

Über Aminosäuren und Peptide, XX¹⁾

Über Dehydroaminosäuren, VII²⁾

Synthese von Dehydroaminosäureestern

Hans Poisel

Organisch-Chemisches Institut der Universität Wien,
Währinger Str. 38, A-1090 Wien

Eingegangen am 3. März 1976

Durch *N*-Chlorierung und folgende Dehydrochlorierung in Gegenwart von Methanol erhält man aus Boc-Aminosäureestern **1** die α -Methoxyderivate **2**. Deren Behandlung mit HCl in Äther ergibt die Hydrochloride der entsprechenden α,β -Dehydroaminosäureester, aus denen mit NH₃ die freien Enaminoester **3** erhältlich sind. Als Nebenprodukte werden Imidazolinone **7** isoliert.

On Amino Acids and Peptides, XX¹⁾

On Dehydro Amino Acids, VII²⁾

Synthesis of Dehydro Amino Acids

By *N*-chlorination and dehydrochlorination in the presence of methanol the α -methoxy derivatives **2** can be prepared from the Boc-amino acid esters **1**. Reaction with HCl in ether yields the hydrochlorides of the corresponding α,β -dehydroamino acid esters. After treatment with NH₃ the free enaminoesters **3** are obtained. As byproducts the imidazolinones **7** are isolated.

Die Auffindung von α,β -Dehydroaminosäuren in verschiedenen Peptiden mikrobiellen Ursprungs³⁾ und die Beobachtung der außergewöhnlichen biologischen Aktivität dieser Strukturelemente hatten zur Folge, daß mehrere Synthesemethoden entwickelt worden sind. In den meisten neuen Arbeiten wird die Einführung der α,β -Doppelbindung durch Eliminierung von β -Substituenten aus den entsprechenden Aminosäurederivaten beschrieben^{4–7)}.

Soll die erhaltene Dehydroaminosäure zum Aufbau von Peptiden dienen, muß die Aminogruppe frei oder aber mit einer leicht abspaltbaren Schutzgruppe versehen sein. In der vorliegenden Arbeit wird über eine einfache Synthese von α,β -Dehydroamino-

¹⁾ XIX. Mitteil.: H. Poisel und U. Schmidt, *Angew. Chem.* **88**, 295 (1976); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **15**, 294 (1976).

²⁾ VI. Mitteil.: H. Poisel und U. Schmidt¹⁾.

³⁾ Übersicht über die Literatur: H. Poisel und U. Schmidt, *Chem. Ber.* **108**, 2547 (1975).

⁴⁾ I. Photaki, *J. Amer. Chem. Soc.* **85**, 1123 (1963).

⁵⁾ D. H. Rich und J. P. Tam, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 221.

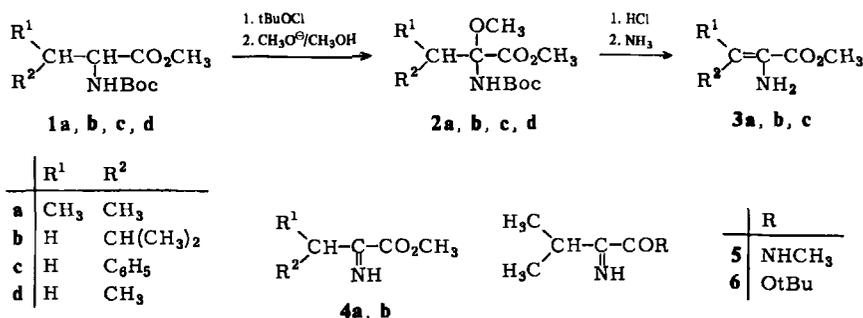
⁶⁾ D. H. Rich, J. Tam, P. Mathiaparanam, J. A. Grant und C. Mabuni, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1974**, 897.

⁷⁾ E. G. Breitholle und C. H. Stammer, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 2381.

säuren mit freier Aminogruppe berichtet, anschließend wird eine allgemeine Methode zur Darstellung von Boc- α,β -Dehydroaminosäuren beschrieben⁸⁾.

Synthesen von α,β -Dehydroaminosäuren mit freier NH_2 -Gruppe sind in letzter Zeit nur von *Shin*⁹⁾ und von *Stammer*⁷⁾ beschrieben worden. *Shin* reduzierte die schwer zugänglichen 3-Methoxy-2-nitrocarbonsäureester mit Natriumamalgame und erhielt die entsprechenden Dehydroaminosäureester – die nur durch deren IR-Spektren charakterisiert wurden – in 8–16 proz. Ausbeute neben den 2-Hydroxyamino-3-methoxy-Derivaten. Lediglich Dehydrovalinester wurde in 56 proz. Ausbeute durch Reduktion von 2-Nitro-3,3-dimethylacrylester dargestellt. – *Stammer* erhielt Dehydrophenylalaninanilid aus dem Trifluoracetylderivat durch schonende Abspaltung der Schutzgruppe.

Ein neuer Weg zu α,β -Dehydroaminosäureestern ergibt sich durch Anwendung der früher beschriebenen *N*-Chlorierung/Dehydrochlorierung³⁾ bei Aminosäureestern, die mit der säurelabilen *tert*-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe (Boc) versehen sind. Boc-Aminosäureester **1a–d** lassen sich analog zu den Acetylderivaten unter Basenkatalyse mit *tert*-Butylhypochlorit am Stickstoff chlorieren. Zusatz eines Äquivalents Natriummethanolat in Methanol führt über Eliminierung von HCl und Methanoladdition an eine intermediäre Boc-Iminverbindung⁸⁾ zu den α -Methoxyderivaten **2a–d**, die in hoher Ausbeute erhalten werden.



Durch Reaktion mit wasserfreiem Chlorwasserstoff in absol. Äther werden sowohl Methanol unter Ausbildung der α,β -Doppelbindung als auch die Boc-Schutzgruppe abgespalten, und nach Abdampfen des Lösungsmittels verbleiben die stabilen, kristallinen Hydrochloride der Dehydroaminosäureester. Mit Ammoniak oder Triäthylamin sind daraus die freien Dehydroaminosäureester **3a–c** zugänglich, die nur bei tiefen Temperaturen stabil sind.

Die so erhaltenen Ester **3a** und **c** liegen ausschließlich in der Enaminform vor, wie durch Auswertung der ¹H-NMR-Spektren festgestellt werden kann. Das Leucinderivat **3b** enthält dagegen zu etwa 40% die tautomere Iminform **4b**.

Wendet man zum Vergleich die früher beschriebene Methode zur Darstellung freier α,β -Iminosäurederivate³⁾ (Chlorierung/Dehydrochlorierung freier Aminosäureester) an, so erhält man folgende Resultate: Valinester ergibt das Imin **4a** ohne nachweisbaren Anteil an Enamin **3a**, was auch in Einklang mit Beobachtungen *Shins*^{9a)} steht, dem es

⁸⁾ H. Poisel, Chem. Ber. 110, 948 (1977), nachstehend.

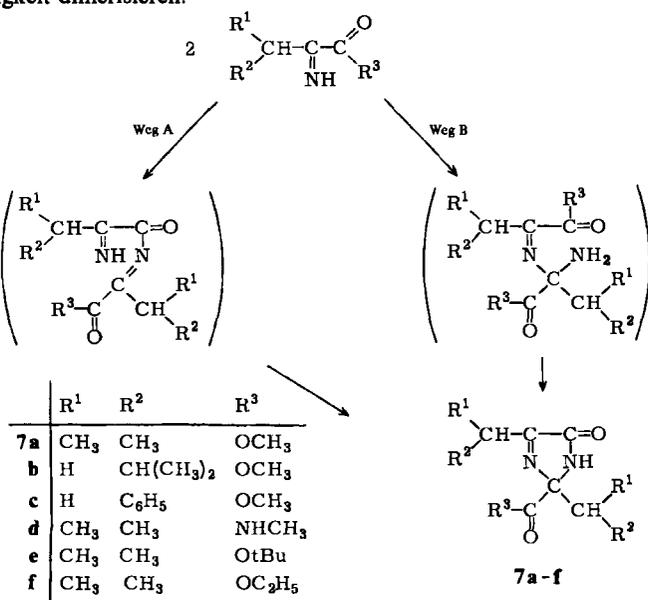
^{9) 9a)} C. Shin, M. Masaki und M. Ohta, Bull. Chem. Soc. Japan 44, 1657 (1971). – ^{9b)} C. Shin, M. Masaki und M. Ohta, ebenda 43, 3219 (1970).

nicht gelungen ist die den Methylestern **3a** und **4a** entsprechenden Äthylester ineinander umzuwandeln. Leucinester gibt wiederum ein Tautomerengemisch **3b** + **4b** während Phenylalaninester auch auf diesem Wege nur die Enaminoverbindung **3c** liefert.

Die Enaminoester sind weniger nucleophil als die entsprechenden Aminosäureester, eine Acylierung mit aktivierten Aminosäurederivaten ist jedoch möglich. Die Umsetzung von Boc-Alanin mit **3b** wurde unter Verwendung verschiedener Kupplungsreagentien untersucht: Nach Aktivierung des Boc-Alanins durch Überführung in den *N*-Hydroxysuccinimidester konnte kein Umsatz beobachtet werden, mit Dicyclohexylcarbodiimid war die Ausbeute niedrig. Ein besseres Ergebnis wurde über das gemischte Anhydrid mit Kohlensäure-isobutylester erhalten, wobei die Ausbeute 38% betrug.

Versuche, Boc-Alaninester und Boc-Aminobuttersäureester nach der Reaktionsfolge **1** → **2** → **3** umzusetzen, ergeben nach der Abspaltung der Schutzgruppen, wahrscheinlich wegen der fehlenden sterischen Hinderung an der α,β -Doppelbindung, nur polymere Produkte.

Aus den Destillationsrückständen der Enaminoester **3a**–**c** können Imidazolinone der Konstitution **7a**–**c** als Dimerisierungsprodukte isoliert werden. Besonders leicht dimerisieren die α -Iminosäurederivate **4a**, **5** und **6**, die quantitativ in die Imidazolinone **7a**, **d** und **e** umgewandelt werden, wenn man sie bei Raumtemperatur über Nacht stehen läßt. Es dürfte schwierig sein, den Mechanismus dieser Reaktion aufzuklären, da keine Zwischenprodukte isoliert werden konnten. *Shin*, der die Dimerisierung von 2-Iminoisovaleriansäure-äthylester zu **7f** beschrieben hat^{9a)}, formulierte den ersten Teilschritt dieser Reaktion als nucleophilen Angriff eines Imino-Stickstoffs an der Carboxylgruppe des Reaktionspartners (Weg A). Wahrscheinlicher ist aber, daß primär Addition zu einem Aminal erfolgt (Weg B), welches durch intramolekulare Amidbildung **7** liefert. Für einen derartigen Reaktionsweg spricht, daß Methylester **4a** und *tert*-Butylester **6** mit vergleichbarer Geschwindigkeit dimerisieren.



Die zur Aufnahme der 100-MHz-NMR-Spektren und der Massenspektren verwendeten Geräte wurden aus Mitteln des *Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* angeschafft.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Heizmikroskop nach Kofler bestimmt und sind nicht korrigiert. NMR-Spektren: Spektrometer der Fa. Varian, Modell A 60-A und XL-100, CDCl_3 als Lösungsmittel und TMS als innerer Standard, wenn nicht anders angeführt. Massenspektren: CH-7 Massenspektrometer der Fa. Varian MAT, Elektronenenergie 70 eV, Ionenquellentemperatur 150°C.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Boc- α -Methoxyaminosäurederivate 2a–d: Zu einer eisgekühlten Lösung von 40.0 mmol Boc-Aminosäure-methylester in 200 ml absol. Äther fügt man 6.0 g (55.6 mmol) *tert*-Butylhypochlorit und dann tropfenweise eine Lösung von 1.30 g (57 mmol) Natrium in 100 ml Methanol. Nach beendeter Zugabe entfernt man das Eisbad und läßt 1 h nachrühren. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen und mit stark verd. Salzsäure, gefolgt von gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung, gewaschen. Nach Abziehen des Methylenchlorids wird der Rückstand i. Hochvak. im Kugelrohr destilliert.

α -Boc-Amino- α -methoxyisovaleriansäure-methylester (2a): Farblose Kristalle vom Schmp. 52–55°C (Petroläther), Ausb. 94%. – $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 0.92$ ppm (d, $J = 7$ Hz, 3H), 1.00 (d, $J = 7$ Hz, 3H), 1.48 (s, 9H), 2.22–2.70 (m, 1H), 3.34 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 5.48 (breites s 1H).

$\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ (261.3) Ber. C 55.15 H 8.87 N 5.36 Gef. C 55.12 H 8.71 N 5.47

α -Boc-Amino- α -methoxysocaprinsäure-methylester (2b): Farbloses Öl, Badtemp. bei Kugelrohrdestillation i. Hochvak. 120°C, Ausb. 98%. – $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 0.86$ ppm (d, $J = 6$ Hz, 3H), 0.90 (d, $J = 6$ Hz, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.22–2.60 (m, 3H), 3.20 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 5.86 (breites s, 1H).

$\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{NO}_5$ (275.3) Ber. C 56.70 H 9.15 N 5.09 Gef. C 56.50 H 9.19 N 5.30

α -Boc-Amino- α -methoxy- β -phenylpropionsäure-methylester (2c): Farblose Kristalle, Schmp. 50–53°C (Petroläther), Ausb. 76%. – $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 1.48$ ppm (s, 9H), 3.10–3.90 (m, 2H), 3.25 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 5.68 (breites s, 1H), 7.02–7.30 (m, 5H).

$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ (309.4) Ber. C 62.12 H 7.49 N 4.53 Gef. C 62.38 H 7.39 N 4.45

α -Boc-Amino- α -methoxybuttersäure-methylester (2d): Farblose Kristalle, Schmp. 41–43°C (Petroläther), Ausb. 87%. – $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 0.81$ ppm (t, $J = 8$ Hz, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.62–2.60 (m, 2H), 3.24 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 5.66 (breites s, 1H).

$\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ (247.3) Ber. C 53.42 H 8.56 N 5.66 Gef. C 53.31 H 8.48 N 5.75

α,β -Dehydrovalin-methylester (3a): Man löst 3.0 g **2a** in 50 ml absol. Äther und sättigt unter Eiskühlung mit trockenem Chlorwasserstoff. Am anderen Morgen wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der kristalline Rückstand (ca. 1.9 g) wird mehrfach mit absol. Äther digeriert und i. Vak. getrocknet. Zur Freisetzung von **3a** löst man 1.8 g Hydrochlorid in 15 ml Methylenchlorid und leitet unter Eiskühlung trockenes Ammoniakgas bis zur Sättigung ein. Man saugt vom ausgefallenen NH_4Cl ab, dampft das Lösungsmittel am Rotavapor ab und destilliert das zurückbleibende Öl zunächst im Kugelrohr (11 Torr) und anschließend in einer Claisen-Brücke. Ausb. 1.2 g (86%), Sdp. 76°C/11 Torr. – $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 1.76$ ppm (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 3.24 (breites s, 2H), 3.76 (s, 3H).

$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_2$ (129.2) Ber. C 55.79 H 8.59 N 10.85 Gef. C 56.11 H 8.73 N 10.51

α,β -Dehydroleucin-methylester (3b) (+ isomerer 2-Iminoisocaprinsäure-methylester) (4b): 2.75 g **2b** werden behandelt, wie unter **3a** beschrieben. Man erhält 1.70 g (95%) kristallines Hydro-

chlorid. Durch Behandeln mit Ammoniak erhält man daraus 0.60 g (44%) des Gemisches **3b** + **4b** Sdp. 78–80°C/11 Torr. Auch nach mehrfacher Destillation ist das Gemisch nicht analysenrein.

¹H-NMR: Enaminoester (ca. 60% Anteil): $\delta = 1.06$ ppm (d, $J = 6$ Hz, 6H), 1.92–2.66 (m, 1H), 3.42 (breites s, 2H), 3.78 (s, 3H), 5.48 (d, $J = 9$ Hz, 1H). Iminoester (ca. 40% Anteil): $\delta = 0.98$ ppm (d, $J = 6$ Hz, 6H), 2.32–2.66 (m, 1H), 2.72 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 11.08 (breites s, 1H).

α,β -Dehydrophenylalanin-methylester (3c)

a) 4.8 g **2c** werden mit Chlorwasserstoff in absol. Äther umgesetzt, wie unter **3a** beschrieben. Man erhält 2.88 g (87%) Hydrochlorid als gelbliche Kristalle. Weiterbehandlung mit Ammoniak in Methylenchlorid ergibt ein gelbes Öl, welches mehrfach mit Petroläther digeriert wird. Nach Einengen der vereinigten Petrolätherextrakte erhält man farblose Kristalle, die durch Kugelrohrdestillation (Badtemp. 110°C/0.1 Torr) weiter gereinigt werden können. Schmp. 37–38°C (Petroläther), Ausb. 1.15 g (42%, bezogen auf eingesetztes **2c**). – ¹H-NMR: $\delta = 3.84$ ppm (s, 3H), 4.22 (breites s, 2H), 6.46 (s, 1H), 7.04–7.56 (m, 5H).

$C_{10}H_{11}NO_2$ (177.2) Ber. C 67.78 H 6.26 N 7.91 Gef. C 67.43 H 6.02 N 7.76

b) Zu einer eisgekühlten Lösung von 3.58 g (20.0 mmol) Phenylalanin-methylester in 50 ml absol. Äther tropft man langsam 2.3 g (21.3 mmol) *tert*-Butylhypochlorit. Nach 5 min kühlt man auf –10°C ab und tropft 3.04 g (20.0 mmol) DBU¹⁰⁾ ein. Man rührt kurze Zeit nach, filtriert rasch vom ausgefallenen DBU · HCl ab und engt vorsichtig i. Vak. ein. Das zurückbleibende Öl wird mit Petroläther (Siedebereich 30/40°C) extrahiert. Nach Entfernen des Petroläthers wird der Rückstand im Kugelrohr (Badtemp. 110°C/0.1 Torr) destilliert. Man erhält 0.95 g (27%) **3c**.

Boc-Alanyl- α,β -dehydroleucin-methylester: Eine auf –10°C gekühlte Lösung von 1.89 g (10.0 mmol) Boc-Alanin in 40 ml Chloroform wird unter Rühren mit 1.01 g (10.0 mmol) Triäthylamin und anschließend mit 1.37 g (10.0 mmol) Chlorameisensäure-isobutylester versetzt. Nach 15 min werden 1.80 g (10.0 mmol) des Hydrochlorids von **3b** + **4b**, gefolgt von 1.1 g (11.0 mmol) Triäthylamin, eingerührt. Man entfernt das Kühlbad und läßt über Nacht bei Raumtemp. stehen. Nach Waschen der Reaktionslösung mit verd. Salzsäure, gefolgt von gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung, wird i. Hochvak. im Kugelrohr (Badtemp. 150°C) destilliert. Man erhält 1.20 g (38%) öliges Kupplungsprodukt.

¹H-NMR: $\delta = 1.0$ ppm (d, $J = 7$ Hz, 6H), 1.36 (d, $J = 7$ Hz, 3H), 1.40 (s, 9H), 2.20–2.78 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.94–4.48 (m, 1H), 5.30 (breites d, 1H), 6.44 (d, $J = 10$ Hz, 1H), 7.70 (breites s, 1H).

2,4-Diisopropyl-5-oxo-3-imidazolin-2-carbonsäure-methylester (7a)

a) Der Rückstand nach der Destillation von **3a** wird bei 0.01 Torr i. Hochvak. destilliert.

b) Man läßt den Iminoester **4a** über Nacht bei Raumtemp. stehen. Destillation liefert 81% **7a**. Farblose Kristalle, Schmp. 59–61°C.

¹H-NMR: $\delta = 0.75$ ppm (d, $J = 7$ Hz, 3H), 1.00 (d, $J = 7$ Hz, 3H), 1.28 (d, $J = 7$ Hz, 6H), 2.35–3.53 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 9.05 (breites s, 1H). – MS: $m/e = 226$ (M^+ , 5%), 211 (7), 184 (19), 169 (50), 167 (65), 124 (41), 70 (100).

$C_{11}H_{18}N_2O_3$ (226.3) Ber. C 58.39 H 8.02 N 12.38 Gef. C 58.61 H 7.83 N 12.66

2,4-Diisobutyl-5-oxo-3-imidazolin-2-carbonsäure-methylester (7b): Der Destillationsrückstand von **3b** wird i. Hochvak. destilliert. Farblose Kristalle, Schmp. 30–32°C. – ¹H-NMR: $\delta = 0.82$ –1.10 ppm (m, 12H), 1.44–2.68 (m, 6H), 3.78 (s, 3H), 9.00 (breites s, 1H). – MS: $m/e = 254$ (M^+ , 3%), 239 (5), 211 (35), 195 (95), 153 (100), 84 (72).

$C_{13}H_{22}N_2O_3$ (254.3) Ber. C 61.39 H 8.72 N 11.02 Gef. C 61.25 H 8.68 N 11.30

¹⁰⁾ DBU = 1,5-Diazabicyclo[5.4.0]undec-5-en.

2,4-Dibenzyl-5-oxo-3-imidazolin-2-carbonsäure-methylester (7c): Der Destillationsrückstand von **3c** kristallisiert beim Verreiben mit Ether. Farblose Kristalle, Schmp. 116–120°C. – ¹H-NMR: $\delta = 3.38$ ppm (AB-q, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.80 (s, 2H), 6.88–7.38 (m, 10H), 8.42 (breites s, 1H). – MS: $m/e = 322$ (M⁺, 12%), 305 (2), 263 (3), 231 (4), 220 (4), 91 (100).

C₁₉H₁₈N₂O₃ (322.3) Ber. C 70.79 H 5.63 N 8.69 Gef. C 71.00 H 5.77 N 8.85

2,4-Diisopropyl-5-oxo-3-imidazolin-2-carbonsäure-methylamid (7d): Eintägiges Stehenlassen von 2-Iminoisovaleriansäure-methylamid (**5**) liefert nach Kugelrohrdestillation i. Hochvak. 76% **7d**. Farblose Kristalle, Schmp. 159–161°C. – ¹H-NMR: $\delta = 0.82$ ppm (d, $J = 7$ Hz, 3H), 0.96 (d, $J = 7$ Hz, 3H), 1.26 (d, $J = 7$ Hz, 6H), 2.20–3.26 (m, 2H), 2.84 (d, $J = 5$ Hz, 3H), 6.34 (breites s, 1H), 8.50 (breites s, 1H). – MS: M⁺ nicht nachweisbar, 173 (2%), 172 (2), 168 (38), 153 (100).

C₁₁H₁₉N₃O₂ (225.3) Ber. C 58.64 H 8.50 N 18.65 Gef. C 58.47 H 8.59 N 19.00

2,4-Diisopropyl-5-oxo-3-imidazolin-2-carbonsäure-tert-butylester (7e): Man läßt 2-Iminoisovaleriansäure-tert-butylester (**6**) bei Raumtemp. stehen und destilliert dann i. Hochvak. Farblose Kristalle, Schmp. 63–65°C. – ¹H-NMR: $\delta = 0.76$ ppm (d, $J = 7$ Hz, 3H), 0.98 (d, $J = 7$ Hz, 3H), 1.28 (d, $J = 7$ Hz, 6H), 1.48 (s, 9H), 2.44–3.28 (m, 2H), 8.76 (breites s, 1H). – MS: $m/e = 268$ (M⁺, <0.1%), 168 (6), 167 (8), 153 (9), 70 (9), 57 (100).

C₁₄H₂₄N₂O₃ (268.3) Ber. C 62.66 H 9.02 N 10.44 Gef. C 62.60 H 9.19 N 10.18

[83/76]