

Die Herstellung von weiteren, für die Peptidsynthese geeigneten, optisch aktiven Pipecolinsäurederivaten

Von

L. Balásperi, Gy. Papp und K. Kovács

Aus dem Institut für organische Chemie der Attila-József-Universität Szeged, Ungarn

(Eingegangen am 28. April 1971)

The Preparation of Further Optically Active Pipecolic Acid Derivatives Suitable for Peptide Synthesis

The synthesis of the trichlorophenyl and N-hydroxy-succinimide esters of N-*t*-butyl-, N-*t*-pentyl- and N-*t*-benzyl-oxycarbonyl and o-nitrophenylsulfonyl derivatives of L-pipecolic acid is described in detail.

Die Synthese der Trichlorphenyl- und N-Hydroxy-succinimidester von N-*t*-Butyl-, N-*t*-Pentyl- und N-Benzyl-oxycarbonylderivaten und o-Nitrophenylsulfonylderivaten der L-Pipecolinsäure wird im Detail beschrieben.

Die in die Gruppe der „nicht-proteinogenen“ Aminosäuren zu zählenden Verbindungen sind häufig biologisch hochwertige Stoffe¹. Hieraus erklärt es sich, daß in der Literatur immer mehr Mitteilungen über die peptidchemische Anwendung solcher Verbindungen erscheinen, wo sie nämlich in der Synthese biologisch aktiver Peptidanaloga „proteinogene“ Aminosäuren substituieren. Arbeiten dieser Art sind in unserem Institut seit Jahren im Gange^{2, 3}.

Die als Ringhomologes des Prolins aufzufassende Pipecolinsäure ist von verschiedenen Schulen zu peptidchemischen Zwecken verwendet worden^{4, 5, 6}. Im Rahmen unserer eigenen Untersuchungen haben sie neuerdings *Bumpus* und Mitarb. auch bei der fest-phasigen Synthese des *Merrifield*schen Angiotensin-II-Analogons verwendet⁷. Die Mehrheit der erwähnten Arbeiten enthalten keine Einzelheiten über die Herstellungsweise der benutzten Pipecolinsäurederivate, einzig die letztere gab — gleichzeitig mit unserer Mitteilung² — den Herstellungsgang der N-*t*-Butyloxycarbonyl-L-pipecolinsäure bekannt⁷.

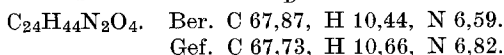
Die sog. Aktivester der N-Acyl-aminosäuren stehen sehr ausgedehnt im Gebrauch bei racemisationsfreien Kupplungsmethoden⁸. Einige weitere, zur Peptidsynthese geeignete Derivate der mit unserer Spal-

tungsmethode angefertigten, optisch aktiven Pipecolinsäure, vornehmlich Aktivester, haben wir hergestellt. Bei Anwendung bekannter Synthesewege^{9, 10, 11, 12} wurden die *N-t*-Butyloxycarbonyl-, *N*-Benzoyloxycarbonyl- sowie die *N*-*o*-Nitrophenylsulfenyl-, Trichlorphenyl- und *N*-Hydroxysuccinimidester der *L*- und *D*-Form der Pipecolinsäure und ferner die Dicyclohexylaminsalze der *N-t*-Pentylloxycarbonyl-*L*- und -*D*-pipecolinsäure und aus diesen die *N*-Hydroxysuccinimidester beider Antipoden hergestellt. In der vorliegenden Mitteilung wird nur die Herstellung der *L*-Pipecolinsäurederivate beschrieben.

Experimenteller Teil

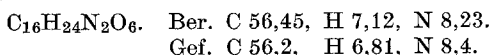
1. Dicyclohexylaminsalz der *N-t*-Pentylloxycarbonyl-*L*-pipecolinsäure

Zu einer Lösung von 1,29 g (10 mMol) *L*-Pipecolinsäure in einem Gemisch aus 5 ml 2*n*-NaOH und 2,5 ml Methanol wurden bei lebhaftem Rühren (unter 0 °C) binnen 10 Min. durch einen kühlbaren Dosiertrichter 1,51 g (10 mMol) *t*-Pentylloxycarbonylchlorid sowie parallel weitere 5 ml 2*n*-NaOH zugesetzt; nun wurde 1 Stde. unter 0 °C, dann 3 Stdn. bei Raumtemp. gerührt; der pH-Wert darf nicht unter 8,0 sinken. Nach beendeter Reaktion wird das Reaktionsgemisch mit 1*n*-HCl auf pH 2,0 angesäuert und das Öl mit 3 × 10 ml Essigester extrahiert. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vak. resultiert ein Öl, das bei 50 °C in 10 ml Essigester gelöst wird und nach Versetzen mit der ber. Menge Dicyclohexylamin (*DCHA*) und Abkühlen auf Raumtemp. das Dicyclohexylaminsalz kristallin ausscheidet. Ausb. 3,8 g (89,5% d. Th.), Schmp. 134—135 °C, $[\alpha]_D^{25} = -24^\circ \pm 1^\circ$ (*c* = 1, Äthanol).



2. *N-t*-Pentylloxycarbonyl-*L*-pipecolinsäure-*N*-hydroxysuccinimidester

2,12 g (5 mMol) *N-t*-Pentylloxycarbonyl-*L*-pipecolinsäure-dicyclohexylaminsalz werden in 20 ml 50proz. Äthanol gelöst und mit im Überschuß vorhandenem Ionenaustauschharz (Varion KS, im *H*-Zyklus) 1 Stde. bei Raumtemp. gerührt. Nach Abfiltrieren des Harzes und Eindampfen der Lösung entsteht ein Öl, das in Essigester aufgenommen und nach mehrmaligem Waschen der Lösung mit verd. NaCl-Lösung über Na₂SO₄ getrocknet wird. Die Lösung wird mit 0,55 g (5 mMol) *N*-Hydroxysuccinimid versetzt, auf 0 °C gekühlt und nach Zugabe von 1,03 g (5 mMol) Dicyclohexylcarbodiimid (*DCCI*) 1 Stde. bei 0 °C, dann 3 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Im Eisschrank scheidet sich der gebildete Dicyclohexylharnstoff (*DCU*) aus; er wird abfiltriert, 3mal mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vak. eingedampft. 1,27 g (74,7% d. Th.) kristalline Substanz, Schmp. (aus Isopropylalkohol) 157—159 °C, $[\alpha]_D^{25} = -57^\circ \pm 1^\circ$ (*c* = 1, Dioxan).



3. *N-t*-Butyloxycarbonyl-*L*-pipecolinsäure-trichlorphenylester

4,58 g (20 mMol) *N-t*-Butyloxycarbonyl-*L*-pipecolinsäure und 3,94 g (20 mMol) Trichlorphenol werden in 40 ml Essigester gelöst, der Lösung

unter 0 °C 4,12 g (20 mMol) *DCCI* zugesetzt, dann 1 Stde. bei 0 °C und 3 Stdn. bei Raumtemp. gerührt und über Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Nach Abfiltrieren des ausgeschiedenen *DCU* und Eindampfen des Filtrats im Vak. wird das Öl in Petroläther (*PÄ*) gelöst, aus dem nach einigen Tagen Kristalle entstehen. Ausb. 6,05 g (74,06% d. Th.), Schmp. 98—100 °C, $[\alpha]_D^{25} = -37^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1$, Methanol).

$C_{17}H_{20}Cl_3NO_4$. Ber. C 49,99, H 4,91, N 3,42, Cl 26,02.
Gef. C 51,06, H 4,88, N 3,67, Cl 26,17.

4. *N-t-Butyloxycarbonyl-L-pipecolinsäure-N-hydroxysuccinimidester*

1,15 g (5 mMol) *N-t-Butyloxycarbonyl-L-pipecolinsäure* und 0,57 g (5 mMol) *N-Hydroxysuccinimid* werden in 15 ml Dioxan gelöst, die Lösung unter 0 °C gekühlt, dem Reaktionsgemisch 1,03 g (5 mMol) *DCCI* zugesetzt, 1 Stde. bei 0 °C und 2 Stdn. bei Raumtemp. gerührt, eine Nacht in den Eisschrank gestellt. Nach Abfiltrieren des *DCU* und Eindampfen des Filtrates im Vak. wird der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Lösung 3mal mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vak. eingedampft, worauf der Ester kristallisiert. Ausb. 1,25 g (76,68% d. Th.), Schmp. (aus Isopropylalkohol) 146—148 °C, $[\alpha]_D^{25} = -57^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1$, Methanol).

$C_{15}H_{22}N_2O_6$. Ber. C 55,25, H 6,8, N 8,62.
Gef. C 55,01, H 6,7, N 8,63.

5. *N-o-Nitrophenylsulfenyl-L-pipecolinsäure-trichlorphenylester*

1,16 g (2,5 mMol) *N-o-Nitrophenylsulfenyl-L-pipecolinsäure-dicyclohexylaminsalz* wird in 20 ml 50proz. Äthanol und im Überschuß vorhandenen Ionenaustauschharz (Varion KS, im H-Zyklus) 1 Stde. bei Raumtemp. gerührt. Das nach Abfiltrieren des Harzes und Eindampfen der Lösung erhaltene Öl wird in 15 ml Essigester aufgenommen, die Lösung mehrmals mit verd. NaCl gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, 0,49 g (2,5 mMol) Trichlorphenol zugesetzt und auf 0 °C abgekühlt. Nach Zugabe von 0,52 g (2,5 mMol) *DCCI* wird 1 Stde. bei 0 °C und 3 Stdn. bei Raumtemp. gerührt, das Gemisch über Nacht im Eisschrank stehengelassen, das entstandene *DCU* abfiltriert. Beim Eindampfen des Filtrats im Vak. blieb eine kristalline Substanz zurück, die nach Waschen mit wenig kaltem Äthylalkohol und *PÄ* gelbe Kristalle lieferte. Ausb. 0,82 g (71,31% d. Th.), Schmp. (aus Methanol) 127—130 °C, $[\alpha]_D^{25} = -42^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1$, Dioxan).

$C_{18}H_{15}Cl_3N_2O_4S$. Ber. C 46,82, H 3,27, N 6,07, Cl 23,02.
Gef. C 46,5, H 3,6, N 6,3, Cl 22,75.

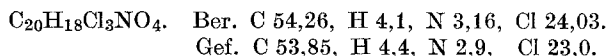
6. *N-o-Nitrophenylsulfenyl-L-pipecolinsäure-N-hydroxysuccinimidester*

3,48 g (7,5 mMol) *N-o-Nitrophenylsulfenyl-L-pipecolinsäure-dicyclohexylaminsalz* wurden wie in 5. entsalzt, der so erhaltenen Lösung 0,86 g (7,5 mMol) *N-Hydroxysuccinimid* zugesetzt, auf 0 °C gekühlt, dann nach Zufügen von 1,55 g (7,5 mMol) *DCCI* in das Reaktionsgemisch 1 Stde. unter 0 °C und 2 Stdn. bei Raumtemp. gerührt, dann über Nacht im Eisschrank gehalten. Nach Abfiltrieren des *DCU* wurde im Vak. eingedampft; das zurückbleibende Öl kristallisierte nach Zugabe von wenig Äthanol sofort. Ausb. 2,38 g (86,56% d. Th.), Schmp. 175—177 °C, $[\alpha]_D^{25} = -51^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1$, Dioxan).

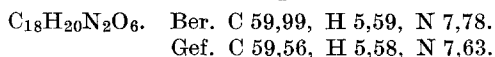
$C_{16}H_{17}N_3O_6S$. Ber. C 50,65, H 4,52, N 11,08.
Gef. C 50,95, H 4,65, N 11,07.

7. *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-pipercolinsäure-trichlorphenylester

2,63 g (10 mMol) *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-pipercolinsäure wird in 30 ml Essigester gelöst, der Lösung 1,96 g (10 mMol) Trichlorphenol zugesetzt und das Gemisch unter 0 °C abgekühlt. Nach Zugabe von 2,06 g (10 mMol) *DCCI* wurde 1 Stde. bei 0 °C, dann 3 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Das im Eisschrank ausgeschiedene *DCU* wurde abfiltriert, das Filtrat im Vak. eingedampft und das erhaltene Öl einige Tage mit *P*Ä stehengelassen, bis es kristallisierte. Nach Waschen mit *P*Ä resultiert eine weiße kristalline Substanz. Ausb. 3,05 g (69,01% d. Th.), Schmp. 188—192 °C, $[\alpha]_D^{25} = -30^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1$, Äthanol).

8. *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-pipercolinsäure-*N*-hydroxysuccinimidester

13,15 g (50 mMol) *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-pipercolinsäure und 5,75 g (50 mMol) *N*-Hydroxysuccinimid werden in 150 ml Dioxan gelöst, die Lösung unter 0 °C gekühlt, mit 10,3 g (50 mMol) *DCCI* versetzt und 1 Stde. bei 0 °C, dann 3 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Nach Stehen über Nacht (Eisschrank) und Filtrieren des *DCU* wird die Dioxanlösung im Vak. eingedampft; zu dem kristallinen Rückstand werden 50 ml Essigester und 75 ml Wasser zugesetzt und die Suspension 1 Stde. bei Raumtemp. gerührt. Die entstehenden Kristalle wurden abfiltriert, mit *P*Ä gewaschen, im Vak. getrocknet; nach Umkristallisieren aus Isopropylalkohol Ausb. 15,8 g (92% d. Th.), Schmp. 142—143 °C, $[\alpha]_D^{25} = -50^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$, Dioxan).



Während der experimentellen Arbeiten bedienten wir uns zur Verfolgung der Reaktion und der Reinheitsprüfungen der Dünnschichtchromatographie mit „Kiesel-G“-Platten Merck. Die benutzten Lösungsmittelsysteme waren:

- a) *n*-Butanol : Eisessig : Wasser 4 : 1 : 1
- b) Essigester : Pyridin : Eisessig : Wasser 60 : 20 : 6 : 11
- c) CHCl_3 : Aceton 9 : 1
- d) CHCl_3 : Methanol 8 : 2
- e) CHCl_3 : Methanol : Eisessig 85 : 10 : 5
- f) Aceton : Eisessig 98 : 2.

Die Schmelzpunktbestimmungen geschahen am *Kofler*-Apparat, die Drehungswerte wurden mittels eines Zeisschen Polarimeters bestimmt. Die erhaltenen Werte sind unkorrigiert.

Literatur

¹ *J. Rudinger*, 6. Peptid-Symposium, Athen 1963, S. 133. New York: Pergamon.

² *L. Balásperi, B. Penke, J. Petres und K. Kovács*, *Mh. Chem.* **101**, 1177 (1970).

³ *K. Kovács, B. Penke, J. Czombos, J. Petres und L. Balásperi*, *Acta Phys. et Chem.* **17**, 61 (1971).

⁴ *E. Katchalski, A. Berger und J. Kurtz*, Internat. Symposium on Protein Structure and Crystallography, Madras 1963.

⁵ *E. D. Nicolaidis, H. A. de Wald und M. K. Craft*, Ann. N. Y. Acad. Sci. **104**, 15 (1963).

⁶ *Z. D. Bespalova, O. A. Kairov, U. F. Martinov, V. U. Natosky, M. I. Titov und E. I. Sachmatova*, Vest. Leningrad. Univ., Ser. Fiz. Chim. **21**, 157 (1966).

⁷ *N. C. Chaturvedi, W. K. Park, R. R. Smeby und F. M. Bumpus*, J. Med. Chem. **13**, 177 (1970).

⁸ *E. Schröder und K. Lübke*, The Peptides. II. New York-London: Acad. Press. 1966; *K. Medzihradszky*, Die Synthese der natürlichen Peptide (ungarisch). Budapest: Akademie-Verlag. 1970.

⁹ *S. Sakakibara, M. Shin, M. Fujino, Y. Shimonishi, S. Inove und N. Inukai*, Bull. Chem. Soc. Japan **38**, 1522 (1965).

¹⁰ *S. Sakakibara, I. Honda, K. Takada, M. Miyoshi, T. Ohnishi und K. Okumura*, Bull. Chem. Soc. Japan **42**, 809 (1969).

¹¹ *E. Sandrin und R. A. Boissonnas*, Helv. Chim. Acta **46**, 1637 (1963).

¹² *G. W. Anderson, J. E. Zimmerman und F. M. Callahan*, J. Amer. Chem. Soc. **85**, 3039 (1963).