

GÜNTER LOSSE und GÜNTER BACHMANN

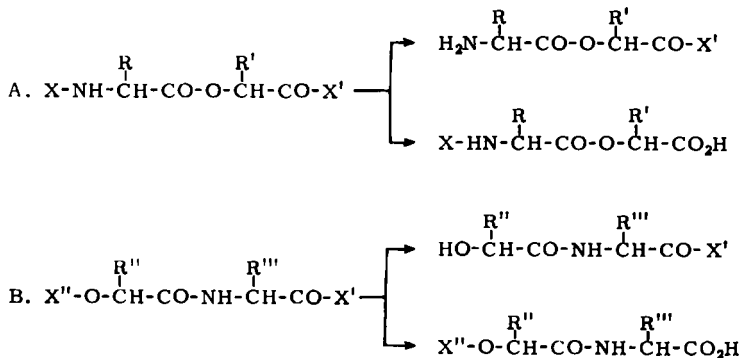
Synthese von Depsipeptiden

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Halle

(Eingegangen am 30. April 1964)

Eine Reihe von Depsipeptidsequenzen und neuen Depsipeptidderivaten aus Valin, *N*-Methyl-alanin, Milchsäure und α -Hydroxy-isovaleriansäure wird unter Anwendung des *N*-Phthalyl-, *O*-Benzyloxycarbonyl-, *C*-Benzyl- und *C*-Cyanmethylrestes als Schutzgruppe sowie der Säurechloridmethode als Kupplungsreaktion aufgebaut. Mehrere Wege zur Synthese höherer regulärer oder irregulärer Depsipeptide aus diesen Teilsequenzen werden gezeigt.

Zur Synthese von Depsipeptiden (Peptoliden)¹⁾ geht man von zweiseitig geschützten Aminoacyl-hydroxysäuren oder Hydroxyacyl-aminosäuren aus, welche nach Entfernung der einen oder der anderen Schutzgruppe entweder unter Knüpfung der Peptidbindung (A) oder der Esterbindung (B) zu höheren Depsipeptidderivaten vereinigt bzw. stufenweise verlängert werden. Als Schutz der Carboxylgruppe sind der



tert.-Butyl-, Benzyl- und Cyanmethylrest, zur Blockierung der Aminogruppe der Benzyloxycarbonyl-, tert.-Butyloxycarbonyl- und Phthalylrest geeignet, Gruppen also, die sich in geeigneter Kombination unabhängig voneinander und unter Schonung der synthetisierten Esterbindungen abspalten lassen. Für den Schutz der Hydroxylfunktion wurde durch M. M. SCHEMJAKIN und Mitarbb.^{2,3)} ebenfalls der Benzyloxycarbonylrest eingesetzt.

Während zur Knüpfung der Peptidbindung in dieser Verbindungsklasse prinzipiell alle gängigen Methoden der Peptidchemie verwendbar sind, eignen sich für die Synthese der Esterbindung (Peptolidbindung) nur energische Acylierungsverfahren wie

1) Zusammenfassende Übersichten: M. M. SCHEMJAKIN und Mitarbb., *Angew. Chem.* **72**, 342 [1960]; *Uspechi Chimii* **31**, 269 [1962]; E. SCHRÖDER und K. LÜBKE, *Experientia* [Basel] **19**, 57 [1963]; G. LOSSE und G. BACHMANN, *Z. Chem.* 1964 (im Druck).

2) M. M. SCHEMJAKIN, J. A. OWTSCHINNIKOW, A. A. KIRJUSCHKIN und W. T. IWANOW, *Tetrahedron Letters* [London] **7**, 301 [1962].

3) M. M. SCHEMJAKIN, J. A. OWTSCHINNIKOW, W. T. IWANOW und A. A. KIRJUSCHKIN, *Tetrahedron* [London] **19**, 585 [1963].

die verschiedenen Varianten der Anhydridmethode und die Säurechloridmethode^{4,5)}. Hydroxyacyl-aminosäurederivate mit freien OH-Gruppen lassen sich darüber hinaus auch direkt aus aktivierten Estern oder Aziden der Hydroxysäuren und Aminosäurederivaten gewinnen⁶⁾.

Nach unseren Versuchen, in welchen wir die Eignung der verschiedenen Acylierungsmethoden zur Synthese der Depsipeptid-Esterbindung systematisch untersucht haben, erwies sich speziell die Säurechloridmethode als leistungsfähige Kupplungsreaktion. Die Säurechloride der *N*-geschützten Aminosäuren werden mit SOCl_2 oder PCl_5 in inerten Lösungsmitteln gewonnen und reagieren bei Temperaturen unterhalb von 0° schonend und in guter Ausbeute mit dem Hydroxysäureester. Racemisierungseffekte lassen sich dadurch auf ein Minimum reduzieren. Die Azidmethode und die verschiedenen Anhydridverfahren führten demgegenüber häufig zu Nebenreaktionen, in denen Isocyanate und deren Sekundärverbindungen bzw. Anhydrid-Disproportionierungsprodukte gebildet wurden.

Um die Anwendungsmöglichkeiten der Säurechloridmethode zur Knüpfung der Peptidbindung allgemeiner zu studieren, haben wir als Modelle eine Reihe von Depsipeptiden und Depsipeptidderivaten unterschiedlicher Sequenz nach verschiedenen Aufbauprinzipien synthetisiert. Da der *Z*-Rest^{*)} in Kombination mit der Chloridmethode wegen der Gefahr einer *N*-Carboxy-aminosäureanhydrid-Bildung⁷⁾ als Schutz primärer Aminogruppen ausscheidet, wählten wir hierfür die Phthalylgruppe. Unter den *C*-Schutzgruppen entschieden wir uns für den leicht einföhrbaren Benzylrest. Nach einem ähnlichen Syntheseprinzip, jedoch unter Einsatz von terminalen *N*-Nitroso-*N*-methyl-aminosäuren wurde kürzlich von P. QUITT, R. O. STUDER und K. VOGLER das Enniatin A aufgebaut⁸⁾.

Die Anwendung des *N*-Phthalylrestes in Gegenwart von Alkyl- und Benzylesterbindungen setzt voraus, daß diese bei dessen späterer hydrazinolytischer Entfernung intakt bleiben. Die Abspaltung läßt sich durch $\frac{3}{4}$ -ständiges Kochen mit äquivalenten Mengen Hydrazin oder Hydrazinhydrat in absol. alkoholischer Lösung erzielen, wobei Umesterungen oder Hydrazinolyse an den Esterbindungen noch nicht in den Vordergrund treten. Allerdings betragen die Ausbeuten an reinem Spaltprodukt so nur etwa 40% d. Th.; Hydrazinacetat lieferte in diesem Falle keine besseren Resultate.

Die Schemata 1–3 zeigen das Prinzip des stufenweisen oder 2 + 2-Aufbaues einer Reihe von Tri- und Tetradepsipeptidderivaten aus *L*- bzw. *DL*-Valin, Milchsäure und α -Hydroxy-isovaleriansäure.

*) Verwendete Abkürzungen: *Z* = Benzyloxycarbonyl, *BZL* = Benzyl, *Lac* = Milchsäurerest $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CO}-$, *Oxisoval* = α -Hydroxy-isovaleriansäurerest $(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}-\text{CO}-$

$\begin{array}{c} \text{O}- \\ | \\ \text{DCHA} = \text{Dicyclohexylamin, DCCI} = \text{Dicyclohexylcarbodiimid, Phth} = \text{Phthalyl.} \end{array}$

⁴⁾ M. M. SCHEMJAKIN, E. I. WINOGRADOWA, M. J. FEIGUNA, N. A. ALANOWA, W. A. OLADLINA und L. A. SCHUKINA, Doklady Akad. Nauk. **140**, 387 [1963].

⁵⁾ E. SCHRÖDER und K. LÜBKE, Experientia [Basel] **19**, 57 [1963].

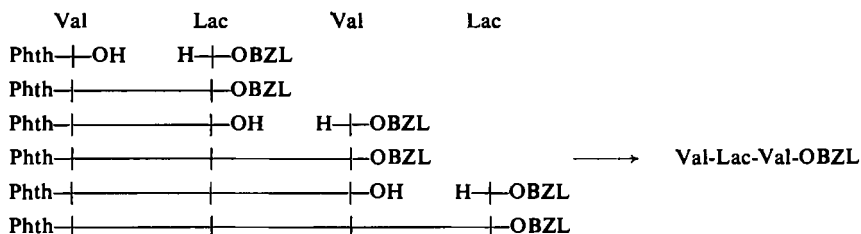
⁶⁾ E. SCHRÖDER und K. LÜBKE, Liebigs Ann. Chem. **655**, 211 [1962]; 5. Europ. Peptid-Symposium (Oxford 1962), S. 195, Pergamon Press 1963.

⁷⁾ K. PODUSKA und H. GROSS, Chem. Ber. **94**, 527 [1961].

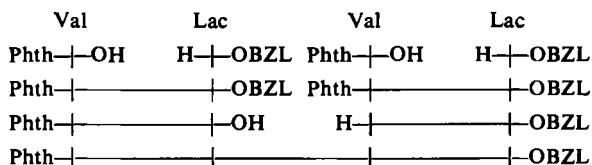
⁸⁾ Helv. chim. Acta **47**, 166 [1964].

Die Acylierungsschritte und Entbenzylierungen dieses Syntheseweges verlaufen mit 70–80-proz. Ausbeute. Die Entphthalylierungsprodukte lassen sich in der Regel über die Hydrochloride, die durch hydrogenolytische Abspaltung der Benzylgruppen resultierenden Säuren über die DCHA-Salze reinigen.

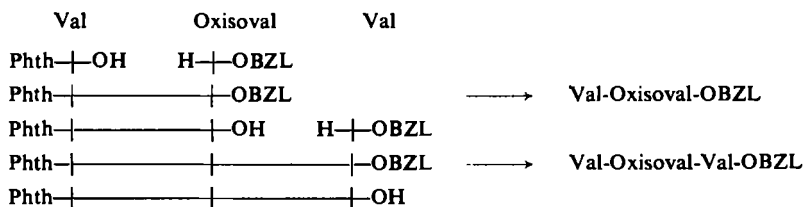
Schema 1



Schema 2



Schema 3



L- α -Hydroxy-isovaleriansäure erhielten wir aus L-Valin mit salpetriger Säure. Da dieser Austausch der Aminogruppe von einer partiellen Racemisierung begleitet wird^{9,10}, ist eine Reinigung der rohen Säure über eines ihrer Salze oder eine fraktionierte Destillation des durch direkte Veresterung darstellbaren Benzylesters erforderlich. A. PLATTNER, K. VOGLER und Mitarbb.¹¹ gelang die analoge Überführung von L-Valin in L-Acetoxy-isovaleriansäure mit Nitrit in Eisessig, während L. A. SCHUKINA und Mitarbb.¹² die Antipoden der Hydroxy-isovaleriansäure durch Racematspaltung mittels *threo*-2-Amino-1-[*p*-nitro-phenyl]-propan-diol-(1.3) gewannen. Der Versuch, entsprechend L-Milchsäure oder den Benzylester durch Diazotierung der Aminogruppe zu erhalten, schlug dagegen wegen der Neigung speziell der Milchsäure zur Bildung von Polyestern fehl. L-Milchsäure mußte deshalb durch Racematspaltung der DL-Verbindung mittels (–)(*S*)- α -Phenyl-äthylamin¹³ nach B. HOLMBERG¹⁴

⁹) E. FISCHER und H. SCHEIBLER, Ber. dtsh. chem. Ges. **41**, 2891 [1908].

¹⁰) A. H. COOK, S. H. COX und T. H. FARMER, J. chem. Soc. [London] **1949**, 1022.

¹¹) Helv. chim. Acta **46**, 927 [1963].

¹²) Invest. Akad. Nauk **1962**, 310; C. A. **1962**, 11007 a.

¹³) W. THEILACKER und H. G. WINKLER, Chem. Ber. **87**, 690 [1954].

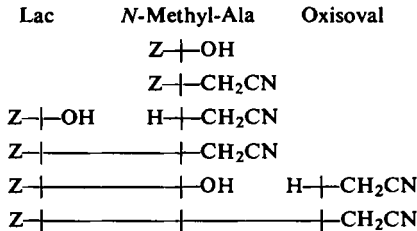
¹⁴) Ber. dtsh. chem. Ges. **59**, 1566 [1926].

und anschließende Reinigung über das Lithiumsalz dargestellt werden. Durch direkte Umsetzung von Lithium-L-lactat mit Chlorwasserstoff/Benzylalkohol ist auch der L-Benzylester leicht zugänglich.

Der sterisch annähernd einheitliche Ersatz von $-\text{NH}_2$ gegen $-\text{OH}$ durch Diazotierung gelingt unter Ausnahme des Alanins nur mit den freien Aminosäuren. L-Valin-benzylester liefert neben anderen Produkten bei weitgehender Racemisierung den DL-Hydroxysäureester. Peptidderivate wie L-Valyl-L-valin-benzylester führen vornehmlich zu diastereomeren Hydroxyacyl-aminosäure-Derivaten. Dem Syntheseweg, aus den leichter zugänglichen Peptidderivaten durch Diazotierung Depsipeptidderivate mit OH-terminaler Hydroxysäure gleicher Konfiguration darzustellen, kommen deshalb keine großen Erfolgsaussichten zu. Zum Aufbau dieses Verbindungstyps ist deshalb die direkte Hydroxyacylierung von Aminosäure- und Peptidderivaten vorzuziehen.

Ferner versuchten wir, *N*-Methyl-aminosäuren¹⁵⁻¹⁸⁾ in Depsipeptide einzubauen. Als Verknüpfungsmethode diente wiederum die Säurechlorid- neben der Benzolsulfochlorid-Methode, zum Schutz der *N*-Methyl-amino- und OH-Gruppe der Z-Rest. Z-*N*-Methyl-aminosäure- und Z-Hydroxysäurechloride sind gegen Zerfall in Carboxyanhydrid und Benzylchlorid wesentlich beständiger als Z-Aminosäurechloride. Als unabhängig vom Z-Rest entfernbare C-Schutzgruppe wählten wir den Cyanmethylrest¹⁹⁾.

Schema 4



Da die Acylierung der *N*-Methyl-aminogruppe ähnlich wie die Knüpfung der Esterbindung energische Acylierungsmethoden erfordert, ist hier die Anwendung OH-ungeschützter Hydroxysäuren bedenklich. *O*-Z-Gruppen lassen sich unter gleichen Bedingungen wie *N*-Z-Gruppen hydrogenolytisch abspalten. Sie sind jedoch als Kohlensäureester-Gruppen wesentlich hydrolyseempfindlicher. Dennoch gelingt die selektive Entfernung von C-Cyanmethylresten mit guter Ausbeute, wenn man 15 Min. bei 0° mit 5-proz., wäßrig methanolischer Natronlauge behandelt. Eine Reinigung der Zwischenprodukte ist auch bei diesem Syntheseweg über die DCHA-Salze möglich.

Die nach diesen Aufbauprinzipien erhaltenen Teilsequenzen lassen sich durch gegenseitige Verknüpfung oder stufenweisen Aufbau prinzipiell weiter zu höheren Depsipeptidderivaten mit regulärer oder irregulärer Sequenz verlängern.

¹⁵⁾ E. FISCHER und M. BERGMANN, Liebigs Ann. Chem. **398**, 117 [1913].

¹⁶⁾ E. FISCHER und W. LIPSCHITZ, Ber. dtsh. chem. Ges. **48**, 360 [1915].

¹⁷⁾ W. COCKER, J. chem. Soc. [London] **1937**, 1964.

¹⁸⁾ P. QUITT, K. VOGLER und J. HELLERBACH, Helv. chim. Acta **46**, 327 [1963].

¹⁹⁾ K. TIETZ, Diplomarb. Univ. Halle 1963.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

1. Ausgangsstoffe und Vorstufen

L-Milchsäure wurde durch Racematspaltung¹⁴⁾ von vakuumgetrockneter und zweifach destillierter *DL-Milchsäure* (Sdp.₁₂ 122–123°) mit (–)- α -Phenyl-äthylamin¹³⁾ (Sdp.₁₄ 77°, n_D^{25} 0.9500, $[\alpha]_D^{20}$: –40.5° (in Substanz)) gewonnen.

(–)-Phenyläthylammonium-*L-lactat*: $[\alpha]_D^{25}$: –8.6° ($c = 3.0$, in Wasser).

Li-L-Lactat (getrocknet): $[\alpha]_D^{25}$: –14.0° ($c = 3.0$, in Wasser).

L-Milchsäure-benzylester: In eine Suspension von 10.8 g über P₂O₅ getrocknetem *Li-L-Lactat* in 60 ccm absol. Benzylalkohol wird trockener Chlorwasserstoff bis zur Sättigung eingeleitet. Nach Waschen mit Wasser und Natriumhydrogencarbonatlösung wird getrocknet und fraktioniert destilliert. Ausb. 9.5 g (47% d. Th.), Sdp.₁₂ 138–139°, n_D^{20} 1.5148, $[\alpha]_D^{25}$: –15.0° ($c = 2.8$, in Äthanol).

C₁₀H₁₂O₃ (180.2) Ber. C 66.65 H 6.71 Gef. C 66.44 H 6.74

L- α -Hydroxy-isovaleriansäure: 11.7 g (100 mMol) *L-Valin* in 196 ccm (200 mMol) 1 *n* H₂SO₄ werden bei 0° innerhalb von 90 Min. mit einer konz., gekühlten Lösung von 13.8 g (200 mMol) NaNO₂ tropfenweise unter Rühren versetzt. Man rührt noch 3 Stdn. bei 0°, läßt 8 Stdn. bei 20° stehen und erwärmt dann noch 15 Min. auf 50–60°. Durch wiederholtes Ausschütteln mit Äther und Verdampfen des Äthers i. Vak. erhält man die rohe *L-Hydroxy-säure*, die aus Dichloräthan umkristallisiert und durch Vak.-Sublimation gereinigt wird. Ausb. 9.1 g (77% d. Th.), Schmp. 63–65°, $[\alpha]_D^{20}$: +19.1° ($c = 1.0$, in CHCl₃).

C₅H₁₀O₃ (118.1) Ber. C 50.84 H 8.53 Gef. C 50.92 H 8.46

L- α -Hydroxy-isovaleriansäure-benzylester: Durch Veresterung von 5.9 g (50 mMol) *L- α -Hydroxy-isovaleriansäure* in 45 ccm absol. Benzylalkohol mit Chlorwasserstoff. Es wird mit Wasser und Hydrogencarbonatlösung gewaschen und bei 10 Torr fraktioniert destilliert. Ausb. 7.6 g (73% d. Th.), Sdp.₁₀ 134–136°, n_D^{20} 1.5057, $[\alpha]_D^{20}$: –16.3° ($c = 2.1$, in Äthanol).

C₁₂H₁₆O₃ (208.3) Ber. C 69.20 H 7.74 Gef. C 69.05 H 7.43

DL- α -Hydroxy-isovaleriansäure-cyanmethylester wurde nach E. SCHRÖDER und K. LÜBKE⁶⁾ durch 5stdg. Veresterung von 11.8 g (100 mMol) der Säure in 100 ccm Essigester mit 14 ccm (100 mMol) Triäthylamin und 9.5 ccm (150 mMol) Chloracetonitril bei 70° gewonnen. Ausb. 9.6 g (61% d. Th.), Sdp.₂ 101–104°.

DL- α -Hydroxy-isovaleriansäure-thiophenylester: 5.9 g (50 mMol) *DL- α -Hydroxy-isovaleriansäure* und 10.3 ccm (100 mMol) frisch destilliertes Thiophenol werden in 60 ccm absol. THF bei –10° tropfenweise mit einer Lösung von 10.3 g (50 mMol) DCCI in 30 ccm THF versetzt. Nach 10 Stdn. bei Raumtemperatur saugt man vom Harnstoff ab, dampft i. Vak. ein, schüttelt den Rückstand mit Wasser aus und nimmt ihn in Äther auf. Nach Waschen der äther. Lösung mit verd. Natronlauge, verd. Salzsäure und Hydrogencarbonatlösung wird getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. abgedampft. Ausb. 7.3 g Öl (70% d. Th.), n_D^{20} 1.5550.

C₁₁H₁₄O₂S (210.3) Ber. C 62.84 H 6.71 Gef. C 62.46 H 6.78

O-Z- α -Hydroxysäuren: Zu einer auf –5° gekühlten Mischung von 0.1 Mol Hydroxysäure, 0.4 Mol Triäthylamin und 50 ccm Chloroform werden langsam unter Rühren 0.15 Mol Chlorameisensäure-benzylester getropft. Nach einstdg. Stehenlassen bei –5° und weiteren 8 Stdn. bei 20° destilliert man das Lösungsmittel i. Vak. ab und extrahiert den Rückstand nach Ansäuern mit 4 *n* HCl wiederholt mit Äther. Nach dem Trocknen der äther. Auszüge und Eindampfen i. Vak. verbleibt die rohe *O-Z-Hydroxy-carbonsäure*, die aus Dichloräthan umkristallisiert wird. Ausb. 40% d. Th.

O-Z-DL-Milchsäure: Schmp. 84°.

$C_{11}H_{12}O_5$ (224.2) Ber. C 58.92 H 5.40 Gef. C 58.50 H 5.74

*O-Z-DL- α -Hydroxy-isovaleriansäure*³⁾: Schmp. 86–87°.

$C_{13}H_{16}O_5$ (252.3) Ber. C 61.89 H 6.39 Gef. C 61.80 H 6.55

O-Z- α -Hydroxysäure-thiophenylester wurden analog wie die Hydroxysäure-thiophenylester durch Umsetzung von 0.02 Mol *O-Z-Hydroxy-carbonsäure*, 0.02 Mol *Thiophenol* und 0.02 Mol *DCCI* bei -10° in 15 ccm THF gewonnen. Nach Aufarbeitung und Umkristallisieren aus Essigester/Petroläther Ausb. 80% d. Th.

O-Z-DL-Milchsäure-thiophenylester: Schmp. 45°.

$C_{17}H_{16}O_4S$ (316.4) Ber. C 64.65 H 5.10 Gef. C 64.14 H 5.00

O-Z-DL- α -Hydroxy-isovaleriansäure-thiophenylester: Schmp. 31–32°.

$C_{19}H_{20}O_4S$ (344.4) Ber. C 66.26 H 5.85 Gef. C 66.57 H 5.99

N-Z-N-Methyl-DL-alanin: 10.2 g (100 mMol) *N-Methyl-alanin*²⁰⁾ werden in 25 ccm 4 *n* NaOH bei -15° unter Rühren allmählich mit 20 g (130 mMol) *Chlorameisensäure-benzylester* und gleichzeitig mit 50 ccm 2 *n* NaOH versetzt, wobei die Temperatur auf -5° zu halten ist. Nach weiterem einstdg. Rühren bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch ausgeäthert und gegen Kongorot angesäuert; *N-Z-N-Methyl-DL-alanin* fällt als Sirup aus und wird über das DCHA-Salz^{21,22)} gereinigt. Ausb. 18.0 g (76% d. Th.), Schmp. 64°.

$C_{12}H_{15}O_4$ (229.3) Ber. C 60.75 H 6.37 N 5.90 Gef. C 60.96 H 6.30 N 5.63

N-Z-N-Methyl-DL-alanin-cyanmethylester: 23.6 g (100 mMol) *N-Z-N-Methyl-alanin* und 10.1 g (100 mMol) Triäthylamin werden in 50 ccm absol. Essigester mit 11.4 g (150 mMol) *Chloracetonitril* 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Das ausgeschiedene Hydrochlorid wird abgeseugt und die Lösung mit kalter 1 *n* HCl, 5-proz. $NaHCO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen. Man trocknet mit Natriumsulfat und dampft das Lösungsmittel i. Vak. ab. Ausb. 25.0 g (91% d. Th.) Öl, n_D^{20} 1.5003.

$C_{14}H_{16}N_2O_4$ (276.3) Ber. C 60.89 H 5.83 N 10.14 Gef. C 61.03 H 5.97 N 10.60

N-Methyl-DL-alanin-cyanmethylester: Aus 15 g vorstehender *N-Z-Verbindung* durch 3stdg. Hydrierung im Durchfluß an 0.3 g Palladium/Kohle in 200 ccm absol. Methanol. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels bei 20° wird der Ester bei 2 Torr destilliert. Sdp.₂ 72–74°.

$C_6H_9N_2O_2 \cdot HCl$ (178.7) Ber. C 40.20 H 6.29 N 16.65 Gef. C 40.05 H 6.15 N 16.60

N-Phthalyl-aminosäurechloride: Zu einer Lösung von 20 mMol *Phthalylaminosäure*^{23,24)} (Phth-DL-Val: Schmp. 102°; Phth-D-Val: Schmp. 116–117°, $[\alpha]_D^{20}$: +69.2° (*c* = 2.2, in Äthanol); Phth-L-Val: Schmp. 116–117°, $[\alpha]_D^{20}$: –69.8° (*c* = 2.7, in Äthanol)) in 60 ccm absol. Benzol werden bei 0° 6.3 g (30 mMol) *PCl₅* gegeben. Man rührt im Eisbad noch 4–5 Stdn., filtriert und dampft i. Vak. ein. Ausb. 86–92% d. Th.

Phth-L-Val-Cl: Schmp. 120–121° (aus Äther/Petroläther).

Phth-D-Val-Cl: Schmp. 119° (aus Äther/Petroläther).

20) E. FISCHER und L. v. MECHEL, Ber. dtsh. chem. Ges. **49**, 1355 [1916].

21) E. KLIEGER, E. SCHRÖDER und H. GIBIAN, Liebigs Ann. Chem. **640**, 157 [1961].

22) O. WALLACH, K. HÜTTNER und J. ALTENBERG, Liebigs Ann. Chem. **343**, 61 [1905].

23) J. C. SHEEHAN und Mitarbb., J. Amer. chem. Soc. **71**, 1856 [1949], ebenda **74**, 3823 [1952].

24) F. E. KING und D. A. KIDD, J. chem. Soc. [London] **1951**, 2976.

2. *Depsipeptid-Derivate aus Phthalylaminosäuren und Hydroxycarbonsäure- bzw. Aminosäure-benzylestern*

Phthalylaminoacyl-hydroxysäure-benzylester: Zu einer Lösung von 0.05 Mol *Phth-Aminosäurechlorid* in 60–80 ccm absol. Äther tropft man bei -10° unter Rühren eine ebenfalls auf -10° gekühlte Lösung von 0.05 Mol *Hydroxysäure-benzylester* und 12 ccm (0.15 Mol) Pyridin in wenig absol. Äther, wobei sich das Pyridin-hydrochlorid sofort abscheidet (bei der Synthese optisch aktiver Verbindungen verwendet man nur 4 ccm = 0.05 Mol Pyridin). Das Reaktionsgemisch läßt man noch 2 Stdn. im Eisbad und 3 Stdn. bei Raumtemperatur stehen. Nach Zugabe weiterer 50 ccm Äther wird gründlich mit 2 *n* HCl, 10 Min. mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung zur Entfernung überschüss. Säurechlorids und dann kurz mit Wasser gewaschen. Die äther. Lösung trocknet man mit Natriumsulfat und gießt zur Beseitigung einer schwachen Färbung durch ein mit trockener Aktivkohle gefülltes Faltenfilter. Man dampft i. Vak. ein. Der nicht umgesetzte Hydroxysäure-benzylester wird mittels Kurzwegdestillationsapparatur bei 1 Torr und der Wasserbadtemperatur von ca. 95° abdestilliert.

Dargestellte Phthalylaminoacyl-hydroxycarbonsäure-benzylester

Verbindung	Ausb. (% d. Th.) n_D^{20}	Summen- formel (Mol.-Gew.)	Analyse		
			C	H	N
Phth-DL-Val-DL-Lac-OBZL	86 (17.6 g) 1.5462	$C_{23}H_{23}NO_6$ (409.4)	Ber. 67.47 Gef. 67.35	5.66 5.61	3.42 3.33
Phth-D-Val-L-Lac-OBZL ^{a)}	71	$C_{23}H_{23}NO_6$ (409.4)	Ber. 67.47 Gef. 67.63	5.66 5.61	
Phth-L-Val-L-Lac-OBZL ^{b)}	91	$C_{23}H_{23}NO_6$ (409.4)	Ber. 67.47 Gef. 66.96	5.66 5.78	
Phth-DL-Leu-DL-Lac-OBZL	75 1.5413	$C_{24}H_{25}NO_6$ (423.5)	Ber. 68.07 Gef. 67.68	5.95 6.12	3.31 3.48
Phth-DL-Ile-DL-Lac-OBZL	83 1.5432	$C_{24}H_{25}NO_6$ (423.5)	Ber. 68.07 Gef. 67.82	5.95 5.48	3.31 3.40
Phth-DL-Val-DL-Oxisoval-OBZL	78 1.5372	$C_{25}H_{27}NO_6$ (437.5)	Ber. 68.63 Gef. 68.70	6.22 6.45	3.20 3.25

a) $[\alpha]_D^{20}$: $+21.4^{\circ}$ ($c = 2.1$, in Äthanol). b) $[\alpha]_D^{20}$: -42.3° ($c = 2.7$, in Äthanol).

Phthalylaminoacyl-hydroxysäuren: 10 mMol *Phth-Aminoacyl-hydroxysäure-benzylester* werden in 120 ccm absol. Methanol mit 0.5 g Pd/Tierkohle bei Raumtemperatur und einem Überdruck von 50 cm Wassersäule hydriert. Die Reaktion ist nach 3–8 Stdn. beendet. Der Katalysator wird abzentrifugiert, die Lösung i. Vak. eingedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und die Lösung mit verd. Salzsäure gewaschen. Anschließend schüttelt man die *Phth-Aminoacyl-hydroxysäure* mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung aus, säuert letztere an, extrahiert mit Äther und dampft diesen nach dem Trocknen i. Vak. ab. Die ölige Substanz erstarrt bei Raumtemperatur zu einer glasig-amorphen Masse.

Phth-DL-Val-DL-Lac-OH: Ausb. 70% d. Th.; glasig amorph.

$C_{16}H_{17}NO_6$ (319.3) Ber. C 60.18 H 5.37 N 4.39 Gef. C 60.12 H 5.61 N 4.42

DCHA-Salz: Schmp. $164-166^{\circ}$.

$C_{28}H_{40}N_2O_6$ (500.6) Ber. C 67.18 H 8.05 N 5.60 Gef. C 67.23 H 8.47 N 5.60

Phth-D-Val-L-Lac-OH: Die Feinreinigung erfolgt durch fraktionierte Extraktion mit Natriumhydrogencarbonatlösung. Ausb. 66% d. Th.; $[\alpha]_D^{20}$: $+29.7^{\circ}$ ($c = 2.8$, in Äthanol).

Phth-L-Val-L-Lac-OH: Die Feinreinigung erfolgt wie vorstehend. Ausb. 61 % d. Th.; $[\alpha]_D^{20}$: -43.6° ($c = 3.0$, in Äthanol).

$C_{16}H_{17}NO_6$ (319.3) Ber. C 60.18 H 5.37 N 4.39 Gef. C 60.87 H 5.67 N 4.91

Phth-DL-Val-DL-Oxisoval-OH: Ausb. 70 % d. Th.; glasig-amorph.

$C_{18}H_{21}NO_6$ (347.4) Ber. C 62.24 H 6.09 N 4.03 Gef. C 61.82 H 6.28 N 4.37

DCHA-Salz: Schmp. 187–189°.

$C_{30}H_{44}N_2O_6$ (528.7) Ber. C 68.16 H 8.39 N 5.30 Gef. C 68.22 H 8.28 N 5.60

Phthalyl-valyl-hydroxyacyl-valin-benzylester: 10 mMol *Phth-Valyl-hydroxysäure* werden mit 2.5 g (12 mMol) PCl_5 in 40 ccm absol. Benzol bei 0° in das *Säurechlorid* übergeführt, welches nach Filtrieren und Eindampfen der Lösung i. Vak. als zähes, gelbes Öl erhalten wird. Man löst es in 30 ccm absol. Äther und tropft unter Rühren bei -10° eine Lösung von 2.7 g (10 mMol) *Valin-benzylester* (hergestellt aus dem *p*-Toluolsulfonat mittels wäbr. Natriumhydrogencarbonatlösung) und 2.42 ccm (30 mMol) Pyridin in 15 ccm absol. Äther hinzu. Man läßt noch 2 Stdn. bei 0° und 3 Stdn. bei Raumtemperatur stehen. Nach Zugabe von 50 ccm Äther wird gründlich mit verd. Salzsäure, gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen, die äther. Lösung getrocknet, mit Aktivkohle behandelt und eingedampft.

Phth-DL-Val-DL-Lac-DL-Val-OBZL: Ausb. 86.5 % d. Th. zähes Öl, n_D^{20} 1.5407.

$C_{28}H_{32}N_2O_7$ (508.6) Ber. C 66.13 H 6.34 N 5.51 Gef. C 65.86 H 6.43 N 5.33

Phth-L-Val-L-Lac-L-Val-OBZL: Ausb. 76.5 % d. Th. zähes Öl, n_D^{20} 1.5417, $[\alpha]_D^{20}$: -27.9° ($c = 3.0$, in Äthanol).

$C_{28}H_{32}N_2O_7$ (508.6) Ber. C 66.13 H 6.34 N 5.51 Gef. C 66.19 H 6.05 N 5.94

Phth-DL-Val-DL-Oxisoval-DL-Val-OBZL: Ausb. 79 % d. Th. zähes Öl, n_D^{20} 1.5374.

$C_{30}H_{36}N_2O_7$ (536.6) Ber. C 67.15 H 6.76 N 5.22 Gef. C 67.03 H 6.78 N 5.33

Phthalyl-valyl-hydroxyacyl-valin: 5 mMol *Phth-Valyl-hydroxyacyl-valin-benzylester* werden in 60 ccm absol. Methanol bei Gegenwart von Pd/Tierkohle und einem H_2 -Überdruck von 50 cm Wassersäule bei Raumtemperatur hydriert und wie üblich aufgearbeitet.

Phth-DL-Val-DL-Lac-DL-Val-OH: Ausb. 90 % d. Th.; amorph.

$C_{21}H_{26}N_2O_7$ (418.5) Ber. C 60.28 H 6.26 N 6.69 Gef. C 60.15 H 6.48 N 6.64

Phth-L-Val-L-Lac-L-Val-OH: Ausb. 69 % d. Th.; glasig-amorph, $[\alpha]_D^{20}$: -3.2° ($c = 2.8$, in Äthanol).

$C_{21}H_{26}N_2O_7$ (418.5) Ber. C 60.28 H 6.26 N 6.69 Gef. C 60.86 H 6.30 N 7.11

Phth-DL-Val-DL-Oxisoval-DL-Val-OH: Ausb. 83 % d. Th., Schmp. 199–200°.

$C_{23}H_{30}N_2O_7$ (446.5) Ber. C 61.87 H 6.77 N 6.27 Gef. C 61.69 H 6.97 N 6.33

DCHA-Salz: Schmp. 182–185°.

$C_{35}H_{53}N_3O_7$ (627.8) Ber. C 66.95 H 8.51 N 6.69 Gef. C 66.73 H 8.60 N 6.62

Phth-DL-Val-DL-Lac-DL-Val-DL-Lac-OBZL

a) 1.25 g (3.00 mMol) *Phth-DL-Val-DL-Lac-DL-Val-OH* werden mit 0.83 g (4.00 mMol) *Phosphorpentachlorid* in 20 ccm absol. Benzol in das *Phth-DL-Val-DL-Lac-DL-Val-Cl* übergeführt. Dann löst man in 15 ccm absol. Äther, kühlt auf -10° ab, tropft eine kalte Lösung von 0.54 g (3 mMol) *H-DL-Lac-OBZL* und 0.24 ccm (3 mMol) Pyridin in 5 ccm Äther unter Rühren zu, läßt 2 Stdn. bei 0° und 20 Stdn. bei Raumtemperatur stehen, gibt ca. 50 ccm

Äther hinzu und arbeitet wie bei den Phthalylaminoacyl-hydroxysäureestern auf. Das *Phth-DL-Val-DL-Lac-DL-Val-DL-Lac-OBZL* ist ein zähes Öl. Ausb. 30% d. Th., n_D^{20} 1.5277.

$C_{31}H_{36}N_2O_9$ (580.7) Ber. C 64.13 H 6.25 N 4.83 Gef. C 64.56 H 6.52 N 4.61

b) 1.6 g (5.0 mMol) *Phth-DL-Val-DL-Lac-OH* werden mit 1.25 g (6.00 mMol) *Phosphorpen-tachlorid* in das Säurechlorid übergeführt. Dann wird in 25 ccm Äther bei -10° eine Lösung von 1.40 g (5.00 mMol) *H-DL-Val-DL-Lac-OBZL* und 1.21 ccm (15.0 mMol) Pyridin in 10 ccm Äther zugegeben. Die Aufarbeitung erfolgt analog a). Ausb. 55.5% d. Th. *Phth-DL-Val-DL-Lac-DL-Val-DL-Lac-OBZL* als zähes Öl; n_D^{20} 1.5293.

Gef. C 64.15 H 6.71 N 4.87

Hydrzinspaltung von Phthalyl-depsipeptid-benzylestern: Eine Mischung von 10 mMol *Phthalyl-depsipeptid-benzylester*, 0.32 g (10 mMol) wasserfreiem *Hydrazin* und 55 ccm absol. Äthanol läßt man 50 Min. kräftig sieden. Darauf wird der Alkohol sofort i. Vak. abdestilliert, der Rückstand mit 40 ccm Äther und 30 ccm 2 *n* HCl durchgeschüttelt und das *Phthalyl-hydrazid* abgesaugt. Die salzsaure Lösung wird mehrmals mit Äther gewaschen, Natriumhydrogencarbonat im Überschuß zugegeben und der freie *Depsipeptid-benzylester* ausgeäthert. Die äther. Lösung wird getrocknet, eingedampft und einige Tage i. Vak. über Schwefelsäure zur Beseitigung von Hydrazinspuren stehengelassen.

H-DL-Val-DL-Lac-OBZL: Ausb. 40.5% d. Th.

$C_{15}H_{21}NO_4$ (279.3) Ber. C 64.50 H 7.58 N 5.02 Gef. C 64.26 H 7.47 N 5.36

Das hyroskopische *Hydrochlorid* erhält man durch Einleiten von trockenem Chlorwasserstoff in die äther. Lösung; Schmp. 180–183°.

H-DL-Val-DL-Oxisoval-OBZL: Ausb. 44% d. Th.; n_D^{20} 1.4923.

$C_{17}H_{25}NO_4$ (307.4) Ber. C 66.43 H 8.20 N 4.56 Gef. C 66.37 H 8.54 N 4.82

H-DL-Val-DL-Lac-DL-Val-OBZL: Ausb. 57% d. Th.; n_D^{20} 1.5133.

$C_{20}H_{30}N_2O_5$ (378.5) Ber. C 63.47 H 7.99 N 7.40 Gef. C 63.41 H 8.06 N 7.27

DL-Oxisoval-DL-Val-OBZL: Zu einer Lösung von 2.95 g (25.0 mMol) *DL- α -Hydroxy-isovaleriansäure* und 4.14 g (20.0 mMol) *H-DL-Val-OBZL* in 70 ccm absol. THF gibt man bei -10° eine Lösung von 4.12 g (20.0 mMol) *DCCI*. Man läßt über Nacht bei Raumtemperatur stehen. Nach Abfiltrieren des Harnstoffes wird i. Vak. eingedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und wie üblich aufgearbeitet. Ausb. 38% d. Th.; n_D^{20} 1.5112.

$C_{17}H_{25}NO_4$ (307.4) Ber. C 66.43 H 8.20 N 4.56 Gef. C 66.57 H 8.40 N 4.78

Phth-DL-Val-DL-Oxisoval-thiophenylester: 12.4 g (50.0 mMol) *Phth-DL-Val-OH* werden mit *Phosphorpen-tachlorid* in das Säurechlorid übergeführt. Dieses wird in 60 ccm Äther bei -10° unter Rühren mit einer Lösung von 10.5 g (50.0 mMol) *DL- α -Hydroxy-isovaleriansäure-thiophenylester* und 8 ccm (100 mMol) Pyridin in 30 ccm Äther versetzt. Es scheidet sich sofort Pyridinhydrochlorid ab. Nach Stehenlassen bei 0° wird der Ansatz wie üblich aufgearbeitet. Man erhält so den *Phth-DL-Val-DL-Oxisoval-thiophenylester* als fast farbloses Öl. Ausb. 76% d. Th.; n_D^{20} 1.5772.

$C_{24}H_{25}NO_5S$ (439.5) Ber. C 65.59 H 5.73 N 3.19 Gef. C 65.50 H 5.72 N 3.04

3. *Depsipeptid-Derivate aus Z-Hydroxysäuren und N-Methyl-aminosäure- sowie Hydroxysäure-cyanmethylestern*

Z-Lactyl-N-methyl-DL-alanin-cyanmethylester: 3.8 g (1.7 mMol) *O-Benzoyloxycarbonyl-milchsäure* löst man in 50 ccm absol. Äther und gibt bei 0° 5.5 g fein gepulvertes PCl_5 hinzu. Nach 2 Stdn. Rühren in der Kälte wird dekantiert, eingedampft und in 20 ccm absol. Tetra-

hydrofuran gelöst. Die Lösung tropft man bei -40° in eine Mischung von 1.6 g Triäthylamin und 2.13 g (1.5 mMol) frisch hergestellten *N-Methyl-alanin-cyanmethylesters* in 25 ccm Tetrahydrofuran, rührt noch 1 Stde. und läßt über Nacht stehen. Zur Aufarbeitung wird mit 200 ccm Äther verdünnt, vom Hydrochlorid abfiltriert und mit eiskalter 1 *n* H_2SO_4 , 5-proz. Hydrogencarbonatlösung und mit Wasser gewaschen. Ausb. 72% d. Th.; n_D^{20} 1.5072.

$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$ (348.3) Ber. C 58.68 H 5.79 N 8.04 Gef. C 59.20 H 5.65 N 8.63

Z-Lactyl-N-methyl-DL-alanin: 3.5 g (10 mMol) *Z-Lactyl-N-methyl-DL-alanin-cyanmethylester* werden in 10 ccm Methanol bei 0° mit einer Lösung von 1 g NaOH in 10 ccm Wasser vereinigt. Nach 15 Min. wird mit 30 ccm verd. Salzsäure angesäuert, die Lösung 3 mal ausgeäthert und die äther. Phase mit Na_2SO_4 getrocknet. Danach wird mit 1 g *Dicyclohexylamin* in 10 ccm Äther versetzt. Nach kurzem Rühren fällt das *DCHA-Salz* aus. Ausb. 45% d. Th., Schmp. 103° .

$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_6$ (309.3) Ber. C 67.70 H 8.47 N 5.96 Gef. C 67.28 H 8.46 N 5.58

Z-Lactyl-N-methyl-DL-alanin- α -hydroxy-isovaleriansäure-cyanmethylester: 2.7 g (8.6 mMol) *Z-Lactyl-N-methyl-DL-alanin* werden in 20 ccm Pyridin bei 0° tropfenweise mit 2.30 ccm *Benzolsulfochlorid* versetzt. Nach 10 Min. Rühren gibt man 1.36 g (8.30 mMol) *α -Hydroxy-isovaleriansäure-cyanmethylester* hinzu und rührt noch $\frac{1}{2}$ Stde. bei 0° und 2 Stdn. bei Raumtemperatur. Das Reaktionsgemisch wird in Äther aufgenommen und nacheinander mit eiskalter 5-proz. Citronensäure, eiskalter NaHCO_3 -Lösung und mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen wird fraktioniert mit Petroläther gefällt. Ausb. 2.2 g; n_D^{20} 1.5315.

$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_8$ (446.4) Ber. C 58.48 H 6.46 Gef. C 58.22 H 7.19

Totalhydrolyse: Sämtliche Syntheseprodukte wurden durch mehrstdg. Kochen mit konz. Salzsäure total hydrolysiert und aufsteigend auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 b mit sek.-Butanol/Wasser (80 : 20) chromatographiert. Als Indikator für die Hydroxysäuren diente eine 0.05-proz. alkoholische Lösung von Bromkresolgrün.

H-Oxisoval-OH: R_F 0.85, H-Lac-OH: R_F 0.76 und *N-Methyl-Ala-OH*: R_F 0.17.
