

Polyamino-polycarbonsäuren. II¹. Über Polypeptide von Diamino-dicarbonsäuren.

IV. Mitteilung über synthetische Polypeptide².

Von

K. Schlögl und H. Fabitschowitz.

Mit 3 Abbildungen.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 20. Dezember 1954.)

Durch Verknüpfung von Di-N-Cbz-diamino-dicarbonsäuren (II) mit Diamino-dicarbonsäureestern (III) mit Hilfe einer geeigneten Peptidsynthese können hochmolekulare Polypeptidketten (IV) entstehen, aus denen durch Verseifung und Decarbobenzoxylieung Polyamino-polycarbonsäuren (VI) mit — im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Polyelektrolyten auf Peptidbasis — periodischer Anordnung der Amino- und Carboxylgruppen erhalten werden können.

Diese Technik wurde zur Darstellung von Polypeptiden (IV) der α, α' -Diaminosebazinsäure (IX) sowie der erstmalig dargestellten Diaminodicarbonsäuren β, β' -(p-Phenyl)-dialanin (X) und β, β' -(p,p'-Diphenyl)-dialanin (XI) benutzt und führte im Falle von IX und X zu ampholytischen Polypeptiden, denen wir die Struktur VI zuschreiben, während im Falle XI ein Polyester erhalten werden konnte.

Die UV-Spektren der monomeren Aminosäuren X und XI sowie der Polyamino-polycarbonsäure VI ($R = -C_6H_4-$) werden diskutiert.

In der ersten Mitteilung über synthetische Polyamino-polycarbonsäuren¹, in der auf die Bedeutung hochmolekularer synthetischer Polyelektrolyte³ sowohl auf Kunststoff- als auch auf Polypeptidbasis hingewiesen wurde, war in Hinblick auf eben diese Bedeutung als unseres

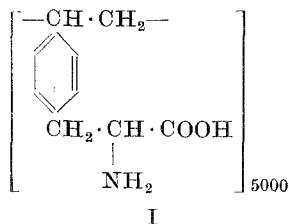
¹ I.: K. Schlögl und H. Fabitschowitz, Mh. Chem. 85, 1223 (1954).

² III. Mittlg.: K. Schlögl und H. Fabitschowitz, Mh. Chem. 85, 1060 (1954).

³ Siehe z. B. A. Katchalsky, Endeavour 12, 90 (1951).

Wissens erster Vertreter eines Polyampholyten auf Kunststoffbasis die Darstellung eines „Poly-Phenylalanins“ auf Polystyrolgrundlage (I) beschrieben worden.

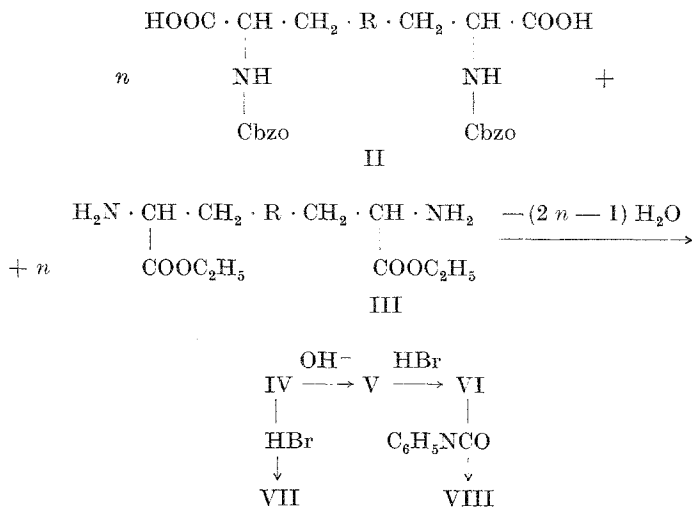
Wie damals angekündigt, soll nun in der vorliegenden Arbeit über eine neue Möglichkeit zur Gewinnung von Polyelektrolyten (Polyamino-polycarbonsäuren) auf Polypeptidbasis berichtet werden.



Es waren wohl schon 2 Vertreter von ampholytischen Polypeptiden, nämlich ein Copolymeres aus Lysin und Glutaminsäure⁴ bzw. aus Lysin, Glutaminsäure und Cystin⁵ beschrieben worden; diese Polypeptide waren aber durch Polymerisation der N-Carbonsäureanhydride des ε -Cbzylsins und des

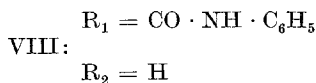
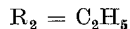
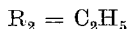
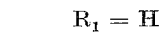
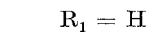
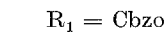
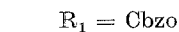
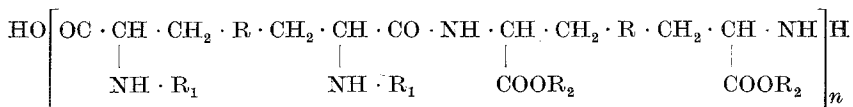
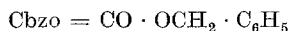
Glutaminsäure- γ -äthylesters (und des Cystins) und nachträgliche Verseifung und Decarbobenzoxylierung der Poly-N-Cbzo-polypeptidester erhalten worden und es war somit keine Gewähr für eine periodische Anordnung der —COOH- und —NH₂-Gruppen gegeben.

Der im folgenden skizzierte Weg bedeutet nun eine allgemein anwendbare Methode für die Darstellung ampholytischer synthetischer Polypeptide mit streng periodischer Anordnung der Carboxyl- und Aminogruppen, wobei es nicht notwendig ist, von α -Amino-N-carbonsäureanhydriden auszugehen.



⁴ S. Akabori, H. Tani und J. Noguchi, Nature **167**, 159 (1951).

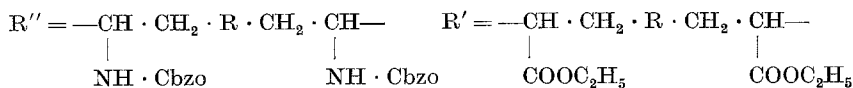
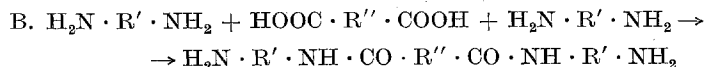
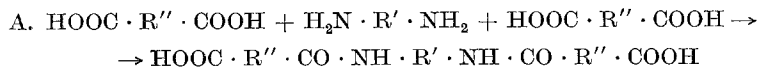
⁵ H. Tani, H. Yuki, S. Sakakibara und T. Taki, J. Amer. Chem. Soc. **75**, 3042 (1953).



Werden Di-N-Cbzo-Verbindungen (II) und die Di-(äthyl)-ester (III) von Diamino-dicarbonsäuren in molekularem Verhältnis nach der Peptidsynthese von *Boissonas* u. a.⁶, also über die gemischten Anhydride mit Kohlensäuremonoäthylester, verknüpft, so können wegen des bifunktionellen Charakters der Verbindungen II und III hochmolekulare Peptidketten (IV) der Diaminodicarbonsäuren entstehen, in denen die Aminogruppen durch die Carbobenzyoxygruppe substituiert und die Carboxylgruppen als Ester vorliegen und in periodischem „Muster“ auftreten. Zweifellos kann dieses Prinzip auch zur Verknüpfung zweier verschiedener Diaminodicarbonsäuren Verwendung finden, also wenn R in II und III verschieden ist.

Verseifung des Poly-Cbzo-esters (IV) zur Poly-Cbzo-säure und anschließende Decarbobenzyoxylierung liefert endlich das gewünschte ampholytische Polypeptid (VI).

Neben den hochmolekularen Peptidketten vom Typus VI, an deren Enden eine freie NH_2 - bzw. COOH -Gruppe sitzt, können auch Verbindungen gebildet werden, die, nach Schema A entstanden, in einer Kette an beiden Enden COOH -Gruppen oder, nach Schema B, freie NH_2 -Gruppen enthalten. Wir können nicht entscheiden, in welchem Ausmaß diese Verbindungstypen in den von uns dargestellten Stoffen enthalten

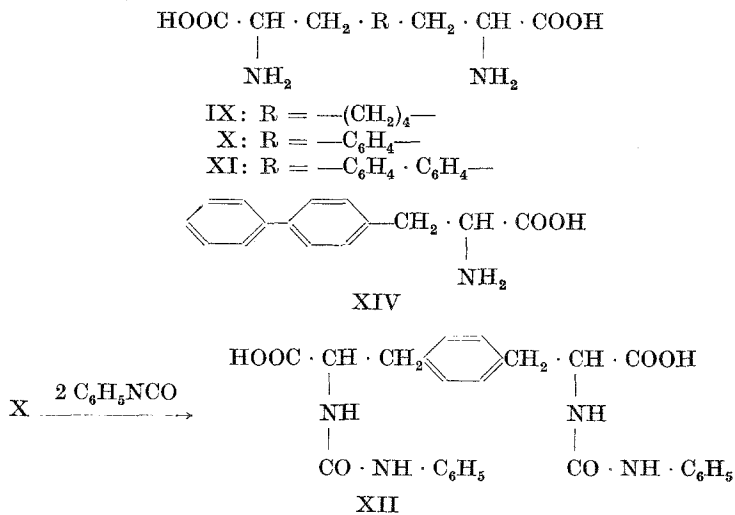


⁶ R. A. *Boissonas*, *Helv. Chim. Acta* **34**, 874 (1951). — *Th. Wieland* und *H. Bernhard*, *Ann. Chem.* **572**, 190 (1951). — *J. R. Vaughan* und *R. L. Osato*, *J. Amer. Chem. Soc.* **73**, 5553 (1951).

sind, glauben aber mit der Gegenwart solcher Stoffe im Reaktionsgemisch rechnen zu müssen.

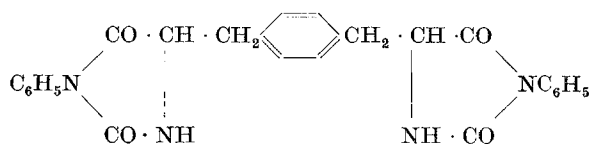
Im folgenden soll nun auf die Darstellung dreier Polypeptide dieser Anordnung, wobei wir allerdings in einem Fall nur zu einem Polyester (VII) gelangen konnten, ausgehend von der Diaminosebazinsäure (IX)⁷ und den beiden erstmals dargestellten Diamino-dicarbonsäuren β, β' -(p-Phenyl)-dialanin (X) und β, β' -(p-Diphenyl)-dialanin [Di- β -(p-phenyl)-alanin] (XI) und die im Zusammenhang damit auftretenden Fragen etwas näher eingegangen werden.

Die Synthese von X verlief glatt durch Kondensation von p-Brommethyl-benzylbromid und Na-Formaminomalonestern in Äthanol und durch anschließende saure, decarboxylierende Verseifung des substituierten Malonesters in ausgezeichneten Ausbeuten, während die Darstellung des für die Synthese der Aminosäure XI nötigen subst. Formaminomalonesters Umsetzung des durch Brommethylierung von Diphenyl gewonnenen p,p'-Dibrommethyl-diphenyls⁸ mit dem Kaliumsalz des Formaminomalonesters¹ erforderte. Die Umsetzung mit dem Na-Salz hatte nur zu nicht kristallisierenden, sehr wenig definierten Produkten geführt. Saure Verseifung des in 81%iger Ausbeute gewonnenen Formaminomalonesters führte auch hier wieder zur gewünschten Aminosäure (XI). Beide Aminosäuren (X und XI) wurden noch durch ihre Di-phenylisocyanatverbindungen (siehe z. B. XII), die sich durch Erhitzen mit Säure in die symmetrischen Di-hydantoine (siehe z. B. XIII) überführen ließen, charakterisiert.



⁷ C. Neuberg, Z. physiol. Chem. **45**, 103 (1905).

⁸ J. A. Goodson und Mitarb., Brit. J. Pharmacol. **3**, 62 (1948); Chem. Abstr. 1949, 3382 a.



XIII

Aus Vergleichsgründen — vor allem für die später zu erwähnenden UV-Spektren — wurde neben der Diamino-dicarbonsäure XI auch noch die Monoamino-monocarbonsäure β -(p-Diphenyl)-alanin (XIV), die schon *Braun* und *Nelles*⁹ beschrieben hatten, aus dem Mono-brom-methyl-diphenyl durch Umsetzung mit Na-Formaminomalonester und anschließende Verseifung als sehr schwer lösliches Pulver vom Zersp. 247 bis 251° erhalten, während die beiden Diamino-dicarbonsäuren X und XI wie auch die Diaminosebazinsäure sich bis 340° nur verfärben, ohne zu schmelzen.

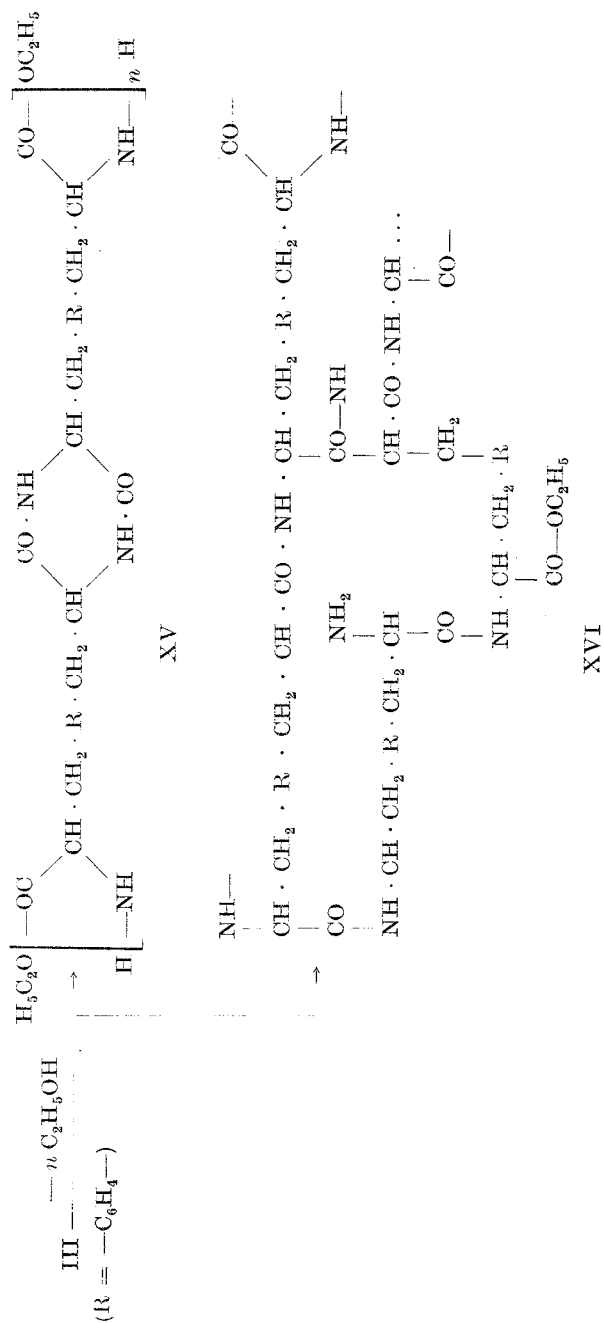
Die für die Synthese der Polypeptide benötigten Di-Cbzo-verbindungen (II) und Di-äthylester (III) konnten in der üblichen Weise als krist. (II, R = —C₆H₄—) bzw. amorphe [II, R = —(CH₂)₄— und —C₆H₄·C₆H₄—] Verbindungen bzw. als destillierbare Öle (III) erhalten werden. Der Ester der Aminosäure XI wurde auch als Pikrat charakterisiert.

Das Vorliegen der freien Ester von Diamino-dicarbonsäuren legte den Gedanken nahe, Polydiketopiperazine darzustellen, die im einfachsten Fall polymere Ketten (XV) darstellen, jedoch auch quervernetzte dreidimensionale Gebilde von Polypeptidstruktur ergeben konnten, wie sie in Formel XVI angedeutet sind. Das bei der thermischen Behandlung des Esters (III, R = —C₆H₄—) im Vak. erhaltene Produkt, das noch 2,46% Äthoxyl enthält, ist praktisch unlöslich und unschmelzbar und läßt auf Grund dieser seiner Eigenschaften weitgehende Quervernetzung als wahrscheinlich erscheinen.

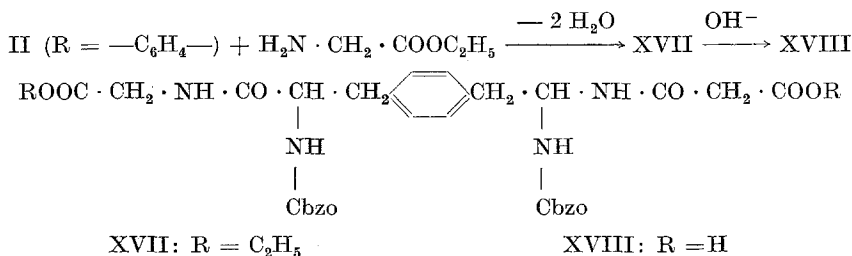
Nachdem im Modellversuch für die Kupplung von II und III zu IV Di-Cbzo-(p-phenylen)-dialanin (II, R = —C₆H₄—) mit Glykokolläthylester zum Peptidester XVII umgesetzt worden war, der zum Cbzo-peptid XVIII verseift werden konnte, wurde die Synthese der Polypeptide IV in analoger Weise unter Verwendung der entsprechenden Ester III ausgeführt. Für die Umsetzung erwies sich absol. Tetrahydrofuran, besser aber noch wasserfreies Dimethylformamid¹⁰ als Lösungsmittel sehr geeignet, da besonders in letzterem alle drei Polymeren (IV) glatt löslich waren und somit kein vorzeitiger Kettenabbruch durch Ausfallen des Reaktionsproduktes zu befürchten war. Kettenabbruch durch

⁹ *J. v. Braun* und *J. Nelles*, Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 1464 (1933).

¹⁰ *J. R. Vaughan* und *J. A. Eichler*, J. Amer. Chem. Soc. **76**, 2474 (1954).



Ringbildung liegt natürlich auch im Bereich der Möglichkeit¹¹, doch scheint uns zumindest die Bildung niedermolekularer Ringe infolge der relativ hohen Konzentration der Reaktionspartner unwahrscheinlich und auch nicht mit den Eigenschaften der gebildeten Polypeptide in Einklang zu stehen. Die Absättigung der endständigen COOH-Gruppen in den Peptidketten bleibt noch offen, doch glauben wir, daß diese durch etwa vorhandene Spuren Wassers erfolgt sein dürfte, vor allem auch da aus diesem Grund kein Wert auf peinlichsten Feuchtigkeitsausschluß gelegt wurde.



Wie schon erwähnt, ist in diesem speziellen Fall von Polypeptiden außer der diskutierten Cyklopeptidbildung¹¹ die Möglichkeit gegeben, daß die Reaktion (nach Schema A bzw. B) zu Ketten führt, die entweder mit 2 Amino- oder mit 2 Carboxylgruppen abschließen. Aus diesem Grunde stellt die Endgruppenbestimmung nur dann ein eindeutiges Maß für die mittlere Länge der erhaltenen Peptidketten (IV) dar, wenn — wie das bei Anwendung genau äquimolarer Mengen von II und III angenommen werden kann — die Reaktionen nach Schema A und B in gleichem Ausmaß verlaufen, also sowohl die Zahl der entstandenen Ketten, die nur mit COOH- bzw. NH₂-Gruppen enden, als auch die Molekulargewichtsverteilung innerhalb dieser Kettentypen einander gleich sind.

Unter diesen Voraussetzungen errechnen sich die Molekulargewichte M (und die Polymerisationsgrade n) der Polypeptide IV aus dem nach G. Kainz¹² ermittelten Aminostickstoffgehalt zu 35000 ($n = 44$) für R = —C₆H₄—, 14000 ($n = 15$) für R = —C₆H₄ · C₆H₄— und 7000 ($n = 10$) für R = —(CH₂)₄.

Bei den auf die beschriebene Weise erhaltenen Poly-N-Cbzo-polypeptid-polyestern (IV) handelt es sich um in Tetrahydrofuran, Dioxan, Dimethylformamid und bei IV, [R = —(CH₂)₄—], auch in Aceton und Eisessig lösliche Pulver, die über ein weites Bereich (120 bis 150,

¹¹ L. Bilek, J. Derkosch, H. Michl und F. Wessely, Mh. Chem. 84, 717 (1953).

¹² Mikrochim. Acta [Wien] 1953, 349.

bis 200 und 60 bis 90°) allmählich erweichen und zu zähen Tropfen zerfließen und die erwarteten N- und Äthoxylwerte lieferten.

Der nächste Schritt, die Verseifung zur Polycarbonsäure (V), ließ sich im Falle der Polypeptide der Aminosäuren IX und X leicht durch Schütteln einer Lösung in Tetrahydrofuran bzw. Aceton mit wäßriger NaOH erreichen. Die nach dem Verdampfen des organ. Lösungsmittels in Freiheit gesetzten Polycarbonsäuren (V) waren glatt in Lauge löslich, besaßen das erwartete Äquivalentgewicht¹³, zeigten ein etwas höheres Zerfließintervall und etwa die gleichen Löslichkeitseigenschaften wie die Polyester. Aminostickstoffbestimmung zeigte, daß keine Kettensprengung eingetreten war.

Die Decarbobenzoxylieung (V → VI) ließ sich schließlich glatt durch Behandeln mit HBr-gesättigtem Eisessig erreichen¹⁴ und aus dem anfallenden Hydrobromid konnte die freie Polyamino-polycarbonsäure durch Ausfällen aus Äthanol. Lösung mit alkohol. Ammoniak und Auskochen des Niederschlages mit Äthanol bis zur Bromidfreiheit erhalten werden. Das helle, unschmelzbare Pulver war glatt in verdünnter Lauge und — beim Polymeren der Aminosäure X allerdings nur unter Opaleszenz — in Salzsäure löslich. Aminostickstoffbestimmung zeigte, daß weitestgehende Decarbobenzoxylieung stattgefunden hatte. Auch die Ninhydrinreaktion war im Gegensatz zur Polysäure (V) positiv und bei der Papierchromatographie blieb die Polyamino-polycarbonsäure am Startpunkt, während nach Totalhydrolyse im Chromatogramm ausschließlich die Aminosäure (IX bzw. X) vorlag. Zum präparativen Nachweis der freien Aminogruppen wurde VI [R = —C₆H₄— und —(CH₂)₄—] noch mit Phenylisocyanat zur Polyphenylureidoverbindung VIII [R = —C₆H₄— bzw. —(CH₂)₄—] umgesetzt, die bei der Titration das erwartete Äquivalentgewicht lieferte.

Die mit einem Beckman pH-Meter (Modell K) elektrometrisch ermittelten Titrationskurven der Polyamino-polycarbonsäuren VI [R = —C₆H₄— bzw. —(CH₂)₄—] sind zusammen mit denen der entsprechenden monomeren Aminosäuren (IX und X) neben der Vergleichskurve (starke Säure—starke Lauge) in Abb. 1 wiedergegeben. Das Polypeptid war in 0,1 n NaOH gelöst und mit 0,1 n H₂SO₄ titriert worden.

Hatte sich also die Verseifung und Decarbobenzoxylieung der von den Aminosäuren IX und X abgeleiteten Polymeren (IV) glatt durchführen lassen, so stieß die Verseifung des Poly-Cbzo-esters (IV) der Amino-

¹³ Zur Äquivalentgewichtsbestimmung wurde das Polymere in überschüssiger 0,1 n NaOH gelöst und mit 0,1 n HCl gegen Phenolphthalein zurücktitriert.

¹⁴ D. Ben-Ishai und A. Berger, J. Org. Chem. **17**, 1564 (1952). — N. F. Albertson und F. C. McKay, J. Amer. Chem. Soc. **75**, 5323 (1953).

säure XI auf unerwartete Schwierigkeiten. Schütteln des in Tetrahydrofuran oder Dioxan gelösten Polypeptides mit Lauge durch wechselnde Zeiten (12 bis 24 Stdn.) hatte immer nur zu einem laugeunlöslichen Produkt geführt, das den für einen unverseiften Polyester berechneten Äthoxylwert gab. Die Ursachen für diese Unverseifbarkeit im Gegensatz zur leichten Verseifbarkeit von IV [$R = -C_6H_4-$ bzw. $-(CH_2)_4-$]

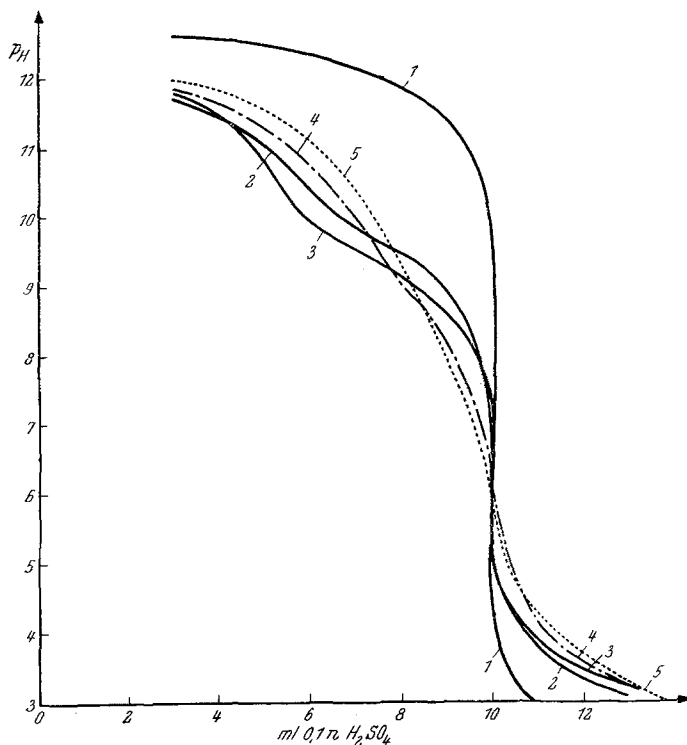


Abb. 1. Elektrometrische Titration von

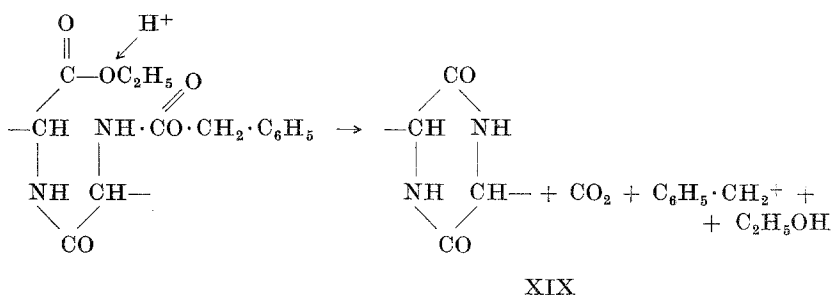
- 1 10 ml 0,1 n NaOH + 10 ml H_2O ,
- 2 Diaminosebazinsäure (IX) in 10 ml 0,1 n NaOH + 10 ml H_2O ,
- 3 β, β' -(p-Phenyl)-dialanin (X) in 10 ml 0,1 n NaOH + 10 ml H_2O ,
- 4 VI ($R = -(CH_2)_4-$) in 10 ml 0,1 n NaOH + 10 ml H_2O ,
- 5 VI ($R = -C_6H_4-$) in 10 ml 0,1 n NaOH + 10 ml H_2O .

scheinen nicht klar; es sei hier jedoch nur an die vergeblichen Versuche von *M. Frankel* und *M. E. Reichmann*¹⁵ einerseits und *R. Adams* und Mitarbeitern¹⁶ andererseits erinnert, aus N-substituierten Poly-aminoacrylsäuren die Carbobenzoxy-, Carbäthoxy-, Formyl- oder Acetylgruppe abzuspalten.

¹⁵ J. Chem. Soc. London 1952, 289.

¹⁶ *R. Adams, J. L. Johnson* und *B. Englund*, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 5080 (1950).

Die Decarbobenzoxylie rung zum Polyester VII ($R = -C_6H_4 \cdot C_6H_4-$) verlief jedoch wieder glatt und wir erhielten das lauge- und säureunlösliche Produkt als unschmelzbares Pulver, bei dem sich mit Ninhydrin (beim Erhitzen) im Gegensatz zum Cbz-ester (IV) die Teilchen violett färbten und das den erwarteten Aminostickstoffgehalt aufwies. Äthoxylbestimmung zeigte, daß der bei der säurekatalysierten Decarbobenzoxylie rung mögliche zweite Reaktionsverlauf¹³ — primärer Angriff des Protons auf den Sauerstoff der Estergruppe und, unter Abspaltung von CO_2 und $C_6H_5CH_2^+$, Ringschluß zum Diketopiperazin (XIX) — wenn überhaupt, nur in untergeordnetem Maße stattgefunden hatte.



Schließlich wurden zum Vergleich zwischen der monomeren Diaminodicarbonsäure (X) und ihrem Polypeptid (VI) noch die UV-Spektren in 0,1 n NaOH aufgenommen, die in Abb. 2 dargestellt sind und wie das aus Analogie Phenylalanin—Benzol und p-Äthylphenylalanin—p-Xylol zu erwarten war, große Ähnlichkeit mit p-substituierten Benzolderivaten, z. B. p-Xylol, aufweisen. Diese Ähnlichkeit tritt sowohl hinsichtlich der Verschiebung des Hauptmaximums ins längerwellige Gebiet im Vergleich zum Benzol-(Phenylalanin)-Spektrum als auch im Hinblick auf die Lage des 2. Maximums bei etwa 273 m μ in Erscheinung.

Die Spektren der beiden, vom Diphenyl abgeleiteten Aminosäuren XI und XIV dagegen zeigen (Abb. 3) weitgehende Ähnlichkeit mit dem Diphenylspektrum, besonders was die starke Absorption, d. h. die hohen Werte von $\log \epsilon$ betrifft.

Experimenteller Teil.

(p-Xylylen)-di-formaminomalonest er.

Eine Na-Äthylatlösung aus 1,45 g Na in 40 ml absol. Äthanol wurde mit 12,8 g (0,63 Mol) Formaminomalonest er (in 40 ml absol. Äthanol) versetzt, nach 10 Min. am Wasserbad 8,3 g (0,315 Mol) p-Brommethylbenzylbromid in 120 ml Äthanol zugegeben und die Mischung 4 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach einigem Stehen auf Eis hatte sich ein dichter Niederschlag abgeschieden, der abgesaugt und durch Waschen mit Wasser vom

NaBr befreit wurde. 11,8 g (74% d. Th.). Aus viel Äthanol Prismen vom Schmp. 192 bis 193¹⁷.

$C_{24}H_{32}O_{10}N_2$. Ber. C 56,68, H 6,34. Gef. C 56,29, H 6,34¹⁸.

β, β' -(p-Phenylen)-dialanin (X).

9 g des substituierten Formaminomalonesters wurden mit 150 ml konz. Salzsäure 5 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach etwa 1 Std. war der Nieder-

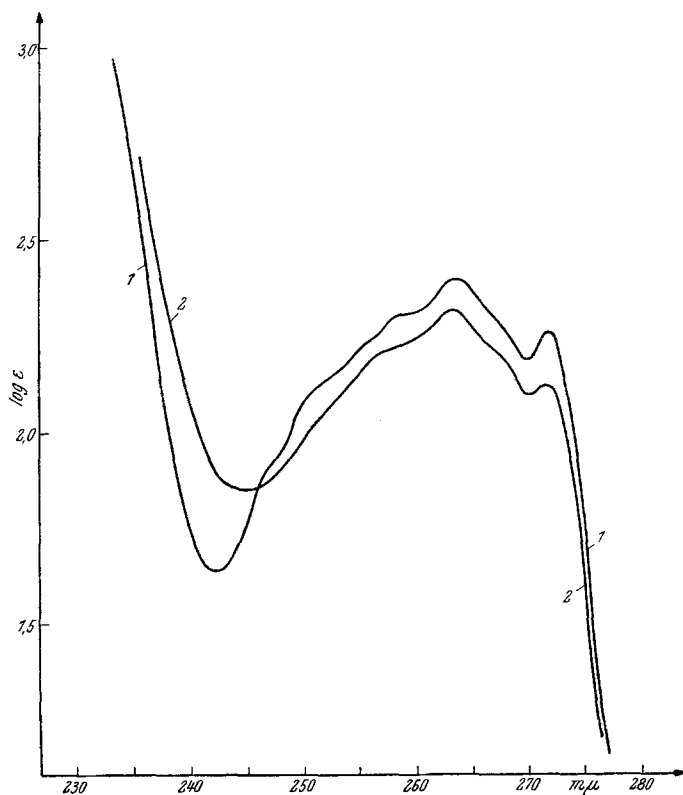


Abb. 2. UV-Spektren, aufgenommen in 0,1 n NaOH mit dem Beckman-Spektrophotometer, Modell DU.

1 β, β' -(p-Phenylen)-dialanin (X),

2 Poly-(p-Phenylen)-dialanin (VI, R = $-C_6H_4-$).

schlag in Lösung gegangen und nach einiger Zeit begann sich das schwer lösliche Hydrochlorid abzuscheiden. Nach dem Kühlen wurde abgesaugt und der Niederschlag mit Äthanol und Äther gewaschen: 3,9 g. Durch Ein-

¹⁷ Alle Schmelzpunkte der Arbeit wurden im Mikroschmelzpunktsapparat nach Kofler bestimmt.

¹⁸ Zur Analyse wurde, wenn nicht anders vermerkt, im Vak. bei 100° über Silicagel bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

engen der Mutterlauge konnten weitere 1,65 g gewonnen werden. Gesamtausbeute an Hydrochlorid 5,55 g (96% d. Th.).

Zur Darstellung der freien Aminosäure wurden 3 g Hydrochlorid in 20 ml Wasser in der Hitze gelöst und tropfenweise mit Ammoniak bis zum pH 8 versetzt. Es fiel sofort ein dichter Niederschlag aus, der nach dem Wegkochen des überschüssigen Ammoniaks und Kühlen abgesaugt wurde. Aus-

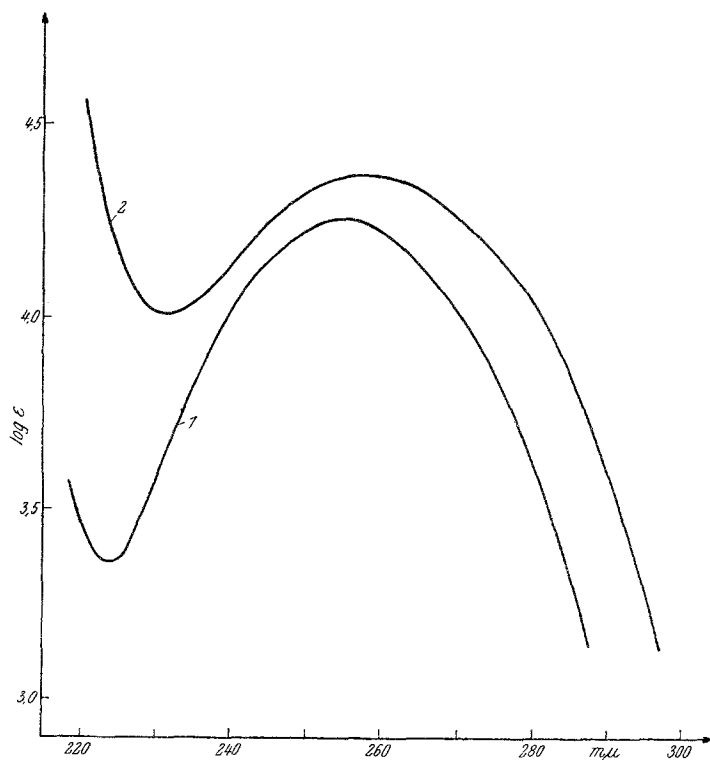


Abb. 3. UV-Spektren (siehe Abb. 2).

1 β -(p-Diphenyl)-alanin (XIV),

2 β,β' -(p-Diphenyl)-dialanin XI.

beute 2,1 g (90% d. Th. bezogen auf Hydrochlorid, 86% bezogen auf Formaminomalonester).

Zur Reinigung wurde mit Wasser und Äthanol ausgekocht und mit Äther gewaschen. Das farblose Pulver färbt sich bis 340° nur braun, ohne zu schmelzen.

$C_{12}H_{16}O_4N_2$. Ber. N_{NH_2} 11,10. Gef. N_{NH_2} 10,88.

R_F -Wert (Butanol-Äthanol- $NH_3 \cdot H_2O$, Schleicher-Schüll 2043 a): 0,05.

(p,p'-Ditolylen)-di-formaminomalonester.

6,3 g p,p'-Dibrommethyl-diphenyl⁸ wurden mit 9 g K-Formaminomalonester¹ (2,4fach molare Menge) in 200 ml absol. Äthanol 3 Stdn. zum Sieden erhitzt, wobei der anfängliche Niederschlag weitgehend in Lösung gegangen war. Nach dem Kühlen wurde mit Wasser (200 ml) versetzt und nach einigem Stehen auf Eis der Niederschlag abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Ausbeute 9,0 g (83% d. Th.). Zur Analyse wurde mehrfach aus Aceton-Wasser umkristallisiert. Schmp. 224 bis 229°.

$C_{30}H_{36}O_{10}N_2$. Ber. C 61,63, H 6,21. Gef. C 61,37, H 6,50.

 β,β' -(p-Diphenylen)-dialanin (XI).

Aus 3,75 g obigen Formaminomalonesters wurden, analog wie bei X beschrieben, 1,35 g (64% d. Th.) Aminosäure XI als schwach gefärbtes Pulver erhalten, das zur Reinigung nochmals in heißer, verd. Salzsäure unter Zusatz von Tierkohle gelöst und mit wäbr. Ammoniak ausgefällt wurde. Die Aminosäure schmolz nicht bis 340°.

$C_{18}H_{20}O_4N_2$. Ber. N_{NH_2} 8,53. Gef. N_{NH_2} 8,52.

R_F -Wert (Lösungsmittel und Papier wie bei X): 0,08.

 α,α' -Diphenylureido- β,β' -(p-phenylen)-dipropionsäure (XII).

0,1 g XI lösten wir in 5 ml 0,2 n NaOH und schüttelten die Lösung 10 Min. mit 0,2 g Phenylisocyanat. Nach dem Abfiltrieren vom Diphenylharnstoff wurde das Filtrat angesäuert und ergab 0,14 g (72% d. Th.) eines Niederschlages, der sich aus Äthanol-Wasser umkristallisieren ließ. Stäbchen, Schmp. 208 bis 212° (Zers.).

$C_{26}H_{26}O_6N_4$. Ber. Äquival.-Gew. 245. Gef. Äquival.-Gew. 240.

3,3'-Diphenyl-5,5'-(p-phenylen)-di-hydantoin (XIII).

0,42 g XII wurden in einer Mischung von 10 ml Eisessig und 10 ml konz. Salzsäure $\frac{1}{2}$ Std. zum Sieden erhitzt, die klare Lösung im Vak. stark eingengt und der nach dem Kühlen ausfallende Niederschlag abgesaugt. Ausbeute 0,35 g (89% d. Th.), aus Eisessig Schmp. 250 bis 254°.

$C_{26}H_{22}O_4N_4$. Ber. C 68,72, H 4,88. Gef. C 68,32, H 4,98.

 α,α' -Diphenylureido- β,β' -(p-diphenylen)-di-propionsäure.

Die Diphenylureidoverbindung wurde aus der Aminosäure XI wie unter XII beschrieben, in 90%iger Ausbeute erhalten und durch Umfällen aus 1 n NaOH-HCl gereinigt. Das amorphe Pulver zersetzte sich von 170 bis 180°.

$C_{32}H_{30}O_6N_4$. Ber. Äquival.-Gew. 284. Gef. Äquival.-Gew. 301.

3,3'-Diphenyl-5,5'-(p-diphenylen)-di-hydantoin.

Das Dihydantoin konnte analog XII aus der obigen Diphenylureidoverbindung in 71%iger Ausbeute erhalten werden. Zur Reinigung wurde es mit Äthanol ausgekocht und aus Eisessig-Wasser umgefällt. Körnchen vom Schmp. 275 bis 295° (Zers.).

$C_{32}H_{26}O_4N_4$. Ber. N 10,55. Gef. N 9,98.

(p-Phenyl-benzyl)-formaminomalonester.

Aus 1,3 g p-Brommethyl-diphenyl (in 15 ml absol. Äthanol) konnten durch Umsetzung mit Na-Formaminomalonester (0,13 g Na und 1,2 g Formaminomalonester in 20 ml Äthanol) nach dem Abdampfen des Äthanol und Behandeln des Rückstandes mit Wasser 1,6 g (80% d. Th.) wasserunlöslicher Diphenyl-yl-formaminomalonester erhalten werden, der sich aus Äthanol-Wasser umkristallisieren ließ. Nadeln, Schmp. 142 bis 144°.

$C_{21}H_{23}O_5N$. Ber. C 68,28, H 6,27. Gef. C 68,29, H 6,33.

β-(Diphenyl-yl)-alanin (XIV).

Durch saure Verseifung von 1,4 g obigen Malonestern (40 ml konz. HCl, 5 Stdn. unter Rückfluß) konnten sofort nach dem Kühlen 0,9 g (86% d. Th.) des auch in Wasser schwer löslichen Chlorhydrates erhalten werden, aus dem 0,75 g (82 bzw. 96%) freie Aminosäure in der schon beschriebenen Weise (X) durch Behandeln mit Ammoniak gewonnen wurde. Das farblose, auch in Säuren und Laugen sehr schwer lösliche Pulver schmolz von 247 bis 251° u. Zers. (Literatur⁹: 250°).

$C_{15}H_{15}O_2N$. Ber. N_{NH_2} 5,81. Gef. N_{NH_2} 5,99.

R_F -Wert (Lösungsmittel und Papier wie bei X): 0,60 (schwache Reaktion mit Ninhydrin).

α,α'-Di-N-Cbzo-diaminosebazinsäure [II, R = —(CH₂)₄—].

1,0 g (4,3 mMol) Diaminosebazinsäure (IX)⁷, gelöst in 5 ml 2 n NaOH, wurden durch Schütteln mit 2,2 g Benzylchlorkohlen-säureester und 7 ml 2 n NaOH unter Eiskühlung in das Di-Cbzo-derivat übergeführt. Der nach dem Ansäuern ausfallende Niederschlag erstarrte nach einiger Zeit und konnte aus Essigester-Petroläther umgefällt werden. Ausbeute 1,5 g (70% d. Th.) amorphes Pulver vom Schmp. 160 bis 164°.

$C_{26}H_{32}O_8N_2$. Ber. N 5,60, Äquival.-Gew. 250. Gef. N 5,45, Äquival.-Gew. 250.

Di-N-Cbzo-[(p-phenylen)-dialanin] (II, R = —C₆H₄—).

Die Di-Cbzo-verbindung konnte in üblicher Weise durch Schütteln einer Lösung von 1,2 g X in 10 ml 1 n NaOH mit 2,4 g Benzylchlorkohlen-säureester (3 Mol) und 15 ml NaOH gewonnen werden. Nach dem Ansäuern wurde der bald erstarrende Niederschlag aus viel Äthanol umkristallisiert. Zur vollständigen Rückgewinnung des in Äthanol schwer löslichen Produktes ist es nötig, zusätzlich mit Wasser zu fällen. Schmp. 213 bis 215° (Zers.). Ausbeute 2,1 g (84% d. Th.).

$C_{28}H_{28}O_8N_2$. Ber. Äquival.-Gew. 260. Gef. Äquival.-Gew. 257.

Di-N-Cbzo-[(p-diphenylen)-dialanin] (II, R = —C₆H₄ · C₆H₄—).

Die Darstellung erfolgte analog wie eben beschrieben. Ausbeute 70% eines amorphen Produktes, das sich aus Essigester-Äther umfällen läßt und von 150 bis 165° zerfließt.

$C_{34}H_{32}O_8N_2$. Ber. Äquival.-Gew. 297. Gef. Äquival.-Gew. 321.

Di-äthylester der Aminosäuren IX, X und XI.(III, R = $-(\text{CH}_2)_4-$, $-\text{C}_6\text{H}_4-$ und $-\text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{C}_6\text{H}_4-$.)

Die gut gepulverten Aminosäuren wurden in reichlich absol. Äthanol (zirka 1 g in 100 ml) suspendiert und die Suspension mit trockenem HCl-Gas gesättigt, wobei bei IX vollständige, bei X und XI nur partielle Lösung eintrat. Nach 3stünd. Erhitzen am siedenden Wasserbad wurde im Vak. abgedampft, aus dem Hydrochlorid die Ester mit K_2CO_3 in Freiheit gesetzt, in Essigester aufgenommen und im Kugelrohr destilliert.

Ester von IX⁷: Ausbeute 75%, farbloses Öl vom Sdp._{0,02} 120 bis 130°¹⁹.

Ester von X: Ausbeute 60%, farbloses Öl, Sdp._{0,05} 160 bis 170°.

Ester von XI: Ausbeute 50%, gelbliches Öl, Sdp._{0,02} 220 bis 230°.

Das Pikrat dieses Esters wurde aus seiner Essigesterlösung mit äther. Pikrinsäure gefällt und aus Äthanol-Wasser umkristallisiert. Stäbchen, Schmp. 213 bis 215° u. Zers.

$\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{O}_{18}\text{N}_8$. Ber. OC_2H_5 10,68, N 13,30. Gef. OC_2H_5 10,88, N 13,80.

Polydiketopiperazin der Aminosäure X (XV).

0,35 g des Diäthylesters von X wurden im Vak. eingeschmolzen und 24 Stdn. auf 180° erhitzt. Der rötliche, feste, sehr harte Röhrcheninhalt wurde gepulvert, mit Äthanol ausgekocht und schließlich mit Äther extrahiert. Das rötliche Pulver war weitgehend unlöslich (auch in Dimethylformamid) und schmolz nicht bis 340°.

$(\text{C}_{208}\text{H}_{226}\text{O}_{36}\text{N}_{34})_n$. Ber. N 12,61, OC_2H_5 2,40. Gef. N 12,18, OC_2H_5 2,46.

Di-N-Cbzo-[(p-phenylen)-dialanyl-di-glycin-diäthylester] (XVII).

0,26 g Di-N-Cbzo-Verbindung der Aminosäure X lösten wir in 7 ml absol. Tetrahydrofuran, versetzten mit 0,15 g (2 Mol) Tri-n-propylamin und nach dem Kühlen auf -8° mit 0,11 g (2 Mol) Chlorameisensäureäthylester. Nach 10 Min. wurden 0,15 g (3 Mol) Glykokolläthylester in 2,5 ml Tetrahydrofuran zugegeben und die Mischung 20 Stdn. bei Zimmertemp. aufbewahrt. Der feste Abdampfrückstand wurde schließlich gründlich mit Wasser, verd. Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen. Ausbeute 0,27 g (79% d. Th.). Aus Essigester umkristallisiert, schmolz die Substanz von 185 bis 192° u. Zers.

$\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{O}_{10}\text{N}_4$. Ber. N 8,12. Gef. N 8,37.

Di-Cbzo-[(p-phenylen)-dialanyl-diglycin] (XVIII).

Zur Verseifung wurden 0,15 g XVII in 3 ml Äthanol suspendiert und mit 0,66 ml (3 Mol) 1 n NaOH und 1 ml Wasser 2 Stdn. geschüttelt, worauf der Niederschlag in Lösung gegangen war. Nach dem Abdampfen im Vak. wurde in Wasser aufgenommen, von Spuren Ungelöstem filtriert und mit HCl gefällt. Ausbeute 0,08 g farbloses Pulver, das von 120 bis 130° zerfließt und sich von 160 bis 170° zersetzt.

$\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{O}_{10}\text{N}_4$. Ber. Äquival.-Gew. 317. Gef. Äquival.-Gew. 311.

¹⁹ Die angegebenen Siedepunkte beziehen sich auf die Temperatur des Luftbades.

Poly-(N-Cbz-diaminosebazinsäure-diäthylester) [IV, $R = -(CH_2)_4-$].

Eine Lösung von 1,2 g Di-Cbz-diaminosebazinsäure mit 0,695 g (2 Mol) Tri-n-propylamin in 5 ml Dimethylformamid wurde auf -8° abgekühlt, mit 0,52 g (2 Mol) Chlorameisensäure-äthylester versetzt und nach 10 Min. 0,69 g (1 Mol) Diaminosebazinsäure-diäthylester in 5 ml Dimethylformamid zugegeben, wobei sofort starke CO_2 -Entwicklung einsetzte. Nach Stehen über Nacht bei Zimmertemp. wurde unter Rühren in viel Wasser (zirka 400 ml) eingetragen, der bald erstarrende Niederschlag abgesaugt und gut mit verd. HCl, Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschen. Das weiße Pulver wurde aus Aceton-Wasser umgefällt und wog nach dem Trocknen bei 40 bis 50° im Vak. über P_2O_5 bis zur Gewichtskonstanz 1,5 g (83% d. Th.). Schmp. 60 bis 90° .

$(C_{40}H_{56}O_{10}N_4)_{10}$. Ber. N 7,49, OC_2H_5 11,96, N_{NH_2} 0,186.

Gef. N 7,30, OC_2H_5 12,24, N_{NH_2} 0,18.

Poly-(N-Cbz-diaminosebazinsäure) [V, $R = -(CH_2)_4-$].

1 g des eben beschriebenen Produktes wurde in 20 ml Aceton gelöst und mit 3,9 ml (3 Mol) 1 n NaOH 2 Stdn. bei Zimmertemp. auf der Maschine geschüttelt. Nach dem Abdampfen des Acetons und Verdünnen des Rückstandes mit Wasser wurde die klare Lösung mit HCl angesäuert und der ausfallende weiße Niederschlag mit Wasser bis zur Halogenfreiheit gewaschen. 0,8 g farbloses Pulver (86% d. Th.) vom Schmp. 107 bis 127° . Zur Analyse wurde aus Eisessig-Wasser umgefällt.

$(C_{36}H_{48}O_{10}N_4)_{10}$. Ber. N 8,05, Äquival.-Gew. 348, N_{NH_2} 0,2.

Gef. N 8,08, Äquival.-Gew. 344, N_{NH_2} 0,19.

Poly-(α,α' -diaminosebazinsäure) [VI, $R = -(CH_2)_4-$].

0,7 g obiger Poly-(Cbz-aminosäure) [V, $R = -(CH_2)_4-$] wurden zur Decarbobenzoxylieung in 10 ml bei 0° mit HBr gesättigtem Eisessig eingetragen, worauf erst fast klare Lösung erfolgte und nach kurz darauf einsetzender starker CO_2 -Entwicklung ein dichter Niederschlag ausfiel. Das nach dem Verdünnen mit Äther ausfallende Hydrobromid war stark hygroskopisch und wurde sofort zur Freisetzung der Polyamino-polycarbonsäure in Äthanol. Lösung mit Ammoniak behandelt. Der dichte Niederschlag wurde nach dem Absaugen bis zur Br^- -Freiheit des Filtrats mit Äthanol ausgekocht. Ausbeute 0,32 g (75% d. Th.) schwach gefärbtes Pulver mit den im allgemeinen Teil angegebenen Eigenschaften.

$(C_{20}H_{36}O_6N_4)_{10}$. Ber. N 13,10, N_{NH_2} 6,87. Gef. N 12,58, N_{NH_2} 6,37.

Nach Hydrolyse (konz. HCl, 18 Stdn., 115°) lag im Papierchromatogramm nur die Aminosäure IX vor. R_F -Wert (Papier und Lösungsmittel wie bei X): 0,04.

Zur Darstellung der *Poly-phenylureidoverbindung* [VIII, $R = -(CH_2)_4-$] wurde das Polypeptid VI in etwas mehr als der berechneten Menge 0,1 n NaOH gelöst und mit einem 3mol. Überschuß von Phenylisocyanat 15 Min. geschüttelt. Nach dem Abfiltrieren vom Diphenylharnstoff wurde angesäuert, der gallertige Niederschlag abgesaugt, gut mit Wasser gewaschen und aus Aceton-Wasser umgefällt. Ausbeute 60% d. Th. Farbloses Pulver vom Schmp. 180 bis 200° (Zers.).

$(C_{34}H_{46}O_8N_6)_{10}$. Ber. Äquival.-Gew. 333. Gef. Äquival.-Gew. 323.

Poly-[N-Cbzo-(p-phenylen)-dialanin-diäthylester] (IV, $R = -C_6H_4-$).

0,85 g Di-Cbzo-aminosäure (II, $R = -C_6H_4-$) wurden in 20 ml absol. Dimethylformamid mit 0,47 g Tri-n-propylamin, 0,35 g Chlorameisensäure-äthylester und 0,41 g Diäthylester von X, wie bei XVI beschrieben, zur Reaktion gebracht. Nach 24 Stdn. wurde die klare Lösung mit 50 ml Wasser versetzt und der dichte Niederschlag nach dem Absaugen gründlich mit verd. HCl, Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschen. Zur Reinigung wurde nochmals aus Dimethylformamid-Wasser umgefällt. Das farblose Pulver schmolz von 120 bis 150° und wog 1,1 g (85% d. Th.).

$(C_{44}H_{48}O_{10}N_4)_{44}$. Ber. N 7,07, OC_2H_5 11,36, N_{NH_2} 0,043.

Gef. N 7,25, OC_2H_5 11,92, N_{NH_2} 0,04.

Poly-[N-Cbzo-(p-phenylen)-dialanin] (V, $R = -C_6H_4-$).

0,5 g des in 10 ml gelösten Poly-(Cbzo-esters) V ($R = -C_6H_4-$) wurden mit 2 ml 1 n NaOH 2 Stdn. auf der Maschine geschüttelt. Nach dem Abdampfen des Tetrahydrofurans wurde die mit Wasser verdünnte klare Lösung angesäuert, der gallertige Niederschlag abgesaugt und gut mit Wasser gewaschen. 0,4 g (86% d. Th.) farbloses Pulver, das von 160 bis 180° zerfließt.

$(C_{40}H_{40}O_{10}N_4)_{44}$. Ber. Äquival.-Gew. 368, N_{NH_2} 0,043.

Gef. Äquival.-Gew. 358, N_{NH_2} 0,04.

Poly- β,β' -(p-phenylen)-dialanin (VI, $R = -C_6H_4-$).

0,45 g obiger Poly-(Cbzo-aminosäure) wurden mit 5 ml HBr-Eisessig wie unter VI [$R = -(CH_2)_4-$] beschrieben, decarboxoxyliert. Das durch Füllen mit Äther erhaltene Hydrobromid wog nach dem Trocknen über KOH und P_2O_5 im Vak. 0,40 g.

Aus einer Lösung von 0,3 g des Hydrobromids in 7 ml Äthanol wurde, wie schon beschrieben, mit alkohol. Ammoniak die Polyamino-polycarbonsäure in Freiheit gesetzt. Ausbeute 0,21 g (95% d. Th.). Eigenschaften siehe allgemeiner Teil.

$(C_{24}H_{28}O_6N_4)_{44}$. Ber. N 11,96, N_{NH_2} 5,98. Gef. N 10,78, N_{NH_2} 5,10.

Nach Hydrolyse (konz. HCl, 18 Stdn., 115°) lag im Papierchromatogramm nur die Aminosäure X vor.

Die *Poly-phenylureidoverbindung* (VIII, $R = -C_6H_4-$) wurde, wie für VIII [$R = -(CH_2)_4-$] beschrieben, dargestellt und der gallertige Niederschlag aus Äthanol-Wasser umgefällt. Ausbeute 60% d. Th. farbloses Pulver vom Schmp. 210 bis 225° (Zers.).

$(C_{38}H_{38}O_8N_6)_{44}$. Ber. Äquival.-Gew. 353. Gef. Äquival.-Gew. 355.

Poly-[N-Cbzo-(p-phenylen)-dialanin-diäthylester] (IV, $R = -C_6H_4 \cdot C_6H_4-$).

Die Umsetzung der Di-N-Cbzo-verbindung und des Diäthylesters der Aminosäure XI erfolgte, wie für die der Aminosäure IX bzw. X beschrieben, in Dimethylformamid (Ausbeute 80% d. Th.). Zur Reinigung wurde ebenfalls aus Dimethylformamid-Wasser umgefällt. Das farblose Pulver erweichte von 150 bis 200°.

$(C_{56}H_{56}O_{10}N_4)_{15}$. Ber. N 5,93, OC_2H_5 9,50, N_{NH_2} 0,09.

Gef. N 5,66, OC_2H_5 9,72, N_{NH_2} 0,1.

Poly-[(p-diphenylen)-dialanin-diäthylester] (VII, $R = -C_6H_4 \cdot C_6H_4-$).

Die Decarbobenzoxylieung des Poly-(Cbzo-esters) (0,8 g) erfolgte, wie schon für die entsprechenden Polymeren der Aminosäuren IX und X beschrieben, mit 10 ml HBr-Eisessig. Das Poly-hydrobromid (0,7 g) wurde in 10 ml wäßr. Ammoniak suspendiert, die Suspension einige Min. geschüttelt und der Niederschlag mit Wasser bis zur Bromidfreiheit des Filtrats und anschließend noch mit Äthanol und Äther gewaschen. Ausbeute 0,49 g (93% d. Th.). Farbloses Pulver, das in den gebräuchlichsten Lösungsmitteln unlöslich ist und bis 340° nur verkohlt, ohne zu schmelzen. Beim Erhitzen mit wäßr. Ninhydrinlösung färbte sich die Lösung schwach, die Teilchen tiefviolett. Nach Hydrolyse mit konz. HCl (20 Stdn. 130°) lag im Papierchromatogramm nur die Aminosäure XI vor.

$(C_{40}H_{46}O_6N_4)_{15}$. Ber. N_{NH_2} 4,24, OC_2H_5 13,28. Gef. N_{NH_2} 3,87, OC_2H_5 12,80.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. G. Kainz im Mikrolaboratorium des II. Chemischen Institutes ausgeführt.

Dem Vorstand unseres Institutes, Herrn Prof. Dr. F. Wessely, sind wir für sein förderndes Interesse zu größtem Dank verpflichtet.