

Synthese von Arginin-haltigen Peptiden mit dem Kondensationsreagenz Tris(dimethylamino)phosphan/Hexachlorethan/1-Hydroxybenzotriazol¹⁾

Rolf Appel* und Ernst Hiester

Anorganisch-Chemisches Institut der Universität Bonn,
Gerhard-Domagk-Str. 1, D-5300 Bonn 1

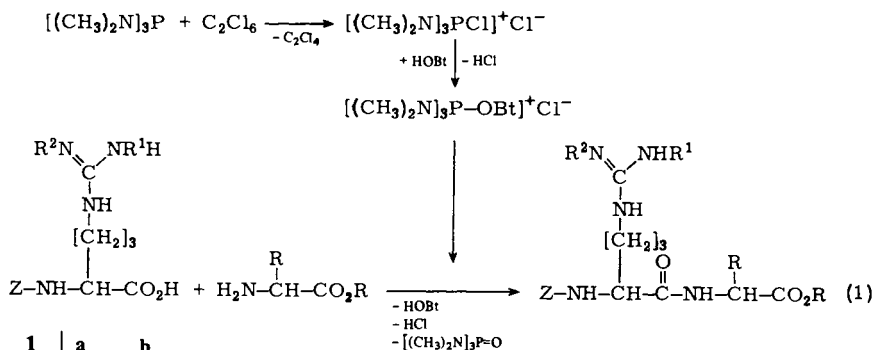
Eingegangen am 12. Februar 1981

Synthesis of Arginine Containing Peptides by Means of the Condensing Reagent Tris(dimethylamino)phosphane/Hexachloroethane/1-Hydroxybenzotriazole¹⁾

The combination of the title reagents is well suited for building up protected oligopeptides containing arginine.

Über die vorteilhafte Verwendung der Reagenzkombination Tris(dimethylamino)phosphan/Hexachlorethan/1-Hydroxybenzotriazol als phosphororganisches Knüpfungsreagenz haben wir bereits wiederholt berichtet^{2,3)}.

Um die generelle Anwendungsbreite dieser THH-Methode auszuloten, wurde die Reagenzkombination jetzt auch zur Synthese von Arginin-haltigen Oligopeptiden eingesetzt, die sich nach den klassischen Verfahren häufig als schwierig erweist. Hierzu gingen wir von *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ω-tosyl-L-arginin (**1a**) und *N*^α,*N*^δ,*N*^ω-Tris(benzyloxycarbonyl)-L-arginin (**1b**) aus (Gl. (1)).



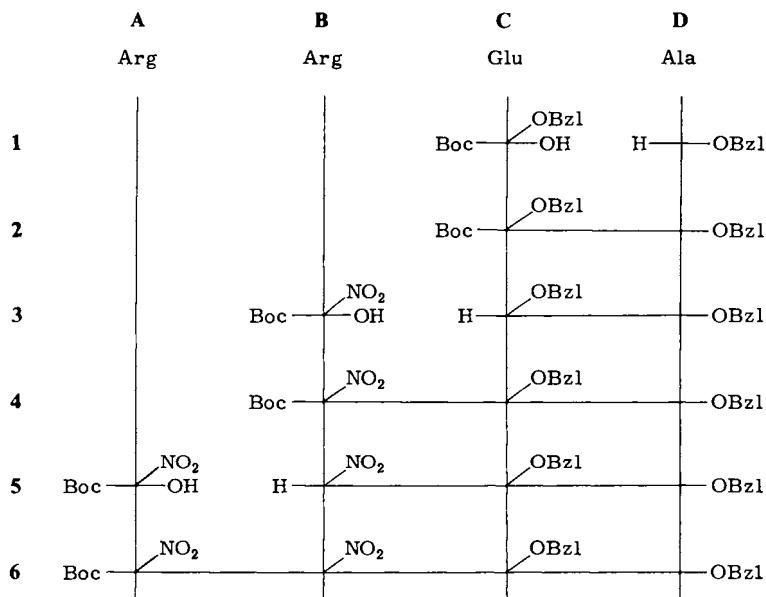
1	a	b
R ¹	Tos	Z
R ²	H	Z

Hervorzuheben ist die mit vergleichsweise hoher Ausbeute verlaufende Knüpfung der Arg-Arg-Bindung im Derivat Nr. 9 (Tab. 1). Die Charakterisierung der Derivate Nr. 4–8 (Tab. 1) erfolgte durch Schmelzpunktvergleich der geschützten Dipeptide mit authentischen Werten. Zusätzlich wurden die physikalischen Daten der freien Dipeptidacetate nach Abspaltung aller Schutzgruppen mit Literaturwerten verglichen.

Besonders eindrucksvoll erscheint uns die ergiebige Synthese des Tetrapeptids Boc-Arg(NO₂)-Arg(NO₂)-Glu(OBzl)-AlaOBzl (**6A – D**), einer schwierigen Teilsequenz beim Aufbau des Schweine-Proinsulin(28 – 34)-Heptapeptids¹⁰⁾. Die Knüpfung der Arg-Arg-Bindung erwies sich bisher sowohl nach der konventionellen Methode¹¹⁾ als auch mit Hilfe der Kupplung am Harz¹²⁾ als kritische Synthesestufe.

Die Synthese von **6A – D** nach der THH-Methode erfolgte durch schrittweise Kondensation vom C-terminalen Ende her (s. Schema 1). Zunächst wurde aus *tert*-Butoxycarbonyl-L-glutamyl- ω -benzylester (**1C**) und L-Alanin-benzylester (**1D**) das geschützte Dipeptid Boc-Glu(OBzl)-Ala-OBzl (**2C – D**) hergestellt. Die Abspaltung der *tert*-Butoxycarbonyl-Schutzgruppe mit HCl/AcOH und anschließende Umsetzung mit Boc-Arg(NO₂)-OH (**3B**) lieferte den Tripeptidester Boc-Arg(NO₂)-Glu(OBzl)-Ala-OBzl (**4B – D**). Nach Entacylierung des geschützten Tripeptidesters zu H-Arg(NO₂)-Glu(OBzl)-Ala-OBzl (**5B – D**) gelang die Anknüpfung von Boc-Arg(NO₂)-OH (**5A**) zu dem gewünschten Tetrapeptid **6A – D** mit 78proz. Ausbeute.

Schema 1



Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die Förderung dieser Untersuchungen durch eine Sachbeihilfe.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte (nicht korrigiert): Gerät der Fa. Büchi, Flawil/Schweiz. — Drehwerte: Polariometer 241 der Fa. Perkin-Elmer (thermostatisiertes 10-cm-Rohr).

Die Kondensationen wurden nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift unter Verwendung von je 1,1 Äquivalent (Me₂N)₃P/C₂Cl₆/1-Hydroxybenzotriazol²⁾ in Dimethylformamid/Dichlormethan-Gemischen durchgeführt. Nach Aufarbeitung wurden die Produkte umkristallisiert.

Die Abspaltung aller Schutzgruppen zu den freien Dipeptid-acetaten, Derivate Nr. 4–8 (Tab. 1), erfolgte durch katalytische Hydrierung in Methanol unter Zusatz von 10 Vol.-% Essigsäure.

Tab. 1. Nach dem Prinzip von Gleichung (1) dargestellte Peptide

Nr.	Peptidderivat	Ausb. %	Schmp. °C (Lit.)	$[\alpha]_D$ Grad	Lit. Grad
1	Z-Arg(Tos)-Pro-OMe	71.5	151–152 (152–153) ⁴⁾	–38.3 [25°C, c = 1.017, MeOH]	–39° [25°C, c = 1, MeOH] ⁴⁾
2	Z-Arg(Tos)-Pro-OBzl	84.0	77–80 (78–80) ⁵⁾	–40 [25°C, c = 1.33, MeOH]	–39.3° [25°C, c = 1, MeOH] ⁵⁾
3	Z-Arg(Tos)-GlyOEt	89.7	Öl erstarrt	–4.9 [22°C, c = 1.91, 9% HAC]	5.6 ± 1° [22°C, c = 1.7, 9% HAC] ⁶⁾
4	Z[Z ₂]Arg-GlyOBzl Arg-GlyOH·HAc	77.8	128 (118–120) ⁷⁾ 165–166 (167–169) ⁸⁾	+38.1 [28°C, c = 1.0, H ₂ O]	+38.9° [28°C, c = 5.70, H ₂ O] ⁷⁾
5	Z[Z ₂]Arg-Ala-OBzl Arg-AlaOH·HAc	73.6	164–165 (171–172) ⁷⁾ 175 (173–174) ⁸⁾	+11.7 [24/25°C, c = 1.116, H ₂ O]	+11.9° [24–25°C, c = 1, H ₂ O] ⁷⁾
6	Z[Z ₂]Arg-Phe-OBzl Arg-PheOH·HAc	75	164 (168–170) ⁷⁾ 168–170 (172–173) ⁸⁾	+29.6 [24/25°C, c = 1, H ₂ O]	+29.3° [24/25°C, c = 1, H ₂ O] ⁷⁾
7	Z[Z ₂]Arg-Tyr-OBzl Arg-TyrOH·HAc	75	163–164 (166–168) ⁷⁾ 155 (157–158) ⁸⁾	+32.2 [24/25°C, c = 1, H ₂ O]	+32.0° [24/25°C, c = 1, H ₂ O] ⁷⁾
8	Z[Z ₂]Arg-Glu(OBzl) ₂ Arg-GluOH·HAc	79	110–112 (120–121) ⁹⁾ 206–208 (210–214) ⁹⁾	+19.9 [25°C, c = 1.303, H ₂ O] +3.12 [21°C, c = 1.28, CHCl ₃]	+21.4 [25°C, c = 1, H ₂ O] ⁹⁾
9	Z[Z ₂]Arg-Arg[Z]OBzl	79	148–149 (147–148) ⁹⁾		

Die dünnstschichtchromatographischen Reinheitskontrollen aller Produkte beim Aufbau von **6A–D** erfolgten an Kieselgel HF 254 (Fa. Merck) in folgenden Laufmitteln¹⁰⁾

A: *n*-Butanol/Eisessig/Wasser (4: 1: 1)

B: *n*-Butanol/Eisessig/Pyridin/Wasser (15: 6: 10: 12)

C: Ameisensäure/*sec*-Butylalkohol/Wasser (3: 15: 2)

D: Methanol/Chloroform/Eisessig (115: 6: 3.6)

1) *tert*-Butoxycarbonyl-*L*-glutamyl(ω -benzylester)-*L*-alanin-benzylester (**2C–D**): Aus 5.06 g (15 mmol) Boc-Glu(OBzl)-OH und 5.27 g (15 mmol) H-Ala-OBzl-*p*-Tos in Dimethylformamid Ausb. 6.53 g (87%), Schmp. 72–73 °C (aus Essigester/Petrolether), $[\alpha]_D^{20} = -13.5^\circ$ ($c = 1.13$, DMF) (Lit.⁸⁾ Schmp. 82–82.5 °C, $[\alpha]_D^{20} = -8.1^\circ$ ($c = 1.05$, DMF)).

$C_{27}H_{34}N_2O_7$ (498.6) Ber. C 65.04 H 6.87 N 5.62 Gef. C 64.44 H 6.81 N 5.56

2) *L*-Glutamyl(ω -benzylester)-*L*-alanin-benzylester-HCl (**3C–D**·HCl): 6.53 g (13 mmol) **2C–D** wurden mit 30 ml 1.1 N HCl/AcOH 1 h bei Raumtemp. behandelt. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. verblieb ein Öl, welches über KOH getrocknet wurde.

3) *tert*-Butoxycarbonyl-nitro-*L*-arginyl-glutamyl(ω -benzylester)-*L*-alanin-benzylester (**4B–D**): Das unter 2) erhaltene Öl wurde mit 4.86 g (13 mmol) Boc-Arg(NO₂)-OH in Dimethylformamid umgesetzt. Ausb. 6.73 g (74%), aus Essigester/Petrolether Schmp. 85–88 °C, $[\alpha]_D^{20} = -15.76^\circ$ ($c = 1.02$, DMF), chromatographisch einheitlich in den Systemen B, C, D (Lit.⁸⁾ Schmp. 85–87 °C, $[\alpha]_D^{20} = -19.8^\circ$, ($c = 1.01$, DMF).

4) Nitro-*L*-arginyl-*L*-glutamyl(ω -benzylester)-*L*-alanin-benzylester-HCl (**5B–D**·HCl): 6.29 g (9.0 mmol) **4B–D** wurden 30 min bei Raumtemp. mit 30 ml 1.1 N HCl/AcOH behandelt. Nach Abziehen des Lösungsmittels wurde zweimal aus Methanol/Diethylether umgefällt. Ausb. 5.72 g (95%), chromatographisch einheitlich in den Systemen A, B, C.

5) *tert*-Butoxycarbonyl-nitro-*L*-arginyl-nitro-*L*-arginyl-*L*-glutamyl(ω -benzylester)-*L*-alanin-benzylester (**6A–D**): 1.27 g (2.0 mmol) **5B–D**·HCl wurden mit 0.75 g (2.0 mmol) Boc-Arg(NO₂)-OH in Dimethylformamid umgesetzt. Reinigung des Produkts durch Umfällen aus Dimethylformamid/Diethylether. Ausb. 1.4 g (78%), Schmp. 98–102 °C, $[\alpha]_D^{20} = -16.8^\circ$ ($c = 1.738$, DMF), chromatographisch einheitlich in den Systemen B, C, D (Lit.⁸⁾ Schmp. 98.5–101 °C, $[\alpha]_D^{20} = -16.0 \pm 0.6^\circ$, $c = 1$, DMF).

¹⁾ 12. Mitteilung über phosphororganische Peptidknüpfungsreagentien; 11. Mitteil.: R. Appel, U. Gläsel und V. J. Gläsel, Chem. Ber. **114**, 1542 (1981).

²⁾ R. Appel und L. Willms, Chem. Ber. **112**, 1057 (1979).

³⁾ R. Appel und L. Willms, Chem. Ber. **112**, 1064 (1979).

⁴⁾ C. H. Li, J. Meienhofer, E. Schnabel, D. Chung, T. Lo und I. Ramachandran, J. Am. Chem. Soc. **83**, 4449 (1961).

⁵⁾ I. Ramachandran und C. H. Li, J. Org. Chem. **27**, 4006 (1962); E. Schnabel und C. H. Li, J. Am. Chem. Soc. **82**, 4576 (1960).

⁶⁾ R. L. Huguenin und R. A. Boissonnas, Helv. Chim. Acta **45**, 1629 (1962).

⁷⁾ L. Zervas, T. Otani, M. Winitz und I. P. Greenstein, I. Am. Chem. Soc. **81**, 2878 (1959).

⁸⁾ K. Hoffmann, W. D. Peckham und A. Rheiner, I. Am. Chem. Soc. **78**, 238 (1955).

⁹⁾ L. Zervas, M. Winitz und I. P. Greenstein, J. Org. Chem. **22**, 1515 (1957).

¹⁰⁾ K. Neubert und H. D. Jakubke, J. Prakt. Chem. **320**, 217 (1978).

¹¹⁾ K. Neubert und H. D. Jakubke, Peptides 1972, North Holland Publ. Comp. Amsterdam 235 (1973).

¹²⁾ K. Neubert und H. D. Jakubke, J. Prakt. Chem. **317**, 448 (1975).