

GROUPEMENTS PROTECTEURS BENZYLOXYCARBONYLES SUBSTITUES ALCALINOLABILES†

G. LE CORRE, E. GUIBÉ-JAMPEL et M. WAKSELMAN

Laboratoire de Chimie Organique Biologique. Université Paris-Sud, Bât. 420;91405 Orsay, France‡

(Received in France 19 December 1977; Received in the UK for publication 31 March 1978)

Résumé—Des esters, carbonates, thiocarbonates et carbamates de la *p*-hydroxybenzyloxycarbonylglycine ont été préparés. Ces composés se fragmentent en milieu faiblement alcalin par hydrolyse de la fonction acyloxy puis élimination 1-6 avec régénération de l'amine libre. Ils sont relativement stables dans l'acide trifluoroacétique. Une série d'acides aminés et de dipeptides protégés a été synthétisée. La coupure du groupe protecteur s'effectue rapidement soit par la soude diluée soit par l'eau oxygénée dans l'ammoniaque.

Abstract—Esters, carbonates, thiocarbonates and carbamates of *p*-hydroxybenzyloxycarbonylglycine have been prepared. Free glycine is regenerated in weak alkaline medium by hydrolysis of the acyloxy group followed by an 1-6 elimination. Generally, these compounds are more stable than *Z*-glycine in trifluoroacetic acid. A series of protected amino acids and dipeptides has been prepared too. Dilute soda or hydrogen peroxide in ammonia rapidly cleave the protecting group.

INTRODUCTION

Bien que de nombreux groupements protecteurs de la fonction amine aient été proposés pour la préparation de peptides,¹ la nécessité de régénérer sélectivement certains groupes aminés à diverses étapes de la synthèse incite à effectuer de nouvelles recherches.²

Parallèlement à l'utilisation des groupements classiques acidolabiles benzyloxycarbonyle (*Z*) et tertio-butylloxycarbonyle (Boc), d'autres groupes pouvant se couper dans des conditions différentes (milieu faiblement alcalin, par exemple³) ont été étudiés. La plupart des groupes protecteurs alcalinolabiles proposés, régèrent l'amine libre par un mécanisme d'élimination 1-2.⁴ Ce sont en général des carbamates ne provoquant pas de racémisation lors de la réaction de couplage.

Nous nous sommes proposés⁵ de mettre au point un groupement benzyloxycarbonyle substitué *Z'*, stable dans les conditions de coupure de Boc (acide trifluoroacétique par exemple) et se fragmentant en milieu alcalin selon le mécanisme suivant:⁶

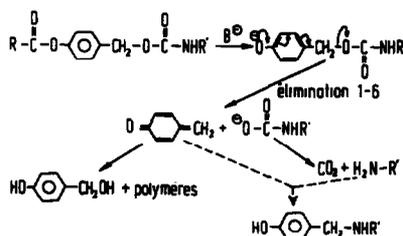


Schéma 1.

Dans ce schéma,⁶ l'hydrolyse de la fonction acyloxy de *Z'* conduit à un carbamate de *p*-hydroxybenzyle (*p*HO-ZNHR'). Une élimination 1-6 rapide, analogue à celle décrite pour les esters et halogénures *p*-hydroxybenzyliques^{14,15} donne une méthylène-quinone et un carbamate alcalin. Ce dernier se décarboxyle spontanément pour régénérer l'amine libre.

Il serait ainsi possible de couper sélectivement le groupement *Z'* en présence d'autres fonctions amines protégées par des groupements *Z* ou Boc.

Pour confirmer cette hypothèse, une série de dérivés acylés de la *N*(*p*-hydroxybenzyloxycarbonyle) glycine (*p*HO-*Z*gly) a été préparée et leurs vitesses d'hydrolyse alcaline et de trifluoroacétylolyse ont été comparées afin de sélectionner le dérivé le plus stable dans l'acide trifluoroacétique et dont la vitesse d'hydrolyse alcaline soit optimale.

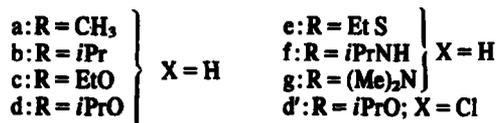
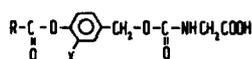


Fig. 1. *Z'*-Gly préparées et étudiées.

Des dérivés protégés d'une série d'acides aminés ont également été synthétisés. De plus, le groupement protecteur s'est révélé stable dans les conditions de couplage par aminolyse d'esters de *N*-hydroxysuccinimide.

SYNTHÈSES

L'acylation des aminoacides a été effectuée à l'aide de sels de benzyloxycarbonyl-1 méthyl-3 imidazolium en milieu aqueux homogène.¹⁷ Cette méthode est très appropriée pour l'introduction des groupements alcalinolabiles car elle s'effectue au voisinage de la neutralité.

Les produits initiaux sont soit l'alcool *p*-hydrobenzylique soit l'acide hydroxy-4 chloro-3 benzoïque. La préparation des chlorocarbonates s'effectue par "acylation" de l'hydroxyle phénolique suivie de l'action du

†Ce travail constitue une partie de la Thèse de 3^{ème} cycle de G. Le Corre, soutenue le 15/06/77 à Orsay.

‡Adresse actuelle: C.E.R.C.O.A. 2, rue H. Dunant, B.P. 28, 94320 Thiais, France.

¹Un milieu fortement alcalin est racémisant.³

²Liste non limitative: Fmoc,⁶ Cyoc,⁷ Msc,⁸ MEC,⁹ Nopy,¹⁰ CEC,¹¹ Peoc.¹²

³Communication préliminaire: Réf. 13.

⁴Le principe de l'élimination 1-6 a été repris par Kemp et coll. dans l'élaboration des groupes protecteurs Bic et Dobz.^{4,5}

⁵L'hydrolyse alcaline d'éther et d'halogénure acétoxybenzyliques non encombrés s'effectue suivant ce mécanisme¹⁶.

phosgène sur les alcools benzyliques obtenus (une étape supplémentaire de réduction est nécessaire dans le cas de l'utilisation de l'acide *p*-hydroxy *m*-chlorobenzoiïque) (voir Schéma 2).

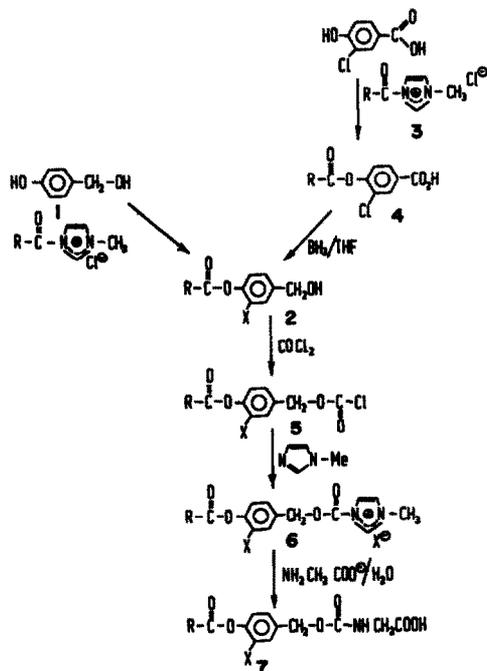


Schéma 2.

Alcools *p*-acyloxybenzyliques

A partir de l'alcool *p*-hydroxybenzylique 1. Le monoalkylcarbamate 2f a été obtenu par condensation de 1 avec l'isocyanate d'isopropyle en présence d'une quantité catalytique de triéthylamine.

Les esters, carbonates, thiocarbonate et carbamates 2a à 2e ont été préparés par acylation de ce phénolate au moyen des sels d'acyl-1 méthyl-3 imidazolium 3a à 3e.

A partir de l'acide hydroxy-4 chloro-3 benzoïque. L'alcool isopropylloxycarbonyloxy-4 chloro-3 benzylique 2d' a été obtenu en deux étapes par acylation de l'acide 4 puis réduction au diborane.^{1a}

Chlorocarbonates. Ils sont obtenus par action d'une solution toluénique de phosgène sur les alcools 2, à température ambiante.

Chlorures d'alcorycarbonyl-1 méthyl-3 imidazolium. Les chlorocarbonates 5 réagissent rapidement avec le *N*-méthyl imidazole pour donner les sels 6 insolubles dans l'éther. Ce sont des solides stables à l'abri de l'humidité.

Dérivés para-substitués de la Z-glycine. Les sels 6 réagissent avec le glycinat de sodium en solution aqueuse homogène. Après acidification les produits sont généralement obtenus avec de bons rendements (voir Tableau 6).

Autres aminoacides protégés. La préparation de dérivés 10 à 14 d'une série d'acides (Phe, Met, Trp, Pro, Cys, Lys et GlyOEt) a été effectuée comme précédemment dans l'eau à l'aide de sels de benzyloxycarbonyl-1 méthyl-3 imidazolium.

Dans le cas de la lysine et la cystéine, la première acylation s'effectue respectivement sur la fonction ϵ -amino ou sur la fonction thiol (16 et 15). La détermination de ces structures a été effectuée par spectrophotométrie infrarouge: alors que la fréquence ν C=O des α -Z aminoacides est de 1730 cm^{-1} , celle des dérivés ϵ -Z est de 1685–1700 cm^{-1} et celle de la S-Z cystéine est de 1705–1710 cm^{-1} .¹⁹

Dipeptides protégés. Les dipeptides 18d', 18e, 19d' et 19e ont été préparés en deux étapes: formation de l'ester de *N*-hydroxy succinimide (17d' et 17e) au moyen de la DCC puis aminolyse de cet ester dans le DMF.³⁰

Hydrolyse alcaline de *N*-benzyloxycarbonyl glycyne substituées

Nous avons suivi l'hydrolyse alcaline des dérivés para-substitués de *N*-benzyloxycarbonyl glycyne par spectrométrie UV à 290 nm, longueur d'onde d'absorption des ions phénolates provenant de l'hydratation de la méthylènequinone (voir Schéma 1).¹⁶

Les valeurs obtenues sont du même ordre de grandeur que celles de l'hydrolyse alcaline de carbonates et carbamates de phényle simples.²⁰

Les vitesses d'hydrolyse alcaline des esters 7a et 7b, des carbonates 7c, 7d et 7e' et du thiocarbonate 7e sont intermédiaires entre celles du monoalkylcarbamate et celle du dialkylcarbamate,¹ et ces groupements pourraient convenir pour une application éventuelle en synthèse peptidique (voir Tableau 1). La comparaison de leur vitesse de trifluoroacétylolyse permettra de sélectionner parmi eux les composés les plus stables dans l'acide trifluoroacétique et donc les plus intéressants en synthèse peptidique.

Trifluoroacétylolyse de dérivés *p*-substitués de la Z-glycine

La trifluoroacétylolyse a été suivie par RMN du proton. Les signaux de résonance des méthylènes benzyliques des composés 7 et des méthylènes benzyliques des trifluoroacétates obtenus apparaissent à des champs suffisamment différents pour permettre d'effectuer des études cinétiques. On observe la transformation parallèle

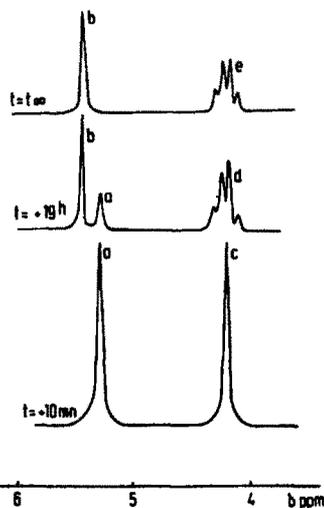


Fig. 2. Exemple de trifluoroacétylolyse de 7b suivie par RMN. (a) CH₂ benzylique de 7b; (b) CH₂ benzylique du trifluoroacétate obtenu; (c) singulet dû au CH₂ de la glycine bloquée; (d) signal du CH₂ de la glycine libre + glycine bloquée; (e) quadruplet du CH₂ de la glycine libre.

¹La grande différence de vitesse d'hydrolyse alcaline de mono- et dialkyl-carbamates a été bien étudiée.²⁰⁻²³ Le dialkyl carbamate 7g a été obtenu avec un mauvais rendement à partir du chlorure de diméthyl carbamoyle.

Tableau 1. Constantes de vitesse k_{OH^-} de l'hydrolyse alcaline des Z'Gly (UV $\lambda = 290$ nm)

| Produits | R | X | k_{OH^-} mole ⁻¹ .l.mn ⁻¹ |
|----------|---|----|---|
| Zf |  | H | $1,78.10^2$ |
| Zb |  | H | 51,20 |
| Za | CH ₃ | H | 44,7 |
| Zc | CH ₃ -CH ₂ -O | H | 30,8 |
| Zd' |  | Cl | 8,66 |
| Zd |  | H | 6,40 |
| Ze | CH ₃ -CH ₂ -S | H | 1,12 |
| Zg |  | H | $1,84.10^{-3}$ |

du singlet du méthylène de la glycine bloquée en un quadruplet du méthylène de la glycine libre (voir spectre).

Deux mécanismes de coupure (a) et (b) pouvaient être envisagés *a priori* (Schéma 3). La coupure (a) n'a probablement pas lieu car le carbonate d'isopropyle et de chloro-2 phényle 8 et le thiocarbonate d'éthyle et de phényle 9 ne sont pas solvolysés au bout de deux mois dans l'acide trifluoroacétique.



Nous avons aussi étudié la trifluoroacétylolyse de la Z-glycine elle-même. Les constantes apparentes de pseudo-premier ordre et le rapport des constantes

$$\alpha = \frac{k_{obs}(Z)}{k_{obs}(Z')}$$

sont portés dans le Tableau 2.

^aLa présence d'un chlore en méta du groupe benzyloxycarbonyle augmente la résistance à la solvolys²⁴ et l'hydrolyse alcaline est plus rapide.

La Z-glycine substituée en para par une fonction carbamate 7f est moins stable que la Z-glycine dans l'acide trifluoroacétique ($\alpha < 1$). Les substituants isopropylcarbonoxy-4, thiocarbonate-4 et carbonate-4 (7b, 7c, 7d et 7e) ont au contraire un effet stabilisant ($\alpha > 1$). Cette résistance à la trifluoroacétylolyse est considérablement accrue par la présence d'un substituant chlore en 3.^a

Le produit 7g n'a pas été étudié car sa vitesse d'hydrolyse en milieu alcalin était trop lente pour une application ultérieure en synthèse peptidique.

Régénération des fonctions amines

Pour éviter un milieu trop basique, racémisant, nous avons utilisé un nucléophile à effet α : l'eau oxygénée.²⁶ En effet à pH = 9,5 l'anion HOO⁻ est un meilleur nucléophile que HO⁻ et Kenner a utilisé cette propriété pour effectuer la coupure rapide des esters de phényle.²⁵

Dans une solution d'eau oxygénée dans l'ammoniaque les groupements Z' sont coupés en 15 min. L'oxydation des chaînes latérales soufrées ou indoliques peut être évitée par addition de sulfure de diméthyle.²⁵ L'addition d'un capteur de méthylène-quinone (bisulfite de sodium,

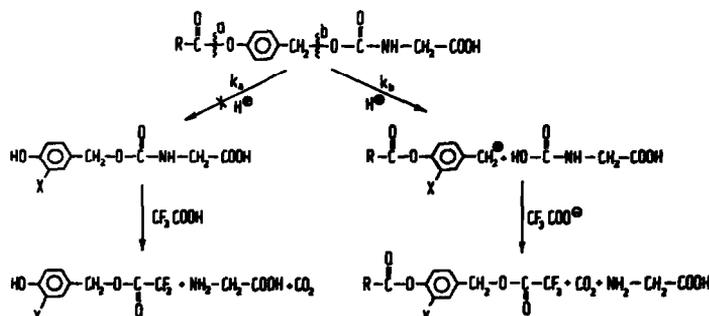
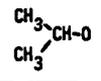
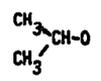
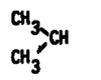
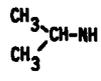


Schéma 3.

Tableau 2. Constantes de vitesse k_{obs} de la trifluoroacétyloxyse de Z'Gly (RMN 90 MHz)

| Produits | R | X | $10^4 k_{\text{obs}} \text{ min}^{-1}$ | $\alpha = \frac{k_{\text{obs}}(\text{Z})}{k_{\text{obs}}(\text{Z}')}$ |
|----------|---|----|--|---|
| ZGly | H | H | 12,00 | 1 |
| Zd' |  | Cl | 0,75 | 16,67 |
| Za | CH ₃ | H | 5,70 | 2,13 |
| Zd |  | H | 5,90 | 2,04 |
| Ze | CH ₃ -CH ₂ -O | H | 6,87 | 1,75 |
| Zf | CH ₃ -CH ₂ -S | H | 8,25 | 1,45 |
| Zg |  | H | 8,62 | 1,39 |
| Zh |  | H | 15,00 | 0,80 |

par exemple^{4,27} évite la réaction secondaire de *N*-alkylation de l'amine libérée (voir sur le Schéma 1).

L'acide ou le peptide a ensuite été purifié par chromatographie sur résine échangeuse d'ions²⁸ et obtenu avec un rendement de 80%.

Comme le groupement benzyloxycarbonyle lui-même, les groupes benzyloxycarbonyles substitués s'hydrogénéolysent facilement en présence de charbon palladié.²⁹

DISCUSSION

La comparaison des vitesses d'hydrolyse alcaline et de trifluoroacétyloxyse des dérivés substitués de la Z-glycine montre que les deux groupements les plus intéressants sont le groupement isopropylloxycarbonyloxy-4 chloro-3 benzyloxycarbonyle et le groupement isopropylloxycarbonyloxy-4 benzyloxycarbonyle. Ces groupes sont stables dans l'acide trifluoroacétique (plus stable que Z lui-même) et leurs vitesses d'hydrolyse alcaline sont optimales pour la synthèse peptidique. Ils ne sont pas modifiés lors de la réaction de couplage (DCC + HOSU).

On peut envisager de les appliquer simultanément avec des groupes Boc et Z dans la synthèse de molécules polyaminées lorsqu'une levée sélective de protection est nécessaire: Z' peut être coupé par HOO⁻ dans l'ammoniaque sans toucher les Boc-amines et/ou les Z-amines. Boc peut être coupé dans l'acide trifluoroacétique sans toucher les groupements Z' (les fonctions amines protégées pouvant être des α ou ω amines).

Ils pourraient ainsi constituer l'un des éléments d'un système "orthogonal"³¹ de protection.

PARTIE EXPERIMENTALE

Produits de départ. L'alcool hydroxy-4 benzylique est débarrassé d'impuretés résineuses par extraction en continu au chloro-

forme. L'acide hydroxy-4 chloro-3 benzoïque anhydre est obtenu à partir de l'hémihydrate par séchage sur MgSO₄.

Instrumentation. Les spectres infrarouges ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer 257 (ν en cm⁻¹). Les spectres RMN ont été enregistrés sur un appareil Jéol C 60 H ou sur un appareil Perkin-Elmer R 32 (δ en 10⁻⁶, s = singulet...). Les spectres UV ont été enregistrés sur un appareil Cary 15 ou un Unicam SP 1800 (λ en nm). Les composés pour lesquels le mot Analyse est indiqué suivi d'une formule moléculaire explicite ont fourni des résultats analytiques correspondant à la formule à $\pm 0.2\%$ au plus.

Alcools benzyliques para-substitués

Alcool isopropylaminocarbonyloxy-4 benzylique 2d. 0.012 mole (1.15 cm³) d'isocyanate d'isopropyle est ajouté à un mélange de 0.01 mole (1.24 g) d'alcool *p*-hydroxybenzylique et de 0.001 mole (0.15 cm³) de triéthylamine dans 15 cm³ de THF sec. Après une nuit à température ambiante le précipité est lavé avec du THF glacé. Les caractéristiques de l'alcool isopropylaminocarbonyloxy-4 benzylique ainsi obtenu sont résumées dans le Tableau 3.

Alcools éthylthiocarbonyloxy-4 et isopropylcarbonyloxy-4 benzyliques: 2e et 2d. A 0.011 mole (1.36 g) d'alcool *p*-hydroxybenzylique dans 15 cm³ de THF à 0°C est ajouté 0.01 mole de chlorothiocarbonate de *S*-éthyle (1.04 cm³) ou bien de chlorure d'isobutyryle (1.04 cm³) dissous dans 10 cm³ de THF glacé. Après 12 h d'agitation le mélange est évaporé, le résidu repris dans de l'éther sec et le chlorhydrate de triéthylamine insoluble est filtré. Le filtrat est évaporé. L'alcool 2e est recristallisé tandis que l'alcool 2d est purifié par distillation moléculaire sous 20 mm Hg (voir Tableau 3).

Alcool isopropylloxycarbonyloxy-4 chloro-3 benzylique 2d

Acide isopropylloxycarbonyloxy-4 chloro-3 benzoïque 4. A une solution étherée de 0.01 mole (1.16 cm³) de chlorocarbonate d'isopropyle, on ajoute à 0°C une solution de 0.01 mole (0.71 cm³) de *N*-méthylimidazole dans 50 cm³ d'éther. Le précipité de chlorure d'isopropylloxycarbonyl-1 méthyl-3 imidazolium obtenu est

Tableau 3. Caractéristiques physiques des alcools benzyliques 2

| Produits | R | X | ν OH/NH nujol | ν C=O | δ CH ₂ | F °C | Solvant de recrystal. | Analyse | Rdt % |
|------------|-------|----|----------------------|-----------|---------------------------|-------|--|---------|-------|
| <u>2f</u> | iPrNH | H | 3340 3270 | 1710 | 4,52 (DMSO) | 158 | EtOH/H ₂ O | C, H | 97 |
| <u>2b</u> | iPr | H | 3330 | 1755 | 4,52 (CDCl ₃) | - | - | C, H | 78 |
| <u>2g</u> | Et-S | H | 3210 | 1710 | 4,45 (DMSO) | 54 | Et ₂ O/C ₅ H ₁₂ | C, H | 72 |
| <u>2d'</u> | iPrO | Cl | 3210 | 1750 | 4,33 (CCl ₄) | 95-96 | Et ₂ O/C ₅ H ₁₂ | C, H | 94 |

rapidement essoré et lavé à l'éther sec. 0.01 mole (1.81 g) d'acide hydroxy-4 chloro-3 benzoïque est dissous dans 10 cm³ d'une solution de NaHCO₃ 1 N. 0.04 mole (9.18 g) de sel préparé ci-dessus y est ajouté. Après 10 min d'agitation le milieu réactionnel est acidifié jusqu'à pH = 2 avec HCl à 20%. L'acide est essoré puis dissous dans de l'éther et séché sur MgSO₄. F: 151°C (CHCl₃-cyclohexane); Rdt = 88%. Analyse: C₁₁H₁₁O₂Cl C, H, O. IR (Nujol): ν C-O 1760 cm⁻¹ ν COOH 1690 cm⁻¹ ν Ar



1600 cm⁻¹. RMN (DMSO) δ : 1.40 (d, 6H, (CH₃)₂CH); 5.02 (m, 1H, (CH₃)₂CH-O); 7.80 et 8.15 (m, 3H, ArH); 9.07 (s, 1H, COOH).

Réduction au diborane. A une solution de 0.01 mole (2.57 g) d'acide isopropoxy-carboniloxy-4 chloro-3 benzoïque dans 5 cm³ de THF sec et déperoxydé, sous azote, on ajoute goutte à goutte à -15°C, 10 cm³ d'une solution molaire de BH₃/THF (Aldrich) puis on agite 12 h à 25°C. Après évaporation le résidu est repris

par de l'éther, l'acide borique est filtré et le filtrat évaporé (cf Tableau 3).

Chlorocarbonates de benzyle para-substitués 5

A 0.01 mole d'alcool benzylique para-substitué 2 dans 5 cm³ de chlorure de méthylène est ajouté 10 cm³ (0.02 mole) d'une solution de phosgène à 20% dans le toluène. Après 4 h on évapore sous vide (cf. Tableau 4).

Chlorures de benzyloxycarbonyl-1 méthyl-3 imidazolium 6

A 0.01 mole de chlorocarbonate 5 dans 50 cm³ d'éther, on ajoute à 0°C 0.01 mole (0.7 cm³) de N-méthyl imidazole dans 50 cm³ d'éther. Les précipités 6e, 6f et 6g sont lavés à l'éther. Le sel 6d' trop fin pour être essoré est centrifugé. L'huile 6b est extraite à l'acetate d'éthyle (Tableau 5).

Amino-acides protégés

1. *Mode opératoire général.* A 0.01 mole d'acide aminé^b dans 10 cm³ de soude 1 N, est ajouté 0.02 mole de sel 6. Après 10 min

^bL-Trp; D,L-Met; L-Pro; L-Phe; Gly OEt, HCl; Gly.

Tableau 4. Caractéristiques physiques des chlorocarbonates 5

| Produits | R | X | ν NH nujol | ν C=O | δ ArCH ₂ | F °C | Rdt % | |
|------------|-------|----|-------------------|-----------|----------------------------|---------------------------|---------|----|
| <u>5f</u> | iPrNH | H | 3320 | 1765 | 1700 | 5,27 (CDCl ₃) | 140 | 95 |
| <u>5b</u> | iPr | | - | 1765 | 1690 | 5,30 (CDCl ₃) | liquide | 93 |
| <u>5g</u> | EtS | | - | 1770 | 1720 | 5,22 (CDCl ₃) | liquide | 95 |
| <u>5d'</u> | iPrO | Cl | - | 1780 | 1760 | 5,15 (CDCl ₃) | 52 | 80 |

Tableau 5. Caractéristiques physiques des sels d'acyl-1 méthyl-3 imidazolium 6

| Produits | R | X | ν NH nujol | ν C=O | δ ArCH ₂ | F °C | Rdt % | |
|------------|-------|----|-------------------|-----------|----------------------------|---------------------------|-------|----|
| <u>6f</u> | iPrNH | H | 3305 | 1740 | 1695 | 5,17 (DMSO) | 165 | 90 |
| <u>6b</u> | iPr | | - | 1745 | 1696 | 5,18 (CDCl ₃) | huile | 90 |
| <u>6g</u> | EtS | | - | 1790 | 1710 | 5,52 (CDCl ₃) | 59-61 | 94 |
| <u>6d'</u> | iPrO | Cl | - | 1790 | 1758 | 5,17 (DMSO) | 78-79 | 95 |

Tableau 6. Caractéristiques physiques des Z'Gly

| Produits | R | X | ν CO | nujol | δ ArCH ₂ | Analyse calc. Tr. | F °C | Rdt % |
|----------|--------|----|----------|-------|----------------------------|------------------------------|---------|-------|
| Zf | iPrNH | H | | 1690 | 5,02 (DMSO) | C 54,19 54,45 H 5,85 5,31 | 150-152 | 95 |
| Zb | iPr | | 1750 | 1690 | 5,06 (CDCl ₃) | C 56,94 56,87 H 5,81 5,83 | 99-100 | 95 |
| Ze | EtS | | 1720 | 1685 | 5,10 (CDCl ₃) | C 49,83 49,86 H 4,84 4,80 | 102-103 | 90 |
| Zd' | iPrO | Cl | 1755 | 1710 | 5,00 (CDCl ₃) | - | huile | 90 |
| Zd'' | iPrO * | | 1760 | 1720 | 5,07 (DMSO) | C 59,25 59,35 H 7,46 7,33 | 150 | 97 |

* sel de DCHA

Tableau 7. Caractéristiques physiques des Z'-aminoacides

| Produits | acide-aminé | R | X | ν C=O | nujol | δ ArCH ₂ | F °C | Analyse Calc. Tr. | solvant de recristal. | Rdt % |
|----------|-------------|------|----|-----------|-------|--|---------|------------------------------|--------------------------------|-------|
| 10e | L Trp | Et S | H | | 1720 | 5,09 (CDCl ₃) | 137 | C 59,72 59,71 H 5,02 5,02 | Et ₂ O/pentane | 60 |
| 11e | DL Met | Et S | H | 1720 | 1700 | 5,10 (CDCl ₃ + DMSO) ³ | 92 | C 49,59 49,36 H 5,47 5,38 | CHCl ₃ /cyclohexane | 86 |
| 12e | L Pro | Et S | H | 1725 | 1690 | 5,05 (CDCl ₃) | 125 | C 54,22 54,16 H 6,69 6,70 | EtOH/H ₂ O | 70 |
| 13e | L Phe | Et S | H | 1720 | 1690 | 5,05 (CDCl ₃) | 108-110 | C 59,84 59,63 H 5,25 5,25 | CHCl ₃ /cyclohexane | 98 |
| 10d' * | L Trp | iPrO | Cl | 1760 | 1700 | 5,02 (CDCl ₃) | 165-168 | C 63,09 63,02 H 5,25 5,25 | CHCl ₃ /hexane | 50 |
| 11d' * | DL Met | iPrO | Cl | 1760 | 1690 | 5,05 (DMSO) | 135-136 | C 57,95 57,67 H 7,55 7,54 | EtOH/H ₂ O | 80 |
| 12d' * | L Pro | iPrO | Cl | 1765 | 1700 | 5,10 (D ₂ O) | 267-269 | C 61,31 62,45 H 7,55 7,82 | CHCl ₃ /cyclohexane | 90 |
| 13d' * | L Phe | iPrO | Cl | 1760 | 1710 | 5,00 (CDCl ₃) | 147 | C 64,22 64,45 H 7,35 7,27 | CHCl ₃ /cyclohexane | 60 |
| 14d' | Gly OEt | iPrO | Cl | 1750 | 1715 | 5,10 (CDCl ₃) | 76 | C 51,52 51,23 H 5,39 5,47 | AcOEt/cyclohexane | 92 |
| 12d | L Pro | iPrO | H | 1760 | 1660 | 5,13 (CDCl ₃) | 125-126 | C 58,11 58,10 H 6,02 6,00 | - | 95 |
| 13d | L Phe | iPrO | H | 1760 | 1695 | 5,00 (CDCl ₃) | 83-85 | C 62,84 61,52 H 5,77 5,74 | - | 95 |

* sels de DCHA

la solution est acidifiée jusqu'à pH = 2 par HCl 1 N. Les précipités 7b, 7d, 7e, 10e, 11e, 12d, 12e, 13d, 13e et 14d' sont essorés et les produits huileux 7d', 10d', 11d', 12d' et 13b sont extraits à l'acétate d'éthyle.

2. Préparation des dérivés de la L-cystéine et de la L-lysine. A 0.01 mole de L-cystéine (1.21 g) ou de L-lysine (1.48 g) en solution aqueuse 0.5 M est ajouté 0.01 mole de sel d'acyl-1 méthyl-3 imidazolium. Après 10 min, le carbamate précipite. 15d, 15d' et 15e sont essorés et 16d' et 16e sont centrifugés (voir Tableaux 8 et 9).

Préparation d'éthylthiocarbonyloxy-4 benzoyloxycarbonyl et d'isopropylthiocarbonyloxy-4 chloro-3 benzoyloxycarbonyl dipéptides

1. Couplage. A 0.01 mole d'acylglycine 7d' ou 7e dissous dans 10 cm³ de THF sec à 0°C est ajouté 0.01 mole (1.15 g) de N-hydroxysuccinimide et 0.01 mole (2.06 g) de dicyclohexylcar-

bodiimide (DCC). On laisse réagir une nuit à 0°C, la dicyclohexylurée est filtrée puis le THF évaporé. Le résidu obtenu est trituré dans l'éther puis recristallisé.

A 0.01 mole (1.15 g) de L-proline ou (2.05 g) de L-tryptophane en suspension dans 30 cm³ de DMF est ajouté 0.01 mole (1.5 cm³) de triéthylamine et 0.01 mole d'ester de N-hydroxysuccinimide 17d' ou 17e. Le mélange réactionnel est agité une nuit à température ambiante, puis une solution aqueuse saturée de NaCl et de l'acétate d'éthyle sont ajoutés. Le milieu est acidifié jusqu'à pH = 2 avec HCl 20%. La phase organique est lavée avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. La phase aqueuse est réacidifiée à pH = 2 et extraite à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis évaporée. Les dérivés peptidiques 18d', 19d' et 19e sont recristallisés. 18e huileux est caractérisé sous la forme de son sel de dicyclohexylammonium.

2. Acylation directe du dipeptide. A 0.01 mole de dipeptide

Tableau 8. Caractéristiques physiques des Z'-S-cystéine

| p ^t | R | X | ν C=O | ν ₁ / ν ₂ | δ Ar-CH ₂ | F °C | Analyse Calc. Tr. | Rdt % |
|----------------------------|------|----|-------|---------------------------------|----------------------|---------|------------------------------|-------|
| <u>15e</u> <u>15e</u> | EtS | H | 1720 | 1705 | 5,30 (DMSO) | 169 | C 47,58 46,93 H 4,28 4,70 | 97 |
| <u>15d'</u> <u>15d'</u> | iPrO | Cl | 1760 | 1710 | 5,25 (DMSO) | 149-150 | C 46,21 46,17 H 4,15 4,17 | 80 |
| <u>15d</u> <u>15d</u> | iPrO | H | 1765 | 1705 | 5,22 (DMSO) | 168-170 | C 50,41 50,52 H 5,36 5,51 | 95 |

Tableau 9. Caractéristiques physiques des ε Z'-L-lysine

| p ^t | R | X | ν C=O | ν ₁ / ν ₂ | δ Ar-CH ₂ | F °C | Analyse Calc. Tr. | Rdt % |
|----------------------------|------|----|-------|---------------------------------|---------------------------|-----------|------------------------------|-------|
| <u>16e</u> <u>16e</u> | EtS | H | 1720 | 1685 | 5,00 (DMSO) | 234 | C 53,25 53,45 H 6,05 6,07 | 30 |
| <u>16d'</u> <u>16d'</u> | iPrO | Cl | 1765 | 1700 | 5,10 (CDCl ₃) | huile | C 51,86 51,94 H 6,05 6,04 | 30 |
| <u>16d</u> <u>16d</u> | iPrO | H | 1760 | 1690 | 4,98 (DMSO) | 225 (dec) | C 56,53 56,56 H 6,85 6,77 | 60 |

Tableau 10. Caractéristiques physiques des esters activés

| p ^t | R | X | ν C=O | ν ₁ / ν ₂ | δ Ar-CH ₂ | F °C | Analyse Calc. Tr. | Solvant de recristal. | Rdt % |
|----------------------------|------|----|---------------------|---------------------------------|---------------------------|------|------------------------------|---|-------|
| <u>17e</u> <u>17e</u> | Et S | H | 1820 1780 1730 1680 | | 5,17 (CDCl ₃) | 109 | C 49,75 49,84 H 4,43 4,51 | CH ₂ Cl ₂ /hexane | 90 |
| <u>17d'</u> <u>17d'</u> | iPrO | Cl | 1760 1745 1690 | | 5,10 (DMSO) | 144 | C 48,82 49,03 H 4,34 4,32 | CH ₂ Cl ₂ /ether | 90 |

Tableau 11. Caractéristiques physiques des Z'-dipeptides

| p ^t | R | X | a.a. | ν C=O | ν ₁ / ν ₂ | δ Ar-CH ₂ | F °C | Analyse Calc. Tr. | Solvant de recristal. | Rdt % |
|----------------------------|--------------------------------------|----|------|---------------------|---------------------------------|---------------------------|------|------------------------------|-------------------------------------|-------|
| <u>18e</u> <u>18e</u> | Et S | α | Pro | 1720 1700 1660 1630 | | 5,07 (CDCl ₃) | 113 | C 60,75 60,81 H 7,83 7,85 | CHCl ₃ /cyclo- hexane | 81 |
| <u>19e</u> <u>19e</u> | Et S | | Trp | 1720 1690 1650 | | 5,10 (CDCl ₃) | 135 | C 57,71 57,65 H 5,05 5,12 | EtOH/H ₂ O | 50 |
| <u>18d'</u> <u>18d'</u> | (CH ₃) ₂ CH-O | Cl | Pro | 1760 1725 1610 | | 5,10 (CDCl ₃) | 90 | C 51,53 51,02 H 5,24 5,46 | EtOH/H ₂ O | 98 |
| <u>19d'</u> <u>19d'</u> | (CH ₃) ₂ CH-O | Cl | Trp | 1760 1730 1630 | | 5,09 (CDCl ₃) | 218 | C 56,43 56,32 H 4,93 4,99 | EtOH/H ₂ O | 55 |

α sel de DCHA

(Gly-Pro ou Gly-Trp) dans 10 cm³ de soude 1N est ajouté 0.02 mole de chlorure 6e' et 6e. Après 10 min la solution est acidifiée jusqu'à pH=2 par HCl 1N. Les précipités sont essorés et recristallisés.

Hydrolyse alcaline

Les vitesses d'hydrolyse de Z'Gly ont été mesurées par spectrophotométrie UV à λ = 290 nm. Les dérivés de la glycine ont été dissous directement dans la cuve contenant un tampon thermostaté à 25 ± 0.5°C. Les constantes de vitesse de pseudo-premier ordre (k_{obs}) ont été déterminées en portant log (D_t-D_∞) en fonction du temps. Connaissant les concentrations en ions OH⁻, les k_{OH⁻} ont été déterminés: $k_{OH^-} = \frac{k_{obs}}{[OH^-]}$.

Trifluoroacétylolyse

40 mg de Z'Gly ont été dissous dans 0.5 cm³ d'acide trifluoroacétique. Le spectromètre RMN 90 MHz a été thermostaté à 20 ± 0.5°C. L'avancement de la réaction est suivie par intégration des signaux à 5.30 ppm (diminution du signal ArCH₂) et à 5.45 ppm (augmentation du pic du trifluoroacétate obtenu) (voir Fig. 2). Les constantes de vitesse de pseudo-premier ordre (k_{obs}) ont été déterminées en portant log (C_t-C_∞) en fonction du temps.

Coupages alcalines préparatives

0.01 mole de Z'glycine (7e' ou 7e) ou de Z'-glycyl-L-proline (18d') et 0.05 mole (5.2 g) de bisulfite de sodium sont dissous dans un mélange préparé extemporanément de 100 cm³ d'ammoniaque 0.5 N et 12 cm³ d'H₂O₂ à 10 volumes. Après 15 min le mélange réactionnel est concentré sous vide puis chromatographié sur une résine échangeuse d'ions Dowex 50X8 200-400 mesh sous forme acide (6 g). Après rinçage à l'eau distillée l'élué est effectuée avec

¹tampons: pH 10: NaHCO₃ Na₂CO₃ (0.025 M/0.025 M) pH 11.12, 13, 14: NaOH 10⁻³ M, 10⁻² M, 10⁻¹ M, 1 M.

Tableau 12. Pouvoirs rotatoires des Z'-aminoacides

| p^{\pm} | R | X | a.a. | solvant | C | g/dl | $[\alpha]_D^{20}$ |
|--------------------|------|----|--------------------|-------------------|---|------|-------------------|
| $\underline{13e}$ | Et S | H | L Phe | CHCl ₃ | | 1 | - 1,5 |
| $\underline{12e}$ | Et S | H | L Pro | CHCl ₃ | | 0,5 | -79 |
| $\underline{10e}$ | Et S | H | L Trp | EtOH | | 1 | + 0,3 |
| $\underline{13d'}$ | iPrO | Cl | L Phe ^a | CHCl ₃ | | 1 | +34 |
| $\underline{12d'}$ | iPrO | Cl | L Pro ^a | CHCl ₃ | | 0,5 | - 1,6 |
| $\underline{10d'}$ | iPrO | Cl | L Trp ^a | EtOH | | 1 | +10,5 |

^a sels de DCHA

500 cm⁻¹ d'une solution d'ammoniaque à 3%. La glycine ou la glycyL-L proline obtenue après évaporation est caractérisée par CCM. [gel de silice Merck HF 254, éluant: butanol, acide acétique, NH₄OH 3% , H₂O (6-1-1-2) R_f Gly: 0.13; Gly-Pro: 0.08; *p*-hydroxybenzylglycine: 0.43; *p*-hydroxybenzylproline: 0.51]. RMN de la glycine dans D₂O (60 MHz) δ : 3.6 (s, 2H, CH₂). RMN de la glycl-proline dans D₂O (60 MHz) δ : 1.75(m, 4H, CH₂(CH₂)₂CH); 3.12 (s, 2H, N-CH₂CO); 3.31 (t, 2H, H-CH₂-CH₂); 4.7 (m, 1H, N-CH-COOH).

REFERENCES

- ¹E. Wunsh in Houben-Weyl, *Methoden der Organischen Chemie*, Vol. 15, part 1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1974).
²M. Bodansky, Y. Klausner et M. A. Ondetti, *Peptide synthesis* 2^e éd., p. 16. Wiley, New York (1976).
³J. A. McLaren, *Austral J. Chem.* 11, 360 (1958).
⁴D. S. Kemp et C. F. Hoyng, *Tetrahedron Letters* 4625 (1975).
⁵D. S. Kemp et D. C. Roberts, *Tetrahedron Letters* 4629 (1975).
⁶L. A. Carpino et G. Han, *J. Org. Chem.* 37, 3404 (1972).
⁷E. Wunsh et R. Spangenberg, *Ber.* 104, 2427 (1971).
⁸E. T. Wolters, G. I. Tesser et R. I. Nivard, *J. Org. Chem.* 39, 3388 (1974).
⁹H. Kunz, *Ber.* 109, 3693 (1971).
¹⁰P. L. Southwick, R. F. Dufresne et J. J. Lindsey, *J. Org. Chem.* 39, 3351, (1974).
¹¹H. Eckert et I. Ugi, *Angew. Chem. Int. Ed.* 15, 681 (1976).
¹²H. Kunz, *Liebigs Ann.* 1694 (1976).
¹³M. Wakselman et E. Guibe-Jampel, *J.C.S. Chem. Comm.* 593 (1973).
¹⁴L. J. Filar et S. Winstein, *Tetrahedron Letters* 9 (1960).
¹⁵A. B. Turner, *Quarterly Rev.* 18, 374 (1964).
¹⁶P. Remuzon et M. Wakselman, *Tetrahedron* 33, 3097 (1977).
¹⁷E. Guibe-Jampel, G. Bram et M. Vilkas, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1021 (1973).
¹⁸N. H. Yoon, C. S. Pak, H. C. Brown, S. Krishnamurthy et T. P. Stoky, *J. Org. Chem.* 38, 2786 (1973).
¹⁹A. A. Costopanagiotis, B. O. Handford et B. Weinstein, *J. Org. Chem.* 33, 1261 (1968).
²⁰L. Dittert et Higushi, *J. Pharm. Sci.* 52, 852 (1963).
²¹I. Christenson, *Acta Chem. Scand.* 18, 904 (1964).
²²A. Hegarty et L. Frost, *J. Chem. Soc. Perkin II* 1719 (1973).
²³T. Vontor et M. Vereca, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 38, 516 (1973).
²⁴B. N. Erikson et R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* 95, 3757 (1973).
²⁵G. W. Kenner et J. H. Seely, *J. Am. Chem. Soc.* 94, 3259 (1972).
²⁶J. D. Edwards, *Int. J. Chem. Res.* 5, 1 (1973).
²⁷L. Ivnas et B. Lindberg, *Acta Chem. Scand.* 15, 1081 (1961).
²⁸J. Kallonitsh, V. Gabor et A. Hajos, *Ber.* 89, 2293 (1956).
²⁹J. P. Greenstein et M. Winitz, *Chemistry of the Aminoacids*, p. 1232. Wiley, New York (1961).
³⁰J. Savrda, *J. Org. Chem.* 42, 3199 (1977).
³¹G. Barany et R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* 99, 7363 (1977).