

Erich Wünsch und Reinhard Spangenberg

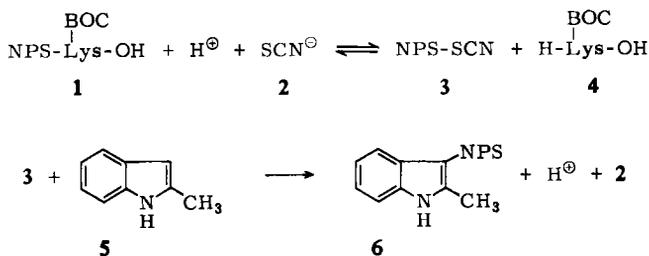
Notiz zur Entacylierung von *N*-Sulfenyl-peptiden mittels Rhodanid-Ionen *)

Aus dem Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung,
Abteilung für Peptidchemie, München

(Eingegangen am 12. Oktober 1971)

Die Brauchbarkeit einer Anzahl von nucleophilen Reagenzien zur Abspaltung von *N*-Sulfenyl-Schutzgruppen haben Kessler und Iselin¹⁾ insbesondere am Modell von RS-Lys(BOC)-OMe studiert. Die Autoren stellten dabei fest, daß der Angriff des relativ stark nucleophilen Rhodanid-Ions (2) nur zu einer unvollständigen Spaltung führt; sie plädieren für den Fall NPS-Lys(BOC)-OMe für einen Gleichgewichtszustand von 70:30% zugunsten gespaltener Sulfenamidbindung.

Die Abspaltung des *N*-[2-Nitro-phenylsulfenyl]-Restes kann man vervollständigen, indem man dem Reaktionsmedium mindestens ein Äquivalent 2-Methyl-indol (5), 1-Methyl-indol etc. zusetzt; das im Zuge des nucleophilen Angriffs primär entstehende 2-Nitro-phenylsulfenyl-rhodanid (3) bevorzugt den elektrophilen Angriff auf das Indolsystem, wobei z. B. 3-[2-Nitro-phenylmercapto]-2-methyl-indol (6) und freie Rhodanid-Ionen entstehen. Sowohl durch das irreversible Abfangen von 2-Nitro-phenylsulfenylrhodanid (3) aus dem Reaktionssystem als auch durch zusätzliche Bildung von Rhodanid-Ionen wird der Gleichgewichtszustand in Richtung freier Aminofunktion, z. B. zu H-Lys(BOC)-OH (4), quantitativ verschoben²⁾ (s. Schema).



Am Modell des *N*^ε-[2-Nitro-phenylsulfenyl]-*N*^ε-tert.-butyloxycarbonyl-lysins (1) wurden Spaltungsgeschwindigkeit und Selektivität dünnschichtchromatographisch verfolgt: Die Spaltung der Sulfenamidgruppierung war innerhalb weniger Minuten (<5 Minuten) vollständig. Die ε-tert.-Butyloxycarbonylamino-Gruppierung blieb unangegriffen. Freies Lysin konnte nicht nachgewiesen werden. Auch am Beispiel des drei *N*^ε-tert.-Butyloxycarbonylreste enthaltenden Pentapeptids NPS-Lys(BOC)-Leu-Phe-Lys(BOC)-Lys(BOC)-OH konnte die einwandfreie selektive Spaltung der Sulfenamidgruppe demonstriert werden.

*) Farbwerke Hoechst AG (Erf. E. Wünsch und R. Spangenberg), D. A. S. 1919023.

1) W. Kessler und B. Iselin, Helv. chim. Acta 49, 1330 (1966).

2) Vgl. dazu: E. Wünsch, A. Fontana und F. Drees, Z. Naturforsch. 22b, 607 (1967); A. Fontana, F. Marchiori, L. Moroder und E. Scoffone, Tetrahedron Letters [London] 26, 2985 (1966); A. Fontana, F. Marchiori, R. Rocchi und P. Pajetta, Gazz. chim. ital. 96, 1301 (1966).

Als Lösungsmittel für die „Rhodanidspaltung“ eignen sich Methanol/Essigsäure, Tetrahydrofuran/Methanol/Essigsäure, Essigester/Methanol/Essigsäure und auch Methylenchlorid/Essigsäure. Letzteres System ermöglicht die Verwendung dieser Abspaltungstechnik bei der Peptid-Festkörper-Synthese nach *Merrifield* et al., wie am Beispiel des äußerst schwerlöslichen, aber in Methylenchlorid quellbaren Undecapeptidderivats NPS-Lys(BOC)-Leu-Phe-Lys(BOC)-Lys(BOC)-Phe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Lys(BOC)-Ala-Ser(tBu)-OtBu gezeigt werden konnte³⁾.

Ein weiterer Vorteil dieser milden Abspaltungstechnik ist die hohe Reinheit der anfallenden Desulfonylierungsprodukte; gelbliche Verfärbungen, wie sie nach NPS-Abspaltungen mit HCl, HBr etc., vor allem bei höheren Peptiden, auftreten, werden nicht mehr beobachtet.

Die Abspaltung der 2-Nitro-phenylsulfonyl-Schutzgruppe aus tryptophan-haltigen Peptidderivaten ist gleichfalls möglich, sofern der 2-Methyl-indol-Zusatz auf 10 und mehr Äquivalente erhöht wird.

Den *Farbwerken Hoechst AG* sind wir wiederum für umfangreiche finanzielle und materielle Unterstützung zu hohem Dank verpflichtet.

Beschreibung der Versuche

Die spezifischen Drehwerte wurden im lichtelektrischen Polarimeter der Fa. Zeiss ermittelt, die Werte der D-Linie berechnet. Der chromatographische Reinheitstest der Produkte erfolgte nach den üblichen Verfahren der Dünnschichtchromatographie jeweils mindestens mit zwei Lösungsmittelsystemen.

1. *N^ε-tert.-Butyloxycarbonyl-L-lysin* (4): 3.0 g (5.2 mMol) *NPS-Lys(BOC)-OH·DCHA*⁴⁾ werden wie üblich mit *Kaliumhydrogensulfat*-Lösung zerlegt⁵⁾ und aufgearbeitet. Die Lösung des Rückstands in 60 ccm Methanol/Essigsäure (5:1) wird nach Zugabe von 1.36 g (10.4 mMol) *2-Methyl-indol* und 0.78 g (10.4 mMol) *Ammoniumrhodanid* 3 Stdn. gerührt. Nach Entfernen der Lösungsmittel i. Vak. wird der verbleibende Rückstand bis zur völligen Entfärbung mit Äther behandelt, anschließend mit 20 ccm sehr verd. Ammoniumhydroxidlösung verrieben; das verbleibende Material wird bei 10⁻² Torr über P₄O₁₀ und KOH getrocknet: $[\alpha]_D^{20}$: +17.05 ± 0.5° bzw. $[\alpha]_{346}^{20}$: +20.48°⁶⁾ (*c* = 1.5, in Essigsäure). Ausb. 1.06 g (83%).

2. *N^ε-tert.-Butyloxycarbonyl-L-lysyl-L-leucyl-L-phenylalanyl-N^ε-tert.-butyloxycarbonyl-L-lysyl-N^ε-tert.-butyloxycarbonyl-L-lysin*: Die Lösung von 5.10 g *NPS-Lys(BOC)-Leu-Phe-Lys(BOC)-Lys(BOC)-OH*, 1.20 g *2-Methyl-indol* und 0.7 g *Ammoniumrhodanid* in 100 ccm Methanol/Essigsäure (1:3) läßt man 3 Stdn. bei Raumtemp. stehen und dampft anschließend i. Vak. ein. Der Rückstand wird mit warmem Wasser und verd. Ammoniaklösung sorgfältig gewaschen, auf das Filter gebracht und anschließend mit Diäthyläther bis zur völligen Entfärbung digeriert. Nach Trocknen bei 10⁻² Torr über P₄O₁₀ und KOH: farbloses Pulver vom Schmp. 217° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: -4.2 ± 0.5° bzw. $[\alpha]_{346}^{20}$: -4.7° (*c* = 1.2, in Essigsäure). Ausb. 3.90 g (90%).

C₄₈H₈₂N₈O₁₂ (963.3) Ber. C 59.87 H 8.57 N 11.63 O 19.95

Gef. C 59.87 H 8.53 N 11.84 O 20.01

³⁾ Das Verhalten dieses Undecapeptids erlaubte die Anwendung der Festkörper-Synthese, wobei das Peptidderivat im gequollenen Zustand als eigenes Trägermaterial diente. Über diese Arbeiten wird an anderer Stelle noch berichtet werden.

⁴⁾ Abkürzungen: NPS = 2-Nitro-phenylsulfonyl; BOC = tert.-Butyloxycarbonyl; DCHA = Dicyclohexylamin.

⁵⁾ *R. Spangenberg, P. Thamm und E. Wünsch*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **352**, 655 (1971).

⁶⁾ Für ein aus Z-Lys(BOC)-OH durch hydrogenolytische Entacylierung gewonnenes Produkt: $[\alpha]_D^{20}$: +17.50 ± 0.5° bzw. $[\alpha]_{346}^{20}$: +20.62° (*c* = 1.5, in Essigsäure).

3. *N^ε-tert.-Butyloxycarbonyl-L-lysyl-L-leucyl-L-phenylalanyl-N^ε-tert.-butyloxycarbonyl-L-lysyl-N^ε-tert.-butyloxycarbonyl-L-lysyl-L-phenylalanyl-O-tert.-butyl-L-threonyl-O-tert.-butyl-L-seryl-N^ε-tert.-butyloxycarbonyl-L-lysyl-L-alanyl-O-tert.-butyl-L-serin-tert.-butylester*: 8.65 g *NPS-Lys(BOC)-Leu-Phe-Lys(BOC)-Lys(BOC)-Phe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Lys(BOC)-Ala-Ser(tBu)-OtBu* werden in ca. 400 ccm Methylenchlorid unter Rühren gequollen, bis die Masse homogen erscheint. Hierzu werden 2.5 g *Ammoniumrhodanid* und 1.1 g *2-Methyl-indol* in 100 ccm Methanol/Essigsäure (1:1) gegeben und die Mischung 3 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Man entfernt die Lösungsmittel weitestgehend durch Vakuumdestillation. Der Rückstand wird unter Erwärmen mit Methanol digeriert und anschließend mit Diäthyläther bis zur völligen Entfärbung behandelt. Nach Digerieren mit verd. Ammoniaklösung und Wasser und Trocknen des erhaltenen Produkts bei 10⁻² Torr über KOH und P₄O₁₀: farbloses Pulver mit $[\alpha]_D^{25}$: +3.2 ± 0.5° bzw. $[\alpha]_{546}^{25}$: +3.8° (c = 1, in Essigsäure). Ausb. 7.7 g (97%).

C₉₇H₁₆₅N₁₅O₂₃ (1909.4) Ber. C 61.02 H 8.71 N 11.00 O 19.27

Gef. C 60.75 H 8.61 N 10.97 O 19.36

Aminosäureanalyse:	Lys	Thr	Ser	Ala	Leu	Phe
Ber.	4	1	2	1	1	2
Gef.	4.08	0.98	2.02	1.00	1.00	1.94

[400/71]

© Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr. 1972 — Printed in Germany.

Verantwortlich für den Inhalt: Prof. Dr. Hans Musso, Karlsruhe. Redaktion: Dr. Hermann Zahn, München. Verantwortlich für den Anzeigenteil: H. Both, Verlag Chemie GmbH (Geschäftsführer Jürgen Kreuzhage und Hans Schermer), 694 Weinheim, Pappelallee 3, Postfach 129/149 — Telefon (06201) 40 31, Telex 465516 vchwh d. Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen und dgl. in dieser Zeitschrift berechtigt nicht zu der Annahme, daß solche Namen ohne weiteres von jedermann benutzt werden dürfen. Vielmehr handelt es sich häufig um gesetzlich geschützte eingetragene Warenzeichen, auch wenn sie nicht als solche gekennzeichnet sind. — Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten. Kein Teil dieser Zeitschrift darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form — durch Photokopie, Mikrofilm oder irgendein anderes Verfahren — reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von Datenverarbeitungsmaschinen verwendbare Sprache übertragen oder übersetzt werden. — All rights reserved (including those of translation into foreign languages). No part of this issue may be reproduced in any form — by photoprint, microfilm, or any other means — nor transmitted or translated into a machine language without the permission in writing of the publishers. — Nach dem am 1. Januar 1966 in Kraft getretenen Urheberrechtsgesetz der Bundesrepublik Deutschland ist für die fotomechanische, xerographische oder in sonstiger Weise bewirkte Anfertigung von Vervielfältigungen der in dieser Zeitschrift erschienenen Beiträge zum eigenen Gebrauch eine Vergütung zu bezahlen, wenn die Vervielfältigung gewerblichen Zwecken dient. Die Vergütung ist nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. in Frankfurt/M. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie in Köln abgeschlossenen Rahmenabkommens vom 14. 6. 1958 und 1. 1. 1961 zu entrichten. Die Weitergabe von Vervielfältigungen, gleichgültig zu welchem Zweck sie hergestellt werden, ist eine Urheberrechtsverletzung. — Preis jährlich DM 480. — zuzügl. Versandgebühren; Einzelheft DM 50. — (In diesen Preisen sind 5.5% Mehrwertsteuer enthalten.) Die Bezugsbedingungen für die Mitglieder der Gesellschaft Deutscher Chemiker werden auf Anfrage von der Geschäftsstelle, 6 Frankfurt 9, Carl-Bosch-Haus, Varrentrappstraße 40—42, Postfach 9075, mitgeteilt. — Abbestellungen nur bis spätestens 8 Wochen vor Ablauf des Kalenderjahres, Gerichtsstand und Erfüllungsort Weinheim/Bergstr. — Lieferung erfolgt auf Rechnung und Gefahr des Empfängers. — Erscheint monatlich. — Druck: Werk- und Feindruckerei Dr. Alexander Krebs, Hemsbach/Bergstr.