

GÜNTER LOSSE und HARTMUT RAUE

Der 2-Benzoyloxycarbonyl-benzoyl-Rest als OH-Schutz für Depsipeptid-Synthesen

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Halle und dem Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Dresden *)

(Eingegangen am 9. November 1964)

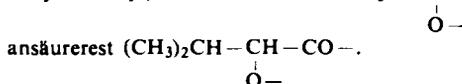
Der 2-Benzoyloxycarbonyl-benzoyl-Rest kann als OH-Schutz zur Synthese sowie zur Reindarstellung von Hydroxyacyl-aminosäure- und -peptid-Derivaten verwendet werden. Mit seiner Hilfe wird die Amidomycin-Teilsequenz Val-Oxisoval-Val-Oxisoval-Val aufgebaut.

Für den Aufbau von Depsipeptiden (Peptoliden)¹⁾ verwendet man in der Regel N-geschützte α -Aminoacyl- α -hydroxy-carbonsäureester, die nach Freisetzung von Amino- und Carboxylfunktion durch Knüpfung einer Peptidbindung zu geschützten höheren Depsipeptidderivaten vereinigt werden^{1,2)}. Dieser Weg wird gegenüber dem von OH-terminalen α -Hydroxysäuren ausgehenden Aufbauprinzip¹⁾ deshalb bevorzugt, weil er von den Erfahrungen der reinen Peptidchemie ausgeht und gute Reinigungsmöglichkeiten über freie Carboxyl- und Aminogruppen bietet, aber auch, weil bis heute eine größere Zahl hinreichend vielseitig einsetzbarer OH-Schutzgruppen³⁾ noch fehlt. Erwünscht erscheint die Kenntnis neuer OH-Schutzgruppen darüber hinaus jedoch auch für die verbesserte Synthese der beim Partialabbau der Depsipeptide anfallenden Hydroxyacyl-peptidderivate sowie für den Aufbau irregulärer Depsipeptid-Sequenzen.

Aus dieser Zielsetzung heraus haben wir die Eignung von Phthalsäurehalbesterguppen zum OH-Schutz von α -Hydroxysäurederivaten näher untersucht, wobei wir wegen der hohen Bildungstendenz des Phthalhydrazids eine ähnlich leichte hydrazinolytische Spaltbarkeit der Phthalsäure-esterbindungen⁴⁾ wie der Phthalimidbindungen erwarteten. Zum näheren Studium dieser Verhältnisse diente uns als Modell *O*-[2-Methoxycarbonyl-benzoyl]-lactyl-milchsäure, die nach folgendem Schema erhalten wurde **):

*) Neue Anschrift: Prof. Dr. G. LOSSE, Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Dresden, Mommsenstr. 6.

***) Abkürzungen: Z = Benzyloxycarbonyl, BZL = Benzyl, t. Bu = tert.-Butyl, Ät = Äthyl, DCHA = Dicyclohexylamin, DCCI = Dicyclohexylcarbodiimid, (2-HO₂C)Bz = 2-Carboxy-benzoyl, (2-CH₃O₂C)Bz = 2-Methoxycarbonyl-benzoyl, (2-Z)Bz = 2-Benzoyloxycarbonyl-benzoyl, Lac = Milchsäurerest H₃C-CH-CO-, Oxisoval = α -Hydroxy-isovalerian-

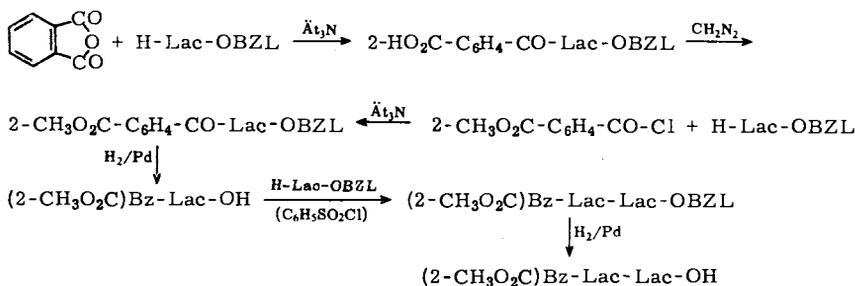


1) Zusammenfassende Übersichten: M. M. SCHEMJAKIN und Mitarbb., *Angew. Chem.* **72**, 342 [1960]; *Uspechi Chimii* **31**, 269 [1962]; E. SCHRÖDER und K. LÜBKE, *Experientia* [Basel] **19**, 57 [1963]; G. LOSSE und G. BACHMANN, *Z. Chem.* **4**, 204, 241 [1964].

2) G. LOSSE und G. BACHMANN, *Chem. Ber.* **97**, 2671 [1964].

3) M. M. SCHEMJAKIN, J. A. OWTSCHINNIKOW, A. A. KIRJUSCHKIN und W. T. IWANOW, *Tetrahedron Letters* [London] **7**, 301 [1962]; M. M. SCHEMJAKIN, J. A. OWTSCHINNIKOW, W. T. IWANOW und A. A. KIRJUSCHKIN, *Tetrahedron* [London] **19**, 585 [1963].

4) E. DAVIDIS, *J. prakt. Chem.* **54**, 72 [1886].



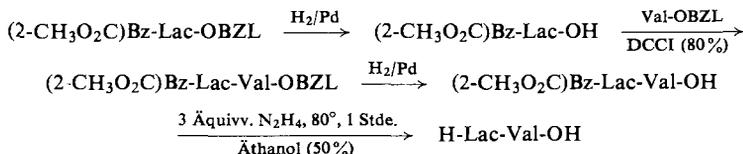
Hydrazinolyseversuche mit dieser Verbindung sowie mit *O*-[2-Methoxycarbonyl-benzoyl]-milchsäure-benzylester und analog gewonnenen *O*-[2-Methoxycarbonyl-benzoyl]- α -hydroxy-carbonsäure-äthylestern in absol. Äthanol oder DMF zeigten aber, daß zur Abspaltung des Benzoyl-Restes hier energischere Bedingungen erforderlich sind. Ausbeuten zwischen 60 und 90% an Phthalhydrazid werden erst mit 2–4 Äquiv. Hydrazin bei 70° innerhalb einer Stunde erhalten, Bedingungen also, unter denen Umesterungen und Hydrazinolyse auch der übrigen Esterbindungen nicht mehr ausgeschlossen sind^{2,5)}. Phthaloylaminosäuren werden demgegenüber bereits durch 1 Äquiv. Hydrazin unter sonst gleichen Bedingungen weitgehend entphthalylt.

Tab. 1. Abspaltung des *O*-[2-Methoxycarbonyl-benzoyl]-Restes (2-CH₃O₂C)Bz-Restes von α -Hydroxy-carbonsäurederivaten (1 Stde., 70°)

(2-CH ₃ O ₂ C)Bz-	Mole 1 <i>m</i> N ₂ H ₄ -Lösung pro Mol Verbindung	Lösungsmittel	% Ausb. an Phthalhydrazid	Nachgewiesene Reaktionsprodukte
-OH (Phthalsäuremonomethylester)	2	DMF	90	—
-Lac-OÄt	1	Äthanol	42	Milchsäure-äthylester
-Lac-OÄt	2	Äthanol	61	Milchsäure-äthylester
-Lac-OBZL	1	Äthanol	40	Milchsäure, Benzylalkohol
-Lac-OBZL	2	Äthanol	65	Milchsäure, Benzylalkohol
-Oxisoval-OÄt	1	DMF	20	—
-Lac-Lac-OH	2	Äthanol	7	Milchsäure
-Lac-Lac-OH	2	DMF	25*)	Milchsäure

*) Reaktionszeit: 4 Stdn.

Danach erscheint der 2-Methoxycarbonyl-benzoyl-Rest speziell zur Synthese solcher Depsipeptidderivate geeignet, die bei seiner späteren Abspaltung keinerlei weitere hydrazinolyseempfindliche Bindungen aufweisen. Verbindungen dieses Typs konnten wir z. B. nach folgendem Syntheseprinzip aufbauen:



5) R. A. BOISSONNAS, *Advances org. Chem.* 3, 162, 182 [1963].

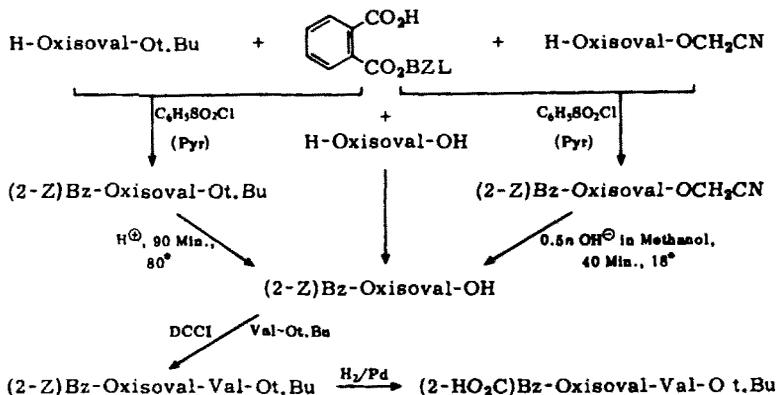
Tab. 2. Synthetisierte α -Hydroxy-acyl-aminosäuren und Derivate *)

Verbindung	Schmp.	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analyse		
			Ber. Gef.	C	H
(2-CH ₃ O ₂ C)Bz-DL-Lac-DL-Val DCHA-Salz	99–101° 147–148°	C ₁₇ H ₂₁ NO ₇ (351.4)	58.17 58.35	6.03 6.06	3.99 4.11
(2-CH ₃ O ₂ C)Bz-DL-Lac-DL-Ala DCHA-Salz	Öl 141–142°	C ₁₂ H ₂₄ NJC ₁₅ H ₁₆ NO ₇ (504.6)	64.27 64.08	7.99 8.24	5.55 5.62
(2-CH ₃ O ₂ C)Bz-DL-Oxisoval-DL-Ala DCHA-Salz	Öl 127–129°	C ₁₂ H ₂₄ NJC ₁₇ H ₂₀ NO ₇ (532.7)	65.35 65.17	8.32 8.25	5.26 5.29
(2-CH ₃ O ₂ C)Bz-DL-Oxisoval-DL-Val DCHA-Salz	Öl 136–138°	C ₁₂ H ₂₄ NJC ₁₉ H ₂₄ NO ₇ (560.7)	66.37 66.60	8.62 8.88	4.99 5.11
H-DL-Lac-DL-Val (DCHA-Salz)	159–161°	C ₁₂ H ₂₄ NJC ₈ H ₁₄ NO ₄ (370.5)	64.75 64.87	10.32 10.41	7.82 7.79
H-DL-Lac-DL-Ala (DCHA-Salz)	156–158°	C ₁₂ H ₂₄ NJC ₆ H ₁₀ NO ₄ (342.5)	63.21 63.49	10.02 10.25	8.19 8.16
H-DL-Oxisoval-DL-Ala (DCHA-Salz)	163–166°	C ₁₂ H ₂₄ NJC ₈ H ₁₄ NO ₄ (370.5)	64.75 64.95	10.32 10.13	7.82 8.06
H-DL-Oxisoval-DL-Val (DCHA-Salz)	177–179°	C ₁₂ H ₂₄ NJC ₁₀ H ₁₈ NO ₄ (398.6)	66.29 66.25	10.62 10.69	7.03 7.00

*) Nach Versuchen von H. SCHMIDTKE, Diplomarb. Univ. Halle 1963.

Die Reinigung der Hydroxyacyl-aminosäuren erfolgte durch Extraktion ihrer Essigesterlösungen mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung oder Wasser sowie über die DCHA-Salze. Eine derartige Anwendung des 2-Methoxycarbonyl-benzoyl-Restes als O-Schutz für den Aufbau von α -Hydroxy-acyl-aminosäure- und -peptid-Derivaten bietet gegenüber der direkten α -Hydroxyacylierung⁶⁾ von Aminosäure- und Peptidderivaten zunächst den Vorteil, daß die Nebenreaktionen an der OH-Gruppe weitgehend vermieden werden.

Neben den Phthalsäure-dialkylestern des obigen Typs haben wir ferner Phthalsäurehalbester in die Hydrazinolyseversuche mit einbezogen. Als Modellverbindung diente hierzu *O*-(2-HO₂C)Bz-Oxisoval-Val-Ot.Bu, welche wie folgt gewonnen wurde:



⁶⁾ E. SCHRÖDER und K. LÜBKE, Liebigs Ann. Chem. 655, 211 [1962].

Phthalsäure-monobenzylester wurde durch Alkohololyse von Phthalsäureanhydrid erhalten. Wegen der Unbeständigkeit des Phthalsäure-benzylester-chlorides war hier die Einführung der 2-Benzoyloxycarbonyl-benzoyl-Gruppe in den Hydroxysäureester nur nach der Benzolsulfochlorid-Methode in Gegenwart von Pyridin⁷⁾ möglich. Brauchbare Ergebnisse werden auch durch direkte Einführung des (2-Z)Bz-Restes nach der Sulfochlorid-Methode in die freie Hydroxysäure erhalten, eine Reaktion, die der Knüpfung von Peptidesterbindungen aus N-geschützten Aminosäuren und freien Hydroxysäuren entspricht⁸⁾.

Die saure bzw. alkalische Verseifung des O-geschützten Hydroxysäure-tert.-butyl- oder -cyanmethylesters führt zur O-[2-Benzoyloxycarbonyl-benzoyl]- α -hydroxy-isovaleriansäure, die nach der Carbodiimid-Methode mit Valin-tert.-butylester das Depsipeptidderivat liefert. Wie sich aus Vorversuchen am Phthalsäure-monobenzylester ergab, läßt sich das Phthalsäurecarboxyl glatt hydrogenolytisch entbenzylieren. Die Übertragung dieser Reaktion auf das Depsipeptidderivat liefert den Halbester mit freier 2-Carboxygruppe, welcher über das DCHA-Salz gereinigt wurde.

Tab. 3 zeigt die Hydrazinolyseausbeuten der 2-Carboxy-benzoyl-Verbindung im Vergleich zum entsprechenden 2-Methoxycarbonyl-benzoyl-Derivat. Letzteres wurde aus O-[2-Methoxycarbonyl-benzoyl]- α -hydroxy-isovaleriansäure und Valin-tert.-butylester nach der Carbodiimid-Methode gewonnen.

Tab. 3. Hydrazinolyse von Phthalsäureestern mit 4 Äquiv. Hydrazin 36 Stdn. bei Raumtemp. in Äthanol; anschließend wurde 1 Stde. auf 70° erhitzt

	%Ausb. an Phthal- hydrazid	%Reinausb. an α -Hydroxy-acyl- aminosäure-tert- butylester
(2-CH ₃ O ₂ C)Bz-Oxisoval-Val-Ot.Bu	60	40
(2-HO ₂ C)Bz-Oxisoval-Val-Ot.Bu	97	60

Danach werden die Phthalsäurehalbester unter wesentlich milderen Bedingungen, unter denen Phthalsäure-dialkylester erst niedrige Spaltungsgrade liefern, bereits quantitativ hydrazinolytisch. Auch bei höheren Temperaturen zeigt sich ein deutlicher Unterschied in den Hydrazinolysegeschwindigkeiten zwischen Phthalsäure-mono- und -dialkylestern.

Die hydrazinolytische Abspaltung der O-[2-Carboxy-benzoyl]-Gruppe unter den angeführten Bedingungen liefert den freien alkalibeständigen α -Hydroxy-acyl-aminosäure-tert.-butylester kristallin mit 60% Reinausbeute (bez. auf die O-[2-Carboxy-benzoyl]-Verbindung). Der Einsatz des 2-Benzoyloxycarbonyl-benzoyl-Restes als OH-Schutz bietet somit gegenüber der entsprechenden Methyl-Gruppierung zwei Vorzüge: Einmal läßt sich die reaktionsträge Phthalsäure-diester-Gruppe durch hydrogenolytische Abspaltung des Benzylrestes in die hydrazinolysefreundigere Monoester-Gruppe überführen, zum zweiten sind durch die freigesetzte Carboxyl-Gruppe vor der Hydra-

⁷⁾ J. H. BREWSTER und C. J. CIOTTI, J. Amer. chem. Soc. 77, 6214 [1955]; J. H. BREWSTER und C. H. KUCERA, ebenda 77, 4564 [1955].

⁸⁾ E. SCHRÖDER und K. LÜBKE, Experientia [Basel] 19, 57 [1963].

methylester-chlorid in 50 ccm Äther bzw. Benzol versetzt. Nach Stehenlassen über Nacht bei Raumtemperatur wird mit 5-proz. NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und nach Abziehen des Lösungsmittels fraktioniert destilliert. Ausb. 50–60%.

(2- $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$)*Bz-Lac-OÄt*: Sdp.₂₋₃ 143°, n_D^{20} 1.5007.

$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_6$ (280.1) Ber. C 60.02 H 5.75 Gef. C 60.00 H 5.70

(2- $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$)*Bz-Lac-OBZL*: Sdp.₄ 237–238°, n_D^{20} 1.5388.

$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6$ (342.3) Ber. C 66.66 H 5.30 Gef. C 66.36 H 5.27

(2- $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$)*Bz-Oxisoval-OBZL*: Sdp.₂₋₃ 208–211°, n_D^{20} 1.5297.

$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$ (368.2) Ber. C 68.09 H 5.96 Gef. C 67.78 H 6.17

(2- $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$)*Bz-Oxisoval-OÄt*: Sdp.₂₋₃ 144°, n_D^{20} 1.4927.

$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_6$ (308.2) Ber. C 61.99 H 6.52 Gef. C 61.86 H 6.32

(2- $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$)*Bz-Lac-OBZL* über (2- HO_2C)*Bz-Lac-OBZL*: 0.1 Mol *Phthalsäureanhydrid* wird mit 0.15 Mol *Milchsäure-benzylester* und 0.1 Mol *Triäthylamin* in 100 ccm absol. Benzol 4 Stdn. zum Sieden erhitzt, dann wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand mit Äther aufgenommen und die Ätherlösung mit 2*n* HCl und konz. NaHCO_3 -Lösung extrahiert. Nach Ansäuern der vereinigten Hydrogencarbonatextrakte nimmt man den ölig ausgefallenen Halbestern erneut in Äther auf, trocknet mit Na_2SO_4 und fällt mit Petroläther. Der sirupös anfallende *Halbestern* wird dann in äther. Lösung bei 0° mit CH_2N_2 bis zum Ende der N_2 -Entwicklung umgesetzt und destillativ aufgearbeitet. Ausb. 21%, bez. auf Phthalsäureanhydrid; Sdp.₂₋₃ 220–226°.

O-[2-Methoxycarbonyl-benzoyl]-*α*-hydroxy-carbonsäuren: 0.05 Mol *O*-(2- $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$)*Bz-α*-hydroxy-carbonsäure-benzylester werden an Pd-Mohr (aus 1 g PdCl_2) in 150 ccm THF bei Normaldruck und Raumtemperatur 6 Stdn. hydriert. Nach Entfernen des Katalysators und Lösungsmittels wird in Äther aufgenommen, die Ätherphase mit NaHCO_3 -Lösung extrahiert, der Hydrogencarbonat-Extrakt auf pH 3 angesäuert, das ausgeschiedene Öl erneut in Äther aufgenommen und getrocknet. Ausb. 80%.

*DCHA-Salze*¹⁰⁾ von (2- $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$)*Bz-Lac-OH*: Schmp. 130–131°.

$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}[\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_6]$ (433.6) Ber. C 66.49 H 8.13 N 3.23 Gef. C 66.12 H 8.17 N 3.43

Von (2- $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$)*Bz-Oxisoval-OH*: Schmp. 145°.

$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}[\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{O}_6]$ (461.6) Ber. C 67.65 H 8.52 N 3.04 Gef. C 67.31 H 8.70 N 3.29

(2- $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$)*Bz-Lac-Lac-OH*: 0.01 Mol *O*-[2-Methoxycarbonyl-benzoyl]-*milchsäure* in 20 ccm *Pyridin* werden bei 0° unter Rühren tropfenweise mit 0.02 Mol *Benzolsulfochlorid* versetzt. Nach 10 Min. gibt man 0.01 Mol *Milchsäure-benzylester* hinzu und rührt weitere 30 Min. bei 0° und 3 Stdn. bei 18°. Dann wird mit 200 ccm Wasser verdünnt, das ausgeschiedene Öl in Äther aufgenommen, die Ätherlösung mit 5-proz. Zitronensäurelösung, Wasser und 5-proz. NaHCO_3 -Lösung extrahiert und getrocknet. Der nach Abziehen des Lösungsmittels i. Vak. resultierende ölige *Dipeptidester* (Ausb. 85%) wird in 75 ccm absol. THF an 0.5 g Pd-Mohr hydrogenolysiert.

Die Reinigung der rohen *O*-geschützten *Lactylmilchsäure* geschieht durch Wasserextraktion ihrer Chloroformlösung im KUTSCHER-STEUEDEL-Apparat und anschließendes 8stdg. Erhitzen auf 50° bei 10^{-3} Torr. Ausb. 87% Öl, n_D^{20} 1.5048.

$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_8$ (324.3) Ber. C 55.55 H 4.97 Gef. C 55.56 H 5.14

DCHA-Salz: Schmp. 140–142°.

¹⁰⁾ E. KLEGER, E. SCHRÖDER und H. GIBIAN, Liebigs Ann. Chem. 640, 157 [1961].

II. Synthese von α -Hydroxy-acyl-aminosäure-Derivaten mit Hilfe des (2-CH₃O₂C)Bz-Restes

A. *O*-[2-Methoxycarbonyl-benzoyl]- α -hydroxy-acyl-aminosäure-benzylester

0.1 Mol *O*-[2-Methoxycarbonyl-benzoyl]- α -hydroxy-carbonsäure und 0.1 Mol DCCI, in 60 ccm Essigester gelöst und auf -15° gekühlt, werden mit einer Lösung von 0.1 Mol Aminosäure-benzylester in 10 ccm Essigester versetzt und nach 3stdg. Stehenlassen bei -15° und weiteren 20 Stdn. bei Raumtemperatur vom ausgefallenen Harnstoff abgetrennt. Nach Waschen der Lösung mit 1 *n* HCl, 5-proz. NaHCO₃-Lösung und Wasser wird mit Na₂SO₄ getrocknet und mit Petroläther gefällt. Ausb. 75–80%.

(2-CH₃O₂C)Bz-Lac-Val-OBZL: n_D^{20} 1.5315.

C₂₄H₂₇NO₇ (441.5) Ber. N 3.17 Gef. N 3.24

(2-CH₃O₂C)Bz-Lac-Ala-OBZL: n_D^{20} 1.5294.

C₂₂H₂₃NO₇ (413.4) Ber. N 3.39 Gef. N 3.68

(2-CH₃O₂C)Bz-Oxisoval-Ala-OBZL: n_D^{20} 1.5285.

C₂₄H₂₇NO₇ (441.5) Ber. N 3.17 Gef. N 3.29

(2-CH₃O₂C)Bz-Oxisoval-Val-OBZL: n_D^{20} 1.5303.

C₂₆H₃₁NO₇ (439.5) Ber. N 2.89 Gef. N 3.17

B. α -Hydroxy-acyl-aminosäuren

Hydrogenolyse der Benzylestergruppen: 0.02 Mol des *O*-geschützten Benzylesters werden in 100 ccm absol. Methanol an 0.5 g Pd-Mohr bei Raumtemperatur hydriert, bis die Wasserstoff-Aufnahme beendet ist. Nach Abtrennen vom Katalysator und Lösungsmittel wird in Äther aufgenommen, mit gesättigter NaHCO₃-Lösung extrahiert und nach Waschen der vereinigten Hydrogencarbonatextrakte mit Äther auf pH 3 angesäuert, wobei sich das Hydroxyacyl-aminosäure-Derivat ölig ausscheidet. Die Reinigung erfolgt über die DCHA-Salze.

Hydrazinolyse der 2-Methoxycarbonyl-benzoyl-Gruppe: 0.01 Mol *O*-(2-CH₃O₂C)Bz-Hydroxy-acyl-aminosäure werden mit 25 ccm 1 *n* Äthanol. N₂H₄- oder N₂H₄·H₂O-Lösung, entsprechend 0.025 Mol, 1 Stde. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Erkalten wird mit 2 *n* HCl angesäuert, i. Vak. bei 30–40° zur Trockne eingedampft und 3 mal mit je 10 ccm trockenem Essigester extrahiert. Nach dreimaliger Extraktion der vereinigten Essigesterauszüge mit je 10 ccm Wasser wird die wäbr. Phase i. Vak. eingedampft, und die resultierenden Rohprodukte werden über die DCHA-Salze aus Äthanol/Äther gereinigt.

C. α -Hydroxy-isovaleryl-valin-tert.-butylester

Valin-tert.-butylester: 0.1 Mol Phthaloylvalin in 200 ccm Methylenchlorid werden bei -10° mit 200 ccm kondensiertem Isobutylene (Sdp. -6°) und 0.5 ccm konz. Schwefelsäure in eine Druckflasche gebracht und 40 Stdn. bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Abdampfen des Isobutyleneüberschusses wird mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung ausgerührt, mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. abgedampft. Ausb. 76% (aus Methanol/Wasser). Schmp. 87–88°. 0.05 Mol des Phthaloylaminosäureesters werden dann in 25 ccm Methanol mit 1.6 ccm (0.05 Mol) Hydrazin 30 Min. zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen und Ätherzugabe wird vom Phthalhydrazid abgesaugt und i. Vak. fraktioniert. Ausb. 60%, Sdp.₁₂ 77–78°.

(2-CH₃O₂C)Bz-Oxisoval-Val-Ot.Bu: Durch Umsetzung von 0.04 Mol *O*-[2-Methoxycarbonyl-benzoyl]- α -hydroxy-isovaleriansäure (Schmp. 85°) und 0.04 Mol Valin-tert.-butylester mit DCCI in THF bei -15° . Nach beendeter Umsetzung wird vom ausgefallenen Harnstoff abgesaugt, das Filtrat in Essigesterlösung übergeführt und nacheinander mit 1 *n* HCl, Wasser

sowie 5-proz. NaHCO_3 -Lösung gewaschen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Ausb. 60% (aus Äther/Petroläther). Schmp. 94–95°.

$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NO}_7$ (435.5) Ber. C 63.43 H 7.64 N 3.22 Gef. C 63.40 H 7.58 N 3.50

Hydrazinolyse: 5 mMol *O*-geschützter *Hydroxyacyl-aminosäure-tert.-butylester* werden in 20 ccm absol. Äthanol mit 20 mMol *Hydrazin* 36 Stdn. bei Raumtemperatur belassen und nach Zusatz von weiteren 5 mMol *Hydrazin* 1 Stde. zum Sieden erhitzt. Nach Abfiltrieren des *Phthalhydrazides* und Eindampfen des Filtrates hinterbleibt ein Öl, das in Äther nacheinander mit 1 *n* HCl und 5-proz. NaHCO_3 -Lösung gewaschen wird. Nach Abdampfen des Äthers wird aus Petroläther fraktioniert kristallisiert. Reinausb. 40%, Schmp. 96°.

$\text{C}_{14}\text{H}_{27}\text{NO}_4$ (273.4) Ber. C 61.51 H 9.97 Gef. C 61.78 H 10.06

III. 2-Benzoyloxycarbonyl-benzoyl-Schutz

Phthalsäure-monobenzylester: 1.0 Mol *Phthalsäureanhydrid* wird mit 5.0 Mol *Benzylalkohol* 2 Stdn. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt und der Alkoholüberschuß bei 68–70°/3 Torr quantitativ abdestilliert. Der Rückstand wird aus Benzol umkristallisiert. Ausb. 82%, Schmp. 109°.

$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$ (256.3) Ber. C 70.30 H 4.72 Gef. C 70.30 H 4.79

α -Hydroxy-isovaleriansäure-tert.-butylester wurde nach l. c.³⁾ aus der *Säure* mit *Isobutylen* gewonnen. Ausb. 50%, Sdp.₂ 30°, Schmp. 29–30°.

$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_3$ (174.3) Ber. C 62.04 H 10.41 Gef. C 62.22 H 10.54

α -Hydroxy-isovaleriansäure-cyanmethylester wurde nach l. c.⁶⁾ gewonnen. Ausb. 57%, Sdp.₂ 90–92°.

(2-*Z*)*Bz-Oxisoval-Ot.Bu* bzw. *OCH₂CN*: 48 mMol *Phthalsäure-monobenzylester* in 40 ccm Pyridin werden bei 0° unter Rühren tropfenweise mit 44 mMol *Benzolsulfochlorid* und nach 15 Min. mit 40 mMol *α -Hydroxy-carbonsäureester* in 8 ccm Pyridin versetzt. Nach 2 stdg. Rühren bei 0° und 3 Stdn. bei Raumtemperatur wird in 400 ccm Wasser gegossen und das ausgeschiedene Öl in Äther aufgenommen. Die Ätherlösung wird mit 1 *n* H_2SO_4 , Wasser und gesätt. NaHCO_3 -Lösung gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. abgedampft.

Verseifung der Ester zur O-geschützten α -Hydroxy-isovaleriansäure

(2-*Z*)*Bz-Oxisoval-Ot.Bu*: 0.2 Mol des *tert.-Butylesters* werden in 40 ccm Benzol mit 0.8 g *p-Toluolsulfonsäure* 90 Min. unter Rückfluß erhitzt. Nach Verdünnen mit 150 ccm Äther wird mit Wasser gewaschen. Aus der Ätherlösung läßt sich dann mit 4 × 40 ccm gesätt. NaHCO_3 -Lösung die *O-geschützte Hydroxysäure* extrahieren. Der Extrakt wird mit konz. Salzsäure auf pH 2–3 gebracht, die ölige Säure in Äther aufgenommen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Ausb. 63% Öl. *DCHA-Salz* (aus Essigester/Petroläther): Schmp. 137–139°.

$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}[\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{O}_6$ (537.8) Ber. C 71.55 H 8.08 Gef. C 71.36 H 8.02

(2-*Z*)*Bz-Oxisoval-OCH₂CN*: 5.0 mMol des *Cyanmethylesters* in 20 ccm Methanol werden mit einer Mischung von 5 ccm 4 *n* *NaOH* und 15 ccm Methanol versetzt, entsprechend einer Normalität von 0.5 der gesamten Lösung und einem Gehalt von 20 mMol OH^- . Nach 40 Min. Stehenlassen bei 18° werden 20 ccm 1 *n* HCl zugesetzt und nach Einengen i. Vak. auf 20 ccm wird die Lösung auf pH 2–3 gebracht. Das ausgeschiedene Öl wird in Äther aufgenommen, mit gesätt. NaHCO_3 -Lösung extrahiert, die Hydrogencarbonatextrakte werden angesäuert, erneut in Äther aufgenommen und getrocknet. Zur Entfernung wasserlöslicher Verunreinigungen wird das Rohprodukt in CHCl_3 -Lösung noch 10 Stdn. im KUTSCHER-STEUDEL-Apparat mit Wasser extrahiert. Rohausb. 40%. *DCHA-Salz* (aus Essigester/Äther): Schmp. 137°.

(2-Z)Bz-Oxisoval-Val-Ot.Bu: 0.1 Mol (2-Z)Bz-Oxisoval-OH und 0.1 Mol Val-Ot.Bu werden in THF bei -15° , wie oben beschrieben, mit DCCI zu einem Öl umgesetzt, das roh zur Hydrogenolyse eingesetzt wurde.

(2-HO₂C)Bz-Oxisoval-Val-Ot.Bu: 5.9 mMol des vorstehenden Öls werden, wie bei den O-(2-CH₃O₂C)Bz-hydroxysäure-benzylestern beschrieben, in THF hydrogenolysiert und aufgearbeitet. Ausb. 97%, Schmp. 123–125° (aus Äther/Petroläther).

C₂₂H₃₁NO₇ (421.5) Ber. C 62.69 H 7.41 Gef. C 62.41 H 7.92

DCHA-Salz: Schmp. 138–140°.

C₁₂H₂₄N]C₂₂H₃₀NO₇ (602.9) Ber. C 67.74 H 9.04 Gef. C 68.00 H 9.19

Hydrazinolytische Abspaltung der Benzoyl-Gruppe

1.0 mMol (2-HO₂C)Bz-Oxisoval-Val-Ot.Bu wird mit 4.0 mMol Hydrazin in 4 ccm Methanol 36 Stdn. bei Raumtemperatur belassen und die Mischung anschließend 1 Stde. zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen, Ätherzugabe und Abtrennen des Phthalhydrazides (Ausb. 97%) läßt sich aus dem Filtrat in 60-proz. Ausb. reiner Hydroxyisovaleryl-valin-tert.-butylester gewinnen. Schmp. 95°.

Z-Val-Oxisoval-Val: 4.8 mMol Z-Val wurden mit 4.0 mMol H-Oxisoval-Val-Ot.Bu, wie oben beschrieben, mittels Benzolsulfochlorid in Pyridin gekuppelt. Die Aufarbeitung liefert mit 85% Rohausb. Z-Tridepsipeptid-tert.-butylester, nach dessen saurer Verseifung und Aufarbeitung in 69-proz. Ausb. das DCHA-Salz vom Schmp. 136–137° resultiert.

C₁₂H₂₄N]C₂₃H₃₃N₂O₇ (631.9) Ber. C 66.51 H 9.11 N 6.67 Gef. C 66.20 H 9.28 N 6.60

Z-Val-Oxisoval-Val-Oxisoval-Val: 1.0 mMol Z-Val-Oxisoval-Val wurden mit 1.0 mMol H-Oxisoval-Val-Ot.Bu nach der Benzolsulfochlorid-Methode in Pyridin umgesetzt, wobei der Z-Pentadepsipeptid-tert.-butylester mit 63% Rohausb. anfiel. Nach saurer Verseifung und Aufarbeitung wurde das DCHA-Salz durch Vereinigung der Carboxylkomponente mit überschüss. Amin im Molverhältnis 1 : 2 in absol. Äther, Abdampfen des Äthers, 40stdg. Aufbewahren des öligen Rückstandes bei 2 Torr über P₂O₅ und Anreiben mit absol. Petroläther (unter Zusatz von wenig Äther) kristallin gewonnen. Schmp. 106–108°.

C₁₂H₂₄N]C₃₃H₅₀N₃O₁₀ (831.2) Ber. N 6.75 Gef. N 6.71

200 mg (0.3 mMol) Z-Pentadepsipeptid-tert.-butylester wurden in 0.5 ccm Eisessig aufgenommen und 4 Stdn. mit 0.5 ccm an HBr gesätt. Eisessig geschüttelt. Nach Abdampfen der HBr/Eisessig-Lösung i. Vak. wurde der Rückstand 3 mal mit je 5 ccm Petroläther gewaschen. Val-Oxisoval-Val-Oxisoval-Val: R_F (Butanol-(2)/Eisessig/Wasser 4 : 1 : 5) 0.89 (Schleicher & Schüll-Papier Nr. 2043 b, 10 Stdn., 22°).