

($W^{1/2}$ ca. 4), $\text{HO}-\text{C}(9)^{\text{C}(7)}$; 4,08/m ($W^{1/2}$ ca. 8, u. a. $J_{1,9\text{C}(3)}$ und $J_{5,9\text{C}(3)}$ je ca. 3), $\text{H}-\text{C}(9)^{\text{C}(3)}$. – MS.: 154 (M^+ , 52), 136 (24), 126 (6), 118 (10), 110 (23), 108 (13), 98 (29), 94 (100), 81 (81), 79 (61), 70 (29), 67 (45), 57 (31), 55 (32), 43 (13), 41 (31), 39 (19); $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_2 = 154$.

Die Elementaranalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der ETH Zürich (Leitung: W. Manser) ausgeführt. Die NMR-Spektren wurden in unserer Instrumentalabteilung (Leitung für NMR-Service: Prof. J. F. M. Oth) aufgenommen. Die massenspektroskopischen Analysen verdanken wir Prof. J. Seibl.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. O. Duthaler, R. S. Stingelin-Schmid & C. Ganter, in Vorbereitung.
- [2] D. Gravel, S. Rahal & A. Regnault, *Canad. J. Chemistry* 50, 3846 (1972).
- [3] R. D. Allan & R. J. Wells, *Austral. J. Chemistry* 23, 1625 (1970).
- [4] W. Kraus, W. Rothenwöhler & R. Chassin, *Tetrahedron Letters* 1969, 4581.
- [5] R. O. Duthaler, K. Wicher, P. Ackermann & C. Ganter, *Helv.* 55, 1809 (1972).

149. Über Pterinchemie

52. Mitteilung [1]

Eine eindeutige Synthese isomerenfreier Pteroyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure

von Pradip K. Sengupta, Jost H. Bieri und Max Viscontini

Organisch-chemisches Institut der Universität, Rämistr. 76, CH-8001 Zürich

(7. V. 75)

Summary. A new and unequivocal synthesis of pteroyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutamic acid free of isomers is described. A melt of N(2')-acetyl-6-formylpterine and tetramethyl-N-(*p*-amino-benzoyl)- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutamate was quantitatively converted to the corresponding azomethine IX. NaBH_4 -reduction followed by basic hydrolysis of acetyl and methyl-ester groups gives pure pteroyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutamic acid in good yield.

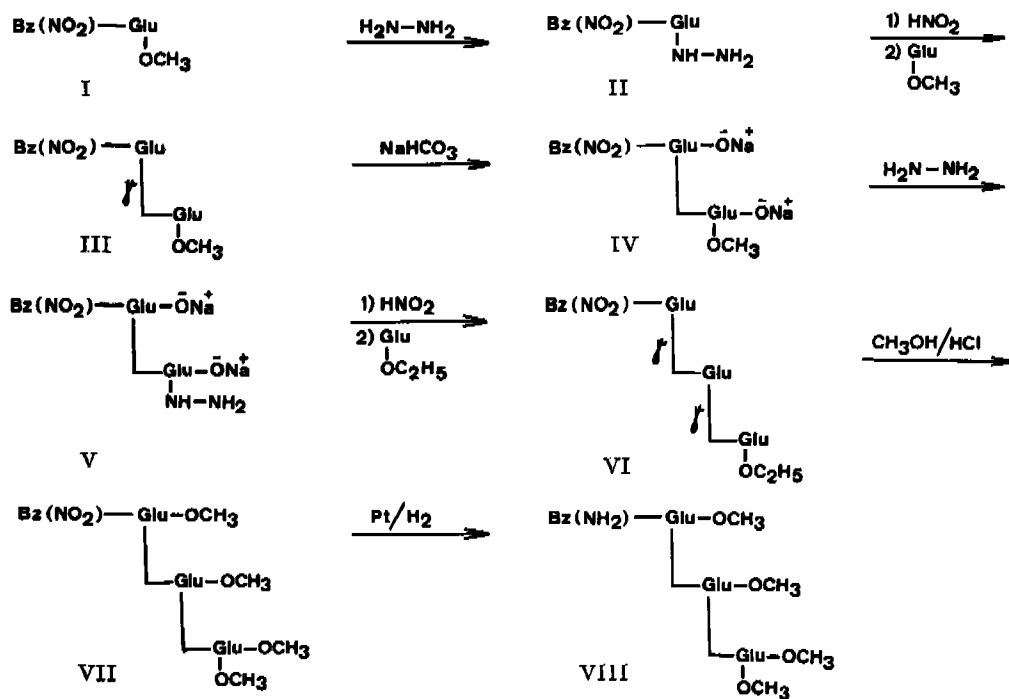
Auf die Struktur, die Bedeutung und das Vorkommen von Pteroylpolyglutaminsäuren (Folsäurekonjugate) wurde bereits in der 45. Mitteilung [2] hingewiesen.

In Fortsetzung der oben zitierten Arbeit beschreiben wir jetzt eine neue, einfache Synthese von Pteroyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure (XI) (Pteroyltriglutaminsäure), welche ein isomerenfreies Produkt liefert.

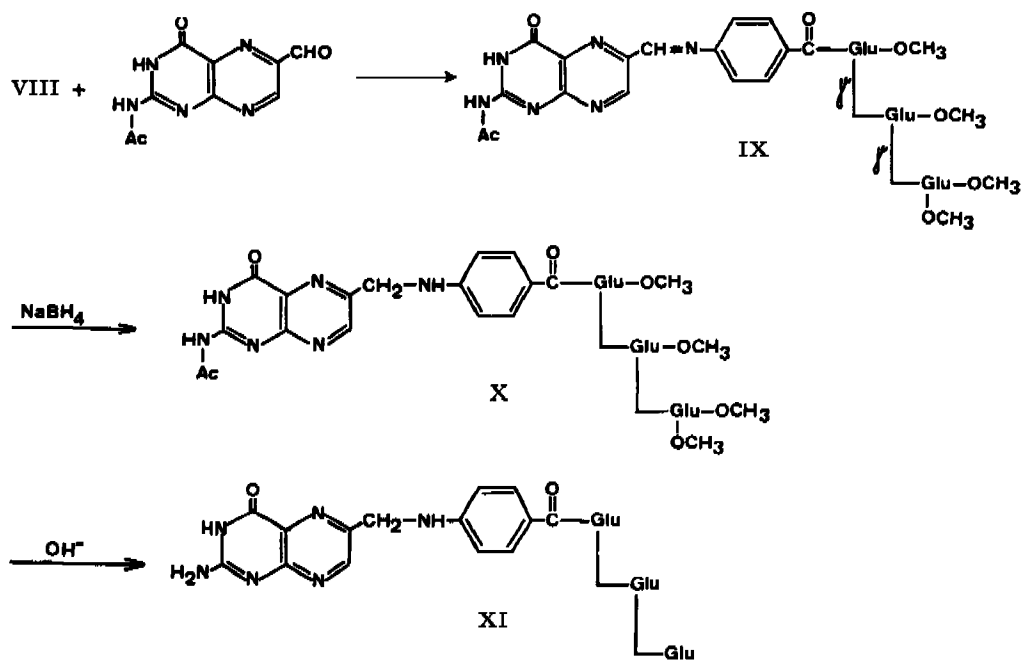
Der Aufbau des Tripeptidteiles VIII erfolgt über den im Schema 1 wiedergegebenen Reaktionsweg, in welchem die von der IUPAC-IUB-Kommission vorgeschlagenen Symbole und Numerierungen für Aminosäure-Derivate und Peptide [3] verwendet werden.

Die Verknüpfung des Tripeptides VIII mit N(2')-Acetyl-6-formylpterin zu N(2')-Acetyl-9,10-dehydropteroyl-L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure-tetramethylester (IX), die Reduktion zum N(2')-Acetyl-pteroyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure-tetramethylester (X) und die Verseifung zur Pteroyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure (XI) (Pteroyltriglutaminsäure) (Schema 2) erfolgt analog der Synthese von Folsäure [4].

Schema 1



Schema 2



Die im experimentellen Teil angegebenen optischen Drehungen blieben auch nach wiederholten Umkristallisationen konstant; so dass eine Racemisierung der L-Glutaminsäureeinheiten während der Synthese ausgeschlossen werden kann.

Wir setzen unsere Arbeiten in dieser Richtung fort.

Wir danken Herrn Prof. Dr. W. von Philipsborn für die NMR., Herrn Prof. Dr. M. Hesse für die Massenspektrenaufnahme und Herrn H. Lirohofer, Leiter unserer mikroanalytischen Abteilung, für die Elementaranalysen und Bestimmung der optischen Drehungen. Ganz besonderer Dank gebührt Frau M. Argentini-Schifferle für das Zeichnen der Formeln. Dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung danken wir bestens für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Die Massenspektren (MS.) wurden an einem CEC-21-110B-Gerät (Direktinlass, 70 eV) registriert. Die NMR.-Spektren wurden mit einem Varian T-60- bzw. IIA-100-NMR.-Spektrographen in $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, D_2O , CDCl_3 und Cl_3COOH (Standard: Tetramethylsilan) aufgenommen; chemische Verschiebungen in ppm; Abkürzungen: *s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *m* = Multiplett, *br.* = breit. Analytische Dünnschichtchromatogramme (DC.) an Cellulose-CEL 300 UV₂₅₄- und an Kieselgel-SIL N-HR/UV₂₅₄-Fertigfolien (Macherey-Nagel); Produkte sichtbar im UV.-Licht bei 254 bzw. 350 nm; Lsgm. = Laufmittel. Schmelzpunkte wurden mit einem Schmelzpunktapparat Mettler FP 5 + FP 52 bestimmt. Die spezifischen optischen Drehungen $[\alpha]_{589}^{25}$ wurden an einem LEP A2 Zeiss-Gerät gemessen; *c* = Konzentration in %.

p-Nitro-benzoyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure- γ -methylester (III). Zu 1,4 ml 12N HCl, 10 ml Wasser und 10 ml Essigsäureäthylester wird 1 g (3,23 mmol) p-Nitro-benzoyl-L-glutaminsäure- γ -hydrazid (II) [2] [5] gegeben und die Lösung auf +2° abgekühlt. Dazu kommt tropfenweise, unter intensivem Rühren, eine Lösung von 285 mg (4,13 mmol) NaNO_2 in 2,1 ml Wasser, wobei die Temperatur auf +2° gehalten wird. Danach wird 15 Min. bei +2° weitergerührt, die organische Phase abgetrennt und diese mit Eiswasser gewaschen.

Eine Suspension von 550 mg (3,42 mmol) L-Glutaminsäure- γ -methylester und 655 mg NaHCO_3 in 5 ml Wasser wird auf –5° abgekühlt und diese innerhalb 10 Min., unter stetigem Rühren, in die organische Azid-Phase getropft und anschliessend 3 Std. bei 25° intensiv weitergerührt. Die wässrige Phase wird abgetrennt, mittels 12N HCl auf pH 1,5 gebracht und auf 0° abgekühlt. Das anfänglich ausgeschiedene Öl kristallisiert langsam (0°, 30 Min.). Umkristallisation aus Methanol/Wasser 1:1, stehenlassen (+22°, 2 Std.), abfiltrieren und trocknen (0,01 Torr, 22°, 6 Std.) ergibt 1,30 g (92,9%) III. – NMR. (60 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): Glu 1: C(α)NH: *d*, 8,96, *J* = 7 Hz, 1 H; Aromat. H: *AA'BB'*-System: δ_A = 8,33, δ_B = 8,11, *J* = 8 Hz, 4 H; Glu 2: C(α)NH: verdeckt unter dem *AA'BB'*-System, *ca.* 8,1, 1 H; Glu 1 und Glu 2: 2 $\times$ C(α)H: *m*, 4,63–4,00, 2 H; Glu 1 und Glu 2: 2 $\times$ C(β)H₂ und 2 $\times$ C(γ)H₂: *m*, 1,60–2,50, zum Teil durch das $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ -Signal überlagert. – DC.: Rf = 0,45 (Kieselgel; Lsgm.: Äther/Aceton 4:1). Smp.: 117,9–118,5°. $[\alpha]_{589}^{25}$ = –10,3 $\pm$ 0,5° [*c* = 5; Äthanol (99%)].

$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_{10}$ (439,37) Ber. C 49,20 H 4,82 N 9,56% Gef. C 48,71 H 5,06 N 9,31%

p-Nitro-benzoyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure- γ -methylester-dinatriumsalz (IV). Eine Lösung von 1 g (2,27 mmol) p-Nitro-benzoyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure- γ -methylester (III) und 380 mg NaHCO_3 in 1,1 ml Wasser wird filtriert und dann mit 11 ml Methanol verdünnt. Nach Abkühlung (+5°, 3 Std.) kristallisiert das Dinatriumsalz aus. Abfiltrierung und Trocknung (0,01 Torr, 50°, 6 Std.) ergeben 900 mg (82,6%) IV. – NMR. (60 MHz, D_2O): Aromat. H: *AA'BB'*-System: δ_A = 7,77, δ_B = 7,43, *J* = 8 Hz, 4 H; Glu 1 und Glu 2: 2 $\times$ C(α)H: *m*, 4,09–3,45, 2 H; Glu 2: C(γ)COOCH₃: *s*, 3,07, 3 H; Glu 1 und Glu 2: 2 $\times$ C(β)H₂ und 2 $\times$ C(γ)H₂: *m*, 2,10–1,15, 8 H.

p-Nitro-benzoyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure- γ -hydrazid-dinatriumsalz (V) (Herstellung nach [5]). NMR. (60 MHz, D_2O): Aromat. H: *AA'BB'*-System: δ_A = 7,72, δ_B = 7,46, *J* = 8 Hz, 4 H; Glu 1 und Glu 2: 2 $\times$ C(α)H: *m*, 4,07–3,43, 2 H; Glu 1 und Glu 2: 2 $\times$ C(β)H₂ und 2 $\times$ C(γ)H₂: *m*, 2,08–1,18, 8 H. – DC.: Rf = 0,48 (Kieselgel; Lsgm.: Äthanol/Wasser 5:1).

$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{Na}_2\text{O}_9$ (483,32) Ber. C 39,75 H 3,93 N 14,49% Gef. C 39,94 H 4,19 N 14,29%

p-Nitro-benzoyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure- γ -äthylester (VI) (nach der von uns modifizierten Methode [5]). Eine Lösung von 1 g (2,07 mmol) *p*-Nitro-benzoyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure- γ -hydrazid-dinatriumsalz (V) in 5 ml Wasser und 1,7 ml 12N HCl wird mit 5 ml Essigsäureäthylester gerührt und auf -5° abgekühlt. Unter intensivem Rühren werden 170 mg (2,47 mmol) NaNO₂ in 0,8 ml Wasser zugetropft. Weiterführen während 15 Min. bei -5° und Abtrennung der organischen Phase. Die wässrige Phase wird mit kaltem Essigsäureäthylester und die vereinigten organischen Phasen mit Eiswasser gewaschen.

Zu einer auf -5° abgekühlten Suspension von 544 mg (3,11 mmol) Glutaminsäure- γ -äthylester und 870 mg NaHCO₃ in 4 ml Wasser wird unter Rühren die organische Phase getropft. Das Gemisch wird auf $+32^\circ$ gebracht und 3 Std. gerührt. Die abgetrennte wässrige Phase wird bei 0° langsam mit 12N HCl versetzt bis zu pH 1,5, wobei das Produkt (VI) auskristallisiert. Filtration und Trocknung (0,01 Torr, 60° , 6 Std.) ergeben 820 mg (68,3%) VI. – NMR. (60 MHz, (CD₃)₂SO): Glu 1: C(α)NH: δ , 9,06, $J = 7$ Hz, 1 H; Aromat. H: AA'BB'-System: $\delta_A = 8,31$, $\delta_B = 8,16$, $J = 8$ Hz, 4 H; Glu 2 und Glu 3: verdeckt unter dem AA'BB'-System; ca. 8,1, 2 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times$ C(α)H: m , 4,60–4,00, 3 H; Glu 3: C(γ)COOCH₂CH₃; $-\text{CH}_2-$: q , 4,05, $J = 7$ Hz, 2 H; $-\text{CH}_3$: t , 1,17, $J = 7$ Hz, 3 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times$ C(β)H₂ und $3 \times$ C(γ)H₂: m , 2,60–1,40, zum Teil durch das (CD₃)₂SO-Signal überlagert. – DC.: Rf = 0,53 (Kieselgel; Lsgm.: Äthanol/(CD₃)₂SO 16:1). Smp.: 172,6–173,2°. [α]_D²⁰ = $-8,9 \pm 0,5^\circ$ ($c = 6$; Äthanol/Wasser 3:1).

C₂₄H₃₀N₄O₁₃ (582,49) Ber. C 49,50 H 5,16 N 9,60% Gef. C 49,18 H 5,46 N 9,69%

p-Nitro-benzoyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure-tetramethylester (VII). Durch eine auf -10° abgekühlte Lösung von 1 g (1,72 mmol) *p*-Nitro-benzoyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure- γ -äthylester (VI) in 40 ml abs. Methanol wird während 40 Min. getrocknetes HCl durchgeleitet, wobei die Temperatur im Gemisch auf 30° ansteigen darf (Kühlung notwendig). Einengung zur Trockene und Umkristallisation aus Methanol/Äther 1:1 ergibt nach der Trocknung (0,01 Torr, 22° , 6 Std.) 950 mg (91,3%) VII. – NMR. (60 MHz, CDCl₃): Aromat. H: AA'BB'-System: $\delta_A = 8,16$, $\delta_B = 8,06$, $J = 8$ Hz, 4 H; Glu 1: C(α)NH: δ , 8,36, $J = 7$ Hz, 1 H; Glu 2 und Glu 3: $2 \times$ C(α)NH: $2 \times \delta$, 7,22, 6,84, $J = 7$ Hz, 2×1 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times$ C(α)H: m , 4,90–4,26, 3 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times$ C(α)COOCH₃ und $1 \times$ C(γ)COOCH₃: $4 \times s$, 3,79, 3,75, 3,71 und 3,62, 4×3 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times$ C(β)H₂ und $3 \times$ C(γ)H₂: m , 2,71–1,77, 12 H. – MS. (m/e (rel. %)): 610 (M^+ , 1), 579 (2), 551 (3), 519 (3), 436 (3), 408 (4), 376 (20), 293 (12), 242 (18), 233 (26), 150 (100), 144 (45), 120 (37), 84 (94). – DC.: Rf = 0,45 (Kieselgel; Lsgm.: Methanol/Äther 1:1). Smp.: 139,7–140,6°. [α]_D²⁰ = $-28,9 \pm 0,5^\circ$ [$c = 0,5$; Äthanol (99%)].

C₂₈H₃₄N₄O₁₃ (610,55) Ber. C 51,14 H 5,57 N 9,18% Gef. C 50,55 H 5,09 N 9,55%

p-Amino-benzoyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure-tetramethylester (VIII). Darstellung nach [2]. Das Produkt (VIII) wird nicht umkristallisiert, sondern in wenig Methanol/Äther 1:10 gelöst und über eine Kolonne (1,5 $\times$ 40,0 cm; Kieselgel PF₂₅₄ (Merck); Lsgm.: Methanol/Äther 1:10) filtriert. Einengung und Trocknung (0,01 Torr, 22° , 6 Std.) ergeben 870 mg (92,1%) VIII; ausgehend von 1 g (1,64 mmol) VII. – NMR. (60 MHz, CDCl₃): Aromat. H: AA'BB'-System: $\delta_A = 7,63$, $\delta_B = 6,61$, $J = 8$ Hz, 4 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times$ C(α)NH: $3 \times \delta$, 7,26, 7,26, 6,96, $J = 7$ Hz, 3×1 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times$ C(α)H: m , 4,85–4,25, 3 H; *p*-NH₂: br. s , 4,10, 2 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times$ C(α)-COOCH₃ und $1 \times$ C(γ)-COOCH₃: $4 \times s$, 3,74, 3,70, 3,68, 3,63, 4×3 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times$ C(β)H₂ und $3 \times$ C(γ)H₂: m , 2,56–1,64, 12 H. – DC.: Rf = 0,47 (Kieselgel; Lsgm.: Methanol/Äther 1:7). Smp.: 73,1–73,8°. [α]_D²⁰ = $-30,9 \pm 0,5^\circ$ [$c = 1$; Äthanol (99%)]. Für die Analyse wurde das Pikratderivat von VIII hergestellt. Smp.: 170,2–170,6°.

C₃₂H₃₈N₇O₁₈ (809,59) Ber. C 47,46 H 4,82 N 12,11% Gef. C 47,44 H 4,86 N 12,22%

(*N*(2')-Acetyl-9,10-dehydropteroyl)- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutaminsäure-tetramethylester (IX). 500 mg (1,85 mmol) *N*(2')-Acetyl-6-formylpterin-dihydrat [4] und 1616 mg (2,77 mmol) *p*-Amino-benzoyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure-tetramethylester (VIII) werden durch Pulverisierung intensiv miteinander vormengt. Das Gemisch wird im Hochvakuum (0,01 Torr) zwischen 130 und 135° zum Schmelzen gebracht, wobei das bei der Kondensation zum Azomethin IX entstehende Wasser gasförmig entweicht (Blasenbildung in der Schmelze). Die

Reaktion ist nach 20 Min. beendet. Die Aufarbeitung und Umkristallisation erfolgt nach [2]. NMR.¹⁾ Das Azomethin IX liegt in einer *syn*- und *anti*-Form vor. Die beiden geometrischen Isomeren können u.a. am unterschiedlichen Verhalten ihrer arom. H. in CF_3COOH erkannt werden. «Hauptprodukt», ca. 80% (100 MHz, CF_3COOH): HC(9): s, 10,10, 1 H; HC(7): s, 9,90, 1 H; Aromat. H: s, 8,31, 4 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{C}(\alpha)\text{H}$: m, 5,27–4,70, 3 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{C}(\alpha)\text{COOCH}_3$ und $\text{C}(\gamma)\text{COOCH}_3$: $4 \times$ s, 4,04, 4,00, 3,97, 3,97, 12 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{C}(\beta)\text{H}_2$ und $3 \times \text{C}(\gamma)\text{H}_2$: m, 3,08–2,02, 12 H; N(2')COCH₃: s, 2,63, 3 H. «Nebenprodukt», ca. 20% (100 MHz, CF_3COOH): HC(9): s, 10,25, 1 H; HC(7): s, 9,60, 1 H; Aromat. H: AA'BB'-System: $\delta_A = 8,18$, $\delta_B = 7,78$, $J = 8$ Hz, 4 H.

In $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ unterscheiden sich die arom. H der beiden Isomeren nicht. (60 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): HC(9): s, 9,52, 1 H; HC(7): s, 8,79, 1 H; Glu 1: C(α)NH: d, 8,80, $J = 7$ Hz, 1 H; Glu 2 und Glu 3: C(α)NH: d, 8,25, $J = 7$ Hz, 2 H; Aromat. H: AA'BB'-System: $\delta_A = 8,01$, $\delta_B = 7,51$, $J = 8$ Hz, 4 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{HC}(\alpha)$: m, 4,68–4,00, 3 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{C}(\alpha)\text{COOCH}_3$ und $\text{C}(\gamma)\text{COOCH}_3$: $4 \times$ s, 3,68, 3,65, 3,60 und 3,57, $4 \times$ 3 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{C}(\beta)\text{H}_2$ und $3 \times \text{C}(\gamma)\text{H}_2$: m, 2,61–1,60, zum Teil unter dem $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ -Signal; N(2')COCH₃: s, 2,23, 3 H. – DC.: «Hauptprodukt»: Rf = 0,60 (Cellulose; Lsgm.: 4proz. NH_4Cl -Lösung). «Nebenprodukt»: Rf = 0,71 (Cellulose; Lsgm.: 4proz. NH_4Cl -Lösung). $[\alpha]_{589}^{22} = -31,5 \pm 0,5^\circ$ ($c = 0,5$; 0,1 N HCl).

$\text{C}_{35}\text{H}_{41}\text{N}_9\text{O}_{13}$ (795,74) Ber. C 52,83 H 5,15 N 15,84% Gef. C 53,23 H 5,66 N 15,55%

(N(2')-Acetylpteroyl)- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure-tetramethylester-monohydrat (X). 38 ml 10proz. Äthanol werden mit Stickstoff gesättigt. Dazu kommen 24 mg (0,63 mmol) Natriumborhydrid und unmittelbar darauf 500 mg (0,63 mmol) der Verbindung IX. Die Temperatur wird innerhalb 10 Min. auf 45° erhöht und innerhalb 10 Min. bei 45°, portionenweise, gesamthaft weitere 12 mg (0,31 mmol) Natriumborhydrid zugegeben. Nach dem Abkühlen auf 22° und der Zugabe von 10proz. Essigsäure bis pH 4,5 fällt das Produkt X aus. Stehenlassen (5°, 2 Std.), abfiltrieren, waschen mit Eiswasser, Äthanol und Äther, dann umkristallisieren aus H_2O ergeben 263 mg (51,4%) X. – NMR. (100 MHz, CF_3COOH): HC(7): s, 9,20, 1 H; Aromat. H: AA'BB'-System: $\delta_A = 8,14$, $\delta_B = 7,95$, $J = 8$ Hz, 4 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{C}(\alpha)\text{NH}$: 3 H (unter dem AA'BB'-System); H₂C(9): br. s, 5,33, 2 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{C}(\alpha)\text{H}$: m, 5,21–4,55, 3 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{C}(\alpha)\text{COOCH}_3$ und $\text{C}(\gamma)\text{COOCH}_3$: $4 \times$ s, 3,98, 3,94, 3,91 und 3,87, 12 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{H}_2\text{C}(\beta)$ und $3 \times \text{H}_2\text{C}(\gamma)$: m, 3,04–2,00, 12 H; N(2')COCH₃: s, 2,57, 3 H. – (60 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): HC(7): s, 8,80, 1 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{C}(\alpha)\text{NH}$: br. d, 8,20, $J = 7$ Hz, 3 H; Aromat. H: AA'BB'-System: $\delta_A = 7,62$, $\delta_B = 6,64$, $J = 8$ Hz, 4 H; HN(10): t, 7,00, $J = 6$ Hz, 1 H; H₂C(9): d, 4,60, $J = 6$ Hz, 2 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{HC}(\alpha)$: m, 4,60–4,20, 3 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{C}(\alpha)\text{COOCH}_3$ und $\text{C}(\gamma)\text{COOCH}_3$: $4 \times$ s, 3,62, 3,60, 3,58 und 3,56, $4 \times$ 3 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{H}_2\text{C}(\beta)$ und $3 \times \text{H}_2\text{C}(\gamma)$: m, 2,58–1,60, zum Teil unter dem $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ -Signal; N(2')COCH₃: s, 2,19, 3 H. – DC.: Rf = 0,54 (Cellulose; Lsgm.: 4proz. NH_4Cl -Lösung). $[\alpha]_{589}^{22} = -13,8 \pm 0,5^\circ$ ($c = 0,5$; 1 N HCl).

$\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{N}_9\text{O}_{13} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (815,77) Ber. C 51,53 H 5,52 N 15,44% Gef. C 50,75 H 5,77 N 15,99%

Pteroyl- γ -L-glutamyl- γ -L-glutamyl-L-glutaminsäure-monohydrat (Pteroyltriglutaminsäure-monohydrat) (XI). 30 ml 0,2 N NaOH werden mit sauerstofffreiem Stickstoff gesättigt, mit 500 mg (0,61 mmol) X versetzt, 15 Min. auf 80° gehalten, dann auf 22° gebracht und anschliessend das pH mittels 1 N HCl auf 1,5 eingestellt. Das hierbei ausfallende hellgelbe mikrokristalline Produkt wird nach 2 Std. Stehenlassen bei 5° abfiltriert, mit Eiswasser, Äthanol und Äther gewaschen und 8 Std. bei 60°/0,01 Torr getrocknet: 309 mg (70,2%) XI. – NMR. (100 MHz, CF_3COOH): HC(7): s, 9,03, 1 H; H₂N(2'): br. s, 8,75, 2 H; Aromat. H: AA'BB'-System: $\delta_A = 8,16$, $\delta_B = 7,97$, $J = 8$ Hz, 4 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{HNC}(\alpha)$: 3 H (unter dem AA'BB'-System); H₂C(9): br. s, 5,29, 2 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{HC}(\alpha)$: m, 5,21–4,68, 3 H; Glu 1, Glu 2 und Glu 3: $3 \times \text{H}_2\text{C}(\beta)$ und $3 \times \text{H}_2\text{C}(\gamma)$: m, 3,12–2,05, 12 H. – DC.: Rf = 0,67 (Cellulose; Lsgm.: 4proz. NH_4Cl -Lösung). $[\alpha]_{589}^{22} = -9,6 \pm 0,5^\circ$ ($c = 0,25$; 1 N HCl).

$\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_9\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (717,59) Ber. C 48,46 H 4,87 N 17,54% Gef. C 48,33 H 4,67 N 17,85%

¹⁾ Für die Bestimmung der NMR.-Signallagen der Verbindungen IX, X und XI vgl. die Zuordnungen und Doppelresonanzexperimente in [4].

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 51. Mitt.: J. H. Bieri & R. E. Geiger, *Helv.* **58**, 1201 (1975).
 [2] E. Khalifa, J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv.* **56**, 2911 (1973).
 [3] IUPAC-IUB-Commission on Biochemical Nomenclature, *J. biol. Chemistry* **241**, 2491 (1966).
 [4] J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv.* **56**, 2905 (1973).
 [5] J. H. Boothe, J. Semb, C. W. Waller, R. B. Angier, J. H. Mowat, B. L. Hutchings, E. L. R. Stokstad & Y. Subba Row, *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 2304 (1949).

150. Säurekatalysierte Umlagerung von 4-Allyl-cyclohex-2-en-1-olen; Beispiele für ladungskontrollierte [3s, 4s]-Umlagerungen von cyclischen Allylkationen

von Piero Vittorelli¹⁾, Jasna Peter-Katalinić²⁾, Gabriele Mukherjee-Müller³⁾,
Hans-Jürgen Hansen⁴⁾ und Hans Schmid

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Rämistrasse 76, 8001 Zürich

*) Institut de chimie organique de l'Université de Fribourg, Pérolles, 1700 Fribourg.

(8. IV. 75)

Summary. The acid-catalysed rearrangement of the cyclohex-2-en-1-ols **15**, **d₃-15**, **16**, **17** and **19**, the cyclohexa-2,5-dien-1-ols **20** and **21**, and also the allyl alcohols **22** and **23** (Scheme 3), using 98-percent sulfuric acid/acetic anhydride 1:99 at room temperature, was investigated. From the rearrangement of 4-allyl-4-phenyl-cyclohex-2-en-1-ol (**15**), with reaction times greater than 2 hours a single product is obtained, 4-allyl-biphenyl (**50**) in 33% yield (Scheme 9). With reaction times below 2 hours the acetate **53** from **15** was isolated, and this could be converted into **50**. The reaction of 2',3',3'-d₃-**15** in Ac₂O/H₂SO₄ lead to 1',1',2'-d₃-**50** (Scheme 11). The rearrangement of 4-allyl-4-methyl-cyclohex-2-en-1-ol (**16**) (Scheme 14) yielded 39% of the corresponding acetate **60** and 30% of 4-allyl-toluene (**6**), which also resulted by a rearrangement of **60** under the reaction conditions. These rearrangements are all [3s,4s]-sigmatropic reactions, which proceed *via* the cyclohexenyl cation **a** (Scheme 12, R = C₆H₅, CH₃). In Ac₂O/H₂SO₄ the allyl-cyclohexadienes primarily formed subsequently undergo dehydrogenation to yield the benzene derivatives **6**, **50** and **d₃-50**.

From the rearrangement of 4,4-diphenyl-cyclohex-2-en-1-ol (**19**) at 0° a reaction mixture is obtained which consists of the acetate **55**, 2,3-diphenyl-cyclohexa-1,4-diene (**57**) and *o*-terphenyl (**56**) (Scheme 10). Both **55** and **57** are converted under the reaction conditions to *o*-terphenyl (**56**). No 4-(1'-methylallyl)-biphenyl is obtained from the rearrangement of 4-crotyl-4-phenyl-cyclohex-2-en-1-ol (**17**). In this case, apart from the corresponding acetate **64**, a single product 5-(1'-acetoxyethyl)-1-phenyl-bicyclo[2.2.2]oct-2-ene (**65**) (Scheme 16) was obtained; under the reaction conditions the acetate **64** rearranges to **65**.

The rearrangement of 4-allyl-4-phenyl-cyclohexa-2,5-dien-1-ol (**20**) gives, as expected, not only 4-allyl-biphenyl (**50**) but also 2- and 3-allyl-biphenyl (**51** and **52**) and biphenyl (Scheme 13). 4-Benzyl-4-methyl-cyclohexa-2,5-dien-1-ol (*syn*- and *anti*-**21**) gave in Ac₂O/H₂SO₄ at 10° as rearrangement products 93% of 2-benzyltoluene (**97**) and 7% of 4-benzyl-toluene (**98**) (Scheme 21). Hence [1,4]-rearrangements in cyclohexadienyl cations, seems to occur only to a limited extent.

The alicyclic alcohols **22** and **23** (Scheme 18) gave, in Ac₂O/H₂SO₄, as main product the corresponding acetates **73** and **75**, as well as small amounts of olefins **74** and **76** formed by dehydra-

¹⁾ Teil der Dissertation von P. Vittorelli, Universität Zürich 1975.

²⁾ Teil der Dissertation von J. Peter-Katalinić, Universität Zürich 1973.

³⁾ Teil der geplanten Dissertation von G. Mukherjee-Müller, Universität Zürich.

⁴⁾ Zum Teil als Werner-Preis-Vortrag an der Herbstversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft, Neuenburg (11.–12. Oktober 1974), gehalten [1].