisiert, Smp. 164–165°.  $[\alpha]_D^{21} = -2^\circ \pm 1^\circ$  (c = 4,0 in  $\text{CHCl}_3$ ).

$\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{O}_8\text{N}_2$  Ber. C 65,16 H 5,66 N 5,24% Gef. C 65,34 H 5,45 N 5,23%

Tosyl-L-glutaminylglycin-äthylester (XXVII): 1,02 g (0,003 Mol) Tosyl-L-glutamin-cyanmethylester und 0,62 g (0,006 Mol) Glycin-äthylester wurden in 15 ml Essigester heiß gelöst und 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde darauf i. V. verdampft und der kristalline Rückstand aus Acetonitril und aus Acetonitril-Essigester umkristallisiert. Es wurden so 1,0 g (90%) Tosyl-L-glutaminylglycin-äthylester, Smp. 162,5–163°, erhalten. Eine Probe wurde mehrmals aus reinem Acetonitril umkristallisiert, Smp. 169–170°.  $[\alpha]_D = -2^\circ$  (c = 1,0 in Dimethylformamid).

$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{O}_6\text{N}_3\text{S}$  Ber. C 49,86 H 6,02 N 10,90% Gef. C 50,10 H 6,21 N 11,16%

Carbobenzoxy-glycyl-DL-alanylglycylglycin-methylester (XXVIII): 50 mg (1,3·10<sup>-4</sup> Mol) Carbobenzoxy-glycyl-DL-alanylglycin-cyanmethylester wurden in eine Lösung von 30 mg (2,4·10<sup>-4</sup> Mol) Glycin-methylester-hydrochlorid in 0,5 ml Acetonitril und 3 Tropfen Triäthylamin eingetragen. Nach 20 Std. bei 20° wurde das Lösungsmittel verdampft und der Rückstand aus heißem Wasser umkristallisiert. Kristallisation aus 1,5 ml Methanol ergab 50 mg (92%) farblose, mikroskopische Kristallnadeln; Smp. 144–145°, in siedendem Aceton fast unlöslich.

$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{N}_4$  Ber. C 52,93 H 5,92% Gef. C 52,79 H 5,75%

N-Hippuryl-O-benzoyl-L-tyrosin-äthylester (XXIX): 1,4 g (0,004 Mol) O-Benzoyl-L-tyrosin-äthylester-hydrochlorid<sup>1)</sup> wurden in 50 ml Äther suspendiert, auf 0° gekühlt und mit 4 ml 1-n. NaOH unter Kühlung geschüttelt. Die Ätherlösung wurde getrocknet, auf ca. 3 ml eingeengt und mit einer Lösung von 0,66 g (0,003 Mol) Hippursäure-cyanmethylester in 5 ml Essigester versetzt. Nach 60 Std.<sup>2)</sup> Stehen bei Zimmertemperatur wurde wie üblich aufgearbeitet. Der kristalline Rückstand wurde mit Äther ausgewaschen; 1,42 g (100%), Smp. 120–123°; zweimal aus Aceton umkristallisiert: Smp. 147–148°.  $[\alpha]_D^{21} = +27^\circ \pm 1^\circ$  (c = 4,86 in  $\text{CHCl}_3$ ).

$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{N}_2$  Ber. N 5,90% Gef. N 6,17%

Hippuryl-L-isoleucin-äthylester (XXX): 0,55 g (0,0025 Mol) Hippursäure-cyanmethylester und 0,48 g (0,003 Mol) L-Isoleucin-äthylester<sup>3)</sup> wurden in 1 ml Essigester

<sup>1)</sup> C. R. Harington & R. V. Pitt, Biochem. J. **38**, 417 (1944).

<sup>2)</sup> Die Reaktionszeit kann ohne merkliche Verringerung der Ausbeute auf ca. 10 Std. reduziert werden.

<sup>3)</sup> Hergestellt analog F. Röhmann, Ber. deutsch. chem. Ges. **30**, 1978 (1897), und E. Fischer, ibid. **34**, 433 (1901).

gelöst und 24 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach Verdünnen mit Essigester wurde die Lösung mit 1-n. HCl, 2-n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der ölige Rückstand wurde bei  $10^{-2}$  mm Hg destilliert, wobei die Hauptmenge (0,72 g entspr. 90%) bei  $195-200^\circ$  destillierte. Zur Analyse wurde nochmals destilliert, wobei bei  $195-200^\circ$  0,65 g (81%) analysenreines Produkt erhalten wurden.

$[\alpha]_D^{21} = +15^\circ (\pm 1^\circ)$  (c = 4,12 in  $\text{CHCl}_3$ ).

$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{N}_2$  Ber. C 63,73 H 7,55 N 8,74%

Gef. „ 63,77 „ 7,36 „ 8,50%

N-Hippuryl-L-tyrosin (XXXI): 0,54 g (0,0025 Mol) Hippursäure-cyanmethyl-ester, 0,63 g (0,003 Mol) L-Tyrosin-äthylester<sup>1)</sup>, 1 ml Essigester, 24 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Übliche Aufarbeitung liefert ein nichtdestillierbares Öl (Sdp.  $> 250^\circ$  bei 0,02 mm Hg). Ausbeute: 0,92 g (ca. 90–100%). Das Öl wurde mit überschüssiger 0,5-n. Natronlauge bei Zimmertemperatur geschüttelt, bis alles gelöst war. Das Verseifungsprodukt wurde mit verdünnter Salzsäure als Öl ausgefällt, mit Wasser gewaschen und mit Essigester verrieben. Es wurden so 0,6 g (69%) N-Hippuryl-L-tyrosin, Smp. 190–192°, erhalten. Viermal aus Aceton umkristallisiert, Smp.  $199-200^\circ$ ; leicht löslich in  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, unlöslich in verdünnter HCl.  $[\alpha]_D^{21} = +56^\circ \pm 4^\circ$  (c = 1,03 in 1-n. NaOH).

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2$  Ber. N 8,18% Gef. N 8,10%

N, O-Dicarbobenzoxy-L-tyrosyl-DL-leucin-äthylester (XXXII): 0,98 g (0,002 Mol) N,O-Dicarbobenzoxy-L-tyrosin-cyanmethylester, 0,64 g (0,004 Mol) DL-Leucinäthylester<sup>2)</sup>, 2 ml Essigester, 40 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach Verdünnen mit Essigester wurde wie üblich aufgearbeitet. Der viskose Rückstand (1,2 g) kristallisierte auf Zusatz von Äther; 0,78 g (66%), Smp 152–154°; aus der Mutterlauge wurden weitere 60 mg, Smp. 151–153°, erhalten. Gesamtausbeute 71%. Das Präparat wurde zweimal aus Aceton-Äther umkristallisiert; Smp. 159–160°.  $[\alpha]_D^{21} = -1,4^\circ \pm 1^\circ$  (c = 4,99 in  $\text{CHCl}_3$ ).

$\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{O}_8\text{N}_2$  Ber. C 67,10 H 6,49 N 4,74%

Gef. „ 67,22 „ 6,24 „ 4,96%

0,49 g (0,001 Mol) N,O-Dicarbobenzoxy-L-tyrosin-cyanmethylester, 0,175 g (0,0011 Mol) DL-Leucinäthylester, in wenig Essigester gelöst, wurden 48 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach Verdampfen des Lösungsmittels im Vakuum wurde wie üblich aufgearbeitet. Ausbeute: 0,44 g (75%), Smp. 152–154°.

Bei der Verwendung von 1,5 ml Acetonitril wurde eine Ausbeute von 0,45 g (76%) erzielt, Smp. 152–154°.

Die Elementaranalysen wurden in unseren mikroanalytischen Laboratorien unter der Leitung von Herrn Dr. H. Gysel durchgeführt.

#### SUMMARY.

A number of activated esters of amino acid and peptide derivatives were reacted with various organic amines, including amino acid esters. The good yields obtained, and the mild reaction conditions make it seem possible that the activated ester method of acylation may be of good use in peptide synthesis. Aminolysis by aromatic amines and by secondary amines proceeds only slowly, but the reaction can be greatly facilitated through the catalytic action of strong tertiary amines and of acids.

Forschungslaboratorien der *CIBA-Aktiengesellschaft*, Basel,  
Pharmazeutische Abteilung.

<sup>1)</sup> Vgl. E. Fischer, Ber. deutsch. chem. Ges. **34**, 451 (1901).

<sup>2)</sup> Vgl. Anmerkung 3, Seite 90.