

Joachim Gante

Peptid- und Azaeptid-Synthesen mit heterocyclisch *N*-aktivierten Aminosäure-Derivaten¹⁾

Aus dem Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin

(Eingegangen am 2. März 1966)

■
Aus α -Isocyanato-fettsäure-äthylestern **1** bzw. α -Isothiocyanato-essigsäure-äthylester (**1e**) und Imidazol wurden *N*-[Imidazolyl-(1)-carbonyl]-amino-säure-äthylester **2** bzw. *N*-[Imidazolyl-(1)-thiocarbonyl]-glycin-äthylester (**2e**) erhalten. Azaglycyl-glycin-äthylester (**3**) lieferte mit Acetylaceton unter Ringbildung *N*-[3.5-Dimethyl-pyrazolyl-(1)-carbonyl]-glycin-äthylester (**4**). Die Imidazole sind zur Peptid- und Azaeptid-Synthese, das Pyrazol-Derivat nur zu letzterer befähigt.

■
Carbonsäure-imidazole²⁾ und in gewissem Umfange auch 3.5-Dimethyl-pyrazolide³⁾ sind insofern als „aktivierte“ Verbindungen aufzufassen, als sie relativ leicht Hydrolyse und Aminolyse unter Abspaltung des Heterocyclus erleiden.

Auf die eventuelle biochemische Bedeutung solcher energiereicher Imidazole wiesen *Stadtman* und *White jr.* hin⁴⁾. Die Autoren fanden, daß in Extrakten von *Clostridium kluyveri* aus Acetylphosphat bei Zusatz von Imidazol *N*-Acetyl-imidazol gebildet wird, welches nicht nur umgekehrt den Acetylrest wieder auf anorganisches Phosphat, sondern auch auf Aminosäuren, Alkohole und SH-Gruppen zu übertragen vermag.

Im Gegensatz zu solchen „normalen“ heterocyclischen Amidien, welche in der Hauptsache zu Peptidsynthesen verwendet wurden^{5,6)}, sind Imidazole von *N*-Carbonsäuren nur in sehr geringem Umfange^{7,8)}, die entsprechenden 3.5-Dimethyl-pyrazol-Derivate unseres Wissens noch gar nicht beschrieben worden. Das einzige bisher bekannte derartig *N*-aktivierte Aminosäure-Derivat ist der von *Schlögl* und *Woidich* dargestellte *N*-[Imidazolyl-(1)-carbonyl]-phenylglycin-äthylester, an welchem die Autoren hydrolytische und aminolytische Untersuchungen durchführten⁸⁾.

Uns interessierte nun die Frage, ob eine energiereiche Amid-Gruppierung am Aminoende von Aminosäureestern auch mit einer Carboxylgruppe reagieren kann, wobei bei Verwendung von Benzyloxycarbonyl(*Z*)-amino-säuren entsprechende Di-

¹⁾ Vgl. vorläuf. Mittel.: *J. Gante*, *Angew. Chem.* **78**, 334 (1966); *Angew. Chem. internat. Edit.* **5**, 315 (1966).

²⁾ Vgl. *H. A. Staab*, *Chem. Ber.* **89**, 1927, 2088 (1956).

³⁾ *W. Ried* und *B. Schleimer*, *Liebigs Ann. Chem.* **626**, 98 (1959).

⁴⁾ *E. R. Stadtman* und *F. H. White jr.*, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 2022 (1953).

⁵⁾ *Th. Wieland* und *G. Schneider*, *Liebigs Ann. Chem.* **580**, 159 (1953); *R. Paul* und *G. W. Anderson*, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 4596 (1960).

⁶⁾ *W. Ried* und *B. Schleimer*, *Liebigs Ann. Chem.* **619**, 43 (1958).

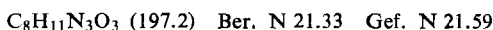
⁷⁾ *R. A. Henry* und *W. M. Dehn*, *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 2297 (1949).

⁸⁾ *K. Schlögl* und *H. Woidich*, *Mh. Chem.* **87**, 679 (1956).

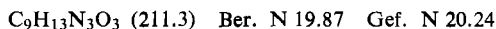
Die 3,5-Dimethyl-pyrazolid-Gruppierung erwies sich als weniger reaktiv und nur der Aminolyse zugänglich, so daß **4** zwar mit Z-Hydrazin zum Azapeptid **6a**, nicht jedoch mit Z-Glycin reagiert.

Beschreibung der Versuche¹⁶⁾

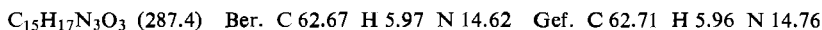
N-[Imidazolyl-(1)-carbonyl]-glycin-äthylester (**2a**): 6.95 ccm (60.2 mMol) *Isocyanato-essigsäure-äthylester* (*N*-Carbonyl-glycin-äthylester) (**1a**)¹⁰⁾ und 4.09 g (60.2 mMol) *Imidazol* wurden gut verrührt, wobei starke Erwärmung auftrat. Das zu einer Kristallmasse erstarrte Reaktionsprodukt wurde nach mehrstdg. Stehenlassen im Exsikkator aus gereinigtem Essigester¹⁷⁾ umkristallisiert. Ausb. 10.0 g (84%), Schmp. 107–108°.



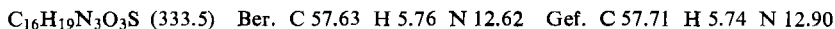
N-[Imidazolyl-(1)-carbonyl]-DL-alanin-äthylester (**2b**): Wie **2a** aus 10.0 ccm (74.1 mMol) *DL- α -Isocyanato-propionsäure-äthylester* (*N*-Carbonyl-DL-alanin-äthylester) (**1b**) und 5.04 g (74.1 mMol) *Imidazol*. Das entstandene zähe Öl begann nach mehreren Stdn. im Exsikkator zu kristallisieren. Das beim Umrühren rasch völlig erstarrte Produkt wurde aus 45 ccm gereinigtem Essigester und 145 ccm Petroläther unter Hinzufügen einiger Impfkristalle umgefällt. Nach 24stdg. Aufbewahren im Kühlschrank 14.3 g (92%) farblose Kristalle, Schmp. 73–74°.



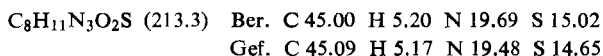
N-[Imidazolyl-(1)-carbonyl]-DL-phenylalanin-äthylester (**2c**): Wie **2a** aus 5.0 ccm (25.6 mMol) *DL- α -Isocyanato- β -phenyl-propionsäure-äthylester* (*N*-Carbonyl-DL-phenylalanin-äthylester) (**1c**)¹¹⁾ und 1.73 g (25.6 mMol) *Imidazol*. Nach 15 Min. Erhitzen auf 100° und Erkalten gab das kristalline Reaktionsprodukt aus gereinigtem Essigester 6.52 g (89%) farblose Würfel vom Schmp. 130–132°.



N-[Imidazolyl-(1)-carbonyl]-S-benzyl-L-cystein-äthylester (**2d**): Wie **2a** aus 5.0 ccm (21.7 mMol) *L- β -Benzylmercapto- α -isocyanato-propionsäure-äthylester* (*N*-Carbonyl-S-benzyl-L-cystein-äthylester) (**1d**)¹¹⁾ und 1.48 g (21.7 mMol) *Imidazol*. Das Gemisch wurde noch 1 Stde. auf 80° erhitzt und das entstandene gelbliche Öl nach dem Erkalten aus 15 ccm gereinigtem Essigester und 50 ccm Petroläther umgefällt. Nach 4tägigem Stehenlassen im Kühlschrank wurden 5.70 g (79%) farblose Kristalle erhalten. Schmp. 59–62°, $[\alpha]_D^{25}$: –81.4° (*c* = 1, gereinigter Essigester).



N-[Imidazolyl-(1)-thiocarbonyl]-glycin-äthylester (**2e**): Analog **2a** aus 6.0 ccm (47.2 mMol) *Isothiocyanato-essigsäure-äthylester* (*N*-Thiocarbonyl-glycin-äthylester) (**1e**)¹²⁾ und 3.22 g (47.2 mMol) *Imidazol*. Das Reaktionsprodukt wurde noch 20 Min. in 20 ccm gereinigtem Essigester unter Rückfluß erhitzt. Nach 3 Tagen wurden 5.3 g (53%) tafelförmige Kristalle vom Schmp. 94–96° isoliert.



¹⁶⁾ Die Schmp. sind unkorrigiert.

¹⁷⁾ Vgl. C. Weygand, *Organisch-chemische Experimentierkunst*, 2. Aufl., S. 130, Verlag Johann Ambrosius Barth, Leipzig 1948.

N-[3.5-Dimethyl-pyrazolyl-(1)-carbonyl]-glycin-äthylester (4): Eine Lösung von 1.073 g (6.67 mMol) *Azaglycyl-glycin-äthylester* (3)¹³, 0.68 ccm (6.67 mMol) *Acetylaceton* und 1.5 ccm 1 *n* HCl in 20 ccm Äthanol/Wasser (1 : 1) wurde 20 Min. unter Rückfluß erhitzt. Nach Hinzufügen von 25 ccm Wasser und mehrstdg. Stehenlassen bis zur vollständigen Kristallisation des anfänglichen Öls wurden 0.80 g (53%) vom Schmp. 71–72° erhalten.

C₁₀H₁₅N₃O₃ (225.3) Ber. C 53.30 H 6.23 N 18.65 Gef. C 53.42 H 6.58 N 18.90

Z-Glycyl-glycin-äthylester (5a)

a) Ein inniges Gemisch von 0.985 g (5.0 mMol) *N*-[Imidazolyl-(1)-carbonyl]-glycin-äthylester (2a) und 1.045 g (5.0 mMol) *Z*-Glycin¹⁴ wurde unter zeitweiligem Durchrühren 7.5 Stdn. auf 75° erhitzt, wobei unter Schäumen CO₂ entwich. Das erhaltene Reaktionsprodukt wurde aus 5 ccm Äthanol und 40 ccm Wasser umgefällt; nach 3 Tagen im Kühlschrank waren aus dem zunächst ausgefallenen Öl Kristalle entstanden. Ausb. 1.18 g (80%), Schmp. 81–82° (Lit.¹¹): 82°).

C₁₄H₁₈N₂O₅ (294.3) Ber. N 9.52 Gef. N 9.61

b) Wie bei a) aus 0.619 g (2.90 mMol) *N*-[Imidazolyl-(1)-thiocarbonyl]-glycin-äthylester (2e) und 0.607 g (2.90 mMol) *Z*-Glycin durch 1.5 stdg. Erhitzen auf 80°. Das dabei entweichende COS wurde mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt (COS/Luft ist explosiv!). Nach Umfällen aus 8 ccm Äthanol und 24 ccm Wasser und Stehenlassen im Kühlschrank 0.42 g (49%), Schmp. 80–82°. Gef. N 9.38.

Z-Glycyl-DL-alanin-äthylester (5b): Darstellung analog 5a aus 1.75 g (8.30 mMol) *N*-[Imidazolyl-(1)-carbonyl]-DL-alanin-äthylester (2b) und 1.73 g (8.30 mMol) *Z*-Glycin durch 11 stdg. Erhitzen auf 75°. Die Lösung des Reaktionsgemisches in 40 ccm Essigester wurde nacheinander mit jeweils möglichst wenig 0.5 *n* HCl, Wasser, 3-proz. NaHCO₃-Lösung und wiederum Wasser ausgeschüttelt, mit Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und i. Vak. zur Trockne eingedampft, wobei ein farbloses Öl zurückblieb. Dieses wurde aus 15 ccm gereinigtem Essigester und 50 ccm Petroläther umgefällt. Nach 8 tägigem Stehenlassen im Kühlschrank unter zeitweiligem Reiben mit einem Glasstab war Kristallisation eingetreten. Ausb. 1.1 g, Schmp. 55–56° (Lit.¹⁸): 53–55°. Durch Zusatz von 250 ccm Petroläther zum Filtrat (einschließlich Waschflüssigkeit) unter Animpfen wurden weitere 0.5 g (insgesamt 63%) vom Schmp. 54–55° erhalten.

C₁₅H₂₀N₂O₅ (308.4) Ber. N 9.09 Gef. N 9.25

Z-Glycyl-DL-phenylalanin-äthylester (5c): Wie 5a aus 1.387 g (4.84 mMol) *N*-[Imidazolyl-(1)-carbonyl]-DL-phenylalanin-äthylester (2c) und 1.010 g (4.84 mMol) *Z*-Glycin durch 5 stdg. Erhitzen auf 85°. Das Reaktionsprodukt wurde aus 8 ccm Äthanol und 25 ccm Wasser umgefällt. Nach 24 stdg. Aufbewahren im Kühlschrank wurde das kristalline Rohprodukt aus Äthanol/Wasser (1 : 1) umkristallisiert. Ausb. 1.3 g (70%), Schmp. 88–89° (Lit.¹¹): 92°).

C₂₁H₂₄N₂O₅ (384.5) Ber. N 7.28 Gef. N 7.54

Z-Glycyl-S-benzyl-L-cystein-äthylester (5d): Darstellung wie 5a durch 5.5 stdg. Erhitzen von 1.022 g (3.06 mMol) *N*-[Imidazolyl-(1)-carbonyl]-S-benzyl-L-cystein-äthylester (2d) und 0.64 g (3.06 mMol) *Z*-Glycin auf 95°. Es wurde aus 12 ccm Äthanol und 16 ccm Wasser umgefällt; nach 3 Tagen im Kühlschrank Ausb. 0.80 g Kristalle (61%), Schmp. 76–79° (Lit.¹¹): 80°, [α]_D²⁰: –36.5° (c = 1, Methanol).

C₂₂H₂₆N₂O₅S (430.6) Ber. N 6.57 Gef. N 6.37

¹⁸) H. Zahn und E. Schnabel, Liebigs Ann. Chem. 604, 62 (1957).

Z-Azaglycyl-glycin-äthylester (**6a**)

a) 0.682 g (3.46 mMol) *N*-[Imidazolyl-(1)-carbonyl]-glycin-äthylester (**2a**) und 0.574 g (3.46 mMol) *Z*-Hydrazin¹⁵⁾ wurden in 6 ccm gereinigtem Essigester 1.5 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Aus der erkalteten Lösung schieden sich 0.80 g (78 %) farblose Kristalle vom Schmp. 138–140° ab. Misch-Schmp. mit authent. Produkt¹⁹⁾ (Schmp. 138–141°) ohne Depression.

$C_{13}H_{17}N_3O_5$ (295.3) Ber. N 14.23 Gef. N 14.49

b) Wie bei a) durch 2.5stdg. Rückflußerhitzen einer Lösung von 0.286 g (1.27 mMol) *N*-[3.5-Dimethyl-pyrazolyl-(1)-carbonyl]-glycin-äthylester (**4**) und 0.211 g (1.27 mMol) *Z*-Hydrazin in 5 ccm gereinigtem Essigester. Nach Hinzufügen von 8 ccm Petroläther kristallisierten 0.18 g (48 %) **6a** vom Schmp. 139–141°. Misch-Schmp. mit nach a) gewonnenem Produkt ohne Depression.

N-[β -*Z*-Hydrazino-thiocarbonyl]-glycin-äthylester (**6b**): Analog **6a** aus 0.725 g (3.40 mMol) *N*-[Imidazolyl-(1)-thiocarbonyl]-glycin-äthylester (**2e**) und 0.565 g (3.40 mMol) *Z*-Hydrazin in 8 ccm gereinigtem Essigester innerhalb von 2 Stdn. Nach Hinzufügen von 5 ccm Petroläther und Stehenlassen im Kühlschrank wurden 0.13 g (12 %) vom Schmp. 141–143° isoliert. Misch-Schmp. mit auf anderem Wege erhaltenem Produkt²⁰⁾ (Schmp. 142–144°) ohne Depression.

$C_{13}H_{17}N_3O_4S$ (311.4) Ber. N 13.51 Gef. N 13.23

¹⁹⁾ J. Gante und W. Lautsch, Chem. Ber. **97**, 983 (1964).

²⁰⁾ J. Gante und W. Lautsch, Chem. Ber. **97**, 994 (1964).