

Joachim Gante

Peptid- und Azapeptid-Synthesen mittels neuer *N*-aktivierter Aminosäure-Derivate¹⁾

Aus dem Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin

(Eingegangen am 18. November 1965)

Aus Aminosäureestern und Bis-[2.4-dinitro-phenyl]-carbonat wurden *N*-[(2.4-Dinitro-phenyl)-oxycarbonyl]-aminosäureester dargestellt, welche mit Benzyloxycarbonyl(*Z*)-glycin zu *Z*-Dipeptiden und mit *Z*-Hydrazin zu *Z*-Aza-dipeptiden reagierten.

Von den bisher in der Literatur beschriebenen *N*-aktivierten Aminosäure-Derivaten haben besonders die Isocyanato-fettsäureester²⁾ und Phosphorazo-aminosäureester³⁾ eine breite Anwendung bei der Peptidsynthese gefunden.

Über „aktive“ *N*-Carbonsäureester ist nur sehr wenig bekannt. So berichtete *Ishizuka*⁴⁾ z. B. über *N*-[Phenyl-oxycarbonyl]- und *N*-[(*o*-Nitro-phenyl)-oxycarbonyl]-aminosäuren, welche durch Erhitzen in Pyridin/Benzol unter Abspaltung von CO₂ und Phenol bzw. *o*-Nitro-phenol Polypeptide bildeten.

Daß in geringem Maße sogar der Benzyloxycarbonyl(*Z*)-Rest „aktiv“ ist, zeigten *Wieland* und Mitarbb.⁵⁾ mit der Synthese von Phthalyl-glycyl-DL-alanin-methylester aus Phthalyl-glycin und *Z*-DL-Alanin-methylester. Trotz extremer Reaktionsbedingungen (195°) konnte hierbei jedoch nur eine geringe Ausbeute erzielt werden.

Wir beschrieben kürzlich⁶⁾ den *N*-[(*p*-Nitro-phenyl)-oxycarbonyl]-glycin-äthylester, dessen *N*-Carbonsäureester-Gruppe sich zwar der Aminolyse, nicht jedoch der Reaktion mit der Carboxylgruppe zugänglich zeigte.

Es interessierte uns nun, ob mit entsprechenden 2.4-Dinitro-Verbindungen, von denen ja — analog den am Carboxyl-Ende aktivierten Estern⁷⁾ — eine höhere Reaktivität zu erwarten war, auch Peptidsynthesen durchführbar sind.

Die *N*-[(2.4-Dinitro-phenyl)-oxycarbonyl]-aminosäureester (**2a—d**) konnten wir nun durch Umsetzung von Aminosäureestern (**1a—d**) mit Bis-[2.4-dinitro-phenyl]-carbonat⁷⁾ in trockenem Essigester bzw. Essigester/Äther erhalten, wobei partielle Aminolyse des Kohlensäureesters und Abspaltung von 2.4-Dinitro-phenol stattfand.

1) Vgl. Vorläufige Mitteil.: *J. Gante*, *Angew. Chem.* **77**, 813 (1965); *Angew. Chem. internat. Edit.* **4**, 790 (1965).

2) *St. Goldschmidt* und *M. Wick*, *Liebigs Ann. Chem.* **575**, 217 (1952).

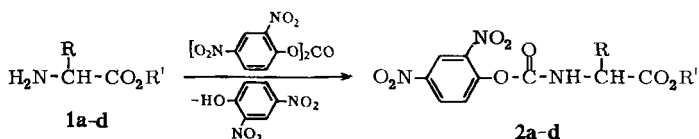
3) Vgl. *St. Goldschmidt*, *Angew. Chem.* **62**, 538 (1950); *O. Süss*, *Liebigs Ann. Chem.* **572**, 96 (1951); *St. Goldschmidt* und *H. Lautenschlager*, *Liebigs Ann. Chem.* **580**, 68 (1953).

4) *Y. Ishizuka*, *J. chem. Soc. Japan, pure Chem. Sect. [Nippon Kagaku Zasshi]* **76**, 892 (1955); ebenda **77**, 90 (1956), *C. A.* **51**, 17750 (1957); **52**, 259 (1958).

5) *Th. Wieland*, *B. Heinke*, *K. Vogeler* und *H. Morimoto*, *Liebigs Ann. Chem.* **655**, 189 (1962).

6) *J. Gante*, *Chem. Ber.* **98**, 3340 (1965).

7) *R. Glatthard* und *M. Matter*, *Helv. chim. Acta* **46**, 795 (1963).



a: R = H, R' = C₂H₅

c: R = CH₃, R' = CH₂-C₆H₅

b: R = CH₃, R' = C₂H₅

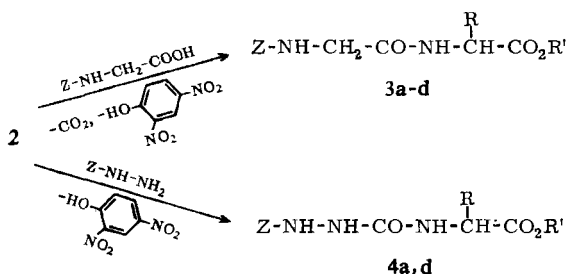
d: R = CH₂-S-CH₂-C₆H₅, R' = CH₂-C₆H₅

2a–d sind farblose bis blaßgelbe, kristalline, in fast allen gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln lösliche Substanzen.

Es zeigte sich in der Tat, daß diese Stoffe am Amino-Ende „aktiviert“ sind und sich zur Peptid- und Azapeptid-Synthese eignen.

So ergab die Umsetzung von **2a–d** mit äquimolaren Mengen Z-Glycin⁸⁾ bei 110° ohne Lösungsmittel bzw. in Pyridin oder Pyridin/Chloroform (1:5) bei Raumtemperatur unter Abspaltung von CO₂ und 2,4-Dinitro-phenol die Dipeptide **3a–d**.

Mit Z-Hydrazin⁹⁾ bildeten sich aus **2a** und **2d** in siedendem Essigester unter Aminolyse die Azapeptide **4a** und **4d**.



a: R = H, R' = C₂H₅

c: R = CH₃, R' = CH₂-C₆H₅

b: R = CH₃, R' = C₂H₅

d: R = CH₂-S-CH₂-C₆H₅, R' = CH₂-C₆H₅

Beschreibung der Versuche¹⁰⁾

N-[(2,4-Dinitro-phenyl)-oxycarbonyl]-glycin-äthylester (**2a**): Zu einer stark gerührten Aufschlämmung von 5.40 g (13.7 mMol) Bis-[(2,4-dinitro-phenyl)-carbonat⁷⁾] in 20 ccm Essigester¹¹⁾ wurde innerhalb von 80 Min. eine Lösung von 1.37 ccm (13.7 mMol) frisch dest. **1a** in 30 ccm Essigester getropft, wobei das Carbonat in Lösung ging. Es wurde noch 2 Stdn. weitergerührt, von Verunreinigungen abfiltriert und mit 200 ccm Petroläther ein bald kristallisierendes Öl ausgefällt. Nach 24stdg. Aufbewahren im Kühlschrank wurde der Niederschlag aufgearbeitet. Ausb. 3.30 g (77%), Schmp. 85–86°.

C₁₁H₁₁N₃O₈ (313.3) Ber. C 42.15 H 3.55 N 13.42 Gef. C 42.11 H 3.62 N 13.70

⁸⁾ M. Bergmann und L. Zervas, Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 1192 (1932).

⁹⁾ H. Böshagen und J. Ullrich, Chem. Ber. **92**, 1478 (1959).

¹⁰⁾ Die Schmp. sind unkorrigiert.

¹¹⁾ Der hier sowie in anderen Versuchen verwendete Essigester ist nach C. Weygand, Organisch-chemische Experimentierkunst, 2. Aufl., S. 130, Verlag Johann Ambrosius Barth, Leipzig 1948, gereinigt und getrocknet.

N-[(2,4-Dinitro-phenyl)-oxycarbonyl]-DL-alanin-äthylester (**2b**): Wie **2a** aus 6.73 g (17.1 mMol) *Bis*-[2,4-dinitro-phenyl]-carbonat in 20 ccm Essigester und 2.04 ccm (17.1 mMol) frisch dest. **1b** in 40 ccm Essigester. Nach Zusetzen von 400 ccm Petroläther und 72stdg. Stehenlassen im Kühlschrank wurde vom zunächst ausgefallenen 2,4-Dinitro-phenol abfiltriert, das Filtrat i. Vak. eingedampft, der ölige Rückstand aus 10 ccm Essigester und 20 ccm Petroläther umgefällt und der langsam kristallisierende Niederschlag nach 7tägigem Aufbewahren im Kühlschrank isoliert. Ausb. 3.12 g (56%), Schmp. 74–76°. Nach Umfällung aus 20 ccm Essigester und 250 ccm Petroläther wurden 2.51 g (45%) vom Schmp. 80–81° erhalten.

$C_{12}H_{13}N_3O_8$ (327.3) Ber. C 44.00 H 4.01 N 12.83 Gef. C 43.99 H 3.97 N 13.08

N-[(2,4-Dinitro-phenyl)-oxycarbonyl]-L-alanin-benzylester (**2c**): Eine Mischung von 4.54 g (21.1 mMol) *L*-Alanin-benzylester-hydrochlorid¹²⁾ und 295 ccm eisgekühlter 0.1 *n* NaOH wurde 6 mal mit insgesamt 1200 ccm eiskaltem Äther ausgeschüttelt, die Lösung zum Trocknen 24 Stdn. mit Na₂SO₄ im Kühlschrank stengelassen, darauf vom Na₂SO₄ abfiltriert, dieses gut mit Äther gewaschen und das Filtrat i. Vak. auf 150 ccm eingengt. Diese Lösung wurde innerhalb von 2 Stdn. zu einer stark gerührten Aufschlammung von 5.70 g (14.5 mMol) *Bis*-[2,4-dinitro-phenyl]-carbonat in 80 ccm Essigester getropft. Man rührte noch 2 Stdn. weiter, filtrierte nach 2tägigem Aufbewahren im Kühlschrank von geringen Verunreinigungen ab, dampfte i. Vak. auf 80 ccm ein und versetzte mit 700 ccm Petroläther. Nach 2 Tagen wurden 3.05 g (54%) verfilzte Nadeln vom Schmp. 83–84° isoliert. $[\alpha]_D^{20}$: –53.9° (*c* = 1, Essigester).

$C_{17}H_{15}N_3O_8$ (389.4) Ber. C 52.40 H 3.89 N 10.78 Gef. C 52.72 H 4.04 N 10.64

N-[(2,4-Dinitro-phenyl)-oxycarbonyl]-S-benzyl-L-cystein-benzylester (**2d**): Darstellung durch Zutropfen einer wie bei **2c** aus 3.65 g (10.8 mMol) *S*-Benzyl-L-cystein-benzylester-hydrochlorid¹³⁾ und 150 ccm eiskalter 0.1 *n* NaOH bereiteten Lösung von **1d** in 100 ccm Äther zu einer Aufschlammung von 3.80 g (9.65 mMol) *Bis*-[2,4-dinitro-phenyl]-carbonat in 50 ccm Essigester. Es wurde noch 30 Min. weitergerührt, 24 Stdn. bei Raumtemperatur stengelassen, mit 850 ccm Petroläther versetzt und in den Kühlschrank gestellt. Das kristalline Reaktionsprodukt wurde nach 2 Tagen aufgearbeitet. Ausb. 3.55 g (72%), Schmp. 87–88°, $[\alpha]_D^{25}$: –43.4° (*c* = 1, Essigester).

$C_{24}H_{21}N_3O_8S$ (511.6) Ber. N 8.21 S 6.26 Gef. N 7.95 S 6.05

Z-Glycyl-glycin-äthylester (**3a**)

a) Ein Gemisch aus 0.60 g (1.91 mMol) **2a**, 0.40 g (1.91 mMol) *Z*-Glycin⁸⁾, 5 ccm absol. Chloroform und 1 ccm Pyridin p. a. wurde in einem mit CaCl₂-Trockenrohr versehenen Gefäß bei Raumtemperatur stengelassen, wobei CO₂-Entwicklung auftrat. Nach 5 Tagen wurde die Lösung mit 45 ccm Chloroform versetzt, je 1 mal mit 1 *n* HCl und Wasser sowie 3 mal mit gesätt. NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, mit Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, i. Vak. auf 10 ccm eingengt und mit 150 ccm Petroläther versetzt. Nach 24 Stdn. im Kühlschrank wurden 0.36 g (64%) vom Schmp. 79–80° (Lit.²⁾: 82°) isoliert.

b) 0.678 g (2.16 mMol) **2a** und 0.452 g (2.16 mMol) *Z*-Glycin wurden innig vermischt und bis zum Aufhören der CO₂-Entwicklung (ca. 5 Stdn.) auf 110° erhitzt. Es wurde in 50 ccm Chloroform aufgenommen und mit gesätt. NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt. Weitere Aufarbeitung wie bei a). Ausb. 0.25 g (39%), Schmp. 79–80°.

$C_{14}H_{18}N_2O_5$ (294.3) Ber. N 9.53 Gef. N 9.36

¹²⁾ B. F. Erlanger und R. M. Hall, J. Amer. chem. Soc. **76**, 5781 (1954).

¹³⁾ K. C. Hooper, H. N. Rydon und J. A. Schofield, J. chem. Soc. [London] **1956**, 3148.

Z-Glycyl-DL-alanin-äthylester (3b): Wie **3a** (Methode a)) aus 0.540 g (1.65 mMol) **2b** und 0.345 g *Z-Glycin*. Aus der ausgeschüttelten und i. Vak. auf ca. 5 ccm eingeeengten Chloroform-Lösung wurde **3b** mit Petroläther als nichtkristallisierendes Öl ausgefällt. Ausb. 0.18 g (35%).

$C_{15}H_{20}N_2O_5$ (308.4) Ber. N 9.08 Gef. N 9.44

Z-Glycyl-L-alanin-benzylester (3c): Ein Gemisch aus 0.645 g (1.66 mMol) **2c**, 0.347 g (1.66 mMol) *Z-Glycin* und 1 ccm Pyridin p. a. wurde 3 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen (CaCl₂-Rohr). Das Pyridin wurde i. Vak. ($\leq 60^\circ$ Wasserbadtemp.) abgezogen, der Rückstand in 70 ccm Chloroform aufgenommen und die Lösung mehrmals mit gesätt. NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, mit Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und mit 250 ccm Petroläther versetzt. Nach 24 Stdn. im Kühlschrank war ein kristallines Nebenprodukt ausgefallen, von welchem abfiltriert wurde. Das Filtrat wurde i. Vak. eingedampft und der Rückstand aus 20 ccm Chloroform und 300 ccm Petroläther umgefällt. Nach 24 Stdn. im Kühlschrank wurden 0.22 g (36%) vom Schmp. 77–78° erhalten. $[\alpha]_D^{25}$: -13.3° ($c = 0.47$, Aceton).

$C_{20}H_{22}N_2O_5$ (370.4) Ber. N 7.56 Gef. N 7.57

Z-Glycyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester (3d): Ein Gemisch aus 0.767 g (1.50 mMol) **2d** und 0.314 g (1.50 mMol) *Z-Glycin* wurde 6 Stdn. auf 110° erhitzt. Sodann wurde in 80 ccm siedendem Äthanol/Wasser (1:1) aufgenommen, von Verunreinigungen abfiltriert und mehrere Tage im Kühlschrank stehengelassen. Der kristalline Niederschlag wurde isoliert und noch 2mal aus möglichst wenig Äthanol/Wasser (1.5:1) umkristallisiert. Ausb. 0.30 g (41%), Schmp. 97° (Lit.¹⁴⁾: 96–97°), $[\alpha]_D^{25}$: -38.6° ($c = 1$, Äthanol).

$C_{27}H_{28}N_2O_5S$ (492.6) Ber. N 5.69 S 6.51 Gef. N 5.97 S 6.53

Z-Azaglycyl-glycin-äthylester (4a): Eine Mischung von 0.349 g (1.11 mMol) **2a**, 0.184 g (1.11 mMol) *Z-Hydrazin*⁹⁾ und 5 ccm Essigester wurde 30 Min. unter Rückfluß erhitzt. Nach 2 Stdn. bei Raumtemperatur wurden 0.26 g (79%) farblose Kristalle vom Schmp. 141–142° erhalten. Misch-Schmp. mit von uns auf anderem Wege¹⁵⁾ erhaltenem Produkt (Schmp. 138–140°) ohne Depression.

$C_{13}H_{17}N_3O_5$ (295.3) Ber. N 14.24 Gef. N 14.01

Z-Azaglycyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester (4d): Wie **4a** aus 0.184 g (0.36 mMol) **2d** und 0.060 g (0.36 mMol) *Z-Hydrazin* in 3 ccm Essigester. Nach Hinzufügen von 7 ccm Petroläther und 24stdg. Stehenlassen im Kühlschrank wurden 0.14 g (79%) vom Schmp. 107–108° erhalten. $[\alpha]_D^{25}$: -29.9° ($c = 1$, Essigester).

$C_{26}H_{27}N_3O_5S$ (493.6) Ber. C 63.31 H 5.52 N 8.52 S 6.50
Gef. C 63.40 H 5.34 N 8.24 S 6.75

¹⁴⁾ H. Gnichtel und W. Lautsch, Chem. Ber. **98**, 1647 (1965).

¹⁵⁾ J. Gante und W. Lautsch, Chem. Ber. **97**, 983 (1964).