

## Dichlortris(dimethylamino)phosphoran als Dehydratisierungsreagenz zur Darstellung von Aktiv(-ONp, -OPcp, -ONSu)-estern *N*-geschützter multifunktionaler Aminosäuren<sup>1)</sup>

Rolf Appel\* und Ursula Gläsel

Anorganisch-Chemisches Institut der Universität Bonn,  
Gerhard-Domagk-Str. 1, D-5300 Bonn 1

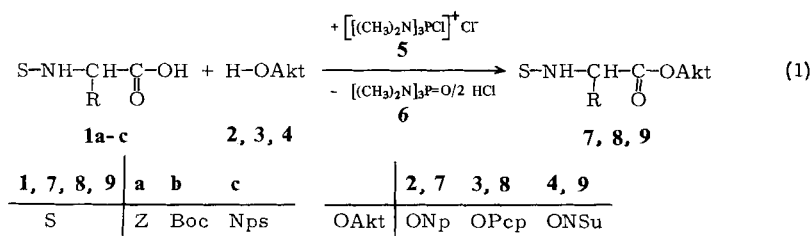
Eingegangen am 18. Februar 1980

Dichlortris(dimethylamino)phosphoran (**5**) eignet sich hervorragend zur Darstellung der *N*-geschützten Aminosäureaktivester **7–9**. Neben 4-Nitrophenyl-, Pentachlorphenyl- und *N*-Hydroxysuccinimidestern verschiedener *N*-geschützter Aminosäuren konnte erstmals unter HOBt-Zusatz der Benzyloxycarbonyl-threonin-*N*-hydroxysuccinimidester erhalten werden.

### Dichlortris(dimethylamino)phosphorane as Dehydration Reagent for the Preparation of Activated (-ONp, -OPcp, -ONSu)Esters of *N*-Protected Multifunctional Amino Acids<sup>1)</sup>

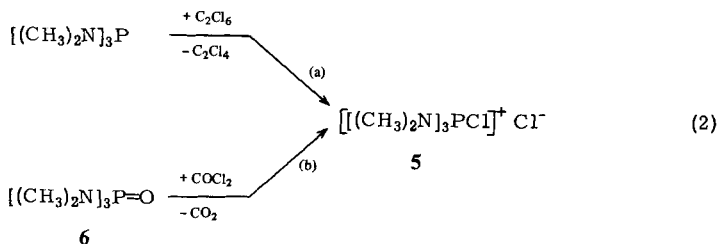
Dichlortris(dimethylamino)phosphorane (**5**) is an excellent reagent for the preparation of the activated esters of *N*-protected amino acids **7–9**. Besides 4-nitrophenyl-, pentachlorophenyl-, and *N*-hydroxysuccinimide esters of various *N*-protected amino acids, in the presence of HOBt benzyloxycarbonyl-threonine *N*-hydroxysuccinimide ester was obtained for the first time.

Dichlortris(dimethylamino)phosphoran (**5**)<sup>2,3)</sup> und dessen salzartige Derivate<sup>4)</sup> konnten erfolgreich als schonendes wohlfeiles Peptidknüpfungsreagenz eingesetzt werden. Seine analoge Verwendung als Dehydratisierungsmittel zur Darstellung der für die Peptidsynthese wichtigen Aktivester *N*-geschützter Aminosäuren lag daher nahe (Gl. (1)).



Im Unterschied zum THH-Verfahren<sup>1,2)</sup>, bei dem der Zusatz von 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) erforderlich ist, kann zur Synthese der 4-Nitrophenyl- (-ONp) (**7**) und Pentachlorphenylester (-OPcp) (**8**) auf HOBt verzichtet werden, da auch ohne HOBt-Zusatz die Aktivester der *Z*-, Boc- und Nps-geschützten Aminosäuren racemisierungsfrei und in hohen Ausbeuten anfallen (Tab. 1). Nur bei den *N*-Hydroxysuccinimidestern (-ONSu) (**9**) ist ein Zusatz von HOBt erforderlich.

**5** kann durch Einwirkung von Hexachlorethan auf Tris(dimethylamino)phosphan<sup>5)</sup> (Gl. (2a)) oder, wie es sich im Rahmen dieser Untersuchung als günstiger erwies, durch Reaktion von Phosgen mit Hexamethylphosphorsäuretriamid (HMPT) (**6**)<sup>4,6)</sup> gewonnen werden (Gl. (2b)).



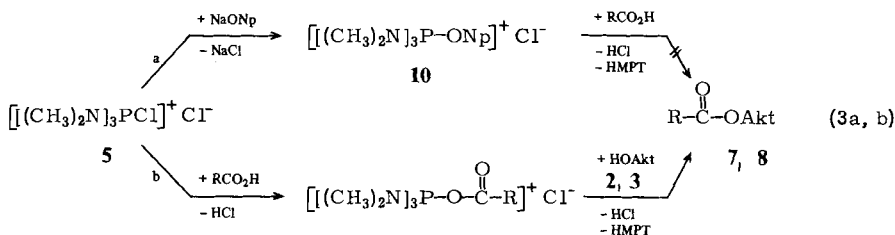
Das nach beiden Methoden erhaltene **5** ist unter Feuchtigkeitsausschluß unbegrenzt haltbar.

Nach dem hier angegebenen milden Verfahren ließen sich auch die bisher nur von *Mukaiyama* (Oxidations-Reduktions-Kondensationsmethode<sup>7,6)</sup> beschriebenen Pentachlorphenylester des Benzyloxycarbonyl-asparagins und Benzyloxycarbonyl-glutamins ohne Nitrilbildung in guter Ausbeute erhalten.

Die Umsetzungen werden im allgemeinen durch Zugabe von **5** zu den bei 0°C vorgelegten Reaktanten durchgeführt. Lediglich die zur Nitrilbildung neigenden Derivate des Asparagins und Glutamins wurden unter Kühlung zur Reaktion gebracht.

Funktionelle Gruppen der eingesetzten *N*-geschützten Aminosäuren, wie z.B. die OH-Gruppe des Serins (Substanz Nr. 7 in Tab. 1) und Threonins (Nr. 8) oder der Pyrrolring des Tryptophans (Nr. 9) werden von **5** nicht angegriffen und müssen daher nicht besonders maskiert werden.

Tab. 1 gibt eine Übersicht der so erhaltenen -ONp- und -OPcp-Aktiverester (**7, 8**) mit ihren charakteristischen Daten.



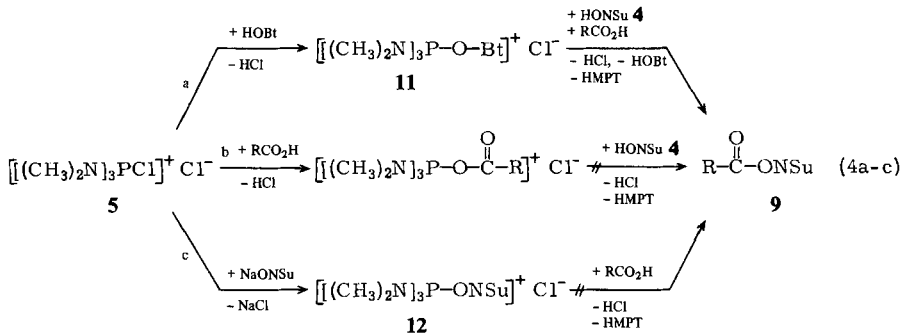
Da bei der Einwirkung des aus **5** und **2** vorgebildeten Aryloxyphosphoniumsalzes (**10**) auf die *N*-geschützte Aminosäure keine Reaktion festgestellt werden konnte, nehmen wir an, daß die Esterbildung über eine Aktivierung der Carboxylfunktion der Aminosäure verläuft (Gl. (3b)).

Für den Reaktionsablauf unter Zusatz von HOBT wurde das Zwischenprodukt **11** spektroskopisch nachgewiesen<sup>2)</sup> (Gl. (4a)).

Tab. 1. Präparative und analytische Daten der dargestellten 4-Nitrophenyl- und Pentachlorphenylester

Nr.	Aktivester	Ausbeute % (Lit.)	Schmp. °C (Lit.)	$[\alpha]_D$ Grad	Lit. Grad
1	Z-Ala-ONp	94 (58)	77–78 (79–79.5) <sup>8)</sup>	–37.4 (25 °C, c = 1, EE) <sup>a)</sup>	–38.1 (25 °C, c = 1, EE) <sup>8)</sup>
2	Z-Pro-ONp	88 (68)	93–95 (94–96) <sup>9)</sup>	–66.8 (20 °C, c = 2, DMF) <sup>b)</sup>	–68.0 (20 °C, c = 2, DMF) <sup>9)</sup>
3	Z-Val-ONp	90 (60)	65–68 (62–64) <sup>10)</sup>	–24.4 (23 °C, c = 2, DMF) <sup>b)</sup>	–25.0 (23 °C, c = 2, DMF) <sup>10)</sup>
4	Z-Gln-ONp	63 (59)	147–150 (155–156) <sup>9)</sup>	–24.5 (20 °C, c = 2, DMF) <sup>b)</sup>	–24.0 (20 °C, c = 2, DMF) <sup>9)</sup>
5	Nps-Phe-ONp	64 (61)	115–117 (116–118) <sup>11)</sup>	–114.2 (20 °C, c = 3, DMF) <sup>b)</sup>	–115.5 (–, c = 3, DMF) <sup>11)</sup>
6	Z-Phe-OPcp	84 (86)	154–156 (157.5–158) <sup>7)</sup>	–52.1 (24 °C, c = 1, DMF) <sup>b)</sup>	–51.4 (24 °C, c = 1, DMF) <sup>7)</sup>
7	Z-Ser-OPcp	62 (62)	185–189 (191–192) <sup>12)</sup>	–23.4 (25 °C, c = 1, DMF) <sup>b)</sup>	–23.6 (25 °C, c = 1, DMF) <sup>12)</sup>
8	Z-Thr-OPcp	52 (50)	158–160 (162–164) <sup>13)</sup>	–20.4 (20 °C, c = 1, DMF) <sup>b)</sup>	–20.0 (20 °C, c = 1, DMF) <sup>13)</sup>
9	Z-Trp-OPcp	88 (–)	165–167 (167–169) <sup>12)</sup>	–56.6 (26 °C, c = 0.9, CHCl <sub>3</sub> )	–57.2 (26.5 °C, c = 0.9, CHCl <sub>3</sub> ) <sup>12)</sup>
10	Z-Asn-OPcp	68 (74)	154–157 (167–168.5) <sup>7)</sup>	–25.0 (20 °C, c = 1, DMF) <sup>b)</sup>	–26.7 (20 °C, c = 1, DMF) <sup>7)</sup>
11	Z-Gln-OPcp	79 (72)	176–179 (182–184.5) <sup>7)</sup>	–15.8 (20 °C, c = 1, DMF) <sup>b)</sup>	–17.3 (20 °C, c = 1, DMF) <sup>7)</sup>
12	Boc-Met-OPcp	73 (–)	134–136 (138–139) <sup>14)</sup>	–41.1 (20 °C, c = 0.8, EtOH)	–42.8 (20 °C, c = 0.8, EtOH) <sup>14)</sup>
13	Boc-Val-OPcp	80 (–)	125–126 (126) <sup>15)</sup>	–37.4 (29 °C, c = 5, EE) <sup>a)</sup>	–38.1 (29 °C, c = 5, EE) <sup>15)</sup>

a) EE = Essigester. – b) DMF = Dimethylformamid.



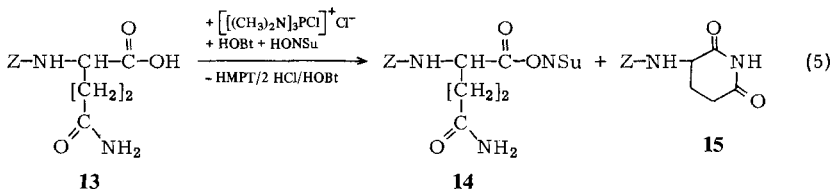
Voraussetzung zur Bildung der *N*-Hydroxysuccinimidester (**9**) ist eine Vorreaktion von **5** mit HOBT zur Schlüsselzwischenstufe **11**. Versuche unter Ausschluß von HOBT (Gln. (4b, c)) führten nur zu einer Vielzahl von ungeklärten Nebenprodukten.

Die allgemeine Anwendbarkeit dieser Methode wird durch Tab. 2 bekräftigt.

Tab. 2. Präparative und analytische Daten der dargestellten *N*-Hydroxysuccinimidester

Nr.	Aktivester	Ausbeute % (Lit.)	Schmp. °C (Lit.)	$[\alpha]_D$ Grad Lit.
14	Z-Ala-ONSu	73 (65)	120–122 (123–123.5) <sup>16)</sup>	–38.1 (27 °C, <i>c</i> = 2, Dioxan) –37.2 (25 °C, <i>c</i> = 2, Dioxan) <sup>16)</sup>
15	Z-Pro-ONSu	77 (78)	88–89 (90) <sup>16)</sup>	–54.5 (25 °C, <i>c</i> = 2, Dioxan) –54.0 (25 °C, <i>c</i> = 2, Dioxan) <sup>16)</sup>
16	Z-Thr-ONSu	55 (–)	98–100 (–)	–20.1 (24 °C, <i>c</i> = 2, Dioxan) –
17	Boc-Met-ONSu	66 (59)	124–126 (128–129) <sup>16)</sup>	–19.6 (25 °C, <i>c</i> = 2, Dioxan) –20.6 (25 °C, <i>c</i> = 2, Dioxan) <sup>16)</sup>

Neben literaturbekannten Aktivestern wurde auf diesem Wege erstmals Benzylloxycarbonyl-threonin-*N*-hydroxysuccinimidester dargestellt. Nur Benzylloxycarbonyl-glutamin-*N*-hydroxysuccinimidester (**14**) ließ sich nicht rein erhalten, da mit der Aktivesterbildung eine intramolekulare Dehydratisierung zu 2-Benzylloxycarbonylamino-glutarimid (**15**)<sup>17)</sup> konkurriert (Gl. (5)).



Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die Förderung dieser Untersuchungen durch eine Sachbeihilfe.

## Experimenteller Teil

Schmp. (nicht korrigiert): Gerät der Fa. Büchi, Flawil/Schweiz. – Drehwerte: Polarimeter 241 der Fa. Perkin-Elmer (thermostatisiertes 10-cm-Rohr). –  $^1\text{H-NMR}$ : Varian A 56/60, 60 MHz, TMS intern. –  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR: Varian CTF 20, 32.2 MHz, 85proz.  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

*Dichlortris(dimethylamino)phosphoran (5)*: 24.7 g (250 mmol) Phosgen werden bei  $0^\circ\text{C}$  in 150 ml wasserfreiem Dichlormethan gelöst, und hierzu werden langsam 44.8 g (250 mmol) HMPT getropft. Man läßt 12 h bei  $0^\circ\text{C}$  nachrühren und fällt **5** mit Ether aus. Die Kristalle werden unter Schutzgas abfiltriert und dreimal mit je 100 ml wasserfreiem Ether nachgewaschen; Ausb. 53.2 g (91%). –  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 3.10$  (d,  $^3J(\text{P-NC-H}) = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ ). –  $^{31}\text{P-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 50.8$ , s.

*Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung von 4-Nitrophenyl(-ONp) und Pentachlorphenylestern (-OPcp) N-geschützter Aminosäuren (7, 8)*

*Methode a)*: Zur Suspension von 10.0 mmol der N-geschützten Aminosäure (**1**) und 10.0 mmol HONp (HOPcp) (**2, 3**) in 20 ml wasserfreiem Dichlormethan gibt man bei  $0^\circ\text{C}$  22.0 mmol N-Ethylmorpholin und läßt dann langsam die Lösung von 11.0 mmol **5** in 10 ml wasserfreiem Dichlormethan zutropfen. Nach 2 h bei  $0^\circ\text{C}$  wird über Nacht bei Raumtemp. nachgerührt und das Lösungsmittel i. Vak. abgezogen. Der Rückstand wird in Essigester/Wasser aufgenommen, die Lösung mit 10proz. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung ausgewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abziehen des Lösungsmittels i. Vak. wird der Rückstand aus Ethanol oder Isopropylalkohol umkristallisiert.

Alternativ wird Substanz Nr. 4 (Tab. 1) bei  $-20^\circ\text{C}$  in DMF dargestellt und direkt aus der Reaktionslösung mit Wasser ausgefällt.

Des weiteren werden die Aktivester Nr. 10 und 11 (Tab. 1) bei  $-20^\circ\text{C}$  in Aceton erhalten. Sie fallen nach Beendigung der Reaktion aus dem Reaktionsgemisch aus, werden abfiltriert und nach intensivem Waschen mit Wasser i. Vak. nachgetrocknet.

*Methode b)*: 11.0 mmol **5** werden in 10 ml wasserfreiem Dichlormethan gelöst und 11.0 mmol HOBt bei Raumtemp. zugesetzt. Nach Auflösung des HOBt wird die Lösung bei  $0^\circ\text{C}$  zu dem Gemisch aus 10.0 mmol **1**, 10.0 mmol HONp bzw. HOPcp (**2, 3**) und 22.0 mmol N-Ethylmorpholin in 20 ml Dichlormethan gegeben. Nach 2 h bei  $0^\circ\text{C}$  und anschließendem Rühren über Nacht bei Raumtemp. wird nach Methode a) aufgearbeitet.

*Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung von N-Hydroxysuccinimidestern N-geschützter Aminosäuren (9)*: Unter Verwendung von HONSu (**4**) anstelle von **2, 3** wird, wie unter Methode b) ausgeführt, gearbeitet.

*Benzoyloxycarbonyl-threonin-N-hydroxysuccinimidester*: Der Ester wird aus Isopropylalkohol umkristallisiert; Ausb. 1.92 g (55%), Schmp.  $98 - 100^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -20.1^\circ$  ( $c = 2$ , Dioxan),  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -32.2^\circ$  ( $c = 1$ , Methanol).

$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7$  (350.2) Ber. C 54.87 H 5.18 N 8.00 Gef. C 54.57 H 5.40 N 7.80

*Tris(dimethylamino)(4-nitrophenoxy)phosphoniumchlorid (10)*: Die Suspension von 10.0 mmol **5** und 10.0 mmol Natrium-4-nitrophenolat (wasserfrei) in 40 ml wasserfreiem Dichlormethan wird bei  $0^\circ\text{C}$  3 h gerührt, wobei sich die Reaktionsmischung entfärbt. Danach filtriert man unter Schutzgas vom ausgefallenen Natriumchlorid ab und erhält nach Einengen i. Vak. ein Öl, das ohne Umkristallisieren eingesetzt wird. –  $^{31}\text{P-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 31.7$ , s.

*Umsetzungen von 10 mit N-geschützten Aminosäuren (1)*: 10.0 mmol **1** in 20 ml wasserfreiem Dichlormethan wird bei  $0^\circ\text{C}$  mit 11.0 mmol einer 1 M Lösung von **10** in wasserfreiem Dichlormethan unter Zusatz von 11.0 mmol N-Ethylmorpholin versetzt. Es wird über Nacht bei Raum-

temp. nachgerührt. Weder spektroskopisch noch präparativ kann eine Umsetzung von **10** zu den entsprechenden Aktivestern nachgewiesen werden.

*Versuche zur Darstellung von N-Hydroxysuccinimidestern N-geschützter Aminosäuren (9) mit 5 ohne HOBt-Zusatz:* Die Versuche werden wie unter Methode a) angegeben mit 10.0 mmol HONSu (**4**) anstatt **2**, **3** durchgeführt. Es konnten in keinem Falle Aktivester isoliert werden. Aus Benzoyloxycarbonyl-glutamin (**13**) wird **15** erhalten; Ausb. 1.11 g (42%), Schmp. 120–122 °C (Lit.<sup>17</sup>) 122–124 °C, Lit.<sup>18</sup>) 129–131 °C, Lit.<sup>19</sup>) 134–136 °C),  $[\alpha]_D^{24} = -62.5^\circ$  ( $c = 1$ , Methanol),  $[\alpha]_D^{24} = -73.0^\circ$  ( $c = 1$ , DMF) (Lit.<sup>17</sup>)  $[\alpha]_D^{24} = -62.3^\circ$  ( $c = 1$ , Methanol),  $[\alpha]_D^{24} = -70.5^\circ$  ( $c = 1$ , DMF), Lit.<sup>18</sup>)  $[\alpha]_D^{24} = -35.3^\circ$  ( $c = 1$ , Methanol)).

$C_{13}H_{14}N_2O_4$  (262.3) Ber. C 59.52 H 5.39 N 10.68 Gef. C 59.25 H 5.45 N 10.68

*Umsetzung von 5 mit dem Natriumsalz von N-Hydroxysuccinimid (4):* Die Suspension von 10.0 mmol **5** und 10.0 mmol Natriumsalz von **4** in wasserfreiem Dichlormethan wird bei 0 °C kurzzeitig und weitere 3 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird vom ausgefallenen Natriumchlorid unter Schutzgas abfiltriert. <sup>31</sup>P-NMR (CDCl<sub>3</sub>): **5**:  $\delta = 50.9$ , **12**:  $\delta = 39.1$ , **6**:  $\delta = 23.8$ . Die Verbindungen liegen nach <sup>31</sup>P-NMR-Spektren in ungefähr gleichen Anteilen vor. Weder durch Verlängern der Reaktionszeit noch durch Erhitzen unter Rückfluß kann die Bildung von **12** vervollständigt werden, hier kann die Aktivesterbildung ebenfalls präparativ nicht nachgewiesen werden (Aufarbeitung analog Umsetzung von **10** mit **1**).

## Literatur

- 1) 9. Mitteilung über phosphororganische Peptidknüpfungsreagentien; 8. Mittel.: siehe Lit.<sup>3</sup>).
- 2) R. Appel und L. Willms, Chem. Ber. **112**, 1057 (1979).
- 3) R. Appel und L. Willms, Chem. Ber. **112**, 1064 (1979).
- 4) B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin und C. Selve, Tetrahedron Lett. **1975**, 1219; Synthesis **11**, 751 (1976).
- 5) R. Appel und H. Schöler, Chem. Ber. **110**, 2382 (1977).
- 6) BASF A.-G. (Erf. R. Appel und G. Heinzelmann) German. Pat. 1192205 (6. Mai 1965) [Chem. Abstr. **63**, 8405 (1965)].
- 7) T. Mukaiyama, K. Goto, R. Matsueda und M. Ueki, Tetrahedron Lett. **1970**, 5293.
- 8) M. Goodman und K. C. Stueben, J. Am. Chem. Soc. **81**, 3980 (1959).
- 9) M. Bodanszky und V. du Vigneaud, J. Am. Chem. Soc. **81**, 5688 (1959).
- 10) M. Itoh, Chem. Pharm. Bull. **18**, 784 (1970).
- 11) L. Zervas, D. Borovas und E. Gazis, J. Am. Chem. Soc. **85**, 3660 (1963).
- 12) J. Kovacs, M. Q. Ceprini, C. A. Dupraz und G. N. Schmit, J. Org. Chem. **32**, 3696 (1967).
- 13) S. Visser, J. Roeloffs, K. E. T. Kerling und E. Havinga, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas **87**, 559 (1968).
- 14) M. Guarneri, C. Benassi, R. Ferroni, A. Guggi, R. Tomatis und R. Rocchi, Gazz. Chim. Ital. **101**, 375 (1971).
- 15) B. J. Johnson und E. G. Trask, J. Org. Chem. **33**, 4521 (1968).
- 16) G. W. Anderson, J. E. Zimmermann und F. M. Callahan, J. Am. Chem. Soc. **86**, 1839 (1964).
- 17) H. Zahn und E. Th. J. Fölsche, Chem. Ber. **102**, 2158 (1969).
- 18) Daiippon Pharmaceutical Co., Ltd. (Erf. S. Ose und H. Takamatsu), Japan. Pat. 14610 (1961) [Chem. Abstr. **56**, 9976e (1962)].
- 19) E. Sondheimer und R. W. Holley, J. Am. Chem. Soc. **79**, 3767 (1957).