

217. Synthese von Carbobenzoxy-dipeptid-p-nitrophenylestern

Über aktivierte Ester IX¹⁾

von **B. Iselin** und **R. Schwyzer**

(20. VIII. 60)

Im Anschluss an unsere früheren Arbeiten über die Herstellung von N-Acylaminosäure-arylestern mittels Diarylsulfiten oder Triarylphosphiten¹⁾ haben wir diese Veresterungsmethode auf Carbobenzoxy-dipeptide übertragen. Ein wesentliches Ziel dieser Untersuchung war die Abklärung der Frage, ob und in welchem Ausmaße Racemisierungerscheinungen auftreten würden, da schon verschiedentlich darauf hingewiesen worden ist²⁾, dass N-acylierte Di- und höhere Peptide eine grössere Racemisierungstendenz zeigen als N-Acyl-aminosäuren.

Die Veresterung von Carbobenzoxy-S-benzyl-L-cysteinyl-L-tyrosin³⁾ mit Di-p-nitrophenyl-sulfit (Methode A) in Pyridin bei Zimmertemperatur (a) oder in Essigester/Pyridin bei 50° (b) ergab rasch und in guter Ausbeute den entsprechenden p-Nitrophenylester (Tabelle I), dessen optische Reinheit durch Rückverseifung zum Carbobenzoxy-dipeptid sichergestellt werden konnte.

Im Gegensatz dazu verlief die Veresterung von Carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosin⁴⁾ mittels der Sulfitmethode (A) unter gleichen Bedingungen (a und b) sehr langsam und lieferte einen stark racemisierten p-Nitrophenylester (Tabelle I). Auch das nicht umgesetzte Ausgangsmaterial, das sich aus den Ansätzen zurückgewinnen liess, war teilweise racemisiert. In Parallelversuchen wurde festgestellt, dass die optische Reinheit von Carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosin bei mehrstündigem Erhitzen in Pyridin unverändert blieb, aber in Gegenwart von Di-p-nitrophenyl-sulfit (ohne Pyridin) rasch absank (Tabelle I). Die Sulfitmethode führte in diesem Falle offensichtlich zu ähnlichen Racemisierungerscheinungen, wie sie von KENNER⁵⁾ beim Umsatz von N-Acyl-dipeptiden mit Diphenylsulfit beobachtet worden sind.

Auch andere Methoden, die zur Herstellung von N-Acylaminosäure-arylestern vorgeschlagen worden sind, versagten bei der Veresterung von Carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosin; so lieferte der Umsatz mit p-Nitrophenol in Gegenwart von Di-cyclohexyl-carbodiimid⁶⁾ (Methode B) wiederum einen weitgehend racemisierten p-Nitrophenylester. Die Racemisierung wird somit nicht ausschliesslich durch das verwendete Reagens ausgelöst, sondern ist auch weitgehend von der Struktur des

¹⁾ VIII. Mitteilung: B. ISELIN, W. RITTEL, P. SIEBER & R. SCHWYZER, Helv. 40, 373 (1957).

²⁾ Z. B. a) H. D. SPRINGALL & H. D. LAW, Quart. Reviews 10, 230 (1956); b) H. SCHWARZ & F. M. BUMPUS, J. Amer. chem. Soc. 81, 890 (1959).

³⁾ C. R. HARINGTON & R. V. PITRIVERS, Biochem. J. 38, 417 (1944); B. ISELIN, M. FEURER & R. SCHWYZER, Helv. 38, 1508 (1955).

⁴⁾ R. SCHWYZER, B. ISELIN, H. KAPPELER, B. RINKER, W. RITTEL & H. ZUBER, Helv. 41, 1273 (1958); siehe auch 2b).

⁵⁾ G. W. KENNER, Angew. Chem. 71, 741 (1959).

⁶⁾ D. F. ELLIOTT & D. W. RUSSELL, Biochem. J. 66, 49P (1957); M. BODANSKY & V. DU VIGNEAUD, J. Amer. chem. Soc. 81, 5688 (1959).

eingesetzten Peptidderivats abhängig. Auf die – wahrscheinlich sterisch bedingte – besonders hohe Racemisierungstendenz von L-Tyrosin in L-Valyl-L-tyrosin-Derivaten haben SCHWARZ & BUMPUS^{2a)} in anderem Zusammenhange hingewiesen.

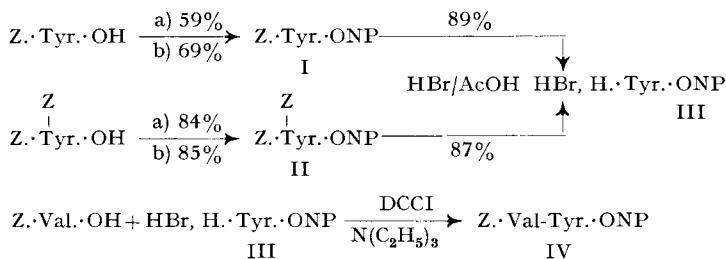
Tabelle I. Optische Reinheit von Carbobenzoxy-dipeptid-p-nitrophenylestern

p-Nitrophenylester	Synth. Methode	Ausbeute %	$[\alpha]_D$ in AcOH	Z.-Dipeptid aus Ester $[\alpha]_D$ in Pyridin
Bz	A A A (ohne Pyr.) B C	a) 81; b) 83	-21,5°	-17,5° (Lit. -17°) ³⁾
Z.-Cys-Tyr.-ONP			-11°	+5° (Lit. +26°) ⁴⁾
Z.-Val-Tyr.-ONP		a) 15; b) 60	-	+16° (regenerierte Säure)
		-	-	
Z.-Ser-Tyr.-ONP		68	-10,6°	+3,6°
		34	-33,7°	+19,6°
		60	-30,1° (MeOH)	in optisch reines Z.-Ser-Tyr-Ser.-OCH ₃ übergeführt

Z = Carbobenzoxy; Bz = Benzyl; NP = p-Nitrophenyl

Als weitere Möglichkeit zur Herstellung eines optisch reinen Carbobenzoxy-dipeptid-p-nitrophenylesters untersuchten wir die Kondensation von Carbobenzoxy-L-valin mit L-Tyrosin-p-nitrophenylester nach der von GOODMAN & STUEBEN⁷⁾ vorgeschlagenen Methode (C).

Methode C:



Z = Carbobenzoxy

NP = p-Nitrophenyl

DCCI = Dicyclohexyl-carbodiimid

a) Sulfitmethode

b) p-Nitrophenol + DCCI

Die optische Reinheit der Zwischenprodukte I⁸⁾ und II wurde durch Rückverseifung zu den entsprechenden Säuren, diejenige von III durch Verseifung zu L-Tyrosin bewiesen. Die niedrige Ausbeute an p-Nitrophenylester IV (Tabelle I, C) war wahrscheinlich dadurch bedingt, dass infolge der bekannten Reaktionsträgheit von Valin-Derivaten (sterische Hinderung) die Kondensation von Carbobenzoxy-L-valin mit L-Tyrosin-p-nitrophenylester relativ langsam verlief und dementsprechend als Konkurrenzreaktion die Polykondensation des L-Tyrosin-p-nitrophenylesters begünstigt wurde. Die Drehungswerte des nach dieser Methode gewonnenen kristal-

⁷⁾ M. GOODMAN & K. C. STUEBEN, J. Amer. chem. Soc. 81, 3980 (1959).

⁸⁾ CH. J. MARTIN, J. GOLUBOW & A. E. AXELROD, J. biol. Chemistry 234, 294, 1718 (1959) geben $[\alpha]_D = -16,3^\circ$ (c = 1 in Aceton) an; wir fanden $[\alpha]_D = -8,1^\circ$ (c = 1 in Aceton).

linen Carbobenzoxy-dipeptid-p-nitrophenylesters IV waren bedeutend höher als diejenigen der nach der Sulfit- oder Carbodiimid-Methode hergestellten p-Nitrophenylester, doch ergab die Verseifung wiederum teilweise, wenn auch weniger stark racemisiertes Carbobenzoxy-valyl-tyrosin (Tabelle I). Da eine partielle Racemisierung während der Verseifung unwahrscheinlich ist (Carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosin-methyl- oder -äthylester liefern unter gleichen Bedingungen optisch reines Material⁴), muss angenommen werden, dass der p-Nitrophenylester IV wiederum teilweise racemisiert war, obschon die Carboxylfunktion des C-terminalen Tyrosins bei dieser Methode (C) keine Veränderung erfuhr.

Tabelle II. UV.-Absorption von *p*-Nitrophenylestern

<i>p</i> -Nitrophenylester	λ_{\max} $m\mu$	ϵ	Lösungsmittel
Z·Tyr·ONP ⁸⁾	270	11250	Methanol
Z			
Z·Tyr·ONP	268	10650	Methanol
HBr, H·Tyr·ONP.	268	10650	Äthanol
Z·Val·ONP ¹⁾	268	11250	Methanol
Bz			
Z·Cys·ONP ¹⁾	268	11150	Methanol
Bz			
Z·Cys-Tyr·ONP	270	10570	Tetrahydrofuran
Z·Val-Tyr·ONP	270	10500	Methanol
(nach Methode C)			
Z·Ser-Tyr·ONP.	272	9700	Methanol
<hr/>			
p-Nitrophenol	320	11400	Methanol
	400	18700	Methanol + NaOCH ₃
<hr/>			
Z = Carbobenzoxy; Bz = Benzyl; NP = <i>p</i> -Nitrophenyl			

Diese an sich überraschende Beobachtung wurde an einem weiteren Beispiel überprüft. Carbobenzoxy-L-serin lieferte beim Umsatz mit L-Tyrosin-p-nitrophenylester einen amorphen Carbobenzoxy-dipeptid-p-nitrophenylester, aus dem sich nur mühsam der reine kristalline Carbobenzoxy-L-seryl-L-tyrosin-p-nitrophenylester isolieren liess (Tabelle I). Die Kondensation von hochgereinigtem Material mit L-Serin-methylester ergab den bekannten reinen Carbobenzoxy-L-seryl-L-tyrosyl-L-serin-methylester⁹⁾¹⁰⁾. Wurde jedoch nur teilweise gereinigter Carbobenzoxy-dipeptid-p-nitrophenylester verwendet oder das Dipeptidderivat ohne Isolierung⁷⁾ direkt mit L-Serin-methylester umgesetzt, so konnte kein reines Tripeptidderivat isoliert werden. Wir nehmen an, dass diese Resultate auf eine partielle Racemisierung bei der Bildung des Carbobenzoxy-dipeptid-p-nitrophenylesters zurückzuführen sind.

Die beschriebenen Beispiele zeigen, dass bei den bekannten Methoden zur Herstellung von Carbobenzoxy-dipeptid-p-nitrophenylestern Racemisierungserscheinungen auftreten können. Eine zuverlässige Wahrung der optischen Reinheit wird

⁹⁾ K. HOFMANN, A. JÖHL, A. F. FURLENMEIER & H. KAPPELER, J. Amer. chem. Soc. 79, 1636 (1957).

¹⁰⁾ ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, Helv. 41, 1852 (1958).

daher nur in denjenigen Fällen zu erwarten sein, in denen eine Racemisierung der C-terminalen Aminosäure von Di- und höheren Peptiden ausgeschlossen ist (Glycin, Prolin¹¹).

Die im Verlaufe dieser Untersuchung hergestellten und einige früher beschriebene Aminosäure- und Dipeptid-p-nitrophenylester zeigten die für die p-Nitrophenylestergruppe typische UV.-Absorption⁸) bei 268–270 m μ , deren Lage von der des p-Nitrophenols deutlich verschieden ist (Tabelle II). Die Bestimmung der UV.-Absorption lieferte bei der Charakterisierung, Reinheitsprüfung und bei der Verfolgung der Verseifungsgeschwindigkeit von p-Nitrophenylestern wertvolle Aufschlüsse.

Experimenteller Teil¹²)

*Di-p-nitrophenyl-sulfit*¹³). Die Herstellung dieser Verbindung ist in verschiedenen Laboratorien auf Schwierigkeiten gestossen; wir verwenden folgende Methode: In eine Lösung von 27,8 g (0,2 Mol) p-Nitrophenol und 11,9 g (7,2 ml; 0,1 Mol) frisch destilliertem Thionylchlorid in 100 ml trockenem Äther werden 20,2 g (28 ml; 0,2 Mol) Triäthylamin in 20 ml Äther bei 0° unter Rühren innert 15 Min. getropft. Das Reaktionsgemisch wird 2 Std. bei Raumtemperatur gerührt, dann auf ca. 5° gekühlt, und das ausgeschiedene Gemisch von Di-p-nitrophenyl-sulfit und Triäthylaminhydrochlorid wird unter möglichstem Feuchtigkeitsausschluss rasch abgenutscht und mit kaltem Äther gewaschen. Nach kurzem Trocknen im Vakuum wird das Gemisch in 150 ml Eiswasser suspendiert, das kristalline Reaktionsprodukt abgenutscht, mit kaltem Wasser gewaschen, darauf in 100 ml kaltem Alkohol suspendiert, wiederum abfiltriert und mit kaltem Alkohol und Äther gewaschen: bräunliche Kristalle vom Smp. 85–90°; Ausbeute 23–27 g. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Acetonitril farblos und rein, Smp. 104–106°; Ausbeute 17–20 g (50–60%); unbeschränkt haltbar bei 0°; langsame Zersetzung bei Zimmertemperatur.

N-Carbobenzoxy-L-tyrosin-p-nitrophenylester. – a) 3,15 g (10 mMol) Carbobenzoxy-L-tyrosin¹⁴), $[\alpha]_D^{29} = +10,3^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 3,7$ in Eisessig); $= +54,3^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,0$ in Chloroform), werden in 10 ml trockenem Pyridin gelöst und nach Zugabe von 3,56 g (11 mMol) Di-p-nitrophenyl-sulfit 3 Std. bei 20° stehengelassen. Die bräunlich gefärbte Reaktionslösung wird darauf im Vakuum bei max. 40° zum Sirup eingeengt, der Rückstand in Essigester aufgenommen und die Lösung unter Eiskühlung mit 1N Salzsäure, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand liefert beim Verreiben mit Essigester/Äther 3,10 g kristallines Material; nach Umkristallisieren aus Essigester 2,59 g (59%), Smp. 155–157°; $[\alpha]_D^{27} = -8,3^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 4,0$ in Aceton), $-12,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,5$ in Eisessig).

C₂₃H₂₀O₇N₂ (436,4) Ber. C 63,30 H 4,62 N 6,42% Gef. C 63,10 H 4,69 N 6,29%

b) Durch Umsatz von Carbobenzoxy-L-tyrosin mit p-Nitrophenol in Gegenwart von Dicyclohexyl-carbodiimid⁸): Smp. 155–156°; $[\alpha]_D^{27} = -8,1^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,0$ in Aceton). Literaturwert⁸): Smp. 157–158°; $[\alpha]_D^{28} = -16,3^\circ$ ($c = 1$ in Aceton).

Verseifung des p-Nitrophenylesters (zur Prüfung der optischen Reinheit): Eine Lösung von 218 mg (0,5 mMol) N-Carbobenzoxy-L-tyrosin-p-nitrophenylester in 1,5 ml Dioxan und 1,5 ml 1N Natronlauge wird 1 Std. bei 20° stehengelassen, dann mit 0,8 ml 1N Salzsäure neutralisiert und durch Einengen im Vakuum vom Dioxan befreit. Die konzentrierte Lösung wird mit wenig Wasser verdünnt, mit Essigester extrahiert (Entfernung von p-Nitrophenol) und mit Salzsäure angesäuert. Das als Öl ausgeschiedene Carbobenzoxy-L-tyrosin kristallisiert beim Verreiben bei 0°: 125 mg (79%); nach Umfällen aus ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung/1N Salzsäure: $[\alpha]_D^{25} = -55,7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,0$ in Chloroform); optisch rein.

¹¹) Siehe z. B. R. SCHWYZER & P. SIEBER, Helv. 40, 624 (1957).

¹²) Die angegebenen Smp. sind in einer Kapillare im Heizbad bestimmt und nicht korrigiert.

¹³) M. M. RICHTER, Ber. deutsch. chem. Ges. 49, 2339 (1916); vgl. auch Ref. 1.

¹⁴) M. BERGMANN & L. ZERVAS, Ber. deutsch. chem. Ges. 65, 1192 (1932).

N,O-Dicarbobenzoxy-L-tyrosin-p-nitrophenylester. – a) Umsatz von *N,O-Dicarbobenzoxy-L-tyrosin*¹⁵⁾, $[\alpha]_D^{29} = +4,8^\circ$ ¹⁶⁾ $\pm 0,2^\circ$ ($c = 9,7$ in Eisessig); $= +35,8^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,2$ in Chloroform), mit Di-p-nitrophenyl-sulfit unter den für das Monocarbobenzoxy-Derivat angegebenen Bedingungen liefert nach üblicher Aufarbeitung 84% Ester vom Smp. 132–134°. Zur weiteren Reinigung wird zweimal aus Methanol umkristallisiert: Smp. 135–137°; $[\alpha]_D^{27} = -10,8^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 4,0$ in Aceton), $+4,6^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,0$ in Chloroform), $-6,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,6$ in Eisessig).

$C_{31}H_{28}O_8N_2$ (570,5) Ber. C 65,62 H 4,59 N 4,91% Gef. C 65,31 H 4,43 N 4,93%

b) Veresterung mit p-Nitrophenol in Gegenwart von Dicyclohexyl-carbodiimid¹⁷⁾: 85% reiner ester (aus Methanol); Smp. 135–137°; $[\alpha]_D^{26} = -10,5 \pm 1^\circ$ ($c = 2,0$ in Aceton).

Durch Verseifung in Dioxan/1N Natronlauge (vgl. Monocarbobenzoxy-Derivat) wird optisch reines *N,O-Dicarbobenzoxy-L-tyrosin* regeneriert.

L-Tyrosin-p-nitrophenylester-hydrobromid. – a) aus *N-Carbobenzoxy-Derivat*: 4,36 g (10 mMol) *N-Carbobenzoxy-L-tyrosin-p-nitrophenylester* werden in 20 ml Eisessig suspendiert und mit 20 ml einer 5N Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig versetzt. Das Ausgangsmaterial geht unter CO_2 -Entwicklung allmählich in Lösung und gleichzeitig scheidet sich das Reaktionsprodukt in mikrokristalliner Form aus. Nach 2 Std. wird das feste Material abzentrifugiert und mehrmals mit Eisessig, Aceton und Äther gewaschen: 3,38 g (89%), Smp. 224–226°; zur Analyse zweimal aus Methanol/Äther umgefällt; Smp. 231–233°; $[\alpha]_D = +34,0^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 3,0$ in Methanol); $= +10,2^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,9$ in Wasser); $= +19,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,5$ in Eisessig/Wasser 9 : 1).

$C_{15}H_{14}O_5N_2$, HBr (383,2) Ber. C 47,01 H 3,95 N 7,31 Br 20,85% Gef. „ 47,20 „ 4,18 „ 7,23 „ 20,70%

b) aus *N,O-Dicarbobenzoxy-Derivat*. 42,7 g (75 mMol) *N,O-Dicarbobenzoxy-L-tyrosin-p-nitrophenylester* werden in 250 ml einer 4N Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig suspendiert und 4 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach Aufarbeitung wie oben: 24,2 g (84%), Smp. 224–226°; $[\alpha]_D^{24} = +34,5^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 4,1$ in Methanol).

Die Verseifung der nach a) und b) hergestellten Ester mit 4 Äquivalenten 1N Natronlauge ergibt optisch reines L-Tyrosin.

Carbobenzoxy-S-benzyl-L-cysteinyl-L-tyrosin-p-nitrophenylester, Methode A: aus Carbobenzoxy-dipeptid mittels Di-p-nitrophenyl-sulfit. – a) Eine Lösung von 508 mg (1 mMol) Carbobenzoxy-S-benzyl-L-cysteinyl-L-tyrosin³⁾ in 1 ml trockenem Pyridin wird mit 324 mg (1 mMol) Di-p-nitrophenyl-sulfit versetzt, 5 Std. bei 22° stehengelassen, darauf mit Essigester verdünnt und bei 0° mit 1N Salzsäure, 0,1N Sodalösung und Wasser gewaschen. Der nach dem Eindampfen der getrockneten Lösung erhaltenen Rückstand ergibt nach Zusatz von Äther 511 mg (81%) Ester, der nach zweimaligem Umfällen aus Alkohol unschärfig bei 108–115° schmilzt; $[\alpha]_D^{25} = -22,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,2$ in Tetrahydrofuran), $-21,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 0,9$ in Eisessig).

$C_{33}H_{31}O_8N_3S$ (629,7) Ber. N 6,67 S 5,09% Gef. N 6,54 S 4,83%

b) 2,03 g (4 mMol) Carbobenzoxy-S-benzyl-L-cysteinyl-L-tyrosin werden in einem Gemisch von 0,65 ml trockenem Pyridin (2 Äquivalente) und 15 ml Essigester suspendiert, mit 1,46 g (4,5 mMol) Di-p-nitrophenyl-sulfit versetzt und 5 Std. auf 50° erhitzt. Die klare Lösung wird darauf in der oben angegebenen Weise aufgearbeitet und liefert 2,1 g (83%) p-Nitrophenylester, der mit dem nach a) hergestellten Material identisch ist.

Das aus den Soda-Auszügen durch Ansäuern regenerierte Ausgangsmaterial (5–7%) ist optisch rein: $[\alpha]_D^{22} = -17^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,2$ in Pyridin); Behandlung mit Di-p-nitrophenyl-sulfit nach b) (ohne Pyridin) bewirkt keine Racemisierung.

Durch Verseifung des p-Nitrophenylesters (vgl. *N-Carbobenzoxy-L-tyrosin-p-nitrophenylester*) wird die Säure in optisch reiner Form zurückgewonnen (Tabelle I).

Carbobenzoxy-valyl-tyrosin-p-nitrophenylester. – *Methode A.* – a) Carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosin⁴⁾ [Smp. 161–163°; $[\alpha]_D^{22} = +26^\circ$ ($c = 4$ in Pyridin)] mit 1 Äquiv. Di-p-nitrophenyl-sulfit in Pyridin 20 Std. bei 22°: 15% amorpher Ester, Smp. 172–174°; nach zweimaligem Umfällen aus

¹⁵⁾ E. KATCHALSKI & M. SELA, J. Amer. chem. Soc. 75, 5284 (1953).

¹⁶⁾ Literaturwert ¹⁵⁾: -5° ($c = 10$ in Eisessig); das von uns verwendete Präparat ergab nach Decarbobenzoxylierung mit Bromwasserstoff in Eisessig optisch reines L-Tyrosin-hydrobromid.

Aceton/Äther: Smp. 175–177°; $[\alpha]_D^{24} = -3^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,1$ in Aceton), $= -11^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,0$ in Eisessig).

$C_{28}H_{29}O_8N_3$ (535,5) Ber. C 62,79 H 5,46 N 7,85% Gef. C 62,65 H 5,76 N 7,74%

b) In Essigester + 2 Äquiv. Pyridin 8 Std. auf 50° erhitzt: 60% Ester, identisch mit dem nach a) erhaltenen Produkt.

Das aus obigen Ansätzen zurückgewonnene nicht umgesetzte Carbobenzoxy-valyl-tyrosin (68% aus a)) zeigt nach Umkristallisieren aus Alkohol/Wasser Smp. ca. 90° und $[\alpha]_D^{22} = +12^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,0$ in Pyridin).

Racemisierung von Carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosin: 1) 0,83 g (2 mMol) Carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosin in 4 ml Essigester und 0,2 ml Pyridin 7 Std. auf 50° erhitzt, dann aufgearbeitet wie üblich und umkrist. aus Äthanol/Wasser: 0,71 g, Smp. 160–162°; $[\alpha]_D^{24} = +27^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 4,0$ in Pyridin); nicht racemisiert. 2) Gleich wie unter 1), aber statt Pyridin 0,65 g (2 mMol) Di-p-nitrophenyl-sulfit: 0,63 g, Smp. ca. 90°; $[\alpha]_D^{24} = +16^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 3,9$ in Pyridin); teilweise racemisiert. 3) Wie unter 2), aber 5 Std. bei 25°: 0,64 g, Smp. ca. 90°; $[\alpha]_D^{24} = +19^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2$ in Pyridin); teilweise racemisiert.

Methode B: aus Carbobenzoxy-dipeptid mittels p-Nitrophenol und Dicyclohexyl-carbodiimid. 1,04 g (2,5 mMol) Carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosin⁴⁾ werden in 5 ml Acetonitril gelöst und nach Zugabe von 0,35 g (2,5 mMol) p-Nitrophenol und 0,62 g (3 mMol) Dicyclohexyl-carbodiimid 18 Std. bei +5° stehengelassen. Das ausgeschiedene Gemisch von Dicyclohexyl-harnstoff und Reaktionsprodukt wird abfiltriert, mit 10 ml Tetrahydrofuran extrahiert und der filtrierte Extrakt im Vakuum eingedampft. Kristallisation aus Acetonitril ergibt 0,91 g (68%) amorphes Material vom Smp. 170–174°. Nach zweimaligem Umfällen aus Methanol: Smp. 180–183°; $[\alpha]_D^{28} = -1,4^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,2$ in Tetrahydrofuran), $= -10,6^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,9$ in Eisessig); Gef. C 62,53 H 5,35 N 8,06%.

Methode C: aus Carbobenzoxy-L-valin und L-Tyrosin-p-nitrophenylester. In eine Lösung von 2,51 g (10 mMol) Carbobenzoxy-L-valin¹⁷⁾ in 50 ml Acetonitril werden unter Rühren bei 0° 3,83 g (10 mMol) L-Tyrosin-p-nitrophenylester-hydrobromid und 1,40 ml (10 mMol) Triäthylamin eingegeben. Das Reaktionsgemisch, aus dem sich rasch ein Salz (Carbobenzoxy-L-valin, L-Tyrosin-p-nitrophenylester) ausscheidet, wird nach 15 Min. mit 2,06 g (10 mMol) Dicyclohexyl-carbodiimid versetzt und 1 Std. bei 0° und 4 Std. bei ca. 10° weitergerhrt; während dieser Zeit geht das anfänglich ausgeschiedene Salz in Lösung und gleichzeitig fällt ein Gemisch von Dicyclohexyl-harnstoff und Dipeptidderivat aus. Nach Aufarbeitung wie in Methode B: 1,80 g (34%, kein weiteres Material aus Mutterlauge isolierbar), Smp. 183–186°. Zweimaliges Umkristallisieren aus Acetonitril liefert den Ester in Form von verfilzten Nadeln vom Smp. 192–195°; $[\alpha]_D^{25} = -21,4^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,1$ in Tetrahydrofuran), $= -33,7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,0$ in Eisessig); gef. C 62,76 H 5,65 N 7,79%.

Verseifung der nach A, B und C hergestellten Carbobenzoxy-valyl-tyrosin-p-nitrophenylester: Eine Lösung von 0,5 mMol p-Nitrophenylester in 1,5 ml Methanol wird mit 3 Äquiv. 1N Natronlauge 30 Min. bei Zimmertemperatur stehengelassen, darauf im Vakuum von Methanol befreit und schwach angesäuert. Das ausgeschiedene Öl wird in Essigester aufgenommen und die Essigester-Lösung mehrmals mit wenig Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert; beim Eintropfen der vereinigten alkalischen Auszüge in kalte 5N Salzsäure scheidet sich die Säure in fester Form aus; nach Umkristallisieren aus Äthanol/Wasser: Smp. ca. 90°; spezifische Drehungen: siehe Tabelle I ($c = 3–4$).

Carbobenzoxy-L-seryl-L-tyrosin-p-nitrophenylester, Methode C. Die Kondensation von 6,0 g (25 mMol) Carbobenzoxy-L-serin mit 9,6 g (25 mMol) L-Tyrosin-p-nitrophenylester-hydrobromid in Gegenwart von Dicyclohexyl-carbodiimid nimmt den oben unter Methode C beschriebenen Verlauf. Die vom Dicyclohexyl-harnstoff abfiltrierte Reaktionslösung wird im Vakuum konzentriert, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Lösung unter Eiskühlung neutral gewaschen, getrocknet und im Vakuum eingedampft. Mehrmaliges Verreiben des Rückstands mit Äther liefert 12,5 g eines sehr unreinen Rohprodukts, aus dem sich erst nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Essigester bzw. Methanol der Ester in kristalliner, reiner Form isolieren lässt: 7,8 g (60%); Nadeln vom Smp. 173–176°; $[\alpha]_D^{25} = -30,1^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,0$ in Methanol).

$C_{26}H_{25}O_9N_3$ (523,5) Ber. C 59,65 H 4,81 N 8,03% Gef. C 59,48 H 4,96 N 7,90%

¹⁷⁾ R. L. M. SYNGE, Biochem. J. 42, 99 (1948).

Carbobenzoxy-L-seryl-L-tyrosyl-L-serin-methylester. Eine Lösung von 0,26 g (2,2 mMol) L-Serin-methylester (frisch hergestellt aus dem Hydrochlorid⁹⁾) in 10 ml Acetonitril wird mit 1,05 g (2 mMol) Carbobenzoxy-L-seryl-L-tyrosin-p-nitrophenylester (Smp. 173–176°) versetzt und 24 Std. bei 25° stehengelassen. Das ausgeschiedene amorphe Reaktionsprodukt wird abgenutscht und mit wenig Acetonitril und Äther gewaschen: 0,74 g (73%), Smp. ca. 150°; nach zweimaligem Umkristallisieren aus wenig Methanol: 0,49 g (48%); Smp. 188–190°; $[\alpha]_D^{28} = -24,7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,4$ in Methanol). Literaturwerte^{9) 10)}: Smp. 191–192°; $[\alpha]_D^{19} = -22,4^\circ$ (Methanol).

Bei Verwendung von nur teilweise gereinigtem Carbobenzoxy-L-seryl-L-tyrosin-p-nitrophenyl-ester (Smp. 166–170°) wird das Tripeptid-Derivat auch nach mehrmaligem Umkristallisieren nicht rein erhalten (Smp. ca. 160°). Ebenso liefert der kombinierte Umsatz⁷⁾ von Carbobenzoxy-L-serin-L-Tyrosin-p-nitrophenylester und L-Serin-methylester nur unreines Material vom Smp. ca. 170°.

Die analytischen Daten verdanken wir Herrn Dr. W. PADOWETZ und die UV.-Absorptionspektren Herrn Dr. H. HÜRZELER.

SUMMARY

A study of the preparation of carbobenzoxy-dipeptide p-nitrophenyl esters revealed that partial racemization may occur depending on the structure of the dipeptide derivative used. Whereas carbobenzoxy-S-benzyl-L-cysteinyl-L-tyrosine yielded an optically pure ester employing the sulfite method, the synthesis of the ester of carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosine by various methods proceeded with partial racemization. The optically pure carbobenzoxy-L-seryl-L-tyrosine p-nitrophenyl ester was obtained by condensation of carbobenzoxy-L-serine with p-nitrophenyl L-tyrosinate.

The ultraviolet spectra of the compounds prepared exhibited a typical maximum at 268–270 m μ .

Forschungslaboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel
Pharmazeutische Abteilung

218. Contribution à l'étude de la mésomérie III. Calcul de l'énergie de liaison de quelques hydrocarbures

par O. KLEMENT, O. MÄDER et B. FELDER

(20 VIII 60)

1. Introduction

On sait que dans la méthode de mésomérie l'énergie des hydrocarbures a presque toujours été calculée à l'aide de modèles formés d'atomes à un électron, en négligeant complètement les atomes d'hydrogène. D'autre part on admettait que les distances entre les atomes voisins sont les mêmes, ce qui permet, les intégrales d'orthogonalité étant négligées, d'éviter aussi le calcul explicite des intégrales de COULOMB et d'échange. Il est clair qu'avec des approximations aussi poussées il ne pouvait pas être question de comparer directement les résultats théoriques aux valeurs expérimentales.

¹⁾ W. HEITLER, Hdb. der Radiologie, Bd. VI/2, 2. Aufl. 1934 (désigné dans la suite par (HRW)).