

Hans-Dieter Jakubke und Arno Voigt

Über aktivierte Ester, VIII¹⁾

Peptidsynthesen mit halogensubstituierten Acylaminosäure- und Acylpeptid-[chinolyl-(8)-estern]

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Halle/Saale

(Eingegangen am 31. März 1966)

■ Von den möglichen Halogenderivaten des 8-Hydroxy-chinolins eignen sich besonders das 5-Chlor- und 5.7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin zur Carboxylaktivierung. Die neuen aktivierten Ester kristallisieren ausgezeichnet und sind sehr beständig. Mit Hilfe kinetischer Messungen wird der Einfluß der Halogensubstitution auf die Aminolyseaktivität bestimmt. Unter milden Reaktionsbedingungen kuppeln die Benzyloxycarbonyl-aminosäure-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester] mit Aminosäureestern und Natriumsalzen von Aminosäuren in sehr guten Ausbeuten ohne Racemisierung zu den entsprechenden Peptiden, wobei die eliminierte Aktivierungskomponente mit 2*n* Säuren quantitativ abgetrennt werden kann. Aus aktivierten Acyldipeptidestern werden eine Reihe von Tri-, Tetra- und Pentapeptid-Derivaten dargestellt.

■ Über die große Bedeutung der aktivierten Ester zur Synthese der Peptidbindung wurde kürzlich zusammenfassend berichtet²⁾. Die guten Ergebnisse bei der Darstellung von Peptiden mit Acylaminosäure- und Acylpeptid-[chinolyl-(8)-estern]^{1,3)} veranlaßten uns, den Einfluß von Halogensubstituenten in der Aktivierungskomponente auf Reaktivität und Eigenschaften dieser neuen energiereichen Ester zu untersuchen.

Von Interesse erschienen nur solche Halogenderivate des 8-Hydroxy-chinolins, die einmal leicht zugänglich und zum anderen in verdünnten Säuren hinreichend gut löslich sind, um nach der Aminolyse quantitativ entfernt werden zu können. Ausgeschlossen wurden von vornherein die Jodderivate, da auf Grund der Ergebnisse kinetischer Untersuchungen eines anderen Arbeitskreises⁴⁾ in der Phenolreihe durch die sterische Hinderung der raumerfüllenden Jodatome die Reaktionsgeschwindigkeit der entsprechenden Ester deutlich erniedrigt wird.

Das 5.7-Dibrom-8-hydroxy-chinolin ist zwar prinzipiell zur Darstellung aktivierter Aminosäureester geeignet, jedoch die ungenügende Löslichkeit in den zur Synthese verwendeten organischen Lösungsmitteln sowie in verdünnten Säuren führte zu Schwierigkeiten bei der Reindarstellung der Aminosäurederivate. Außerdem dürfte besonders der Bromsubstituent in der *o*-Position zur Esterbindung aus sterischen Gründen den Angriff des nucleophilen Reaktionspartners erschweren. Die Verwendung von 5-Brom-8-hydroxy-chinolin ist wegen der geringen Ausbeute bei dessen Synthese⁵⁾ nicht sehr vielversprechend.

¹⁾ VII. Mitt.: H.-D. Jakubke und A. Voigt, Chem. Ber. **99**, 2419 (1966).

²⁾ H.-D. Jakubke, Z. Chem. **6**, 52 (1966).

³⁾ H.-D. Jakubke, Z. Naturforsch. **20b**, 273 (1965).

⁴⁾ J. Pless und R. A. Boissonnas, Helv. chim. Acta **46**, 1609 (1963); K. Stich und H. G. Leemann, ebenda **46**, 1887 (1963).

⁵⁾ R. Prasad, H. L. D. Coffey, Q. Fernando und H. Freiser, J. org. Chemistry **30**, 1251 (1965).

Am günstigsten erwiesen sich nach unseren Untersuchungen die Chlorderivate des 8-Hydroxy-chinolins, besonders das 5-Chlor-8-hydroxy-chinolin⁶⁾. Mit Hilfe des DCCI-Verfahrens^{7) *)} und der Anhydrid-Methode mit Chlorameisensäure-äthylester⁸⁾ wurde eine Reihe von Benzyloxycarbonyl-aminosäure-[5-chlor-chinolyl-(8)-estern] dargestellt, die ohne Ausnahme ausgezeichnet kristallisieren und sehr haltbar sind (Tab. 2). Analog den unsubstituierten Acylaminosäure-[chinolyl-(8)-estern]¹⁾ gelingt auch hier eine dünnschichtchromatographische Charakterisierung auf Kieselgel⁹⁾ mit Benzol/Methanol (4:1) als Laufmittelsystem durch Besprühen mit Dragendorff-Reagens¹⁰⁾.

Durch Abspaltung der Benzyloxycarbonyl-Gruppe mit 36-proz. HBr/Eisessig¹¹⁾ waren die Aminosäure-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester]-dihydrobromide (Tab. 3) in nahezu quantitativer Ausbeute erhältlich und ließen sich nach der Anhydrid-Methode mit Benzyloxycarbonyl-aminosäuren zu aktivierten Dipeptidestern (Tab. 4) kuppeln. Die beständigen und gut kristallisierenden Benzyloxycarbonyl-dipeptid-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester] wurden mit Aminosäure- oder Peptidestern bei Raumtemperatur zu höheren Peptiden umgesetzt oder, wie an einem Beispiel gezeigt wird, nach selektiver Entfernung der Aminoschutzgruppe zur Darstellung carboxylaktiver Tripeptidsequenzen verwendet.

Die Aminolysegeschwindigkeit der 5-Chlor-chinolyl-(8)-ester wird durch den mesomeren Substituenteneffekt erhöht. Mit Hilfe einer in der vorangegangenen Mitteilung¹⁾ angewandten und näher erläuterten Methodik studierten wir den Aminolyseverlauf einiger 5-Chlor-chinolyl-(8)-ester bei der Reaktion mit einem hundertfachen Überschuß an Benzylamin in Dioxan/Wasser (8:2) bei 25° durch spektrophotometrische Bestimmung des bei der Aminolyse freigesetzten 5-Chlor-8-hydroxy-chinolins bei 360 nm in Abhängigkeit von der Zeit. In Abbild. 1 ist der Reaktionsverlauf graphisch dargestellt.

Für die 5-Chlor-chinolyl-(8)-ester wurde so die folgende Reihe abnehmender Aminolyseaktivität auf Grund der berechneten Halbwertszeiten (in Sek.) ermittelt, die mit der bei den unsubstituierten Estern gefundenen Abstufung gut übereinstimmt: Z-L-Ala-OQ(Cl) (21) > Z-L-Phe-OQ(Cl) (25) > Z-DL-Nva-OQ(Cl) (34) > Z-β-Ala-OQ(Cl) (198)

Z-Gly-Gly-OQ(Cl) ($t_{1/2}$ 39 Sek.) unterscheidet sich in der Reaktivität nur unwesentlich vom Z-Gly-OQ(Cl) ($t_{1/2}$ 34 Sek.).

In Abbild. 2 wird an einem Beispiel die durch den Chlorsubstituenten bedingte Steigerung der Aminolysegeschwindigkeit gegenüber dem unsubstituierten Ester demonstriert.

*) Abkürzung der Aminosäurereste nach *E. Brand* und *J. P. Edsall*, *Annu. Rev. Biochem.* **16**, 223 (1947), und einer Empfehlung des Komitees des 5. Europäischen Peptidsymposiums, Oxford 1962: Z = Benzyloxycarbonyl-, BZL = Benzyl-, OBZL = Benzylester, OÄt = Äthylester, DCCI = Dicyclohexylcarbodiimid, OQ(Cl) = 5-Chlor-chinolyl-(8)-ester.

6) Produkt der Fa. Riedel-de Haen, Seelze-Hannover.

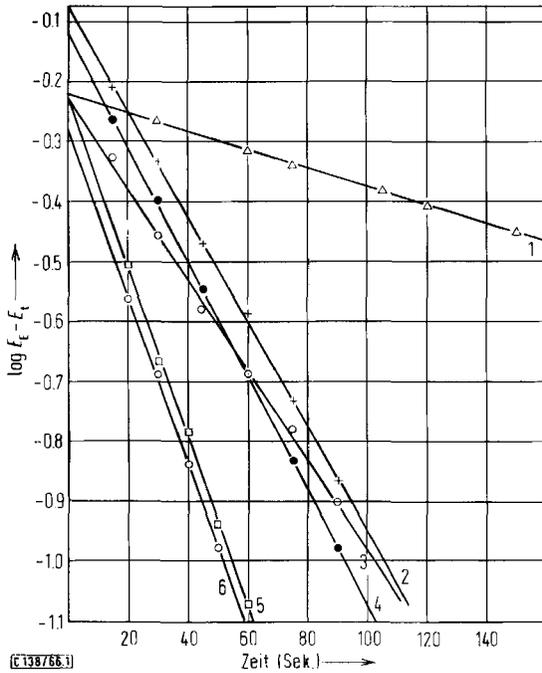
7) *J. C. Sheehan* und *G. P. Hess*, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 1067 (1955).

8) *Th. Wieland* und *H. Bernhard*, *Liebigs Ann. Chem.* **572**, 190 (1951); *J. R. Vaughan jr.*, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 3547 (1951); *R. A. Boissonnas*, *Helv. chim. Acta* **34**, 874 (1951).

9) Kieselgel-G nach *Stahl* der Fa. Merck, Darmstadt.

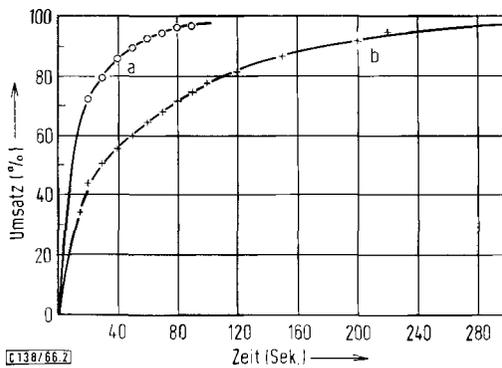
10) *R. Munier*, *Bull. chim. Biol.* **35**, 1225 (1953).

11) *D. Ben-Ishai* und *A. Berger*, *J. org. Chemistry* **17**, 1564 (1952); *R. Schwyzer*, *Helv. chim. Acta* **37**, 647 (1954).



Abbild. 1. Aminolyseverlauf einiger Benzyloxycarbonyl-aminosäure-[5-chlor-quinolyl-(8)-ester] ($10^{-3} m$) mit Benzylamin ($10^{-1} m$) in Dioxan/Wasser (8 : 2) bei 25° .

- | | |
|--------------------------|------------------|
| 1 Z- β -Ala-OQ(Cl) | 4 Z-Gly-OQ(Cl) |
| 2 Z-DL-Nva-OQ(Cl) | 5 Z-L-Phe-OQ(Cl) |
| 3 Z-Gly-Gly-OQ(Cl) | 6 Z-L-Ala-OQ(Cl) |



Abbild. 2. Aminolyse des Benzyloxycarbonyl-L-alanin-[5-chlor-quinolyl-(8)-esters] (a) und des Benzyloxycarbonyl-L-alanin-[chinolyl-(8)-esters] (b) mit Benzylamin (1 : 100) in Dioxan/Wasser (8 : 2) bei 25°

Bei der Umsetzung von Benzyloxycarbonyl-aminosäure- und Benzyloxycarbonyl-peptid-[5-chlor-chinolyl-(8)-estern] mit Aminosäure- und Peptidestern bzw. Natriumsalzen von Aminosäuren bei Raumtemperatur konnten die entsprechenden Peptidderivate (Tab. 1) in sehr guten Ausbeuten erhalten werden. Von Vorteil ist auch hier die Möglichkeit der quantitativen Abtrennung des während der Peptidsynthese eliminierten 5-Chlor-8-hydroxy-chinolins mit $2n$ HCl. Bemerkenswert sind weiterhin die guten Ausbeuten bei der Reaktion von Benzyloxycarbonyl-aminosäure-[5-chlor-chinolyl-(8)-estern] mit Natriumsalzen von Aminosäuren bei Raumtemperatur und Reaktionszeiten von 5 bis 6 Stunden.

Tab. 1. Nach der 5-Chlor-chinolyl-(8)-ester-Methode synthetisierte Peptidderivate

| Dargestelltes Peptid | Acylkomponente | Amino-komponente | Ausb. % |
|-------------------------------|--------------------|-------------------------|---------|
| Z-DL-Ala-Gly-OÄt | Z-DL-Ala-OQ(Cl) | Gly-OÄt | 91 |
| Z-DL-Phe-Gly-OÄt | Z-DL-Phe-OQ(Cl) | Gly-OÄt | 85 |
| Z-DL-Val-Gly-OÄt | Z-DL-Val-OQ(Cl) | Gly-OÄt | 92 |
| Z-L-Leu-L-Ala-OH | Z-L-Leu-OQ(Cl) | L-Ala-ONa | 83 |
| Z-Gly-L-Phe-OH | Z-Gly-OQ(Cl) | L-Phe-ONa | 78.5 |
| Z-Gly-DL-Phe-OH | Z-Gly-OQ(Cl) | DL-Phe-ONa | 74 |
| Z-DL-Phe-Gly-OH | Z-DL-Phe-OQ(Cl) | Gly-ONa | 84.5 |
| Z-L-Leu-L-Val-OH | Z-L-Leu-OQ(Cl) | L-Val-ONa | 72 |
| Z-L-Leu-L-Leu-OH | Z-L-Leu-OQ(Cl) | L-Leu-ONa | 65 |
| Z-L-Ala-Gly-Gly-OÄt | Z-L-Ala-Gly-OQ(Cl) | Gly-OÄt | 83.5 |
| Z-Gly-L-Ala-Gly-OBZL | Z-Gly-L-Ala-OQ(Cl) | Gly-OBZL · HCl | 90.5 |
| BZL | BZL | | |
| Z-Gly-L-Cys-Gly-OÄt | Z-Gly-L-Cys-OQ(Cl) | Gly-OÄt | 97.5 |
| Z-Gly-L-Phe-Gly-OÄt | Z-Gly-L-Phe-OQ(Cl) | Gly-OÄt | 86 |
| BZL | BZL | | |
| Z-Gly-L-Cys-L-Ala-Gly-Gly-OÄt | Z-Gly-L-Cys-OQ(Cl) | L-Ala-Gly-Gly-OÄt · HBr | 86.5 |
| Z-L-Ala-Gly-L-Phe-Gly-OÄt | Z-L-Ala-Gly-OQ(Cl) | L-Phe-Gly-OÄt · HBr | 85 |
| BZL | BZL | | |
| Z-Gly-L-Cys-Gly-L-Ala-Gly-OÄt | Z-Gly-L-Cys-OQ(Cl) | Gly-L-Ala-Gly-OÄt · HBr | 74 |

Zur Bestimmung des Racemisierungsgrads wurde der *Anderson-Callahan-Test*¹²⁾ verwendet. Dafür synthetisierten wir aus Benzyloxycarbonyl-glycin und L-Phenylalanin-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester]-dihydrobromid nach der Anhydrid-Methode mit Chlorameisensäure-äthylester den Benzyloxycarbonyl-glycyl-L-phenylalanin-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester], der ohne weitere Reinigung mit Glycin-äthylester umgesetzt

¹²⁾ G. W. Anderson und F. M. Callahan, J. Amer. chem. Soc. **80**, 2902 (1958); G. W. Anderson und R. W. Young, ebenda **74**, 5307 (1952).

wurde. Die fraktionierte Kristallisation des Anderson-Peptids in 2-proz. äthanolischer Lösung bei 0° führte zu keinem Racemat. Durch mehrfaches Einengen der Lösung und zum Schluß durch Übersichten mit Äther konnten 86% des optisch reinen Benzyloxycarbonyl-glycyl-phenylalanyl-glycin-äthylesters gewonnen werden.

Weiterhin zeigten Lösungen des *N*-Benzoyl-D-leucin-[5-chlor-chinolyl-(8)-esters] sowie des L-Antipoden in Chloroform bei Zugabe äquivalenter Mengen tert. Base keinen Drehungsabfall nach 4tägigem Stehenlassen bei 27°.

Beide Befunde stimmen mit den für die unsubstituierten Chinolyl-(8)-ester ermittelten Ergebnissen¹⁾ sehr gut überein.

Schließlich untersuchten wir die Möglichkeit der Verwendung des 5.7-Dichlor-8-hydroxy-chinolins zur Carboxylaktivierung. Mit der Anhydrid-Methode wurde in 80-proz. Ausbeute der Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanin-[5.7-dichlor-chinolyl-(8)-ester] erhalten, der in bekannter Weise mit HBr/Eisessig entacyliert wurde. Das L-Phenylalanin-[5.7-dichlor-chinolyl-(8)-ester]-dihydrobromid diente zur Synthese des Benzyloxycarbonyl-glycyl-L-phenylalanin-[5.7-dichlor-chinolyl-(8)-esters] nach dem von Goodman und Steuben¹³⁾ empfohlenen Aufbauprinzip. Der ungereinigte N-geschützte aktivierte Dipeptidester wurde mit einer äquivalenten Menge freien Glycin-äthylesters zum Anderson-Peptid gekuppelt. Die fraktionierte Kristallisation ergab kein Racemat, dagegen konnten 87% des L-Antipoden isoliert werden.

Im Gegensatz zu den analogen bromsubstituierten Verbindungen erfüllen auch die Aminosäure-[5.7-dichlor-chinolyl-(8)-ester] die anfangs gestellten Forderungen und sind zur Knüpfung der Peptidbindung geeignet.

Herzlicher Dank gebührt Herrn Prof. Dr. H. Schubert und Herrn Prof. Dr. W. Langenbeck für die Förderung dieser Arbeit. Weiterhin gilt unser Dank Frau H. Mittelbach für ihre verständnisvolle experimentelle Mitarbeit.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Mikroheiztisch „Boetius“ bestimmt (korr.). Die Drehwertbestimmungen erfolgten in einem 2-Dezimeter-Rohr mit einer Ablesegenauigkeit von $\pm 0.01^\circ$.

1. *Allgemeine Darstellungsmethode der Benzyloxycarbonyl-aminosäure-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester]* (Tab. 2)

Methode A: Zu 10 mMol *Benzyloxycarbonyl-aminosäure* in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran gibt man 1.4 ccm (10 mMol) *Triäthylamin* und kühlt die Mischung auf -15° ab. Unter mechanischem Rühren tropft man 1.09 g (10 mMol) *Chlorameisensäure-äthylester* hinzu. Nach 10 Min. werden 1.8 g (10 mMol) *5-Chlor-8-hydroxy-chinolin* in Tetrahydrofuran zugefügt und die Reaktionsmischung 1 Stde. bei -15° und 1 weitere Stde. bei Raumtemp. gerührt. Nach Zugabe von 20 ccm Wasser wird das Tetrahydrofuran i. Vak. abdestilliert. Den Rückstand nimmt man in Essigester auf und wäscht nacheinander mit Wasser, gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, Wasser, 0.5*n* HCl und Wasser. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet und der Essigester i. Vak. abgedampft.

¹³⁾ M. Goodman und K. C. Steuben, J. Amer. chem. Soc. **81**, 3980 (1959).

Tab. 2. Dargestellte Benzyloxycarbonyl-aminosäure-[5-chlor-chinoly]- (8)-ester]

| -[5-chlor-chinoly]- (8)-ester] | Methode (% Ausb.) | Schmp. (Essigester/ Petroläther) | Summenformel (Mol.-Gew.) | Analyse | | |
|--------------------------------|----------------------|--|--|--------------------------|--------------|--------------|
| | | | | C | H | N |
| Z-Gly- | A (82) B (78) | 124—125° | C ₁₉ H ₁₅ ClN ₂ O ₄ (370.8) | Ber. 61.54 Gef. 61.70 | 4.08 4.38 | 7.56 7.83 |
| Z-L-Ala- ^{a)} | A (80) | 159.5—160.5° | C ₂₀ H ₁₇ ClN ₂ O ₄ (384.8) | Ber. 62.42 Gef. 62.85 | 4.45 4.20 | 7.28 7.65 |
| Z-DL-Ala- | A (81) B (78) | 137—138° | C ₂₀ H ₁₇ ClN ₂ O ₄ (384.8) | Ber. 62.42 Gef. 62.66 | 4.45 4.46 | 7.28 7.52 |
| Z-β-Ala- | A (79.5) | 93—94° *) | C ₂₀ H ₁₇ ClN ₂ O ₄ (384.8) | Ber. 62.42 Gef. 62.64 | 4.45 4.42 | 7.28 7.46 |
| Z-L-Leu- ^{b)} | A (82) | 95—96° | C ₂₃ H ₂₃ ClN ₂ O ₄ (426.9) | Ber. 64.72 Gef. 64.34 | 5.43 5.45 | 6.58 6.84 |
| Z-D-Leu- ^{c)} | A (79) | 94—95° | C ₂₃ H ₂₃ ClN ₂ O ₄ (426.9) | Ber. 64.72 Gef. 65.12 | 5.43 5.62 | 6.58 6.63 |
| Z-DL-Leu- | B (81) | 51—52° | C ₂₃ H ₂₃ ClN ₂ O ₄ (426.9) | Ber. 64.72 Gef. 64.92 | 5.43 5.61 | 6.58 6.72 |
| Z-DL-Val- | A (82) B (73) | 98—99.5° | C ₂₂ H ₂₁ ClN ₂ O ₄ (412.9) | Ber. 63.99 Gef. 64.02 | 5.13 4.97 | 6.79 6.90 |
| Z-DL-Nva- | A (74) | 83.5—84° | C ₂₂ H ₂₁ ClN ₂ O ₄ (412.9) | Ber. 63.99 Gef. 64.07 | 5.13 5.21 | 6.79 6.85 |
| BZL | | | | | | |
| Z-L-Cys- ^{d)} | A (87) | 128.5—129° | C ₂₇ H ₂₃ ClN ₂ O ₄ S (507.0) | Ber. 63.97 Gef. 64.12 | 4.57 4.81 | 5.53 5.71 |
| BZL | | | | | | |
| Z-DL-Ser- | A (79.5) | 94.5—96° | C ₂₇ H ₂₃ ClN ₂ O ₅ (491.0) | Ber. 66.05 Gef. 66.28 | 4.72 4.85 | 5.71 5.91 |
| Z-L-Phe- ^{e)} | A (84) B (95) | 146—147° | C ₂₆ H ₂₁ ClN ₂ O ₄ (460.9) | Ber. 67.76 Gef. 67.66 | 4.59 4.79 | 6.08 6.32 |
| Z-DL-Phe- | A (81) B (68) | 139.5—140° | C ₂₆ H ₂₁ ClN ₂ O ₄ (460.9) | Ber. 67.76 Gef. 67.68 | 4.59 4.56 | 6.08 6.54 |

*) Umkristallisiert aus Äther/Petroläther.

a) $[\alpha]_D^{25}$: -62.2° (c = 2.018, in Dimethylformamid); b) $[\alpha]_D^{25}$: -43.3° (c = 2.018, in Dimethylformamid); c) $[\alpha]_D^{25}$: -43.9° (c = 2, in Dimethylformamid); d) $[\alpha]_D^{25}$: -50.2° (c = 2, in Dimethylformamid); e) $[\alpha]_D^{25}$: -53.9° (c = 2.012, in Dimethylformamid).

Methode B: 30 mMol *Benzyloxycarbonyl-aminosäure* und 5.94 g (33 mMol) *5-Chlor-8-hydroxy-chinolin* werden in 100 ccm Essigester bei -10° mit 6.19 g (30 mMol) *Dicyclohexyl-carbodiimid* versetzt. Der Ansatz wird 3 Stdn. bei -10° gerührt und danach 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Nach Zugabe einiger Tropfen 50-proz. Essigsäure wird der ausgefallene Harnstoff abgesaugt, die Lösung i. Vak. eingedampft und aufgearbeitet, wie bei Methode A beschrieben.

2. *Allgemeine Darstellungsmethode der Aminosäure-[5-chlor-chinoly]- (8)-ester]-dihydrobromide (Tab. 3):* 10 mMol *Benzyloxycarbonyl-aminosäure-[5-chlor-chinoly]- (8)-ester]* werden mit ca. 10 ccm einer 36-proz. Lösung von *Bromwasserstoff* in Eisessig versetzt und 1 Stde. bei Raumtemp. stehengelassen. Danach wird mit 100 ccm absol. Äther versetzt, wobei die Dihydrobromide kristallin ausfallen. Auf der Fritte wäscht man sorgfältig mit absol. Äther.

Die Verbindungen werden i. Vak. mehrere Tage über Kaliumhydroxid getrocknet und sind danach analysenrein. Beim Erhitzen zersetzen sich die Ester-dihydrobromide unter vorangehender Sublimation, so daß keine definierten Schmelzpunkte angegeben werden können.

Tab. 3. Aminosäure-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester]-dihydrobromide

| -OQ(Cl)·2 HBr | % Ausb. | Summenformel (Mol.-Gew.) | Analyse | | |
|--------------------|---------|--|--------------------------|--------------|--------------|
| | | | C | H | N |
| Gly- | 99 | C ₁₁ H ₁₁ ClN ₂ O ₂]Br ₂ (398.5) | Ber. 33.15 Gef. 33.36 | 2.78 3.15 | 7.03 7.17 |
| L-Ala- | 98 | C ₁₂ H ₁₃ ClN ₂ O ₂]Br ₂ (412.5) | Ber. 34.93 Gef. 34.76 | 3.18 3.56 | 6.79 6.75 |
| DL-Ala- | 100 | C ₁₂ H ₁₃ ClN ₂ O ₂]Br ₂ (412.5) | Ber. 34.93 Gef. 35.48 | 3.18 3.63 | 6.79 6.67 |
| DL-Nva- | 100 | C ₁₄ H ₁₇ ClN ₂ O ₂]Br ₂ (440.6) | Ber. 38.18 Gef. 38.21 | 3.89 4.15 | 6.36 6.70 |
| BZL L-Cys- | 99 | C ₁₉ H ₁₉ ClN ₂ O ₂ S]Br ₂ (534.7) | Ber. 42.68 Gef. 42.86 | 3.58 3.91 | 5.24 5.24 |
| L-Phe- | 98.5 | C ₁₈ H ₁₇ ClN ₂ O ₂]Br ₂ (488.6) | Ber. 44.25 Gef. 44.47 | 3.51 3.82 | 5.74 5.81 |
| D-Leu- | 99.5 | C ₁₅ H ₁₉ ClN ₂ O ₂]Br ₂ (454.6) | Ber. 39.64 Gef. 39.55 | 4.21 4.52 | 6.16 6.26 |
| L-Leu- | 100 | C ₁₅ H ₁₉ ClN ₂ O ₂]Br ₂ (454.6) | Ber. 39.64 Gef. 39.81 | 4.21 4.19 | 6.16 6.44 |

3. *N-Benzoyl-L-leucin-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester]*: Zu einer Suspension von 4.55 g *L-Leucin-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester]-dihydrobromid* in 50 ccm Essigester werden 1.16 ccm *Benzoylchlorid* gegeben. Unter starkem Rühren wird eine Lösung von 7.3 g Natriumcarbonat in 30 ccm Wasser hinzugefügt und 2 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Danach trennt man die organische Phase ab, wäscht nacheinander mit Wasser, 0.5*n* H₂SO₄ sowie Wasser und trocknet die Essigesterlösung mit Natriumsulfat. Nach Einengen i. Vak. und Übersichten mit Petroläther kristallisiert die Verbindung. Ausb. 3.22 g (81%), Schmp. 184–184.5°, [α]_D²⁵: –64.5° (c = 1, in Chlf.).

C₂₂H₂₁ClN₂O₃ (396.9) Ber. C 66.57 H 5.33 N 7.06 Gef. C 66.58 H 5.37 N 7.18

4. *N-Benzoyl-D-leucin-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester]*: 4.55 g *D-Leucin-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester]-dihydrobromid* werden wie vorstehend benzyliert. Ausb. 3.14 g (79%), Schmp. 184–185°, [α]_D²⁵: +64.6° (c = 1, in Chlf.).

C₂₂H₂₁ClN₂O₃ (396.9) Ber. C 66.57 H 5.33 N 7.06 Gef. C 66.66 H 5.53 N 7.01

5. *Allgemeine Darstellungsmethode der Benzyloxycarbonyl-dipeptid-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester]*: 1 Äquiv. *Benzyloxycarbonyl-aminosäure* wird in absol. Tetrahydrofuran unter Zusatz von 1 Äquiv. *Triäthylamin* gelöst und bei –15° mit 1 Äquiv. *Chlorameisensäure-äthylester* versetzt. Nach 10 Min. gibt man unter Rühren 2 Äquiv. *Triäthylamin* und sofort danach 1 Äquiv. des entsprechenden *Aminosäure-[5-chlor-chinolyl-(8)-ester]-dihydrobromids* in Tetrahydrofuran/Wasser hinzu. Nach Abdampfen des Tetrahydrofurans wird wie unter 1. aufgearbeitet. In Tab. 4 sind die auf diese Weise dargestellten Verbindungen zusammengefaßt.

Tab. 4. Benzyloxycarbonyl-dipeptid-[5-chlor-chinoly-(8)-ester]

| -[5-chlor- chinoly-(8)- ester] | % Ausb. | Schmp. | Summenformel (Mol.-Gew.) | Analyse | | |
|--------------------------------------|------------|--------------------------------|--|--------------------------|--------------|---------------|
| | | | | C | H | N |
| Z-Gly-Gly- | 81.5 | 146–147° (Essigester/PÄ) *) | C ₂₁ H ₁₈ ClN ₃ O ₅ (427.9) | Ber. 58.94 Gef. 58.95 | 4.24 4.46 | 9.82 10.01 |
| Z-L-Ala-Gly- ^{a)} | 82 | 185.5–187° (Essigester/PÄ) | C ₂₂ H ₂₀ ClN ₃ O ₅ (441.9) | Ber. 59.79 Gef. 59.32 | 4.56 4.46 | 9.51 9.85 |
| Z-L-Phe-Gly- ^{b)} | 82.5 | 185–186° (THF/PÄ) | C ₂₈ H ₂₄ ClN ₃ O ₅ (518.0) | Ber. 64.92 Gef. 65.12 | 4.67 4.95 | 8.11 8.53 |
| BZL ^{c)} | | | | | | |
| Z-Gly-L-Cys- | 80 | 159–161° (THF/PÄ) | C ₂₉ H ₂₆ ClN ₃ O ₅ S (564.1) | Ber. 61.74 Gef. 61.61 | 4.65 4.58 | 7.45 7.16 |
| Z-Gly-L-Ala- ^{d)} | 79.5 | 159–160° (Essigester/PÄ) | C ₂₂ H ₂₀ ClN ₃ O ₅ (441.9) | Ber. 59.79 Gef. 60.08 | 4.56 4.94 | 9.51 9.93 |

*) PÄ = Petroläther, THF = Tetrahydrofuran.

a) $[\alpha]_D^{25}$: -12.3° ($c = 2$, in Dimethylformamid), b) $[\alpha]_D^{25}$: -13.5° ($c = 2$, in Dimethylformamid), c) $[\alpha]_D^{25}$: -48.8° ($c = 2.03$, in Dimethylformamid), d) $[\alpha]_D^{25}$: -73.3° ($c = 2$, in Dimethylformamid).

6. *Benzyloxycarbonyl-glycyl-glycyl-S-benzyl-L-cystein-[5-chlor-chinoly-(8)-ester]*: Zu 2.09 g (10 mMol) *Benzyloxycarbonyl-glycin* in 30 ccm absol. Tetrahydrofuran gibt man 1.4 ccm (10 mMol) *Triäthylamin*, kühlt auf -15° und läßt unter Rühren 1.09 g (10 mMol) *Chlorameisensäure-äthylester* zutropfen. Nach 10 Min. bei -15° gibt man 2.8 ccm (20 mMol) *Triäthylamin* und sofort danach 5.92 g (10 mMol) *Glycyl-S-benzyl-L-cystein-[5-chlor-chinoly-(8)-ester]-dihydrobromid* in Tetrahydrofuran/Wasser schnell hinzu. Die Mischung wird noch 1 Stde. bei -15° und 1 Stde. bei Raumtemp. gerührt und anschließend das organische Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand wird in Essigester aufgenommen, wie unter 1. aufgearbeitet und das Rohprodukt aus Essigester/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 4.8 g (77%). Schmp. 152–153°. $[\alpha]_D^{25}$: -41.4° ($c = 2.016$, in Dimethylformamid).

C₃₁H₂₉ClN₄O₆S (621.1) Ber. C 59.94 H 4.71 N 9.02 Gef. C 59.88 H 5.00 N 9.10

7. *Allgemeine Darstellungsverfahren der Benzyloxycarbonyl-di- und -tripeptid-Derivate in Tab. 1 nach der 5-Chlor-chinoly-(8)-ester-Methode*

Weg I: 10 mMol *Benzyloxycarbonyl-aminosäure-[5-chlor-chinoly-(8)-ester]* in 50 ccm Tetrahydrofuran werden mit einer Lösung von 10 mMol *Aminosäure* und 0.84 g (10 mMol) *Natriumhydrogencarbonat* in 15 ccm Wasser oder mit einer Lösung von 10 mMol *Aminosäure* in 10 ccm *n NaOH* versetzt. Die Reaktionsmischung wird entweder bei Raumtemp. gerührt oder unter Rückfluß erhitzt. Nach den angegebenen Reaktionszeiten (s. Tab. 5) dampft man das Tetrahydrofuran i. Vak. ab. Die wäßr. Phase wird angesäuert, das Peptidderivat in Essigester aufgenommen, die organische Phase mit 2*n* HCl sowie Wasser gewaschen und anschließend mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung sorgfältig extrahiert. Beim Ansäuern kristallisiert das *Benzyloxycarbonyl-dipeptid*.

Weg II: Zu einer Lösung von 10 mMol *Benzyloxycarbonyl-aminosäure-* bzw. *-dipeptid-[5-chlor-chinoly-(8)-ester]* in 50 ccm Essigester oder Tetrahydrofuran gibt man 10 mMol *Aminosäure-* oder *Peptidester* (bei Verwendung von Esterhydrochloriden werden 10 mMol *Triäthylamin* hinzugefügt). Die Reaktionsmischung wird bei Raumtemp. gerührt. Nach den angegebenen Reaktionszeiten (s. Tab. 5) wäscht man die Essigesterphase nacheinander mit Wasser, 2*n* HCl sowie Wasser, trocknet mit Natriumsulfat und dampft den Essigester i. Vak.

ab. Bei Benutzung von Tetrahydrofuran als Lösungsmittel wird dieses nach beendeter Reaktion i. Vak. abdestilliert, das Rohprodukt in Essigester aufgenommen und gereinigt, wie oben beschrieben.

Tab. 5. Reaktionsbedingungen und analytische Charakterisierung der nach 7. dargestellten Peptidderivate

| Verbindung | Weg (Lösungs- mittel)* | Rk.-Zeit (Stdn.) | Schmp. | optische Drehung |
|--|------------------------------|---------------------|------------------------------------|---|
| Z-DL-Ala-Gly-OÄt | II (E) | 12 | 80–81° Lit. 14): 77–79° | |
| Z-DL-Phe-Gly-OÄt | II (E) | 12 | 100–101° Lit. 15): 97.5–99° | |
| Z-DL-Val-Gly-OÄt | II (E) | 12 | 146–147° Lit. 15): 148.5–149° | |
| Z-L-Leu-L-Ala-OH | I | 1**) | 151–152° Lit. 16): 152–153° | $[\alpha]_D^{20}$: –25.9° ($c = 2.608$, in Äthanol), Lit. 16): $[\alpha]_D^{25}$: –25° ($c = 1$, in Äthanol) |
| Z-Gly-L-Phe-OH | I | 6 bzw. 1**) | 127–128° Lit. 17): 124–125° | $[\alpha]_D^{25}$: +33.1° ($c = 2.028$, in Äthanol), Lit. 17): $[\alpha]_D^{20}$: +33.9° ($c = 4.7$, in Äthanol) |
| Z-Gly-DL-Phe-OH | I | 6 | 164.5–165.5° Lit. 18): 160–162° | |
| Z-DL-Phe-Gly-OH | I | 4 | 157–158° Lit. 19): 157–159° | |
| Z-L-Leu-L-Val-OH | I | 5 | 113–114° Lit. 20): 108–109° | $[\alpha]_D^{25}$: –18.1° ($c = 1.01$, in Äthanol), Lit. 20): $[\alpha]_D^{22}$: –15° ($c = 1$, in Äthanol) |
| Z-L-Leu-L-Leu-OH | I | 5 | 99–99.5° Lit. 20): 98–101° | $[\alpha]_D^{25}$: –26.3° ($c = 0.894$, in Äthanol) Lit. 20): $[\alpha]_D^{22}$: –24.7° ($c = 1$, in Äthanol) |
| Z-L-Ala-Gly-Gly- OÄt ^{a)} | II (THF) | 5 | 135.5–136.5° | $[\alpha]_D^{25}$: +3.7° ($c = 1$, in Dimethylformamid) |
| Z-Gly-L-Ala-Gly- OBZL ^{b)} | II (THF) | 6 | 145–146° | $[\alpha]_D^{25}$: –9.7° ($c = 2$, in Dimethylformamid) |
| Z-Gly-L-Cys(BZL)- Gly-OÄt ^{c)} | II (THF) | 6 | 134.5–136° | $[\alpha]_D^{25}$: –54.3° ($c = 2.006$, in Dimethylformamid) |

*) E = Essigester, THF = Tetrahydrofuran; **) unter Rückfluß.

a) $C_{17}H_{23}N_3O_6$ (365.4) Ber. C 55.88 H 6.35 N 11.50 Gef. C 55.60 H 6.25 N 11.74;

b) $C_{22}H_{25}N_3O_6$ (427.5) Ber. C 61.81 H 5.90 N 9.82 Gef. C 62.25 H 5.95 N 10.18;

c) $C_{24}H_{29}N_3O_6S$ (487.6) Ber. C 59.13 H 6.00 N 8.62 Gef. C 58.89 H 5.67 N 8.33.

14) Th. Wieland und B. Heinke, Liebigs Ann. Chem. **599**, 70 (1956).

15) R. W. Young, K. H. Wood, R. J. Joice und G. W. Anderson, J. Amer. chem. Soc. **78**, 2126 (1956).

16) W. J. Polglase und E. L. Smith, J. Amer. chem. Soc. **71**, 3081 (1949).

17) K. Nowak und J. Z. Siemion, Roczn. Chem. (Ann. Soc. chim. Polonorum) **37**, 693 (1963).

18) J. R. Vaughan jr. und R. L. Osato, J. Amer. chem. Soc. **74**, 676 (1952).

19) K. Schlögl, F. Wessely und E. Wawersich, Mh. Chem. **85**, 957 (1954).

20) E. L. Smith, D. H. Spackman und W. J. Polglase, J. biol. Chemistry **199**, 801 (1952).

8. *Benzyloxycarbonyl-glycyl-S-benzyl-L-cysteinyl-L-alanyl-glycyl-glycin-äthylester*: 1.08 g *Benzyloxycarbonyl-glycyl-S-benzyl-L-cystein-[5-chlor-chinoly-(8)-ester]* in 40 ccm Dimethylformamid werden mit 0.6 g *L-Alanyl-glycyl-glycin-äthylester-hydrobromid* und 0.27 ccm *Triäthylamin* versetzt und 19 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Nach dem Abdampfen des Dimethylformamids i. Vak. wird der Rückstand mit Essigester versetzt und mit Petroläther das kristalline Produkt ausgefällt. Auf der Fritte wäscht man gründlich mit Wasser, 2n HCl, Wasser, Natriumhydrogencarbonatlösung sowie Wasser und trocknet i. Vak. über Phosphor-pentoxid. Es wird aus Tetrahydrofuran/Petroläther umgefällt. Ausb. 1.02 g (86.5%). Schmp. 163–165°. $[\alpha]_D^{25}$: -8.4° ($c = 1.012$, in Dimethylformamid).

$C_{29}H_{37}N_5O_8S$ (615.7) Ber. C 56.57 H 6.06 N 11.38 Gef. C 57.08 H 5.99 N 11.35

9. *Benzyloxycarbonyl-L-alanyl-glycyl-L-phenylalanyl-glycin-äthylester*: 1.41 g *Benzyloxycarbonyl-L-alanyl-glycin-[5-chlor-chinoly-(8)-ester]* in 20 ccm Dimethylformamid werden mit 1.06 g *L-Phenylalanyl-glycin-äthylester-hydrobromid* und 0.45 ccm *Triäthylamin* 17 Stdn. bei Raumtemp. zur Reaktion gebracht und wie unter 8. aufgearbeitet. Ausb. 1.4 g (85%). Schmp. 193.5–194.5°. $[\alpha]_D^{25}$: -6.2° ($c = 2$, in Dimethylformamid).

$C_{26}H_{32}N_4O_7$ (512.6) Ber. C 60.92 H 6.30 N 10.93 Gef. C 60.42 H 5.95 N 11.12

10. *Benzyloxycarbonyl-glycyl-S-benzyl-L-cysteinyl-glycyl-L-alanyl-glycin-äthylester*: 2.82 g *Benzyloxycarbonyl-glycyl-S-benzyl-L-cystein-[5-chlor-chinoly-(8)-ester]* in 20 ccm Dimethylformamid werden wie vorstehend mit 1.56 g *Glycyl-L-alanyl-glycin-äthylester-hydrobromid* und 0.7 ccm *Triäthylamin* umgesetzt. Nach 24 Stdn. bei Raumtemp. wird in der üblichen Weise aufgearbeitet und das Rohprodukt aus Tetrahydrofuran/Petroläther umgefällt. Ausb. 2.28 g (74%). Schmp. 160–161°. $[\alpha]_D^{25}$: -18.5° ($c = 1.014$, in Dimethylformamid).

$C_{29}H_{37}N_5O_8S$ (615.7) Ber. C 56.57 H 6.06 N 11.38 Gef. C 56.71 H 5.99 N 10.97

11. *Benzyloxycarbonyl-glycyl-L-phenylalanin-[5-chlor-chinoly-(8)-ester]*: 2.09 g (10 mMol) *Benzyloxycarbonyl-glycin* und 1.4 ccm (10 mMol) *Triäthylamin* in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran werden bei -15° mit 1.09 g (10 mMol) *Chlorameisensäure-äthylester* zum gemischten Anhydrid umgesetzt. Unter starkem Rühren gibt man nach 10 Min. 2.8 ccm (20 mMol) *Triäthylamin* und sofort danach 4.89 g (10 mMol) *L-Phenylalanin-[5-chlor-chinoly-(8)-ester]-dihydrobromid*, gelöst in Tetrahydrofuran/Wasser, hinzu. Es wird wie unter 1. aufgearbeitet und das Rohprodukt für den nachfolgenden Versuch verwendet. Ausb. 4.14 g (80%).

12. *Benzyloxycarbonyl-glycyl-L-phenylalanyl-glycin-äthylester*: 4.14 g *Benzyloxycarbonyl-glycyl-L-phenylalanin-[5-chlor-chinoly-(8)-ester]* und 0.825 g *Glycin-äthylester* werden in 60 ccm Tetrahydrofuran 10 Stdn. bei Raumtemp. stengelassen. Man destilliert das Tetrahydrofuran i. Vak. ab, nimmt in Essigester auf und wäscht nacheinander mit Wasser, 2n HCl und Wasser. Die Essigesterphase wird mit Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. zur Trockne verdampft. Ausb. 3.28 g (93%). Schmp. 116–118°.

13. *Fraktionierte Kristallisation*: Aus 3.28 g des ungereinigten *Anderson-Peptids* und Äthanol wird eine 2-proz. Lösung bereitet, aus der bei 0° nach drei Tagen kein Racemat kristallisierte. Nach dem üblichen wiederholten Einengen i. Vak. und zuletzt durch Überschichten mit Äther werden 3.04 g (86%) des *L-Anipoden* gewonnen. Schmp. 116.5–118°. $[\alpha]_D^{25}$: -11.6° ($c = 2$, in Äthanol). Lit.¹²⁾: Schmp. 116.5–119.5°. $[\alpha]_D^{25}$: -11.5° ($c = 2$, in Äthanol).

14. *Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanin-[5.7-dichlor-chinoly-(8)-ester]*: Aus 2.99 g (10 mMol) *Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanin* und 1.4 ccm (10 mMol) *Triäthylamin* in 30 ccm absol. Tetrahydrofuran wird durch Zugabe von 1.09 g (10 mMol) *Chlorameisensäure-äthylester* bei -15° das gemischte Anhydrid hergestellt. Man läßt bei dieser Temp. 10 Min. rühren und

gibt dann 2.14 g (10 mMol) 5.7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin zu. Es wird wie unter 1. aufgearbeitet und das Rohprodukt aus Essigester/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 3.96 g (80%). Schmp. 143.5—144.5°. $[\alpha]_D^{25}$: -62.2° ($c = 1.264$, in Dimethylformamid).

$C_{26}H_{20}Cl_2N_2O_4$ (495.4) Ber. C 63.04 H 4.07 N 5.66 Gef. C 63.09 H 4.15 N 5.73

15. *L*-Phenylalanin-[5.7-dichlor-chinoly-(8)-ester]-dihydrobromid: 2.48 g Benzoyloxycarbonyl-*L*-phenylalanin-[5.7-dichlor-chinoly-(8)-ester] werden mit 5 ccm einer 36-proz. Lösung von *HBr*/Eisessig versetzt. Nach 1 Stde. gibt man 80 ccm absol. Äther hinzu und reinigt wie unter 2. Ausb. 2.62 g (100%).

$C_{18}H_{16}Cl_2N_2O_2]Br_2$ (523.1) Ber. N 5.36 Gef. N 5.46

16. Benzoyloxycarbonyl-glycyl-*L*-phenylalanin-[5.7-dichlor-chinoly-(8)-ester]: 1.0 g Benzoyloxycarbonyl-glycin in 20 ccm absol. Tetrahydrofuran wird mit 0.67 ccm Triäthylamin und nach Abkühlen auf -15° mit 0.52 g Chlorameisensäure-äthylester versetzt. Nach 10 Min. gibt man weitere 1.34 ccm Triäthylamin und sofort danach 2.5 g *L*-Phenylalanin-[5.7-dichlor-chinoly-(8)-ester]-dihydrobromid, gelöst in Tetrahydrofuran/Wasser, hinzu. Die übliche Aufarbeitung ergibt 2.2 g (83%) Rohprodukt, das ohne weitere Reinigung weiterverarbeitet wird.

17. Benzoyloxycarbonyl-glycyl-*L*-phenylalanyl-glycin-äthylester (*Anderson-Peptid*): 2.2 g voranstehend dargestellter *N*-geschützter Dipeptid-[5.7-dichlor-chinoly-(8)-ester] in 30 ccm Tetrahydrofuran werden mit 0.41 g Glycin-äthylester versetzt und 8 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Nach Abdestillieren des Tetrahydrofurans i. Vak. wird wie unter 12. aufgearbeitet. Ausb. 1.6 g (91%). Schmp. 115—118°.

1.6 g des rohen *Anderson-Peptids* werden wie unter 13. fraktioniert kristallisiert, wobei kein Racemat isoliert werden konnte. Ausb. 1.53 g (87%). Schmp. 118.5—119.5°. $[\alpha]_D^{27}$: -11.7° ($c = 2$, in Äthanol), Lit. ¹²⁾: Schmp. 116.5—119.5°, $[\alpha]_D^{25}$: -11.5° ($c = 2$, in Äthanol).

[138/66]