



Doctoral Thesis

## **Modifizierung von Peptiden durch C-Alkylierung unterschiedlicher Enolat-Systeme**

**Author(s):**

Bossler, Hans Gerhard

**Publication Date:**

1993

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000916115> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 10254

# Modifizierung von Peptiden durch C-Alkylierung unterschiedlicher Enolat-Systeme

Abhandlung  
zur Erlangung des Titels  
Doktor der Naturwissenschaften  
der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZÜRICH

vorgelegt von

**Hans Gerhard Bossler**

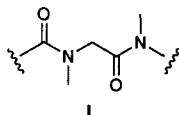
Dipl. Chem. ETH  
geboren am 3. März 1963  
von Zürich

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. Dieter Seebach, Referent  
Prof. Dr. Duilio Arigoni, Korreferent

Zürich 1993

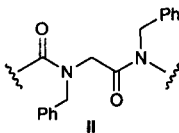
### III. ZUSAMMENFASSUNG

Vor rund 10 Jahren wurde in der Gruppe *Seebach* das cyclische Undecapeptid Cyclosporin A (CsA) an der Sarkosineinheit in Position 3 alkyliert. Es zeigte sich, dass mit Hilfe von Li-Salzen und Li-Basen in THF ein gut lösliches, polylithiertes Cyclosporinderivat erzeugt werden kann. Die N-Methylgruppen an den Amidbindungen des Sarkosinbausteins (I) verhindern die Bildung von Azaenolaten, so dass eine Deprotonierung an der  $\alpha$ -Position der Sarkosincarboxylgruppe möglich ist.



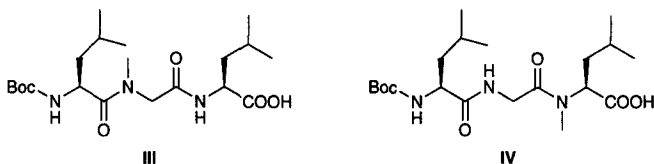
In anderen Aminosäuren von CsA verhindert der "anionische Schutz der Azaenolate" eine Deprotonierung der stereogenen Zentren und damit eine Bildung von Epimeren. Einzig bei Chiralitätszentren zwischen zwei N-Methylamidbindungen wurden geringe Racemisierungen festgestellt. In einem Peptid, das vorwiegend proteinogene Aminosäuren enthält, besteht diese Gefahr nicht.

Methylgruppen an zwei benachbarten Amidbindungen in einem Peptid sind eine Voraussetzung, dass regioselektiv am dazwischenliegenden  $\alpha$ -Carbonylkohlenstoffatom alkyliert werden kann, haben jedoch den Nachteil, dass nach der erfolgten Modifizierung keine Abspaltung der N-Methylgruppen möglich ist. Damit diese Methode nicht nur bei Peptiden mit nichtproteinogenen Aminosäuren angewendet werden kann, wurden in der vorliegenden Arbeit zunächst abspaltbare Amidschutzgruppen in bestehende Peptide eingeführt, teilweise liessen sich Schutzgruppen (Boc, Benzyl) in guten Ausbeuten einbauen. Die partiell geschützten Peptidderivate erwiesen sich jedoch für die nachfolgenden Modifizierungen als ungeeignet. In der Folge wurden entsprechend N-alkylierte Aminosäuren während des Aufbaues des Peptides gezielt an den gewünschten Positionen eingebaut. In einem N,N'-Dibenzyl-pentapeptid (II) wurde an der  $\text{CH}_2$ -Gruppe in der  $\alpha$ -Carboxylposition methyliert.



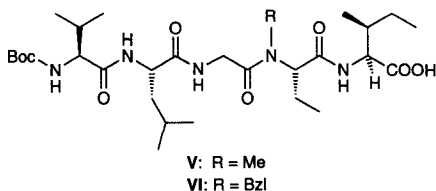
Jedoch traten infolge von Methylierungen der Benzylgruppen Nebenprodukte auf. Es zeigte sich auch, dass die Ausbeute wesentlich geringer ist als beim entsprechenden N,N'-Dimethyl-pentapeptid.

Eine N-Methylgruppe kann man weglassen, und immer noch Alkylierungen durchführen; in den N-Monomethylpeptiden III und IV hatte die Position der N-Methylgruppe einen starken Einfluss auf die Alkylierungsausbeuten.



Während beim ersten Peptid III eine Methylierung nur 24% Produkt lieferte, wurde das Peptid IV mit einer Ausbeute von 90% am Glycin methyliert. Andere Seitenketten konnten auch in hervorragenden Ausbeuten eingeführt werden. Die Diastereoselektivität liegt zwischen 3 : 1 und 6 : 1. Durch geeignete Reaktionsbedingungen konnte die Selektivität auf 9 : 1 erhöht werden. In den Hauptprodukten ist die neue Aminosäure stets D-konfiguriert.

Die Alkylierungsausbeuten bei den N-monoalkylierten Pentapeptiden V und VI sind – ganz im Gegensatz zu den entsprechenden N,N'-dialkylierten Peptiden – praktisch unabhängig von der Natur der N-Alkylgruppen.

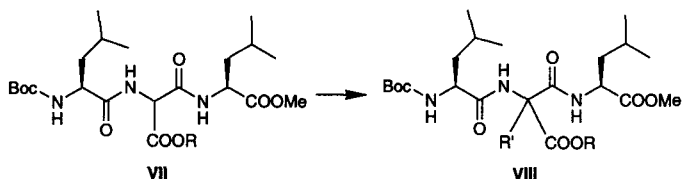


In diesen Peptiden weist die neue Aminosäure leicht bevorzugt eine L-Konfiguration auf. Es wurde gezeigt, dass die N-Benzylgruppe unter Birch-Bedingungen in guten Ausbeuten abgespalten werden kann.

Im Tetrapeptid Boc-Leu-Gly-Pro-Leu-OH wurde erfolgreich ein Glycin neben einem Prolin alkyliert unter bevorzugter Bildung (3 : 1 bis 6 : 1) einer D-konfigurierten Aminosäure (64–69%).

MNDO-Berechnungen von unterschiedlich konfigurierten und substituierten Li-Enolaten bestätigten die Vermutung, dass nicht elektronische sondern sterische Gründe verantwortlich sind für die stark variierenden Alkylierungsausbeuten mit den verschiedenen Enolattypen.

Bei einer neuen Modifizierungsmethode wird die Acidität am  $\alpha$ -Kohlenstoffatom eines Glycinderivates so stark erhöht, dass schwächere Basen wie z.B. Alkoholate eingesetzt werden können, die nicht in der Lage sind, Amide zu deprotonieren. Alkylierungen und *Michael*-Additionen mit Tripeptiden vom Typ VII, die eine Estergruppe als Seitenkette enthalten, ergaben die Produkte VIII in hervorragenden Ausbeuten.

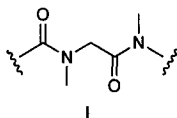


Nach der Esterspaltung und Decarboxylierung wurden die gewünschten, modifizierten Peptide – allerdings ohne Diastereoselektivität – erhalten.

Kalorimetrische Bestimmungen der Wechselwirkung zwischen Li-Salzen und verschiedenen Peptiden in THF ergaben Enthalpiewerte  $\Delta H^\circ$  im Bereich von  $-8$  bis  $-37$  kcal/mol. Die Enthalpien der Wechselwirkung von den Makroliden Ascmycin, FK-506 und Rapamycin mit LiCl betragen  $\Delta H^\circ = -15$  bis  $-18$  kcal/mol.

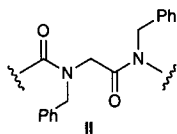
## SUMMARY

Ten years ago the highly selective alkylation of the cyclic undecapeptide cyclosporin A at the sarcosine residue in position three was achieved by our group. It was shown that in the presence of Li salts and Li bases a polyolithiated cyclosporin derivative could be generated which is very soluble in THF. The N-methyl groups of the amide bonds of a sarcosine (I) prevent the formation of aza enolates, thus a deprotonation at  $\alpha$  carbonyl position of the sarcosine residue is possible.



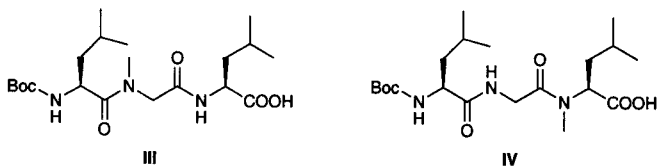
At the other amino acid residues of the peptide the "anionic protection of the aza enolates" prevents deprotonation of stereogenic centres and the consequent generation of epimers. Some racemization has been observed at chirality centres located between two N-methyl amide bonds. In a peptide, containing mainly proteinogenic amino acids, there is no reason for such epimerizations. The methyl groups of two amide bonds in a peptide are a prerequisite that a regioselective alkylation takes place at the  $\alpha$  carbonyl centre between them, but the methyl groups of course can not be removed after this modification. This method is limited to peptides containing nonproteinogenic amino acids.

The objective of this work has been to render this method more feasible for peptide chemistry. Thus, protecting groups that are cleavable were inserted into the existing peptides first of all. In some cases the protecting groups (Boc, Benzyl) were attached in good yields to selected amide nitrogens. However, resulting partially protected peptide derivatives decomposed during attempts to modify them and thus could not be alkylated. Therefore the peptides were built up with the corresponding N-alkylated amino acids. In an N,N'-dibenzyl pentapeptide (II), a protected glycine residue was methylated.



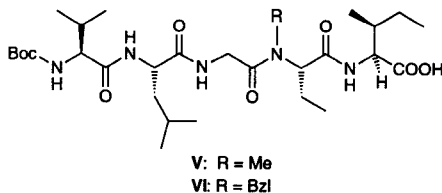
Unfortunately, methylation of the benzyl groups also took place. Furthermore, a drastically lower yield was obtained in comparison with the corresponding N,N'-dimethyl pentapeptide.

One N-methyl group can be left out, and alkylations are still possible. Variations of the position of the N-methyl groups in N-monomethyl peptides **III** and **IV** lead to quite different yields of alkylation products.



While the methylation of the peptide **III** gave just 24% of the desired product, the glycine residue of **IV** was methylated in 90% yield. Different side chains could be introduced in excellent yields. The diastereoselectivities are in the range of 3 : 1 to 6 : 1. Under optimized conditions the ratio could be raised to 9 : 1. In the main product the new amino acid is of the D configuration.

In contrast to N,N'-dialkyl pentapeptides, the alkylation yields for the corresponding N-monoalkylated pentapeptides **V** and **VI** showed no dependence on the type of N-alkyl groups.

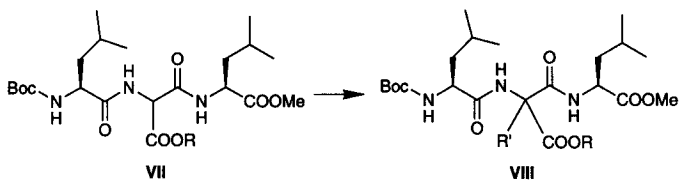


In these peptides, the newly generated amino acid is predominantly of the L configuration. In such peptides, the N-benzyl group could be removed under *Birch* reaction conditions to give Boc-protected peptides in high yields.

The glycine residue of the tetrapeptide Boc-Leu-Gly-Pro-Leu-OH was alkylated successfully (64–69%) to provide new peptides. The diastereoselectivity was 3 : 1 to 6 : 1 (D : L).

MNDO calculations of the Li enolates with different configurations confirmed the supposition that steric and not electronic effects caused by the locations of the N-alkyl groups are responsibly for the differences in alkylation yields.

By a new method of peptide modification, the acidity of the  $\alpha$  carbon of a glycine derivative was increased by introduction of a carboxyalkyl group; therefore weak bases such as alcoxides can be used without deprotonating the amide groups. Tripeptides (**VII**) containing an ester group as side chain were alkylated and added to *Michael*-acceptors to give tripeptides (**VIII**) in very good yields.



After cleavage of the ester of the side chain in the tripeptide **VIII** and decarboxylation, the modified peptides were obtained without diastereoselectivity.

Calorimetric measurements of the interaction between Li salts and various peptides in THF gave enthalpies  $\Delta H^\circ$  in the range of  $-8$  to  $-37$  kcal/mol. The enthalpies of the interaction of the macrolides ascomycin, FK-506, and rapamycin with LiCl were  $\Delta H^\circ = -15$  to  $-18$  kcal/mol.