

SUMMARY

The photochemical cyclisation of 11-keto steroids to 11 β ,19-cyclo-11-hydroxy compounds is strongly influenced by steric factors. The presence of a *gem*-dimethyl group at C-4 gives rise to a marked improvement in the yield of the cyclic product. The nature of this steric interaction is briefly discussed.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

176. Über die Geschwindigkeit der Aminolyse von verschiedenen neuen, aktivierten, N-geschützten α -Aminosäure-phenylestern, insbesondere 2,4,5-Trichlorphenylestern¹⁾

von J. Pless und R. A. Boissonnas

(22. V. 63)

Um das Risiko einer Razemisierung weitgehend zu vermeiden, benützt man bei den Peptidsynthesen vorzugsweise diejenigen Wege, bei welchen die Peptidkette vom Carboxylende her aufgebaut wird, wobei man jeweils die endständige Aminogruppe mit einem reaktionsfähigen Derivat einer N-CBO-Aminosäure kondensiert²⁾³⁾. Als reaktionsfähige Derivate von N-CBO-Aminosäuren haben sich während der letzten Jahre die *p*-Nitrophenylester⁴⁾ besonders bewährt. Um diese mit anderen, neuen, reaktionsfähigen substituierten Phenylestern von N-geschützten Aminosäuren vergleichen zu können, haben wir eine systematische Untersuchung über die Geschwindigkeit der Reaktion aller dieser Derivate mit Aminen durchgeführt.

Zunächst haben wir eine Serie von substituierten, meistens neuen, Phenylestern des N-CBO-L-Phenylalanins hergestellt (Strukturen s. Tabelle 1; Eigenschaften s. Tabelle 10). Die *Tabelle 1* enthält auch die Reaktionsgeschwindigkeiten dieser Ester (ausgedrückt als Halbwertszeit) mit einem Überschuss von Benzylamin in Dioxan-Wasser (8:2)⁵⁾. Vergleicht man diese Reaktionsgeschwindigkeiten mit den Dissoziationskonstanten der bei dieser Reaktion freigesetzten Phenole, so bemerkt man, dass zwischen Reaktionsfähigkeit und Dissoziationskonstante bzw. zwischen Halb-

1) Eine erste Übersicht über diese Versuche wurde durch einen von uns (J. P.) am 5. Europäischen Peptid-Symposium (3.–7. Sept. 1962) in Oxford mitgeteilt. Pergamon Press (im Druck).

2) R. A. BOISSONNAS, St. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD & J.-P. WALLER, *Helv.* **38**, 1491 (1955).

3) M. BODANSZKY & V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 2504 (1959).

4) M. BODANSZKY, *Nature* **175**, 685 (1955).

5) Die spektrophotometrischen Messungen der Reaktionsgeschwindigkeiten wurden in unserer physikalisch-chemischen Abteilung von den Herren Dres. K. STICH und H. G. LEEMANN, die die angewandte Methodik in einer nachstehenden Arbeit beschreiben werden, vorgenommen. Die Reaktionen wurden stets in Anwesenheit eines 100fachen Überschusses der Aminokomponente durchgeführt, um eine Reaktionskinetik erster Ordnung zu gewährleisten. Um eine optische Verfolgung der Reaktion zu ermöglichen, wurde mit niedrigeren Konzentrationen gearbeitet, als dies sonst in der Peptidchemie üblich ist. Daher sind die hier beobachteten Reaktionszeiten viel grösser als unter normalen Konzentrationsbedingungen.

Tabelle 1. Reaktion von verschiedenen *N*-CBO-L-Phenylalanin-phenylestern ($c = 10^{-4}$ M) mit Benzylamin ($c = 10^{-2}$ M) in Dioxan-Wasser (8:2) bei 25°

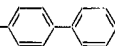









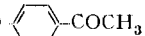


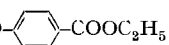



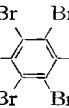

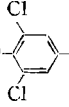


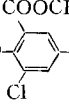
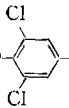
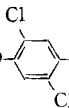
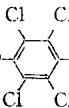
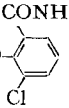
Nr.	Verbindung	pK der Phenolkomponente	Halbwertszeit der Reaktion in Min.
I	CBO-Phe-O- 	12,41	> 1000
II	CBO-Phe-O- 	12,20	> 1000
III	CBO-Phe-O- 	11,60	700
IV	CBO-Phe-O- 	11,52	555
V	CBO-Phe-O- 	11,88	390
VI	CBO-Phe-O- 	11,50	360
VII	CBO-Phe-O- 	8,39	353
VIII	CBO-Phe-O- 	10,86	305
IX	CBO-Phe-O- 	11,50	266
X	CBO-Phe-O- 	10,88	171
XI	CBO-Phe-O- 	10,62	157
XII	CBO-Phe-O- 	8,43	72
XIII	CBO-Phe-O- 	10,42	44,5
XIV	CBO-Phe-O- 	11,18	42,0
XV	CBO-Phe-O- 	10,49	35,5

Tabelle 1 Fortsetzung

Nr.	Verbindung	pK der Phenolkomponente	Halbwertszeit der Reaktion in Min.
XVI	CBO-Phe-O- 	10,49	33,6
XVII	CBO-Phe-O- 	9,85	31,0
XVIII	CBO-Phe-O- 	6,19	28,7
XIX	CBO-Phe-O- 	11,90	22,0
XX	CBO-Phe-O- 	8,56	19,3
XXI	CBO-Phe-O- 	9,27	5,3
XXII	CBO-Phe-O- 	8,36	4,3
XXIII	CBO-Phe-O- 	10,10	4,2
XXIV	CBO-Phe-O- 	7,10	4,1
XXV	CBO-Phe-O- 	9,45	3,3
XXVI	CBO-Phe-O- 	6,87	2,4
XXVII	CBO-Phe-O- 	10,11	1,2

wertszeit der Reaktion und pK-Wert Parallelität besteht. Ausnahmen bilden die Fälle VII, XII, XVIII, XX, XXIV, XXVI, wo beide *ortho*-Stellungen in Bezug auf die phenolische Hydroxylgruppe durch Substituenten mit besonders grossem Raumbedarf besetzt sind. Die daraus resultierende sterische Hinderung nimmt erwartungsgemäss in der Reihenfolge $\text{Cl} < \text{Br} < \text{I}$ zu.

Die Parallelität zwischen der Reaktionsfähigkeit der Ester und der Dissoziationskonstante des entsprechenden Phenols ist leicht erklärbar, denn dieselben elektronischen Effekte (induktiv und mesomer), die das Phenolat-Ion durch Verteilung der vom Sauerstoff getragenen negativen Ladung stabilisieren, begünstigen in gleichem Masse die elektrophile Reaktionsfähigkeit des Carbonylkohlenstoffs der Esterfunktion.

Der aktivierende Einfluss eines einzelnen Chlorsubstituenten in verschiedenen Stellungen am Phenolkern wächst in der Reihenfolge $p < m < o$. Die Einflüsse von mehreren Halogensubstituenten addieren sich, sofern die bereits erwähnte sterische Hinderung nicht entgegenwirkt. Ein Vergleich der Reaktionsgeschwindigkeit von III mit XIV, von XV mit XIX, und von XX mit XXIII und XXIV zeigt, dass eine Carbomethoxy- bzw. Carbäthoxy-Gruppe sowohl in *para*- wie in *ortho*-Stellung stärker aktivierend wirkt als ein Chloratom in denselben Stellungen. Der stark aktivierende Einfluss der *p*-Nitrosogruppe (XXII) ist nur von theoretischem Interesse, weil dieses Derivat nicht genügend stabil ist. Der Ester des 3-Hydroxypyridins zeigt genau die Reaktionsfähigkeit, die man auf Grund des Wertes seiner Dissoziationskonstante erwarten konnte.



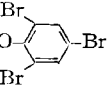
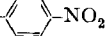
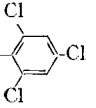
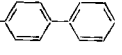
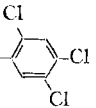
Diese vergleichenden Untersuchungen zeigen, dass der *p*-Nitrophenylester unter den reaktionsfähigen, substituierten Phenylestern eine bevorzugte Stellung einnimmt, die seine verbreitete Anwendung rechtfertigt. Ausserdem ist zu ersehen, dass die auf Grund des pK-Wertes der Phenolkomponente erwartete Reaktionsfähigkeit der inzwischen auch von KUPRYSZEWSKI⁶⁾ hergestellten 2,4,6-Trichlor- und 2,3,4,5,6-Pentachlor-phenylester (XX und XXVI) durch eine starke sterische Hinderung herabgesetzt wird.

Die sterische Hinderung scheint bei der alkalischen Verseifung eine noch grössere Rolle zu spielen als bei der Aminolyse (Tabelle 2). Diejenigen Ester, die im Phenolrest zwei Halogenatome in *ortho*-Stellung tragen, sind gegen Hydrolyse durch verdünnte Natronlauge besonders beständig. Ersetzt man Natriumhydroxid durch Triäthylamin, so lassen sich sogar Unterschiede zwischen den anderen, sterisch weniger gehinderten Estern messen. Man bemerkt dabei, dass der 2,4,5-Trichlorphenylester gegen basische Hydrolyse beständiger und gleichzeitig gegen Benzylamin reaktionsfähiger ist als der *p*-Nitrophenylester. Diese höhere Selektivität des 2,4,5-Trichlorphenylesters dürfte in der Peptidchemie, besonders wenn in Anwesenheit von Wasser gearbeitet wird, von Vorteil sein.

Einen weiteren Vorzug des 2,4,5-Trichlorphenylesters gegenüber dem *p*-Nitrophenylester erblicken wir darin, dass das bei der Kondensation gebildete 2,4,5-Trichlorphenol bei einer allfälligen, zwecks Abspaltung der endständigen Carbobenzoylgruppe erforderlichen katalytischen Hydrierung stabil ist. Dagegen wird das bei der Peptidkupplung unter Verwendung des *p*-Nitrophenylesters freigesetzte und oft

⁶⁾ G. KUPRYSZEWSKI & M. KACZMAREK, Roczn. Chem. 35, 935 (1961); G. KUPRYSZEWSKI & M. FORMELA, *ibid.* 35, 1533 (1961).

Tabelle 2. *Hydrolysen von verschiedenen N-CBO-L-Phenylalanin-phenylestern* ($c = 10^{-4}$ M) mit Natriumhydroxid (10^{-2} M) in Dioxan-Wasser (8:2) bei 25°

Nr.	Verbindung	Halbwertszeit der Reaktion in Min.	Nr.	Verbindung	Halbwertszeit der Reaktion in Min.
VII		13,0	XV		<0,1
XII		1,3	XXI		<0,1
XX		0,6	I		<0,1
XXV		<0,1			

schwer entfernbare *p*-Nitrophenol bei einer darauffolgenden katalytischen Hydrierung in *p*-Aminophenol bzw. weitere Reduktionsprodukte umgewandelt, die zur Vergiftung des Katalysators führen und bei der Weiterverarbeitung stören.

Diese Feststellungen haben uns dazu geführt, für die folgenden Untersuchungen über den Einfluss des Lösungsmittels, der Aminokomponente und der geschützten Aminosäure diesen von uns zum ersten Mal untersuchten 2,4,5-Trichlorphenylester anstatt den bis jetzt allgemein gebrauchten *p*-Nitrophenylester zu wählen.

Einfluss des Lösungsmittels. Die Tabelle 3 zeigt, dass unter den für Peptidsynthesen brauchbaren Lösungsmitteln das Chloroform wenig günstig ist, während Dioxan, wässriges Dioxan und Essigester gute Resultate geben und Dimethylformamid sich als noch vorteilhafter erweist. Glücklicherweise besitzt gerade das letztere Lösungsmittel das beste Lösungsvermögen für grosse Peptide.

Tabelle 3. *Reaktion von N-CBO-L-Phenylalanin-2,4,5-trichlorphenylester* ($c = 10^{-4}$ M) mit Benzylamin ($c = 10^{-2}$ M) in verschiedenen Lösungsmitteln bei 25°

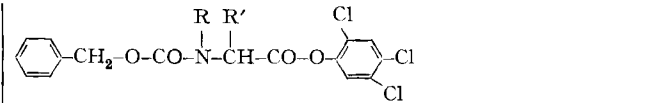

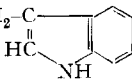
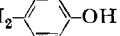





Lösungsmittel	CHCl ₃	Dioxan	N-Äthylmorpholin	Dioxan-Wasser (8:2)	Pyridin	Essigester-	Dimethylformamid
Halbwertszeit der Reaktion in Min.	23,0	4,9	4,1	3,3	3,1	2,3	0,3

Einfluss der Schutzgruppen. Aus Tabelle 4 ist ersichtlich, dass die Art der Schutzgruppe beim Umsetzen des 2,4,5-Trichlorphenylesters einer N-geschützten Aminosäure mit Benzylamin nur sehr wenig Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit hat.

Tabelle 4. Reaktion von verschiedenen *N*-geschützten α -Aminosäure-2,4,5-trichlorphenylestern
($c = 10^{-4}$ M) mit Benzylamin ($c = 10^{-2}$ M) in Dioxan bei 25°

Nr.	$\text{R-NH-}\overset{\text{R}'}{\underset{ }{\text{C}}}\text{-CO-O-}\text{C}_6\text{H}_2(\text{Cl})_3$				Halbwertszeit der Reaktion in Min.
	R =		-R' =		
XXVIII	$(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C-}$	(Tri-)	-H	(-Gly-)	6,9
XXIX	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-O-CO-}$	(CBO-)	"		2,8
XXX	$\text{CH}_3\text{-}\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{C}}}\text{-O-CO-}$ CH_3	(CTB-)	"		2,7
XXXI	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-O-CO-}$	(CBO-)	-CH ₃	(-Ala-)	3,8
XXXII	$\text{CH}_3\text{-}\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{C}}}\text{-O-CO-}$ CH_3	(CTB-)	"		3,7
XXXIII	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CH-O-CO-}$ / \ $\text{CH}_2\text{-CH}_2$	(CCP-)	"		3,5
XXXIV	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-O-CO-}$	(CBO-)	-CH ₂ - C_6H_5	(-Phe-)	4,9
XXXV	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CH-O-CO-}$ / \ $\text{CH}_2\text{-CH}_2$	(CCP-)	"		4,4
XXXVI	$\text{CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{-}$	(Tos-)	"		3,6
XXXVII	$(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C-}$	(Tri-)	-CH ₂ OH	(-Ser-)	31,5
XXXVIII	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-O-CO-}$	(CBO-)	"		6,5

Tabelle 5. Reaktion von verschiedenen N-CBO-Aminosäure-2,4,5-trichlorphenylestern ($c = 10^{-4}$ M) mit Benzylamin ($c = 10^{-2}$ M) in Dioxan bei 25°

Nr.		Halbwertszeit der Reaktion in Min.
XXXIX	$-R = -H; -R' = -CH \begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{matrix}$	(-Ile-) 112*)
XL	$-R = -H; -R' = -CH \begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	(-Val-) 95,5**)
XLI	$-R = -H; -R' = -CH_2-O-\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \\ \text{C}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	(- (OTB) Ser-) 8,1
XLII	$-R = -H; -R' = -CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-NH-CO-O-CH_2-$ 	7,9 (- (CBO) Lys-)
XLIII	$-R = -H; -R' = -CH_2-C \begin{matrix} \text{---} \\ \text{HC} \\ \text{---} \end{matrix}$ 	(-Try-) 7,5
XLIV	$-R = -H; -R' = -CH_2-CH_2-CO-O-CH_3$	(-Glu(OMe)-) 7,2
XLV	$-R = -H; -R' = -CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-NH-CHO$	7,0 (- (For) Lys-)
XLVI	$R-R' = -CH_2-CH_2-CH_2-$	(-Pro-) 7,0
XLVII	$-R = -H; -R' = -CH_2-CH_2-CO-NH_2$	(-Glu(NH ₂)-) 6,6
XXXVIII	$-R = -H; -R' = -CH_2-OH$	(-Ser-) 6,5***)
XLVIII	$-R = -H; -R' = -CH_2-$ 	(-Tyr-) 5,0
XXXIV	$-R = -H; -R' = -CH_2-$ 	(-Phe-) 4,9
XLIX	$-R = -H; -R' = -CH_2-S-CH_2-$ 	(- (Bz) Cys-) 4,8
L	$-R = -H; -R' = -CH_2-$  $-O-CO-O-CH_2-$ 	4,6 (- (CBO) Tyr-)
XXXI	$-R = -H; -R' = -CH_3$	(-Ala-) 3,8
LI	$-R = -H; -R' = -CH_2-CO-O-CH_2-$ 	(-Asp(OBz)-) 3,6
XXIX	$-R = -H; -R' = -H$	(-Gly-) 2,8

*) Für N-CBO-Isoleucin-*p*-nitrophenylester beträgt die Halbwertszeit 143 Min.**) Für N-CBO-Valin-*p*-nitrophenylester beträgt die Halbwertszeit 113 Min.***) Für N-CBO-Serin-*p*-nitrophenylester beträgt die Halbwertszeit 18,8 Min.

Eine Ausnahme macht die Trityl-Schutzgruppe, deren sterische Hinderung die Reaktion verlangsamt, wobei sich das Ausmass der sterischen Hinderung beim Glycin weniger stark bemerkbar macht als bei anderen Aminosäuren.

Einfluss der aktivierten Aminosäure. Tabelle 5 zeigt die Halbwertszeit der Reaktion einer Reihe von N-Carbobenzoxy-aminosäure-2,4,5-trichlorphenylestern mit Benzylamin. Man sieht, dass die Art der Aminosäure nur einen sehr geringen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit ausübt, mit Ausnahme von Valin und Isoleucin, wo die sterische Hinderung durch die Verzweigung in β -Stellung und besonders der induktive Effekt auf die Estergruppierung wesentlich zur Verminderung der Reaktionsgeschwindigkeit beitragen. Es ist bemerkenswert, dass auch bei solchen, weniger reaktionsfähigen Aminosäurederivaten die 2,4,5-Trichlorphenylester schneller als die *p*-Nitrophenylester reagieren.

Tabelle 6 zeigt, dass ein N-CBO-Peptid-2,4,5-trichlorphenylester noch schneller als der entsprechende N-CBO-Aminosäure-2,4,5-trichlorphenylester reagiert.

Einfluss der Aminosäureester als Aminokomponente. – Tabelle 7 bringt eine Übersicht über die Geschwindigkeit der Reaktion von N-CBO-L-Phenylalanin-2,4,5-trichlorphenylester mit verschiedenen Aminosäureestern. Man sieht, dass alle Aminosäureester, selbst diejenigen des Prolins, das eine sekundäre Aminogruppe trägt, mit annähernd gleicher Geschwindigkeit reagieren. Dieser unerwartete Befund veranlasste uns, den Verlauf der Reaktion mit verschiedenen primären und sekundären Aminen zu untersuchen. Es konnte dabei festgestellt werden (Tabelle 8), (v. S. 1625) dass die sekundären Amine Diäthylamin und Morpholin langsamer als die primären Amine reagieren. Dagegen ist das Piperidin, dessen cyclische Struktur derjenigen des Prolins nahesteht, fast so reaktionsfähig wie das primäre Amin *n*-Butylamin.

Aus der Tabelle 7 ist auch ersichtlich, dass die Methylester weniger reaktionsfähig sind als die Äthyl-, Benzyl- und *t*-Butyl-ester. Bemerkenswert ist auch, dass der Valinmethylester reaktionsfähiger ist als der sterisch weniger gehinderte Alaninmethylester. Alle diese Ergebnisse lassen sich durch in Richtung der Aminogruppe wirkende, induktive Effekte erklären, die die Nucleophilität des Stickstoffatoms erhöhen. Erwartungsgemäss reagiert auch Glycinamid schneller als die Glycin-methyl- und -äthylester.

Die Tabelle 9 zeigt, dass die Reaktion des N-CBO-Phenylalanin-2,4,5-trichlorphenylesters mit sterisch gehemmten Peptiden nicht wesentlich langsamer verläuft als man es auf der Basis der Reaktionsfähigkeit mit einfachen Aminosäureestern erwarten könnte.

Wir werden über die Brauchbarkeit der 2,4,5-Trichlorphenylester an Hand von präparativen Beispielen in anderen Arbeiten berichten⁷⁾.

Experimentelles. – Herstellung von aktivierten Estern von *N*-geschützten α -Aminosäuren mit Dicyclohexyl-carbodiimid (Methode A). Man löst 30 mMol geschützte Aminosäure und 33 mMol Phenolderivat in 100 ml Essigester auf und versetzt bei -10° mit 6,18 g (30 mMol) Dicyclohexyl-carbodiimid. Nach 3 Std. wird der Harnstoff abfiltriert, das Filtrat zur Trockne verdampft und der Rückstand aus Äthanol umkristallisiert. Die Eigenschaften der verschiedenen geschützten Aminosäure-aktivester sind in Tabelle 10 bzw. 11 zusammengestellt.

⁷⁾ Vgl. unter anderen: ED. SANDRIN & R. A. BOISSONNAS, Helv. 46, 1626 (1963); ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, Helv. 46, 1637 (1963); R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, Helv. 46, 1669 (1963).

Tabelle 6. Reaktion von N-geschützten α -Aminosäure- und Peptid-2,4,5-trichlorphenylestern ($c = 10^{-4}$ M) mit Benzylamin ($c = 10^{-2}$ M) in Dioxan-Wasser (8:2) bei 25°

102


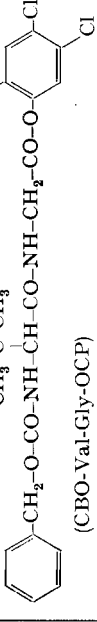

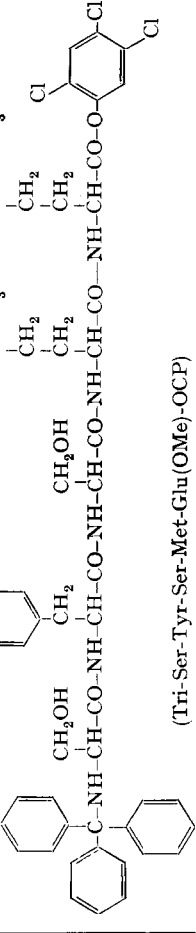
Nr.	Verbindung	Halbwertszeit der Reaktion in Min.
XXIX	 <p>(CBO-Gly-OCP)</p>	1,8
LII	 <p>(CBO-Val-Gly-OCP)</p>	1,1
XLIV	 <p>(CBO-Glu(OMe)-OCP)</p>	3,7
LIII	 <p>(Tri-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu(OMe)-OCP)</p>	1,9

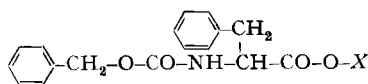
Tabelle 7. Reaktion von *N*-CBO-*L*-Phenylalanin-2,4,5-trichlorphenylester ($c = 10^{-4}$ M) mit verschiedenen Aminosäureestern ($c = 10^{-2}$ M) in Dioxan bei 25° (in Anwesenheit von 1 Äquivalent Triäthylamin-hydrochlorid)

Verbindung		Halbwertszeit der Reaktion in Min.
$\text{CH}_3\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(CO-O-CH}_3\text{)-NH}_2$	(H-Met-OMe)	119,2
$\text{HO-CH}_2\text{-CH(CO-O-CH}_3\text{)-NH}_2$	(H-Ser-OMe)	89,5
$\text{HN(C(NH}_2\text{)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{)-CH(CO-O-CH}_3\text{)-NH}_2$	(H-Arg-OMe)	88,5
$\text{CH}_3\text{-CH(CO-O-CH}_3\text{)-NH}_2$	(H-Ala-OMe)	80,0
$\text{N-CH(C(NH}_2\text{)-CH}_2\text{)-CH(CO-O-CH}_3\text{)-NH}_2$	(H-His-OMe)	74,5
$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-O-CO-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(CO-O-CH}_3\text{)-NH}_2$	(H-(CBO)Lys-OMe)	72,5
$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(CO-O-CH}_3\text{)-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$	(H-Pro-OMe)	70,5
$(\text{CH}_3)_2\text{CH-CH(CO-O-CH}_3\text{)-NH}_2$	(H-Val-OMe)	69,0
$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH(CO-O-CH}_3\text{)-NH}_2$	(H-Phe-OMe)	57,0
$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(CO-O-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5\text{)-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$	(H-Pro-OBz)	56,5
$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(CO-O-C(CH}_3\text{)}_3\text{)-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$	(H-Pro-OTB)	54,0
$\text{H}_2\text{C-CO-O-CH}_3$ NH_2	(H-Gly-OMe)	50,4
$\text{H}_2\text{C-CO-O-CH}_2\text{-CH}_3$ NH_2	(H-Gly-OEt)	43,0*)

*) Für Glycinamid beträgt die Halbwertszeit 18,1 Min.

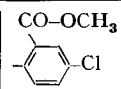
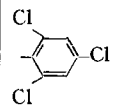
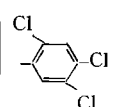
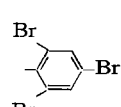
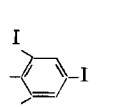
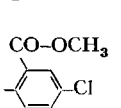
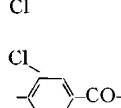
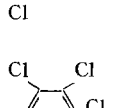
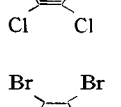
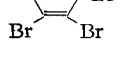
Tabelle 9. Reaktion von N-CBO-L-Phenylalanin-2,4,5-trichlorphenylester ($c = 10^{-4}$ M) mit verschiedenen Peptidamid- bzw. Peptidester-Derivaten ($c = 10^{-2}$ M) in Dioxan-Wasser (8:2) bei 25°

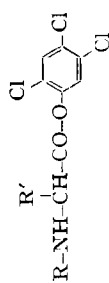
Verbindung	Halbwertszeit der Reaktion in Min.
$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{CO}-\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2-\text{CH}_2)-\text{CO}-\text{OC}(\text{CH}_3)_3)$	120 (H-Tyr-Pro-OTB)
$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5)-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}_2)$	109 (H-Asp(NH ₂)-(Bz)Cys-Pro-Leu-Gly-NH ₂)
$\text{H}-\text{N}-\text{CH}(\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{NH}_2)$	97 (H-Pro-Leu-Gly-NH ₂)

Tabelle 10. *Eigenschaften
verschiedener N-CBO-L-Phenylalanin-phenylester*


Nr.	Verbindung X =	Aus- beute nach Methode A	Smp.	[α] ²² in Dime- thylfor- mamid (c = 1,0)	Analysen (in %)				
					C	H	O	N	Hal
I		94%	126°	-13°	Ber. 77,1 Gef. 77,0	5,6 5,8	14,2 14,3	3,1 3,1	— —
II		62%	97°	-27°	Ber. 70,2 Gef. 70,2	5,1 5,0	16,3 —	3,6 3,3	4,8 4,6
III		73%	96°	-25°	Ber. 67,4 Gef. 67,0	4,9 5,0	15,6 15,8	3,4 3,3	8,6 8,9
IV		60%	90°	-38°	Ber. 70,2 Gef. 70,4	5,1 5,5	16,3 —	3,6 3,5	4,8 4,8
V		43%	88°	-31°	Ber. 70,2 Gef. 70,2	5,1 5,1	16,3 —	3,6 3,6	4,8 4,7
VI		73%	82°	-28°	Ber. 67,4 Gef. 67,7	4,9 5,3	15,6 15,2	3,4 3,4	8,6 8,8
IX		87%	92-93°	-51°	Ber. 67,4 Gef. 67,3	4,9 5,1	15,6 15,7	3,4 3,4	8,6 8,8
XXII		64%	110°	-12°	Ber. 68,3 Gef. 67,9	5,0 5,1	19,8 19,5	6,9 —	— —
XI		80%	100°	-23°	Ber. 71,9 Gef. 71,7	5,5 5,6	19,2 19,1	3,3 3,2	— —
XIV		92%	88°	-19°	Ber. 69,8 Gef. 69,5	5,6 5,8	21,4 21,8	3,1 3,2	— —
XV		64%	109-110°	-43°	Ber. 62,2 Gef. 62,5	4,3 4,4	14,4 14,5	3,2 3,2	15,9 15,8
XIII		85%	98°	-29°	Ber. 62,2 Gef. 62,4	4,3 4,4	14,4 14,6	3,2 3,1	15,9 15,8
XVI		83%	125°	-39°	Ber. 51,8 Gef. 52,1	3,6 3,5	12,0 12,1	2,6 2,5	29,9 29,9
XVII		43%	82-83°	-40°	Ber. 69,3 Gef. 69,8	5,3 5,5	22,1 22,1	3,2 3,2	— —
XXVII		65%	171-172°	-33°	Ber. 63,6 Gef. 64,0	4,5 4,7	17,7 17,7	6,2 5,8	7,8 7,6

Tabelle 10 (Fortsetzung)

Nr.	Verbindung X =	Aus- beute nach Methode A	Smp.	[α] ²² in Dime- thylfor- mamid ($c = 1,0$)	Analysen (in %)					
					C	H	O	N	Hal	
XIX		45%	89-90°	-47°	Ber.	64,2	4,7	20,5	3,0	7,6
					Gef.	64,7	4,5	20,4	3,0	7,1
XX		81%	128°	-57°	Ber.	57,7	3,8	13,4	2,9	22,2
					Gef.	57,8	4,0	13,5	2,8	22,3
XXV		83%	142°	-51°	Ber.	57,7	3,8	13,4	2,9	22,2
					Gef.	57,8	4,0	13,5	2,8	22,3
XII		75%	136°	-51°	Ber.	45,1	3,0	10,4	2,3	39,2
					Gef.	45,2	3,2	10,6	2,1	39,2
VII		78%	135-136°	-48°	Ber.	36,7	2,4	8,5	1,9	50,5
					Gef.	36,9	2,6	8,9	2,1	50,8
XXIII		65%	124°	-62°	Ber.	59,8	4,2	19,1	2,8	14,1
					Gef.	60,3	4,8	19,4	2,8	14,1
XXIV		69%	121°	-56°	Ber.	59,8	4,2	19,1	2,8	14,1
					Gef.	59,9	4,4	19,3	3,1	14,3
XXVI		75%	158°	-56°	Ber.	50,4	2,9	11,8	2,6	32,4
					Gef.	50,5	3,1	11,8	2,8	31,8
XVIII		50%	67-68°	-43°	Ber.	35,9	2,1	8,3	1,8	51,9
					Gef.	36,2	2,2	8,5	2,0	51,8
X	 , HCl	64%	137°	-30°	Ber.	64,0	5,1	15,5	6,8	8,6
					Gef.	64,7	5,2	15,7	6,6	8,9

Tabelle 11. Eigenschaften von verschiedenen N-geschützten α -Aminosäure-2,4,5-trichlorphenylestern der Formel

Nr.	Verbindung		Ausbeute (Methode)	Smp.	$[\alpha]_D^{25}$ in DMF	Analysen (in %)					
	R-	-R'				C	H	O	N	Cl	
XXIX		-H	86% (A)	107-108°	—	Ber. 49,4 Gef. 49,7	3,1 3,4	16,5 16,4	3,6 3,6	27,4 26,8	
XXXI	"	-CH ₃	88% (A)	104°	-24° (c = 2)	Ber. 50,7 Gef. 50,7	3,5 3,7	15,9 16,0	3,5 3,3	26,4 25,8	
XXXVIII	"	-CH ₂ -OH	31% (A)	137°	-25° (c = 1)	Ber. 48,8 Gef. 48,8	3,4 3,4	19,1 18,9	3,3 3,3	25,4 24,9	
XLI	"	-CH ₂ -O-C(CH ₃) ₃ (- (OTB)Ser-)	72% (A)	70-72°	-2° (c = 0,5)	Ber. 53,1 Gef. 53,0	4,6 4,8	16,8 16,8	3,0 3,0	22,4 22,4	
XLIX	"	-CH ₂ -S-CH ₂ -	84% (A)	100°	-48° (c = 2)	Ber. 54,9 Gef. 54,7	3,8 4,0	12,2 12,4	2,6 2,5	20,2 20,2	
XL	"	-CH-	72% (A) 65% (B)	94°	-8° (c = 1)	Ber. 53,0 Gef. 53,4	4,2 4,3	14,9 15,0	3,3 3,6	24,7 24,5	
XXXIX	"	-CH-	48% (A)	79°	-9° (c = 1)	Ber. 54,0 Gef. 54,3	4,5 4,7	14,4 14,3	3,1 3,0	23,9 23,9	
LI	"	-CH ₂ -CO-O-CH ₂ -	85% (A)	92°	-21° (c = 2)	Ber. 56,0 Gef. 55,8	3,7 3,9	17,9 18,1	2,6 2,4	19,8 20,1	
XLIV	"	-CH ₂ -CH ₂ -CO-O-CH ₃ (-Glu(OMe)-)	81% (A)	123°	-26° (c = 2)	Ber. 50,6 Gef. 50,7	3,8 4,1	20,2 20,3	3,0 2,7	22,4 22,3	



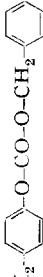
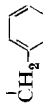
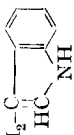

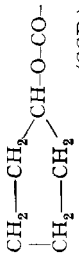

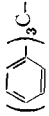
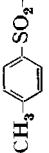
XLVII	–CH ₂ –CH ₂ –CO–NH ₂ (–Glu(NH ₂)–)	63% (A)	180°	–17° (c = 2)	Ber. Gef.	49,6 49,8	3,7 3,8	17,4 17,7	6,0 6,2	23,1 23,0
LIV	–CH ₂ –CH ₂ –CO–O–C(CH ₃) ₃ (–Glu(OTB)–)	53% (A) 54% (B)	107–108°	–20° (c = 1)	Ber. Gef.	53,5 53,2	4,7 4,9	18,6 19,1	2,7 3,0	20,6 17,9
XLV	–(CH ₂) ₄ –NH–CHO (–(For)Lys–)	88% (A)	141°	–18° (c = 1)	Ber. Gef.	51,7 51,9	4,3 4,5	16,4 16,8	5,7 5,9	21,8 21,1
XLII	–(CH ₂) ₄ –NH–CO–O–CH ₂ –  (–(CBO)Lys–)	74% (A)	113–114°	–11° (c = 1)	Ber. Gef.	56,6 56,8	4,6 4,9	16,2 16,4	4,7 4,9	17,9 17,1
XLVIII	–CH ₂ –  (–Tyr–)	72% (A)	149–150°	–30° (c = 1)	Ber. Gef.	55,8 56,1	3,7 3,8	16,2 16,4	2,8 2,8	21,5 21,4
L	–CH ₂ –  (–(CBO)Tyr–)	90% (A)	143–144°	–36° (c = 1)	Ber. Gef.	59,2 59,5	3,8 4,1	17,8 17,7	2,2 2,4	16,9 16,8
LV	–C–N HC N CH ₂ –  (–(Bz)His–)	48% (A)	107–108°	–8° (c = 1)	Ber. Gef.	58,0 58,3	4,0 4,4	11,4 11,7	7,5 7,6	19,0 18,8
XLIII	–CH ₂ –  (–Try–)	76% (A)	115°	–38° (c = 1)	Ber. Gef.	57,9 58,3	3,7 3,9	12,4 12,4	5,4 5,5	20,5 20,2
XXX	–H (CH ₃) ₃ C–O–CO– (CTB–)	77% (A)	106–107°	–	Ber. Gef.	44,0 44,2	3,9 4,0	18,1 18,1	3,9 4,1	30,0 29,4

Tabelle 11 (Fortsetzung)

Nr.	Verbindung		Ausbeute (Methode)	Smp.	$[\alpha]_D^{21}$ in DMF	Analysen (in %)						
	R-	-R'				C	H	O	N	Cl		
XXXII	"	-CH ₃	(-Ala-)	81-82°	Ber. Gef.	45,6 46,1	4,4 4,3	17,4 17,4	3,8 3,7	28,8 28,0		
LVI	"	 -CH ₂	(-Phe-)	122°	Ber. Gef.	54,0 54,3	4,5 4,6	14,4 14,8	3,1 3,1	23,9 23,6		
LVII	"	-CH ₂ -CO-NH ₂	(-Asp(NH ₂)-)	188°	Ber. Gef.	43,7 43,9	4,6 4,3	19,4 19,5	6,8 6,7	25,8 25,5		
XXXIII		-CH ₃	(-Ala-)	114°	Ber. Gef.	47,3 47,4	4,2 4,4	16,8 16,6	3,7 3,5	27,9 27,4		
LVIII	"	-CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₃	(-Met-)	99-100°	Ber. Gef.	46,3 46,5	4,6 4,6	14,5 14,8	3,2 3,1	24,1 23,7		
XXXV	"	 -CH ₂	(-Phe-)	126°	Ber. Gef.	55,3 55,4	4,4 4,6	14,0 13,8	3,1 2,9	23,3 23,1		
XXVIII		-H	(-Gly-)	149-150°	Ber. Gef.	65,3 65,8	4,1 4,2	6,4 6,3	2,8 2,9	21,4 20,1		
XXXVII	"	-CH ₂ -OH	(-Ser-)	170-172°	Ber. Gef.	63,9 63,6	4,2 4,5	9,1 10,0	2,6 2,6	20,2 18,7		
XXXVI		-CH ₂	(-Phe-)	176°	Ber. Gef.	53,0 53,1	3,6 3,7	12,8 12,7	2,8 2,9	21,3 20,7		

Tri-(2,4,5-trichlorphenyl)-phosphit. Zu einer Lösung von 35,4 g (180 mMol) 2,4,5-Trichlorphenol und 252 ml (1,8 M) Triäthylamin in 300 ml Benzol tropft man unter starkem Rühren 5,3 ml (60 mMol) Phosphortrichlorid. Dabei erwärmt sich die Lösung bis auf ca. 100°. Man kocht noch 3 Std. unter Rückfluss, lässt abkühlen, filtriert das Triäthylamin-hydrochlorid und dampft die Lösung ein. Der Rückstand liefert aus 80 ml heissem Essigester 26 g (72% d.Th.) Tri-(2,4,5-trichlorphenyl)-phosphit vom Smp. 120–121°.

$C_{18}H_9O_3Cl_3P$	Ber. C 34,8	H 1,0	Cl 51,4	P 5,0%
(620,3)	Gef. „ 35,0	„ 1,1	„ 51,3	„ 5,3%

Herstellung von 2,4,5-Trichlorphenylestern N-geschützter α -Aminosäuren durch die Phosphitmethode (Methode B). Zum Trocknen wird 0,25 Mol N-geschützte Aminosäure in Pyridin gelöst und die Lösung zur Trockne verdampft. Anschliessend setzt man 125 g 2,4,5-Trichlorphenylphosphit zu und schüttelt 6 Std. mit 125 ml Pyridin. Die erhaltene klare Lösung wird abgedampft und der Rückstand in Essigester aufgenommen. Letztere Lösung wird mit verdünnter Salzsäure, Kaliumcarbonat und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird aus Äthanol umkristallisiert.

Tabelle 8. *Reaktion von N-CBO-L-Phenylalanin-2,4,5-trichlorphenylester ($c = 10^{-4}$ M) mit verschiedenen primären und sekundären Aminen ($c = 10^{-2}$ M) in Dioxan-Wasser (8:2) bei 25°*

Primäres Amin	Halbwertszeit der Reaktion in Min.	Sekundäres Amin	Halbwertszeit der Reaktion in Min.
Benzylamin	3,3	Diäthylamin	24
Äthanolamin	1,1	Morpholin	17,5
n-Butylamin	0,4	Piperidin	0,9

Reaktion des aktivierten Esters mit der Aminokomponente. Eine Lösung des aktivierten Esters in dem angegebenen Lösungsmittel (siehe Tabellen) wurde bei 25° mit einem 100fachen Überschuss der Aminokomponente versetzt. Die Freisetzung des entsprechenden Phenols wurde spektrophotometrisch verfolgt. Für die experimentellen Einzelheiten siehe STICH & LEEMANN⁵⁾. In parallelen präparativen Versuchen wurde festgestellt, dass die Reaktion tatsächlich die erwarteten Reaktionsprodukte in befriedigenden Ausbeuten liefert.

SUMMARY

A comparison of the rate of aminolysis of many substituted phenyl esters of N-protected α -amino-acids shows that the 2,4,5-trichlorophenyl esters are promising new active derivatives for the synthesis of peptides.

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien,
SANDOZ AG, Basel