

Das Reagenz • The Reagent

***O*-(1-Benzotriazolyl)-*N,N,N,N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HBTU) und *O*-(7-Aza-1-benzotriazolyl)-*N,N,N,N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HATU) – zwei moderne Kupplungsreagenzien zur Peptidsynthese**

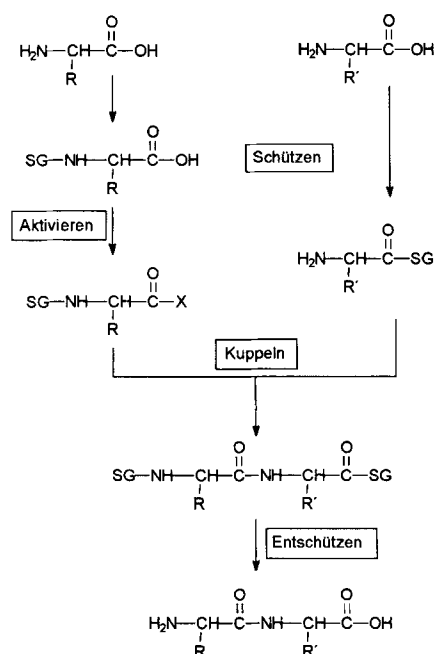
A. Speicher, T. Klaus und T. Eicher

Saarbrücken, Universität des Saarlandes, Fachrichtung Organische Chemie

Eingegangen am 7. Mai 1998

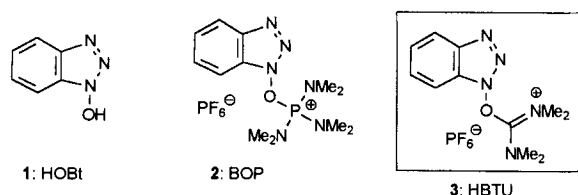
***O*-(1-Benzotriazolyl)-*N,N,N,N'*-tetramethyluronium Hexafluorophosphate (HBTU) und *O*-(7-Aza-1-benzotriazolyl)-*N,N,N,N'*-tetramethyluronium Hexafluorophosphate (HATU) – Two Modern Peptide Coupling Reagents**

Die Peptidsynthese unter Kupplung von Aminosäure-Bausteinen ist eine fundamentale Reaktion bei der Synthese von Natur- und Wirkstoffen [1]. Das klassische Prinzip dieser Synthese sieht vor, daß alle nicht zur Kupplung vorgesehenen Carboxyl- und Aminogruppen der Aminosäure- oder Peptidbausteine in geschützter Form vorliegen und somit die chemoselektive Kupplung einer "freien" Aminogruppe mit einer (aktivierten) Carbonsäure-Funktion erfolgen kann.



Schema 1 Allgemeines Schema zur gezielten Synthese eines Dipeptids (SG = Schutzgruppe)

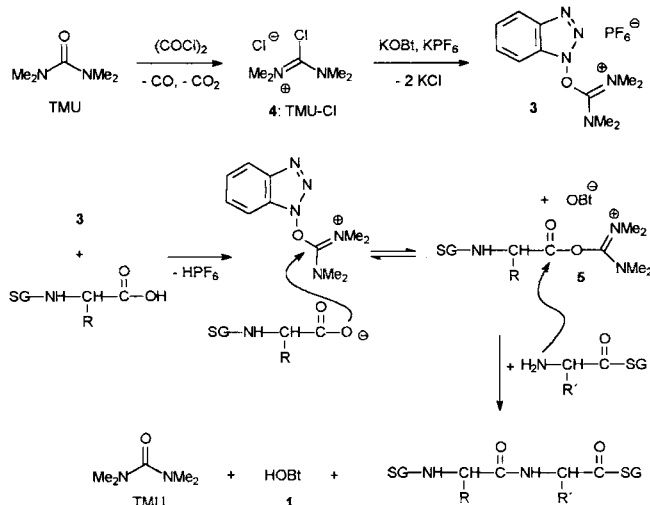
Zur Schutzgruppen-Technik, Carboxyl-Aktivierung und Kupplung zur Peptid-Bindung stehen zahlreiche Reaktionsprinzipien zur Verfügung. Zur Aktivierung der Carbonsäure-Funktion können Aktivester hergestellt werden, oder die Aktivierung erfolgt *in situ* bei der Kupplungsreaktion [2]. Das zur Zeit wohl am meisten verwendete Kupplungsadditiv ist 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) 1 [3], das in Kombination mit einem Carbodiimid (z.B. Dicyclohexylcarbodiimid, DCC) verwendet werden kann und aus dem auch "stand-alone" Reagenzien wie 1-Benzotriazolyl-*oxy*-tris(dimethylamino)phosphoniumhexafluorophosphat (BOP) 2 [4] oder *O*-(1-Benzotriazolyl)-*N,N,N,N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HBTU) 3 [5] entwickelt wurden.



Schema 2 Von HOBt 1 abgeleitete Kupplungsreagenzien

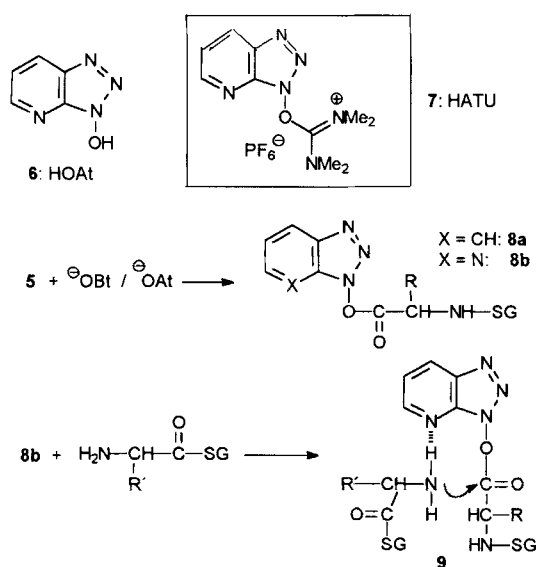
Diese hochreaktiven und leicht zu handhabenden Reagenzien erlauben effiziente Kupplungsreaktionen mit hoher chiraler Integrität und ohne nennenswerte Nebenreaktionen; sie sind daher auch für die automatisierte Festphasen-Peptidsynthese bestens geeignet. HBTU wird über das aus Tetramethylharnstoff (TMU) und Oxalylchlorid zugängliche Tetramethyluroniumchlorid (TMU-Cl) 4 dargestellt [5] (Schema 3). Die Aktivierung der Carbonsäure erfolgt primär durch Bildung eines Acyluroniumsalzes 5. Bei der Acylierung des

Amins, die sowohl über 5, als auch über einen Reaktivester **8a** (siehe Schema 4) erfolgen kann, werden TMU und HOBt zurückgebildet. Im Gegensatz dazu bedingen Herstellung und Verwendung von BOP **2** den Umgang mit dem stark toxischen Hexamethylphosphorsäuretriamid (HMPT).



Schema 3 Herstellung von HBTU **3** und Mechanismus der Peptidkupplung

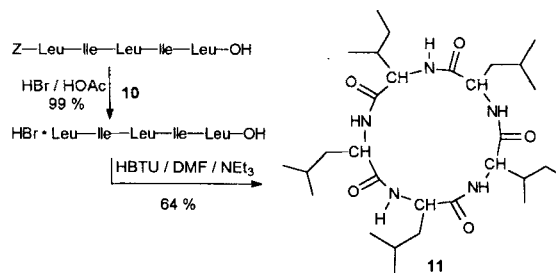
In Arbeiten von Carpino konnte gezeigt werden, da das zu **1** analoge 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAt) **6** bezüglich Reaktivität und Racemisierungs-Vermeidung ein noch effektiveres Kupplungs-Additiv darstellt. Die gleiche Beobachtung trifft auf das davon abgeleitete, zu HBTU **3** analoge Reagenz *O*-(7-Aza-1-benzotriazolyl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HATU) **7** zu [6]. Als Ursache nimmt man eine unterschiedliche Bildungstendenz und Reaktivität der Reaktivester **8a/b** an. In der aza-analogen Struktur **9** kann das



Schema 4 HATU **7** als gegenüber HBTU **3** verbessertes Kupplungsreagenz

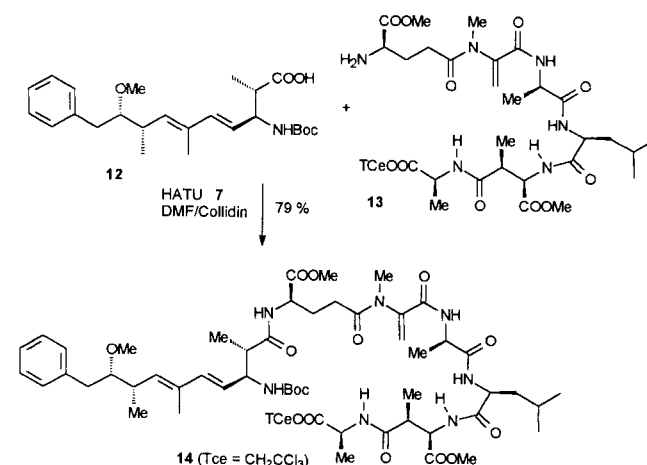
zu kuppelnde Amin offenbar besser fixiert werden (Schema 4). Die Überlegenheit von HATU **7** bei der Peptidsynthese, insbesondere an fester Phase und unter Einbeziehung sterisch gehinderter Aminosäuren, konnte eindrucksvoll gezeigt werden [7].

In unserer Arbeitsgruppe konnten wir unter Verwendung von HBTU **3** bei dem vom Pentapeptid **10** ausgehenden Cyclisierungsschritt zur Synthese des Mistel-Inhaltsstoffes Viscumamid **11** [8] die Ausbeute gegenüber der bekannten Synthese [9] entscheidend von 6,5% auf 61% verbessern (Schema 5).



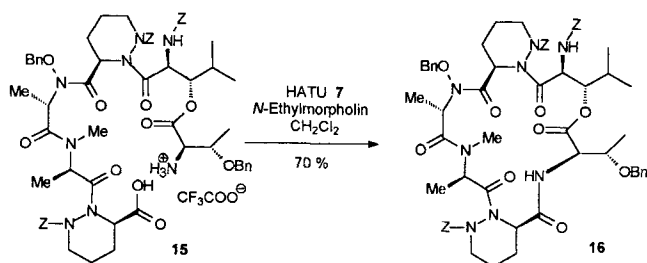
Schema 5 Cyclisierungsschritt bei der Darstellung von Viscumamid **11**

Gleich für mehrere Stufen eingesetzt wurde HATU **7** bei der Synthese des Heptapeptids Microcystin-LA, einem Serin-Threonin Phosphatase-Inhibitor [10]. So verlief die Kupplungsreaktion zwischen den Bausteinen **12** (Boc-Adda) und dem Hexapeptid **13** im System HATU/Collidin/DMF [11–13] in überzeugender Ausbeute und ohne Epimerisierung zur Cyclisierungsvorstufe **14** (Schema 6).



Schema 6 Kupplungsschritt zur Synthese von Microcystin-LA

HATU **7** wurde kürzlich auch beim Makrolactamisierungsschritt (15→16) der Synthese eines zum Antitumor-Antibiotikum A83586 epimeren Cyclopeptids erfolgreich eingesetzt [14] (Schema 7).



Schema 7 Macrolactamisierungsschritt bei der Synthese von 4-Epi-A83586C

Die bisher vorliegenden Erfahrungen mit den Reagenzien HBTU 3 und HATU 7 lassen in Zukunft weitere interessante Anwendungen in der Peptidsynthese erwarten. Auch an der Entwicklung weiterer neuer Kupplungsreagenzien besteht nach wie vor Bedarf, wie die Verwendung von *O*-Pentafluorphenyluroniumsalzen zeigt [15, 16].

Typische experimentelle Durchführung

1) Darstellung von Viscumamid II aus 10 unter Verwendung von HBTU 3

3,70 g (5,15 mmol) Z-Leu-Ile-Leu-Ile-Leu-OH (**10**) [9] werden in 10 ml Eisessig gelöst und mit 10 ml 33proz. Bromwasserstoff in Eisessig versetzt. Man rührt 2 h bei Raumtemperatur, versetzt mit 300 ml *n*-Hexan und 100 ml Diethylether und belässt über Nacht bei -18°C . Man dekantiert ab und versetzt die ölige Phase erneut mit 150 ml *n*-Hexan, worauf diese im Verlauf von Stunden oder wenigen Tagen durchkristallisiert. Man saugt ab und trocknet i. Vak. über NaOH. Ausb. 3,38 g (99%).

2,00 g (3,00 mmol) des Hydrobromids und 2,48 g (6,00 mmol) HBTU 3 werden in 300 ml wasserfreiem DMF gelöst, mit 0,83 ml (6,00 mmol) Triethylamin versetzt und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Solvens wird i. Vak. entfernt, der Rückstand mit Ethylacetat versetzt, abgesaugt und mit reichlich Ethylacetat gewaschen. Der so erhaltene Feststoff wird nach 1 h Rühren in Acetonitril erneut abgesaugt und getrocknet. Ausb. 1,09 g (64%).

(2) Kupplung von 12 und 13 unter Verwendung von HATU 7 [10]

Zu 94 mg (0,11 mmol) des Hexapeptids **13** und 41 mg (0,11 mmol) Boc-Adda **12** in 0,5 ml DMF gibt man 33 mg (0,27 mmol) Collidin und versetzt unter Eiskühlung mit 41 mg (0,11

mmol) HATU 7. Die Lösung rührt man 1 h bei 0°C und 14 h bei Raumtemperatur, gibt 1 ml gesättigte NaHCO_3 -Lösung hinzu, rührt weitere 10 min und verteilt zwischen Diethylether und Wasser. Die wäßrige Phase wird noch zweimal mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Man engt ein und reinigt den Rückstand durch Säulenchromatographie (Kieselgel/EtOAc \rightarrow 2-Propanol-EtOAc 1:10). Ausb. 74 mg (79%).

Literatur

- [1] B. Gutte (Hrsg.): Peptides: Synthesis, Structures, and Applications; Academic Press San Diego, 1. Auflage 1995, S. 1–169
- [2] M. Bodanszky, A. Bodanszky, The Practice of Peptide Synthesis, 2nd Edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1994
- [3] W. König, R. Geiger, Ber. Dtsch. Chem. Ges. **1970**, 103, 788, 2024, 2034
- [4] B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin, C. Selve, Tetrahedron Lett. **1975**, 1219, B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin, C. Selve, J. Chem. Res. (Suppl.) **1977**, 182
- [5] R. Knorr, A. Trezeciak, W. Bannwarth, D. Gillessen, Tetrahedron Lett. **1989**, 30, 1927
- [6] L. A. Carpino, J. Am. Chem. Soc. **1993**, 115, 4397
- [7] L. A. Carpino, A. El-Faham, C. A. Minor, F. Albericio, J. Chem. Soc., Chem. Commun. **1994**, 201
- [8] Y. Okumura, A. Sakurai, Bull. Chem. Soc. Jpn **1973**, 46, 2190
- [9] A. Sakurai, Y. Okumura, Bull. Chem. Soc. Jpn **1979**, 52, 540
- [10] J. M. Humphrey, J. B. Aggen, A. R. Chamberlin, J. Am. Chem. Soc. **1996**, 118, 11759
- [11] L. A. Carpino, A. El-Faham, J. Org. Chem. **1994**, 59, 695
- [12] L. A. Carpino, A. El-Faham, F. Albericio, Tetrahedron Lett. **1994**, 35, 2279
- [13] L. A. Carpino, A. El-Faham, J. Org. Chem. **1995**, 60, 3561
- [14] K. J. Hale, J. Cai, G. Williams, Synlett **1998**, 149
- [15] J. Habermann, H. Kunz, Tetrahedron Lett. **1998**, 39, 265
- [16] J. Habermann, H. Kunz, J. prakt. Chem. **1998**, 340, 233

Korrespondenzanschrift:

Dr. Andreas Speicher
 Fachbereich 11 Organische Chemie
 Universität des Saarlandes
 Postfach 15 11 50
 D-66041 Saarbrücken
 E-mail: anspeich@rz.uni-sb.de