

## JOACHIM GANTE

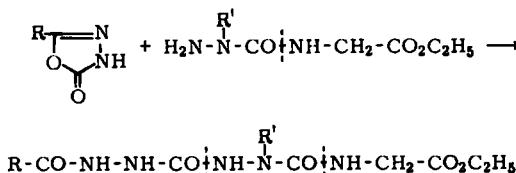
Peptidähnliche Systeme, VI<sup>1)</sup>Über reaktionsfähige *p*-Nitro-phenylester von Azapeptiden

Aus dem Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin

(Eingegangen am 21. April 1965)

Aus Benzyloxycarbonyl(Z)-aminoäure-hydraziden und Bis-[*p*-nitro-phenyl]-carbonat wurden reaktionsfähige Z-Aminoacyl-azaglycin-[*p*-nitro-phenylester] dargestellt, welche sich zur Synthese höherer Azapeptide eignen.

Kürzlich<sup>1)</sup> hatten wir über die Synthese von Aza-tri- und -tetrapeptiden aus 2-substituierten 1,3,4-Oxiazolonen-(5) und Aza-dipeptiden berichtet.



Auf der Suche nach weiteren — womöglich bequemeren — Synthesewegen gelang es uns, die in der Peptidchemie gebräuchliche Methode der „aktivierten Ester“<sup>2)</sup> auf unsere peptidanalogen Verbindungen zu übertragen und verschiedene Benzyloxycarbonyl(Z)-aminoacyl-azaglycin-[*p*-nitro-phenylester] darzustellen. Diese bisher nicht beschriebene Verbindungsklasse ist der Reaktion mit Aminosäure- bzw. Aza-aminoäure-Derivaten unter Aminolyse und Bildung höherer Azapeptide zugänglich.

Vorangegangene Versuche, entsprechende Äthylester, wie Z-Azaglycin<sup>3)</sup> und Z-Glycyl-azaglycin-äthylester mit geeigneten Verbindungen zu längerkettigen Azapeptiden aminolytisch zu kuppeln, mißlangen selbst unter extremen Reaktionsbedingungen. Die zuletzt genannte Verbindung wurde erstmalig aus Z-Glycin-hydrazid<sup>4)</sup> und Chlorameisensäure-äthylester dargestellt.

Zur Synthese der *p*-Nitro-phenylester wurde das nach *Glatthard* und *Matter* aus *p*-Nitro-phenol und Phosgen bequem erhältliche Bis-[*p*-nitro-phenyl]-carbonat<sup>5)</sup> verwendet. So bildete es mit Z-Glycin-, Z-DL-Alanin<sup>4)</sup> und Z-L-Phenylalanin-hydrazid<sup>6)</sup>

1) V. Mitteil.: *J. Gante*, *Chem. Ber.* **98**, 540 (1965).

2) Vgl. *R. Schwyzer*, *B. Iselin* und *M. Feurer*, *Helv. chim. Acta* **38**, 69 (1955); *R. Schwyzer*, *M. Feurer*, *B. Iselin* und *H. Kägi*, ebenda **38**, 80 (1955); *M. Bodanszky*, *Nature [London]* **175**, 685 (1955); *B. Iselin*, *W. Rittel*, *P. Sieber* und *R. Schwyzer*, *Helv. chim. Acta* **40**, 373 (1957); *M. Bodanszky* und *V. du Vigneaud*, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 5688 (1959); *M. Goodman* und *K. C. Stueben*, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 3980 (1959); *Th. Wieland*, *B. Heinke* und *K. Vogeler*, *Liebigs Ann. Chem.* **655**, 189 (1962).

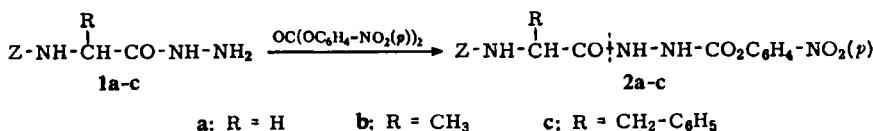
3) *J. Gante*, *Chem. Ber.* **97**, 2551 (1964).

4) *B. F. Erlanger* und *E. Brand*, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 3508 (1951).

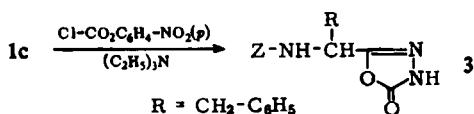
5) *R. Glatthard* und *M. Matter*, *Helv. chim. Acta* **46**, 795 (1963).

6) *J. I. Harris* und *T. S. Work*, *Biochem. J.* **46**, 196 (1950).

(1a – c) in siedendem Essigester unter Abspaltung von *p*-Nitro-phenol Z-Glycyl-, Z-DL-Alanyl- und Z-L-Phenylalanyl-azaglycin-[*p*-nitro-phenylester] (2a – c).



Beim Versuch, 2c auch durch Umsetzung von 1c mit Chlorameisensäure-[*p*-nitro-phenylester]<sup>7)</sup> in Gegenwart von Triäthylamin zu erhalten, entstand unter Ringschluß und Austritt von *p*-Nitro-phenol überraschenderweise das bisher unbekannte L-2-[ $\alpha$ -(Z-Amino)- $\beta$ -phenyl-äthyl]-1.3.4-oxdiazolon-(5) (3).



#### REAKTIONEN DER AKTIVIERTEN ESTER

Aus 2a und 2b bildeten sich beim Erhitzen mit Azaglycyl-glycin-äthylester<sup>1)</sup> in Essigester unter Abspaltung von *p*-Nitro-phenol die Aza-tetrapeptide Z-Glycyl-azaglycyl-azaglycyl-glycin-äthylester (4a) und Z-DL-Alanyl-azaglycyl-azaglycyl-glycin-äthylester (4b), welche sich nach Analyse und Misch-Schmp. als identisch erwiesen mit von uns nach der „Oxdiazolon-Methode“ (s. o.) erhaltenen Produkten. Diese, sowie weitere Reaktionen (s. u.) sind zugleich konstitutionsbeweisend für 2a und 2b. Aus 2c und Glycin-äthylester bildete sich analog das Aza-tripeptid Z-L-Phenylalanyl-azaglycyl-glycin-äthylester (5).

In der Absicht, einen Azaphenylalanin-Rest in die Peptidanalogen-Kette einzubauen, wurde 2a zunächst mit Benzylhydrazin umgesetzt. Dabei entstand jedoch nicht das für die gewünschte Kettenverlängerung erforderliche  $\beta$ -Benzyl-hydrazid, sondern, wie die Bildung eines *p*-Nitro-benzyliden-Derivates bewies, die  $\alpha$ -substituierte Verbindung 6.

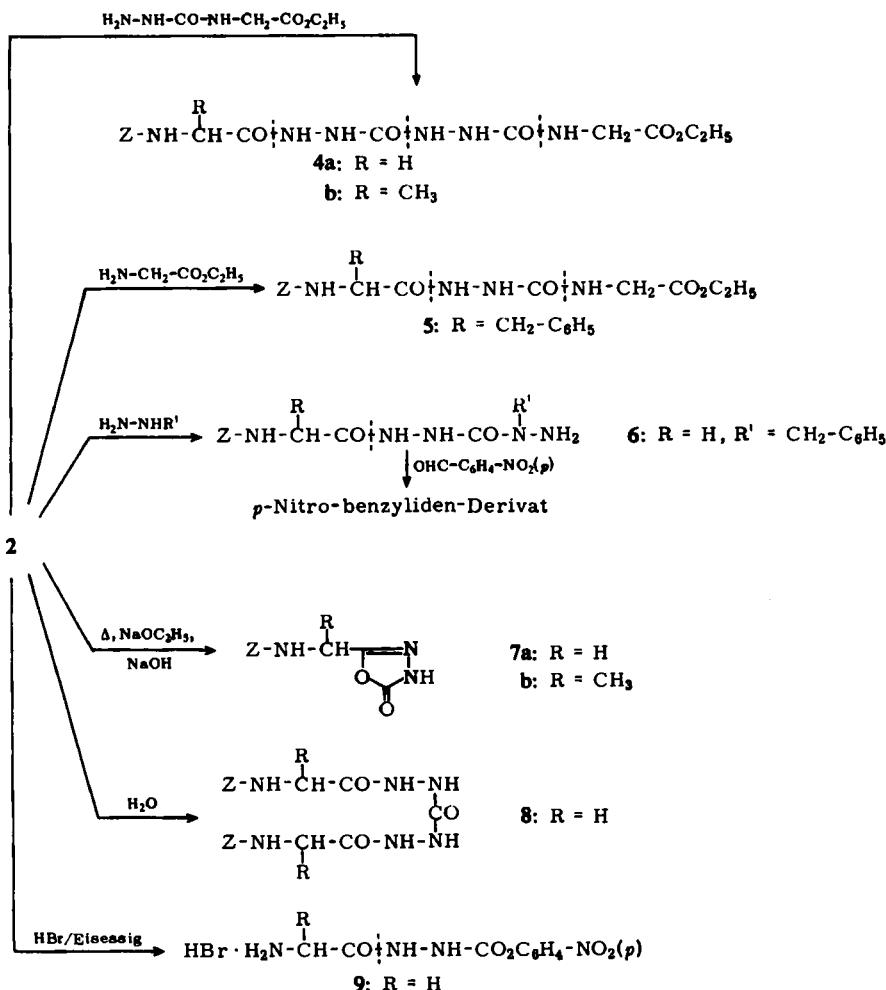
In der Erwartung, die aktiven Ester 2a und 2b zu den energieärmeren Äthylestern umzusetzen, wurden sie in siedendem Äthanol in Gegenwart von Na-Äthylat erhitzt. Dabei entstanden jedoch unter intramolekularer Abspaltung von *p*-Nitro-phenol und Ringschluß 2-[*N*-Z-Aminomethyl]- (7a) bzw. DL-2-[ $\alpha$ -(Z-Amino)-äthyl]-1.3.4-oxdiazolon-(5) (7b). Diese Heterocyclen erwiesen sich mit den von uns auf anderem Wege<sup>1)</sup> schon dargestellten als identisch. Wie bei 2a gezeigt wurde, verläuft die Reaktion zu 7a ohne Zusatz von Na-Äthylat wesentlich langsamer.

Auch eine Verseifung von 2a durch NaOH in Äthanol/Wasser wurde nicht beobachtet, sondern es entstand wiederum 7a.

Die Einwirkung von siedendem Wasser auf 2a hingegen führte unter Austritt von *p*-Nitro-phenol und CO<sub>2</sub> zum  $\omega,\omega'$ -Bis-[Z-glycyl]-carbohydrazid (8), welches wir früher<sup>1)</sup> schon durch Behandlung von 7a mit Wasser erhalten hatten.

<sup>7)</sup> G. W. Anderson und A. C. McGregor, J. Amer. chem. Soc. 79, 6182 (1957).

Mit HBr/Eisessig ließ sich **2a** nach *D. Ben-Ishai und A. Berger*<sup>8)</sup> unter Entfernung der Amino-Schutzgruppe in das Hydrobromid des Glycyl-azaglycin-[*p*-nitro-phenylestern] (**9**) überführen.



<sup>8)</sup> *D. Ben-Ishai und A. Berger, J. org. Chemistry 17, 1564 (1952).*

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE<sup>9)</sup>

**Z-Glycyl-azaglycin-äthylester:** 2.49 g (11.2 mMol) **1a**<sup>4)</sup> wurden zunächst mit 2.1 ccm (22.1 mMol) **Chlorameisensäure-äthylester** und nach dem Abklingen der ersten heftigen Reaktion zusätzlich mit 1.8 ccm Pyridin (p. a) innig vermengt. Nach dem Eindampfen i. Vak. bis zur Trockne wurde der ölige Rückstand mit 80 ccm Wasser digeriert, wobei er zu einer bröckeligen Masse erstarrte. Nach Filtrieren, Waschen mit viel Wasser, Trocknen, Lösen in 30 ccm heißem Essigester und Zusetzen von 100 ccm Petroläther wurden 1.70 g (52%) vom Schmp. 124–125° erhalten.

$C_{13}H_{17}N_3O_5$  (295.3) Ber. C 52.86 H 5.81 N 14.23 Gef. C 53.10 H 5.85 N 14.63

**Z-Glycyl-azaglycin-[p-nitro-phenylester] (2a):** 1.62 g (7.3 mMol) **1a** und 2.21 g (7.3 mMol) **Bis-[p-nitro-phenyl]-carbonat**<sup>5)</sup> wurden in 30 ccm Essigester<sup>10)</sup> unter Röhren 2 Stdn. rückflußerhitzt. Der beim Erkalten ausgefallene kristalline Niederschlag wurde i. Vak. über  $P_2O_5$  und Paraffin getrocknet. Ausb. 1.98 g (71%), Schmp. 127–128°.

$C_{17}H_{16}N_4O_7$  (388.4) Ber. C 52.57 H 4.16 N 14.43 Gef. C 53.04 H 4.02 N 14.18

**Z-DL-Alanyl-azaglycin-[p-nitro-phenylester] (2b):** Wie **2a** aus 2.17 g (9.15 mMol) **1b**<sup>4)</sup> und 2.78 g (9.15 mMol) **Bis-[p-nitro-phenyl]-carbonat** in 30 ccm Essigester. Von Verunreinigungen wurde heiß filtriert und der nach dem Erkalten ausgefallene kristalline Niederschlag nach 24 Stdn. isoliert. Ausb. 1.47 g (40%), Schmp. 119–121°.

$C_{18}H_{18}N_4O_7$  (402.4) Ber. C 53.67 H 4.52 N 13.92 Gef. C 54.04 H 5.10 N 14.37

**Z-L-Phenylalanyl-azaglycin-[p-nitro-phenylester] (2c):** Wie **2a** aus 1.27 g (4.05 mMol) **1c**<sup>6)</sup> und 1.23 g (4.05 mMol) **Bis-[p-nitro-phenyl]-carbonat** in 20 ccm Essigester. Nach Abfiltrieren von Verunreinigungen, Zugabe von 25 ccm Petroläther und mehrstdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wurden 1.16 g (60%) **2c** vom Schmp. 152–153° isoliert. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Essigester — welches jedoch zur Weiterverarbeitung der Substanz nicht unbedingt erforderlich ist — schmolz die Substanz erstaunlicherweise bei 128–130°.  $[\alpha]_D^{22}$ : -20.1° (c = 1, Essigester).

$C_{24}H_{22}N_4O_7$  (478.5) Ber. C 60.23 H 4.64 N 11.71 Gef. C 60.64 H 4.39 N 11.71

**L-2-[ $\alpha$ -(Z-Amino)- $\beta$ -phenyl-äthyl]-1,3,4-oxadiazolon-(5) (3):** Zu einer eisgekühlten gerührten Lösung von 0.73 g (3.6 mMol) **Chlorameisensäure-[p-nitro-phenylester]**<sup>7)</sup> in 20 ccm Essigester wurde eine Lösung von 1.13 g (3.6 mMol) **1c** und 0.50 ccm (3.6 mMol) gereinigtem **Triäthylamin** in 100 ccm Essigester innerhalb von 40 Min. getropft, noch 15 Min. bei Eisbadtemperatur weitergerührt und das ausgefallene **Triäthylammoniumchlorid** abfiltriert. Nach Zugabe von 400 ccm Petroläther und 48 stdg. Aufbewahren im Kühlschrank wurde eine Verunreinigung abfiltriert, das Filtrat auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft (Reste i. Vak.), der ölige Rückstand zunächst aus 20 ccm absol. Benzol umkristallisiert und sodann aus 6 ccm Essigester und 14 ccm Petroläther umgefällt. Ausb. 0.25 g (21%), Schmelzbereich 115–125°,  $[\alpha]_D^{22}$ : -38.1° (c = 1, Aceton).

$C_{18}H_{17}N_3O_4$  (339.4) Ber. C 63.70 H 5.06 N 12.38 Gef. C 64.33 H 4.90 N 12.38

**Z-Glycyl-azaglycyl-azaglycyl-glycin-äthylester (4a):** 0.260 g (0.67 mMol) **2a** und 0.108 g (0.67 mMol) **Azaglycyl-glycin-äthylester**<sup>1)</sup> wurden in 10 ccm Essigester 3 Stdn. unter Röhren rückflußerhitzt. Nach Abfiltrieren von Verunreinigungen, Abdestillieren des Lösungsmittels

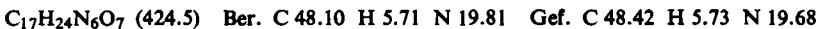
<sup>9)</sup> Die Schmpp. sind unkorrigiert.

<sup>10)</sup> Der hier und in nachfolgenden Versuchen verwendete Essigester ist nach C. Weygand, Organisch-chemische Experimentierkunst, 2. Aufl., S. 130, Verlag Johann Ambrosius Barth, Leipzig 1948, gereinigt.

(Reste i. Vak.), Umkristallisieren des Rückstandes aus 5 ccm Äthanol/Wasser (1:1) und mehrstdg. Stehenlassen wurden 0.065 g (24%) vom Schmp. 189–190° erhalten. Misch-Schmp. mit auf anderem Wege<sup>1)</sup> erhaltenem Produkt (Schmp. 188–190°) ohne Depression.



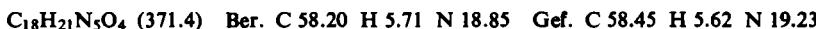
**Z-DL-Alanyl-azaglycyl-azaglycyl-glycin-äthylester (4b):** Eine Mischung aus 0.412 g (1.02 mMol) 2b, 0.165 g (1.02 mMol) Azaglycyl-glycin-äthylester und 10 ccm Essigester wurde unter Röhren 9 Stdn. rückflußerhitzt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels (Reste i. Vak.) wurde der ölige Rückstand aus wenig Äthanol/Wasser (1:2) umkristallisiert und das feinkristalline Produkt nach 2 Tagen aufgearbeitet. Ausb. 0.10 g (23%), Schmp. 180–182°. Misch-Schmp. mit authent. Produkt<sup>1)</sup> (Schmp. 180–181°) ohne Depression.



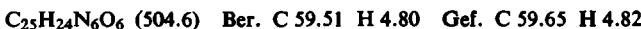
**Z-L-Phenylalanyl-azaglycyl-glycin-äthylester (5):** 0.457 g (0.96 mMol) 2c und 0.10 ccm (1.00 mMol) frisch dest. Glycin-äthylester wurden in 10 ccm Essigester 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt. Nach 24stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur, Abfiltrieren von Verunreinigungen und Zugabe von 15 ccm Petroläther wurden 0.23 g (54%) vom Schmp. 146–147° isoliert. Nach Umkristallisation aus Äthanol/Wasser (1:1) betrug der Schmp. 148–149°,  $[\alpha]_D^{25} = -2.7^\circ$  ( $c = 1$ , Äthanol).



**Z-Glycyl-azaglycin-[*a*-benzyl-hydrazid] (6):** Zu 0.30 ccm (2.58 mMol) Benzylhydrazin in 20 ccm Essigester wurden unter Röhren portionsweise 0.457 g (1.18 mMol) 2a innerhalb von 15 Min. hinzugefügt. Es wurde noch 10 Min. bei Raumtemperatur sowie 90 Min. unter Rückflußerhitzen weitergerührt, wobei das Reaktionsprodukt auszukristallisieren begann. Nach 2 stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wurde filtriert. Ausb. 0.30 g (69%), Schmp. 170–171°.



**Z-Glycyl-azaglycin-[*a*-benzyl- $\beta$ -(*p*-nitro-benzyliden)-hydrazid]:** Ein Gemisch aus 0.256 g (0.69 mMol) 6, 0.104 g (0.69 mMol) *p*-Nitro-benzaldehyd, 5 ccm Äthanol und 0.20 ccm *n* HCl wurde 45 Min. unter Rückfluß erhitzt. Der zunächst gallertartige, nach mehrtätigem Stehenlassen jedoch kristallisierte Niederschlag wurde aus 12 ccm Äthanol/Wasser (2:1) umkristallisiert. Ausb. 0.11 g (32%), Schmelzbereich 180–190°.



#### 2-[*N*-Z-Aminomethyl]-1,3,4-oxdiazolon-(5) (7a)

a) Eine Mischung von 0.273 g (0.70 mMol) 2a, 3 ccm Äthanol<sup>11)</sup> und 0.20 ccm 1*n* Äthanol-NaOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-Lösung wurde 10 Min. unter Rückfluß erhitzt. Zur erkalteten Lösung wurden 0.20 ccm *n* HCl gegeben. Nach 24stdg. Aufbewahren im Kühlschrank und Abfiltrieren von Verunreinigungen wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand in 2.5 ccm heißem Essigester aufgenommen, von Ungelöstem filtriert und mit 5 ccm Petroläther versetzt. Das anfängliche Öl kristallisierte rasch durch. Ausb. 0.135 g (78%), Schmp. 117–118°.

7a entstand auch ohne Zusatz von NaOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> durch 2stdg. Kochen von 0.223 g 2a in 3 ccm Äthanol. Ausb. 0.066 g (46%), Schmp. 117–118°.

b) 0.210 g (0.54 mMol) 2a wurden in einem Gemisch aus 5 ccm Äthanol/Wasser (1:1) und 1.4 ccm *n* NaOH unter Schütteln gelöst. Nach 3stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur, Hinzufügen von 1.4 ccm *n* HCl und 24stdg. Aufbewahren im Kühlschrank wurden 0.066 g

<sup>11)</sup> Das in den Versuchen verwendete Äthanol ist handelsüblicher „technisch absol.“ Alkohol.

(49 %) vom Schmp. 117–118° erhalten. Misch-Schmpp. der nach a) und b) erhaltenen Substanzen mit von uns auf anderem Wege<sup>1)</sup> erhaltenem Produkt (Schmp. 118–119°) ohne Depression.



*DL-2-[a-(Z-Amino)-äthyl]-1,3,4-oxdiazolon-(5) (7b):* Ein Gemisch aus 0.246 g (0.61 mMol) 2b, 4 ccm Äthanol und 0.20 ccm 1n äthanol. NaOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-Lösung wurde 15 Min. unter Rückfluß erhitzt, nach dem Erkalten mit 0.20 ccm n HCl und 10 ccm Wasser versetzt und in den Kühlschrank gestellt. Nach 24 Stdn. wurden die ausgefallenen farblosen Nadeln filtriert. Ausb. 0.107 g (67%), Schmp. 112–113°. Misch-Schmp. mit von uns auf anderem Wege<sup>1)</sup> dargestelltem Produkt (Schmp. 111–112°) ohne Depression.



*w,w'-Bis-[Z-glycyl]-carbohydrazid (8):* 0.30 g 2a wurden mit 6 ccm Wasser 2 Stdn. rückflußerhitzt, wobei das Reaktionsprodukt auszufallen begann. Nach 24 Stdn. wurde aufgearbeitet. Ausb. 0.106 g (56%), Schmp. 208–209°. Misch-Schmp. mit authent. Produkt<sup>1)</sup> (Schmp. 208–209°) ohne Depression.



*Glycyl-azaglycin-[p-nitro-phenylester]-hydrobromid (9):* 0.656 g (1.69 mMol) 2a wurden unter Schütteln in 6.9 ccm 2n HBr/Eisessig gelöst (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-Rohr!). Nach 2 stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur, wobei das Reaktionsprodukt auszufallen begann, wurden zur Vervollständigung der Ausfällung 20 ccm absol. Äther hinzugefügt. Nach weiteren 30 Min. wurde raschfiltriert, mit viel absol. Äther gewaschen und i. Vak. über NaOH und Paraffin getrocknet. Ausb. 0.52 g (92%), Zers. (Schäumen) ab 95°.



[197/65]