

## Poly-DL-C-propargylglycin

2. Mitt. über Acetylen-Aminosäuren<sup>1</sup>  
5. Mitt. über synthetische Polypeptide<sup>2</sup>

Von

K. Schlögl und H. Pelousek

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 27. Januar 1960)

Polymerisation von DL-C-Propargylglycin-N-carbonsäureanhydrid (II) lieferte ein Poly-propargylglycin (III) vom mittleren Polymerisationsgrad  $n = 32$ . Versuche, ausgehend von diesem Polypeptid durch Reaktionen an den Acetylenbindungen zu entsprechenden Derivaten zu gelangen, führten bis auf eine Ausnahme (oxydative Kupplung) zu keinen eindeutigen Ergebnissen.

Das Polypeptid besitzt jedoch Austauschereigenschaften gegenüber Ag- und Cu-Ionen.

Zum Vergleich wurden über die N-Trifluoracetylderivate auch das Di- und Tripeptid des Propargylglycins dargestellt. Oxydative Kupplung eines Dipeptidderivates (IX) mit Cu-Acetat in Pyridin-Äther führte zu einem makrocyclischen Produkt, dem wahrscheinlich die Struktur eines Cyclo-bis-dipeptides (XIV) zukommt.

In Weiterführung der Untersuchungen sowohl über Acetylen-Aminosäuren<sup>1</sup> als auch über synthetische Polypeptide<sup>2</sup> haben wir das Poly-C-propargylglycin (III,  $n = 32$ ) dargestellt, welches — wie das schon früher beschriebene Poly-C-allylglycin<sup>3</sup> — infolge der ungesättigten Seitenketten weiteren Umsetzungen zugänglich sein sollte. Im vorliegenden Fall schienen besonders durch die reaktionsfähige  $C \equiv CH$ -Gruppierung einige interessante Möglichkeiten gegeben.

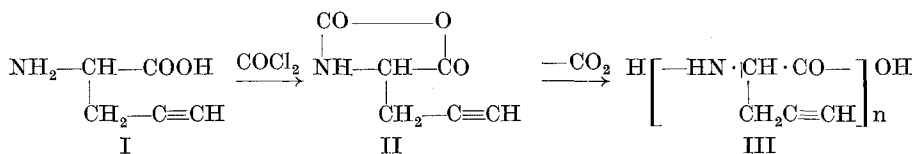
<sup>1</sup> 1. Mitt.: K. Schlögl, Mh. Chem. **89**, 377 (1958).

<sup>2</sup> 4. Mitt.: K. Schlögl und H. Fabitschowitz, Mh. Chem. **86**, 233 (1955).

<sup>3</sup> K. Schlögl und H. Fabitschowitz, Mh. Chem. **85**, 1060 (1954).

Wenn sich auch die meisten Reaktionen der Acetylenchemie<sup>4</sup> — nicht zuletzt wahrscheinlich wegen der Schwerlöslichkeit des Polypeptides — nicht oder zumindest nicht eindeutig realisieren ließen, soll doch über die Synthese und Untersuchungen am Polypeptid kurz berichtet werden, das vor allem wegen seiner Austauschereigenschaften gegenüber Ag- oder Cu-Ionen einigtes Interesse beanspruchen darf.

Die Darstellung des Poly-propargylglycins (III) erfolgte in üblicher Weise durch Polymerisation des entsprechenden N-Carbonsäureanhydrides (II) (das aus Propargylglycin (I) mit Phosgen in absol. Tetrahydrofuran glatt zugänglich war) in Nitrobenzol mit Spuren Ammoniak als Starter. Das Polypeptid fiel nach entsprechender Aufarbeitung und Reinigung (siehe exper. Teil) als farbloses Pulver an, das in den wichtigsten Polypeptidlösungsmitteln mit Ausnahme von flüssigem Ammoniak praktisch unlöslich ist. Es zersetzt sich oberhalb 310° und besitzt nach der Aminostickstoffbestimmung<sup>5</sup> ein mittleres Molgewicht von etwa 3100 und damit einen mittleren Polymerisationsgrad von  $n = 32$ .



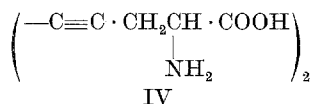
Im IR-Spektrum trat neben den zu erwartenden Amidbanden die  $\text{C}\equiv\text{C}$ -Bande nur schwach in Erscheinung, was ein molares Verhältnis von  $\text{CONH}$  zu  $\text{C}\equiv\text{C}$  wie 1:1 unwahrscheinlich erscheinen ließ. Da jedoch auch im Propargylglycin selbst die Intensität der  $\text{CONH}$ -Bande gegenüber der Acetylenbande stark überwiegt, ferner Druckhydrolyse des Polypeptides mit Salzsäure (4 Stdn. bei 140°) im Papierchromatogramm Propargylglycin zeigte und die berechnete Menge Ag vom Polypeptid gebunden wird (siehe S. 233), scheint die angemessene Struktur des Polypeptides mit der intakten  $\text{C}\equiv\text{CH}$ -Gruppe in der Seitenkette bewiesen. Im Chromatogramm von Hydrolysaten verschiedener Polypeptidfraktionen trat neben I immer wieder ein zweiter Fleck mit höherem  $R_F$ -Wert auf, der einem  $\text{HCl}$ -Additionsprodukt zuzuschreiben ist, wie aus Kontrollversuchen mit reinem Propargylglycin hervorgeht. (Über ein  $\text{HBr}$ -Additionsprodukt siehe weiter unten.)

Versuche, an dem Polypeptid die üblichen Reaktionen einer (endständigen) Acetylenbindung, wie etwa Hydrierung, Wasseraddition oder Carboxylierung (letztere über das Na-Salz, das in flüssigem Ammoniak mit  $\text{NaNH}_2$  erhalten wurde, mit  $\text{CO}_2$ -Schnee) auszuführen, führten zu

<sup>4</sup> R. A. Raphael, Acetylenic Compds. in Org. Chem., Butterworths, London 1955.

<sup>5</sup> G. Kainz, Mikrochim. Acta [Wien] 1953, 349; G. Kainz und F. Schöller, Biochem. Z. 327, 292 (1955).

keinen definierten Ergebnissen bzw. nur zu geringfügigem Umsatz, wie sich aus den IR-Spektren bzw. nach papierchromatographischer Kontrolle der Hydrolysate der Reaktionsprodukte ergab. Oxydative Kupplung lieferte jedoch ein quervernetztes Polypeptid, da nach Hydrolyse im Chromatogramm neben chlorierten Produkten deutliche Mengen des bereits früher beschriebenen Bis-propargylglycins (IV)<sup>1</sup> vorlagen. Die besten Ergebnisse wurden dabei mit wasserfreiem Cu(II)-acetat in Pyridin-Äther (Modifizierung von *Eglinton* und *Galbraith*<sup>6</sup>) erzielt, während die übliche Ausführungsform der oxydativen Kupplung<sup>4</sup> weit geringere Mengen an Kupplungsprodukt ergab.



Das Vorliegen von  $\text{C}\equiv\text{CH}$ -Gruppen zusammen mit der Schwerlöslichkeit des Polypeptides legten es nahe, es auf seine Austauschereigenschaften, vor allem gegen Ag-, aber auch gegen Cu-Ionen hin zu untersuchen. Auf andere (Schwermetall-)ionen wurde nicht geprüft, so daß über die Spezifität der Austauscherwirkung keine Aussagen gemacht werden können. Besonders bequem konnte dabei der Umsatz beim Arbeiten mit Silbernitratlösungen verfolgt werden, da pro gebundenem Äquivalent  $\text{Ag}^+$  die entsprechende Menge Salpetersäure in Freiheit gesetzt wird, die sich leicht alkalimetrisch erfassen läßt. Mehrstündiges Schütteln einer Suspension des Polypeptides (in Mengen von 4 mMol) mit einem Unterschuß von Ag (15 ml n/10  $\text{AgNO}_3$ -Lösung, d. s. 1,5 mMol) unter Zusatz eines Netzmittels führte zur Bindung von nur 0,5 mMol Ag (33%), während beim Arbeiten mit einem Ag-Überschuß (20 mMol, 20 ml n- $\text{AgNO}_3$ ) die Austauscherkapazität des Polypeptides voll ausgenutzt wird (4 mMol Ag gebunden), wie übrigens auch aus der Gewichtszunahme festgestellt werden konnte. Aus dem Silbersalz konnte das Polypeptid durch Schütteln mit einer Natriumcyanidlösung wieder regeneriert werden.

Das hellgrüne Cu(I)-salz des Polypeptides wurde auf ähnliche Weise durch Schütteln mit einer Lösung von  $\text{Cu}_2\text{Cl}_2$  in Ammonchlorid erhalten; es wurde dann auch für die oxydative Kupplung (siehe oben) eingesetzt.

Schlechter, wenn auch qualitativ ähnlich, waren die Ergebnisse bei Verwendung von Säulen, in die das Polypeptid als solches oder adsorbiert an Celit (siehe exper. Teil) gefüllt wurde.

Nach einmaligem Durchfluß eines (5molaren) Überschusses einer 2 n-Silbernitratlösung (8 mMol Polypeptid, 20 ml Lösung) wurden auch bei geringer Durchflußgeschwindigkeit (ca. 5 ml pro Stde.) nur 70% (5,6 mMol) Ag gebunden. Bei einem Ag-Überschuß hingegen (8 mMol Peptid, 8 ml n/10 Silbernitratlösung, d. s. 0,8 mMol) waren nur 45%

<sup>6</sup> *G. Eglinton* und *A. R. Galbraith*, J. Chem. Soc. [London] **1959**, 889.

(0,36 mMol) der angebotenen Silbermenge gebunden worden. Dieser Wert sank bei mehrfacher Wiederholung des Durchfließens auf 0,35, 0,30 mMol und dann mit zunehmender Belastung der Säule noch weiter ab. Er war aber von der Menge der durchfließenden Silberlösung (5 bis 20 ml n/10 AgNO<sub>3</sub>) ziemlich unabhängig, nicht aber von der Konzentration. Bei n/100 AgNO<sub>3</sub>-Lösungen (20 ml) wurden nach einmaligem Durchfluß nur mehr etwa 0,05 mMol Ag adsorbiert.

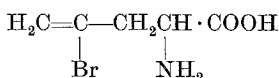
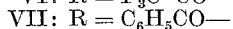
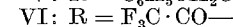
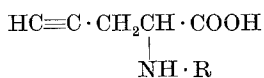
Beim Waschen mit Wasser wurde kein Silber eluiert, hingegen konnte mit Natriumcyanidlösung die Säule wieder regeneriert werden (Ag wurde praktisch quantitativ eluiert); sie zeigte nachher die ursprünglichen Eigenschaften (Belastbarkeit!).

Bei dem auf Celit adsorbierten Polypeptid lagen die Verhältnisse ähnlich, doch wurde pro Durchfluß und mMol Polypeptid eher noch weniger Ag (ca. 0,2 mMol) unter sonst analogen Verhältnissen gebunden.

Es scheint also nach den bisherigen Erfahrungen nicht möglich, mit Hilfe von Polypropargylglycin auf die beschriebene Weise Ag-Ionen aus wäßrigen Lösungen *quantitativ* zu entfernen.

Zusätzlich zu dem Polypeptid haben wir noch die beiden ersten Glieder der polymerhomologen Reihe, nämlich das Di- und Tripeptid des DL-C-Propargylglycins (III, n = 2 bzw. 3) auf folgendem Weg dargestellt:

Zum Schutz der Aminogruppe wählten wir zuerst die Carbobenzyloxygruppe, doch zeigte sich, daß eine Abspaltung dieser Gruppe aus dem N-Cbzo-Propargylglycin (V) ohne Veränderung des Aminosäurerestes nicht möglich war. Hydrierende Abspaltung war ja wegen der Dreifachbindung von vornherein auszuschließen, aber auch HBr in Eisessig<sup>7</sup> führte selbst nach kurzer Zeit zu HBr-Addition an die Dreifachbindung, wie aus Kontrollchromatogrammen ersichtlich war, in denen neben unverändertem Propargylglycin auch beträchtliche Mengen des bromierten Produktes vorlagen; dieses wurde zum Vergleich aus Propargylglycin durch HBr-Behandlung dargestellt und als Monobromallylglycin (VIII) identifiziert.



VIII

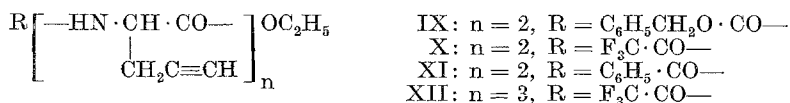
Von anderen in Frage kommenden Aminoschutzgruppen schien der Trifluoracetyl(TFA)-rest<sup>8</sup> wegen der milden Bedingungen zur Abspaltung am geeignetsten. Tatsächlich war aus TFA-Propargylglycin (VI) die

<sup>7</sup> D. Ben-Ishai und A. Berger, J. Org. Chem. **17**, 1564 (1952).

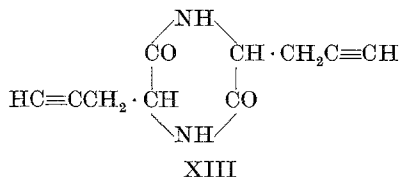
<sup>8</sup> F. Weygand und R. Geiger, Chem. Ber. **89**, 647 (1956); F. Weygand und E. Osendes, Angew. Chem. **64**, 136 (1952).

Aminosäure unverändert regenerierbar und daher wurde diese Gruppe für die Peptidsynthese gewählt. Als zweite Kupplungskomponente benötigten wir den (Äthyl)-ester des Propargylglycins; hier erwies sich die übliche Veresterungsmethode für Aminosäuren (mit HCl-Gas in Alkohol) als unbrauchbar, da sie wieder in wechselnden Mengen zu chlorierten Produkten führte, wie nach Verseifung und Chromatographie festgestellt wurde. Veresterung in Äthanol unter Zusatz von wenig konz. Schwefelsäure ergab aber in guten Ausbeuten den gewünschten Ester.

Diesen Ester kuppelten wir nun nach der Carbodiimidmethode mit TFA-Propargylglycin (VI), aber auch mit Cbzo- und Benzoyl-propargylglycin (V bzw. VII) zu den entsprechend geschützten Dipeptidderivaten (IX, X und XI). Aus dem TFA-Dipeptidester (X) konnten dann mit verd. NaOH beide Schutzgruppen (Ester und TFA-Rest) entfernt werden, wobei man zum Dipeptid (III,  $n = 2$ ) gelangte, das sich unter Aufnahme der berechneten Menge Wasserstoff zum Norvalylnorvalin hydrieren ließ, das durch Hydrolyse zum Norvalin identifiziert wurde.



Unter entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen (Eiskühlung, kurze Reaktionszeit) konnte das Dipeptid mit HCl-Gas in absol. Äthanol in den Äthylester übergeführt werden, der chlorfrei war, sehr leicht in das Dioxopiperazin (XIII) überging, sich aber nach der Carbodiimidmethode



in befriedigender Ausbeute mit TFA-Propargylglycin (VI) zum N-TFA-Tripeptidester (XII) umsetzen ließ, aus dem nach Behandeln mit verd. NaOH das papierchromatographisch einheitliche Tripeptid (III,  $n = 3$ ) erhalten wurde. Die Ninhydrinreaktion des Di- und Tripeptides führt, wie auch die des Propargylglycins und anderer Acetylenaminosäuren<sup>1</sup> nicht zu violetten, sondern zu gelbbraunen Flecken am Papier.

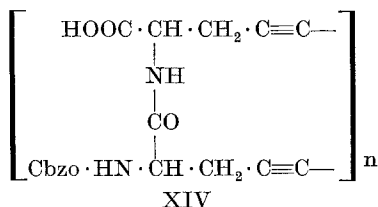
Zum Abschluß sollen noch kurz Versuche erwähnt werden, ausgehend vom N-Cbzo-Dipeptidester (IX) durch oxydative Kupplung unter geeigneten Bedingungen zu makrocyclischen Verbindungen zu gelangen, die analog anderen Arbeiten<sup>6,9</sup> über eine bifunktionelle Acetylenverbindung,

<sup>9</sup> F. Sondheimer und Y. Amiel, J. Amer. Chem. Soc. **78**, 4178 (1956); dieselben und R. Wolovsky, ebda. **79**, 4247 (1957); F. Sondheimer und R. Wolovsky, ebda. **81**, 1771 (1959).

wie sie beim Dipeptid vorliegt (zwei  $C\equiv CH$ -Gruppen in einem Molekül), zugänglich sein mußten.

Tatsächlich erhielten wir in Pyridin-Äther mit  $Cu(II)$ -acetat in großer Verdünnung aus 0,5 g IX nach Verseifen der Estergruppen etwa 10 mg einer Säure, die papierchromatographisch einheitlich war, nach Hydrolyse kein Propargylglycin, sondern nur mehr die dimere Verbindung (IV) zeigte, die verhältnismäßig scharf schmolz ( $142-148^\circ$ ) und auch die richtigen Analysenwerte (N, Äqu.-Gew.) ergab.

Auf Grund des Schmelzpunktes und des papierchromatographischen Verhaltens ist eine polymere Verbindung auszuschließen; jedoch ließen sich wegen der geringen Mengen weder die Ringgröße noch die Art der Verknüpfung (symmetrisch oder asymmetrisch) festlegen. An Modellen läßt sich zeigen, daß intramolekularer Ringschluß im Dipeptid (zu einem 10er Ring) unmöglich ist. Es scheint das Vorliegen eines Cyclo-bis-dipeptides (20gliedriger Ring) (XIV,  $n = 2$ ) am wahrscheinlichsten.



Die Mikroanalysen wurden von Herrn Doz. Dr. G. Kainz im Mikrolaboratorium des Analytischen Institutes ausgeführt.

Die Aufnahme der IR-Spektren verdanken wir Herrn Dr. J. Derkosch.

### Experimenteller Teil

#### C-Propargylglycin-N-carbonsäureanhydrid (II)

17,5 g Propargylglycin<sup>1</sup> wurden in 250 ml absol. Tetrahydrofuran (THF) suspendiert und in die Suspension wurde unter Rühren bei  $40-50^\circ$   $\text{COCl}_2$  bis zur völligen Lösung (15 Min.) und dann noch 45 Min. eingeleitet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels im Vak. bei  $40^\circ$  wurde der feste Rückstand aus absol. THF-Petroläther zweimal umkristallisiert. Schmp.  $125-127^\circ$  (Zers. ab ca.  $130^\circ$ )<sup>10</sup>. Ausb.: 18,0 g (84% d. Th.).

$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_3$ . Ber. N 10,07. Gef. N 10,35.

#### Poly-C-propargylglycin (III, $n = 32$ )

17,0 g N-Carbonsäureanhydrid (II) wurden in 350 ml frisch destilliertem absol. Nitrobenzol unter schwachem Erwärmen gelöst, mit 1 ml einer gesättigten Lösung von  $\text{NH}_3$ -Gas in absol. Dioxan versetzt und am Wasserbad erhitzt. Schon nach 15 Min. begann die Lösung zu einer Gallerte zu erstarren. Nach

<sup>10</sup> Alle Schmelzpunkte dieser Arbeit wurden im Mikroschmelzpunktapparat nach Kofler bestimmt.

24 Stdn. wurde gekühlt, mit 350 ml Äther versetzt, abgesaugt und gut mit Äther gewaschen. Schließlich wurde das helle, fast farblose Pulver im Apparat erschöpfend mit Äther extrahiert. Zersp.: 310—330°. Ausb.: 10,5 g (92% d. Th.). Das Polypeptid ist in flüssigem Ammoniak löslich und kann aus der Lösung unverändert rückgewonnen werden. Es ist praktisch unlöslich in Dimethylformamid, Eisessig, wasserfreier Ameisensäure (zum Unterschied von Polyallylglycin<sup>3</sup>), Wasser, Alkohol und den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln.

(C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>NO)<sub>32</sub>. Ber. N 14,70, N<sub>NH<sub>2</sub></sub> 0,46. Gef. N 14,91, N<sub>NH<sub>2</sub></sub> 0,45.

Die *Hydrolyse* des Polypeptides erfolgte durch 4—5stdg. Erhitzen mit konz. HCl im Rohr auf 130—140°. Der Abdampfrückstand wurde absteigend auf Schleicher & Schüll 2043 a mit dem Gemisch n-Butanol-Äthanol-konz. wäbr. Ammoniak-Wasser (4:4:1:1) chromatographiert. Es traten zwei Flecken mit den R<sub>F</sub>-Werten 0,27 (Propargylglycin) und 0,34 (chloriertes Produkt) auf.

#### Oxydative Kupplung von Poly-propargylglycin

a) Eine Suspension von 0,4 g Polypeptid in 100 ml absol. Pyridin wurde zusammen mit 1,5 g Cu(II)-acetat 3 Stdn. unter Rühren zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen und Verdünnen mit 500 ml n HCl erhielt man 0,5 g braunen Niederschlag, der ähnliche Eigenschaften wie das Polypeptid selbst besaß und nach Hydrolyse (Bedingungen wie beim Polypeptid, s. oben) neben chlorierten Produkten mit höherem R<sub>F</sub>-Wert den Fleck des Bis-propargylglycins (IV) (Vergleich mit einer authentischen Probe<sup>1</sup>) zeigte. Propargylglycin war nicht mehr nachzuweisen.

b) 0,38 g Polypeptid wurden in einer Lösung von Cu<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> in gesättigter NH<sub>4</sub>Cl-Lösung suspendiert (50 ml) und 4 Stdn. auf der Maschine geschüttelt. Das hellgrüne Cu-Salz (0,4 g) wurde abgesaugt, in 20 ml Wasser suspendiert und die Suspension unter heftigem Rühren tropfenweise mit 5 ml Perhydrol versetzt. Nach weiterem Rühren (30 Min.) wurde das schwarzbraune Produkt abgesaugt und wie beschrieben hydrolysiert. Im Hydrolysat lagen neben chlorierten Produkten etwa gleichstarke Flecken von Propargylglycin und des dimeren Produktes (IV) vor.

#### Polypeptid als Austauscher

a) *ohne Träger*: Verwendet wurden Röhrchen vom Durchmesser 0,5 cm, in die das gut gepulverte Polypeptid (0,76 g, d. s. 8 mMol) unter Klopfen etwa 5 cm hoch eingefüllt wurde. Nach Waschen mit Wasser wurden die zu prüfenden Silbernitratlösungen, denen einige Tropfen eines Netzmittels (Tee-pol) zugesetzt worden waren, durchfließen gelassen. Nach jeder Bestimmung wurde mit dest. Wasser nachgewaschen. Die Durchflußgeschwindigkeit betrug (evtl. nach Anlegen eines geringen Vak.) etwa 10 ml pro Stde.

Im Eluat erfolgte die Bestimmung der Salpetersäure nach Versetzen mit überschüssigem NaCl (Ausfällen des überschüssigen Silbers) durch Titration mit n/10 NaOH. Kontrollversuche zeigten, daß auf diese Weise HNO<sub>3</sub> neben AgNO<sub>3</sub> quantitativ erfaßt werden kann.

b) *mit Träger*: 0,38 g Polypeptid (4 mMol) wurden in ca. 50 ml flüssigem NH<sub>3</sub> gelöst und die Lösung mit 3,8 g Celit (Nr. 535) gut verrührt. Nach Verdunsten des Ammoniaks wurde noch im Vakuum-Exsiccator über konz. Schwefelsäure gut getrocknet. Von diesem Pulver wurden Mengen, die 2 mMol entsprachen (2,1 g), in Chromatographieröhrchen (1 × 10 cm) gefüllt

und vor Benützung gut mit dest. Wasser gewaschen. Auch hier wurde die Durchflußgeschwindigkeit auf ca. 10 ml/Stde. eingestellt.

#### N-Cbzo-Propargylglycin (V)

1,13 g Propargylglycin (0,01 Mol) wurden mit 2,2 g Chlorkohlensäurebenzylester (0,013 Mol) in n-NaOH in üblicher Weise acyliert. Nach dem Ausäthern der alkalischen Lösung wurde angesäuert und erneut ausgeäthert. Der Ätherrückstand lieferte 2,1 g (85% d. Th.) Cbzo-Aminosäure, die, aus Äther-Petroläther umkristallisiert, von 132—133° schmolz.

$C_{13}H_{13}NO_4$ . Ber. Äqu.-Gew. 247. Gef. Äqu.-Gew. 249 (Tit.).

Die *Abspaltung des Cbzo-Restes* erfolgte durch Behandeln von 0,5 g Cbzo-Propargylglycin mit 5 ml Eisessig, der bei 0° mit HBr gesättigt war. Nach 1 Stde. bei Zimmertemp. wurde die klare Lösung mit absol. Äther und Petroläther (je ca. 100 ml) verdünnt, wobei sich das Hydrobromid abschied. Es wurde in absol. Äthanol gelöst und mit Pyridin die Aminosäure in Freiheit gesetzt. Im Papierchromatogramm (Bedingungen wie oben, S. 233) lagen zwei Flecken mit den  $R_F$ -Werten 0,27 und 0,46 von etwa gleicher Stärke vor.

#### Brom-allylglycin (VIII)

0,5 g Propargylglycin wurden in 5 ml HBr-gesättigtem Eisessig unter geringem Erwärmen gelöst und die Lösung 20 Stdn. bei Zimmertemp. aufbewahrt. Das Lösungsmittel haben wir anschließend im Vak. bei 40—50° entfernt und aus dem Rückstand, wie oben beschrieben, die Aminosäure mit Pyridin in Freiheit gesetzt. Ausb.: 0,43 g (50% d. Th.). Aus Äthanol-Wasser Schmp. 209—214° (Zers.).  $R_F$ -Wert: 0,46. Das Vorliegen einer Doppelbindung wurde durch Entfärben von  $KMnO_4$ -Lösung und Bromwasser nachgewiesen.

$C_5H_8BrNO_2$ . Ber. Br 41,20. Gef. Br 41,53.

#### N-Trifluoracetyl-propargylglycin (VI)

Eine Lösung von 0,5 g getrocknetem Propargylglycin in 5,0 g Trifluoressigsäure<sup>11</sup> wurde auf —10° gekühlt und unter Schütteln 1,0 g Trifluoressigsäureanhydrid zugegeben. Nach 30 Min. bei +10° wurde die Lösung im Vak. bei 30° eingedampft und der Rückstand aus Äther-Petroläther umkristallisiert. Ausb.: 0,7 g (75% d. Th.), Schmp. 102—104°.

$C_7H_6F_3NO_3$ . Ber. N 6,70. Gef. N 6,84.

#### N-Benzoyl-propargylglycin (VII)

Die Benzoylierung erfolgte in üblicher Weise unter *Schotten-Baumann*-Bedingungen mit 20% Überschuß an Benzoylchlorid. Das benzoylierte Produkt wurde nach dem Ansäuern in Äther aufgenommen und durch Auskochen mit Petroläther von anhaftender Benzoesäure befreit. Ausb.: 42% d. Th. Aus Äther-Petroläther Schmp. 125—129°.

$C_{12}H_{11}NO_3$ . Ber. N 6,45. Gef. N 6,50.

#### Propargylglycin-äthylester

3,0 g Propargylglycin in 25 ml absol. Äthanol versetzten wir mit 1,0 ml konz. Schwefelsäure und erhitzen die Mischung 4 Stdn. am Wasserbad.

<sup>11</sup> Für die Überlassung von Trifluoressigsäure (als Na-Salz) sind wir Herrn Prof. Dr. F. Weygand, München, zu großem Dank verpflichtet.



Der Alkohol wurde im Vak. entfernt, der Rückstand in Wasser gelöst, unter Kühlung mit  $K_2CO_3$  gesättigt und erschöpfend mit Äther ausgeschüttelt. Der Ätherrückstand ließ sich im Kugelrohr bei 13 mm von 90—100° (Luftbadtemp.) destillieren. Farbloses Öl, 2,5 g (67% d. Th.).

Das *Pikrat* schmolz, aus Äthanol-Äther-Petroläther umkristallisiert, von 141—143°.

$C_{13}H_{14}N_4O_9$ . Ber. N 15,13. Gef. N 15,29.

#### N-Cbzo-Propargylglycyl-propargylglycin-äthylester (IX)

Die Lösungen von 0,7 g (0,005 Mol) Propargylglycinäthylester, 1,2 g Cbzo-Propargylglycin (V) (0,005 Mol) und 1,25 g Dicyclohexylcarbodiimid (10% molarer Überschub) in absol. THF wurden vereinigt, wobei sich nach kurzer Zeit der Dicyclohexylharnstoff auszuschcheiden begann. Nach 10 Stdn. bei Zimmertemp. wurde mit einigen Tropfen Essigsäure versetzt, nach einer weiteren Stde. der Harnstoff abfiltriert und das Filtrat im Vak. zur Trockene gedampft. Die Lösung des Rückstandes in Essigester wurde mit verd. HCl,  $Na_2CO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen und über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Das Rohprodukt (1,65 g, d. s. 89% d. Th.) konnte aus Essigester-Petroläther umkristallisiert werden. Schmp.: 70—75°.

$C_{20}H_{22}N_2O_5$ . Ber. N 7,56. Gef. N 7,78.

#### N-Trifluoracetyl-propargylglycyl-propargylglycin-äthylester (X)

Dieser Dipeptidester wurde analog dem Cbzo-Dipeptidester (IX) aus TFA-Propargylglycin (VI) und Propargylglycin-äthylester nach der Carbodiimidmethode in 70proz. Ausbeute erhalten. Aus Essigester-Petroläther Schmp. 92—95°.

$C_{14}H_{15}F_3N_2O_4$ . Ber. N 8,40. Gef. N 8,65.

#### N-Benzoyl-propargylglycyl-propargylglycin-äthylester (XI)

Auch dieses Dipeptidderivat ließ sich nach der Carbodiimidmethode aus VII und Propargylglycinester in guten Ausbeuten erhalten, doch stößt die Reinigung — vermutlich wegen Nebenreaktionen an der Benzoylgruppe, wie z. B. Azlactonbildung (es trat starke Rotfärbung auf) — auf gewisse Schwierigkeiten. Es konnte jedoch durch Behandeln mit Äther-Petroläther ein Produkt gewonnen werden, das von 99—105° schmolz.

$C_{19}H_{20}N_2O_4$ . Ber. N 8,23. Gef. N 8,63.

#### Propargylglycyl-propargylglycin (III, n = 2)

0,66 g (0,002 Mol) TFA-Dipeptidester (X) wurden in Alkohol gelöst, mit 4,8 ml n NaOH versetzt und über Nacht bei Zimmertemp. stehen gelassen. Nach Abdampfen des Äthanol im Vak. wurde durch vorsichtiges Ansäuern mit n HCl (bis pH 6) 0,1 g des Dipeptides ausgefällt. Weitere 70 mg konnten nach Abdampfen der wäßr. Lösung und Befreien vom Kochsalz mit wenig Wasser isoliert werden. Gesamtausb.: 0,17 g (41% d. Th.). Das schwach hellbraun gefärbte Dipeptid ist amorph und zersetzt sich von 225—228°.  $R_F$ -Wert (Bedingungen S. 233) 0,36.

$C_{10}H_{12}N_2O_3$ . Ber. N 13,46. Gef. N 13,47.

Die *Hydrierung* des Dipeptides erfolgte unter Verwendung von Pd-Tierkohle (10proz.) in Äthanol als Lösungsmittel, dem einige ml n-HCl zugesetzt wurden. Nach 1 Stde. war die berechnete Menge Wasserstoff aufgenommen. Zur Hydrolyse wurde der Abdampfückstand der vom Katalysator befreiten Lösung 4 Stdn. mit konz. HCl gekocht und zeigte im Chromatogramm ausschließlich Norvalin

Propargylglycyl-propargylglycin-äthylester

0,52 g Dipeptid wurden in absol. Äthanol (20 ml) suspendiert und die Suspension unter Eiskühlung mit HCl-Gas gesättigt, wobei bald Lösung eintrat. Nach 1 Stde. Stehen bei  $+10^\circ$  wurde der Alkohol im Vak. bei tiefer Temp. entfernt, der Ester in üblicher Weise in Freiheit gesetzt und in Äther aufgenommen. Schon nach kurzer Zeit schied sich aus der Ätherlösung das *Dioxopiperazin* XIII in schönen Nadeln ab. Aus Äthanol-Wasser umkristallisiert, schmolz es von  $263-265^\circ$ .

$C_{10}H_{10}N_2O_2$ . Ber. N 14,73. Gef. N 14,66.

XIII konnte auch aus Propargylglycin-äthylester durch mehrtägiges Aufbewahren einer wäßrigen Lösung bei Zimmertemp. erhalten werden.

Aus dem äther. Filtrat vom Dioxopiperazin konnten durch vorsichtiges Eindampfen bei Zimmertemp. 0,3 g (50% d. Th.) Dipeptidester als Öl erhalten werden, das ohne Reinigung sofort zum TFA-Tripeptidester umgesetzt wurde. Die Beilsteinprobe des Esters war negativ, das *Pikrat* schmolz nach mehrmaligem Umkristallisieren aus wäßr. Äthanol von  $160-164^\circ$ .

$C_{18}H_{19}N_5O_{10}$ . Ber. N 15,05. Gef. N 14,98.

N-Trifluoracetyl-propargylglycyl-propargylglycyl-propargylglycin-äthylester (XII)

Aus dem oben beschriebenen Dipeptidester und TFA-Propargylglycin (VI) ließ sich der TFA-Tripeptidester, wie bei X beschrieben, nach der Carbo-dimidmethode in 70% Ausb. (an reinem Produkt) gewinnen. Aus THF-Petroläther Schmp.  $148-152^\circ$ .

$C_{19}H_{20}F_3N_3O_5$ . Ber. N 9,83. Gef. N 9,74.

Propargylglycyl-propargylglycyl-propargylglycin (III, n = 3)

Die Abspaltung der Ester- und der TFA-Gruppe erfolgte, wie beim Dipeptid beschrieben, mit 2,2 Äqu. NaOH in Äthanol. Beim vorsichtigen Neutralisieren scheidet sich aus der wäßrigen Lösung des Na-Salzes das Tripeptid in einer Ausb. von 40% d. Th. ab. Es zersetzt sich von  $224-227^\circ$  und ist papierchromatographisch einheitlich:  $R_F$ -Wert (Bedingungen S. 233) 0,43. Die Ninhydrinreaktion ist schwach.

$C_{15}H_{17}N_3O_4$ . Ber.  $N_{NH_2}$  4,62. Gef.  $N_{NH_2}$  4,85<sup>5</sup>.

Oxydative Kupplung von N-Cbzo-dipeptid-äthylester (IX):  
Cyclo-bis-(Cbzo-dipeptid) (XIV)

0,5 g Cbzo-dipeptidester (IX), gelöst in 70 ml Äther-Pyridin (1:6) wurden während  $2\frac{1}{2}$  Stdn. zu einer am Rückfluß kochenden Mischung aus 350 ml Äther-Pyridin (1:6), die 1,7 g wasserfreies Cu(II)-acetat enthielt, zugetropft. Dabei verfärbte sich die Lösung allmählich von Blau nach Grün. Nach dem

Abkühlen wurde sie langsam unter Rühren in 2,5 l 0,05 n HCl gegossen und die Mischung anschließend gut ausgeäthert. Die Ätherlösung wurde nach dem Waschen mit verd. HCl und Wasser über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und dann verdampft (zuletzt im Vak.). Der Rückstand (0,3 g Öl) wurde in üblicher Weise alkalisch verseift. Aus der dabei gebildeten Säure ließen sich durch mehrfaches Umfällen aus Äthanol-Äther-Petroläther 10 mg einer Substanz gewinnen, die von 142—148° schmolz, im Chromatogramm (Bedingungen S. 233) als Säure nur einen Fleck mit  $R_F = 0,31$  zeigte (Cbzo-Propargylglycin: 0,67, Cbzo-Dipeptid: 0,41) und nach Hydrolyse kein Propargylglycin, sondern nur die dimere Aminosäure (IV) lieferte.

$(\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5)_2$ . Ber. Äqu.-Gew. 340, N 8,23. Gef. Äqu.-Gew. 360, N 8,70.