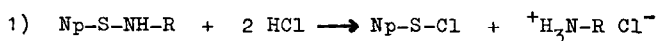


ZUR SPALTUNG DER SULFENAMIDBINDUNG  
IN o-NITROPHENYLSULFENYLAMINOSÄUREN UND -PEPTIDEN\*

Dietrich Brandenburg  
Deutsches Wollforschungsinstitut  
an der Technischen Hochschule Aachen

(Received 10 October 1966)

Der von Z e r v a s (1) zum Schutz der Aminogruppe in die Peptidchemie eingeführte o-Nitrophenylsulfenylrest\*\* läßt sich in Gegenwart säurelabiler Gruppen mit zwei Äquivalenten Chlorwasserstoff in den meisten Fällen selektiv abspalten.



Bei der Einwirkung von Chlorwasserstoff auf Nps-Cys(Tri) sowie Nps-Cys(Tri)-Ala-Gly wurden jedoch hellgelb gefärbte Nebenprodukte ( $\lambda_{\text{max}}$  351 nm) erhalten, die durch Angriff

---

\*) 62. Mitteilung über Peptide; 61. Mitt.: H. Klostermeyer, J. Halström, P. Kusch, J. Föhles und W. Lunkenheimer, Proceedings of the VIIIth European Peptide Symposium, im Druck

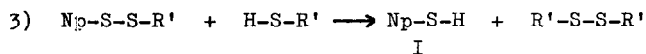
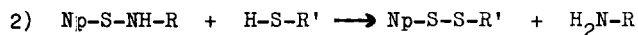
\*\*) Abkürzungen: Np = o-Nitrophenyl, Nps = o-Nitrophenylsulfenyl, Tri = Triphenylmethyl

von Nps-Cl am Schwefelatom des geschützten Cysteins entstanden waren (2). Daraus ergab sich die Notwendigkeit, nach schonenderen Abspaltungsbedingungen zu suchen.

### 1. Mercaptolyse

Die Spaltung von Sulfenamidbindungen mit nucleophilen Reagenzien im zumeist schwach sauren Gebiet war bekannt (3-7). Nach Beginn dieser Arbeit haben K e s s l e r und I s e l i n (8) sowie S c o f f o n e und Mitarbeiter (9) über die Deblockierung mit Hilfe von Mercaptanen berichtet. Außer der jeweiligen Aminokomponente wurden keine Reaktionsprodukte isoliert.

Eigene Versuche ergaben, daß Nps-Aminosäuren in verdünnter wässriger Lösung (pH 8) durch einen Überschuß an aliphatischem Mercaptan unter Bildung von Aminosäure und o-Nitrotoliphenol (I) gespalten werden. Der pH-Wert steigt dabei an.



Der zeitliche Verlauf der Reaktion wurde an der Änderung des Absorptionsspektrums (Abnahme der Extinktion bei 385 nm, Verschiebung nach 410 nm = Maximum des Thiophenolat-Ions,  $\log \epsilon = 3,176$ ) verfolgt. Es zeigten sich große Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit (Tabelle 1).

TABELLE 1

Spaltung von Nps-Aminosäuren ( $10^{-3}m$ ) mit Mercapto-  
 äthanol ( $10^{-1}m$ ) in 0.5 m  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung bei Raum-  
 temperatur

Nps-Aminosäure	Halbwertszeit (Min.)
Gly	< 2
Ala	4
Leu	9
Val	26
Phe	33

Als weiteres Reaktionsprodukt wurde bei Umsetzungen in konzentrierterer Lösung das schwerlösliche o,o'-Dinitrodiphenyldisulfid (II) erhalten. Die Ausbeute nahm mit abnehmendem Molverhältnis Mercaptan:Nps-Aminosäure zu. Bei der Einwirkung von 5 Äquivalenten Thioglykolsäure auf Nps-Alanin (0.2m) in 0.5 m Natriumhydrogencarbonatlösung fielen innerhalb von 15 Minuten 49 % II (Schmp. 191-192°) aus. 42 % I (Schmp. nach Umkrist. 56-58°, Lit. 57-58°) wurden aus der angesäuerten Reaktionslösung extrahiert. II wird, wie die Versuche in Tabelle 2 zeigen, überwiegend nach Gleichung 4 und nicht durch Mercaptan-Disulfidaustausch (10) gebildet.

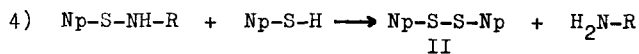


TABELLE 2

Umsetzung von Nps-Verbindungen (0.033m) mit Mercaptanen in 0.5 m  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung im Molverhältnis 1:1 bei Raumtemperatur. Reaktionszeit: 10 Minuten

Verbindung	Mercaptan	% (Nps) <sub>2</sub>	% Nps-H
Nps-Ala	HS-CH <sub>2</sub> -COOH	76	18
Nps-S-CH <sub>2</sub> -COOH	HS-CH <sub>2</sub> -COOH	0	100
Nps-S-CH <sub>2</sub> -COOH	Nps-H	15	
Nps-Ala	Nps-H	72	

Bei tieferen pH-Werten wurden abnehmende Mengen von II erhalten. Der Anteil der Konkurrenzreaktion 4 an der Spaltung der Sulfenamidbindung sinkt, da infolge der höheren Stabilität des unsymmetrischen Disulfids weniger I nach Gleichung 3 entsteht. Bei der Reaktion von Nps-Alanin (0.4 m) mit 1 Äquivalent Thioglykolsäure in Methanol ohne Zusatz von Base wurden nach 10 Minuten 70 % Alanin und 35 % II erhalten. Das unsymmetrische Disulfid Nps-S-CH<sub>2</sub>-COOH wurde in 18-proz. Ausbeute (aus Benzol umkrist.) isoliert (Schmp. 115-116°, Lit. 119-120°. Mischschmelzpunkt mit nach (11) synthetisiertem Material vom Fp. 114-116°: keine Depression). Wesentlich langsamer verlief die Spaltung von Nps-Phenylalanin: 49 % Phenylalanin und 34 % II wurden nach einstündiger Reaktion mit 5 Äquivalenten Thioglykolsäure erhalten.

Besonders geeignet als Spaltungsreagenz erwies sich Nps-H. Nach Gleichung 4 entsteht neben der Aminokomponente als alleiniges Reaktionsprodukt das stabile  $(Nps)_2$ , während sich bei allen anderen Mercaptanen die Reaktionen 2-4 überlagern. In Pyridiniumacetatlösung ließ sich in allen Fällen eine befriedigend rasche Spaltung erreichen. Einige Versuchsergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

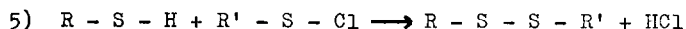
TABELLE 3

Spaltung von Nps-Verbindungen mit o-Nitrothiophenol

Nps-Verbindung	Konz. (Mol/l)	Nps-H Äq.	Lösungsmittel	Reakt.-zeit (Min.)	Spaltung %
Gly	0.1	2	MeOH	15	85
Gly-OMe	0.1	2	"	15	26
Gly-OMe	0.1	2	0.1 m AcOH/MeOH	15	50
Phe	0.05	1.5	MeOH	60	39
Phe	0.05	1.5	Pyridin	60	3
Phe	0.05	1.5	1 m AcOH/MeOH	60	26
Phe	0.05	1.5	1 m Pyrid.-acetat/MeOH	60	81
Phe-OMe	0.2	2	1 m AcOH/MeOH	30	37
Phe-OMe	0.2	2	1 m Pyrid.-acetat/MeOH	30	93
Leu-Phe-OMe	0.2	3	"	60	95
Cys(Tri)-Ala-Gly	0.1	3	"	60	85

## 2. Modifizierte Säurespaltung

Mercaptane reagieren mit Sulfenylhalogeniden ohne Zusatz von Base zu Disulfiden (12).



Entsprechend dieser Reaktion konnte das nach Gleichung 1 bei der Säurespaltung entstehende Nps-Cl durch Zugabe von Mercaptoäthanol abgefangen werden. Dabei zeigte es sich, daß eine vollständige Deblockierung mit nur einem Äquivalent Chlorwasserstoff möglich ist, da der nach Gleichung 5 gebildete Chlorwasserstoff wieder in die Spaltungsreaktion 1 eintritt (13). Zur Spaltung wurde jeweils 1 mMol Nps-Verbindung in ca. 10 ml Chloroform nacheinander mit 5 mMol Mercaptoäthanol und dann mit 1 mMol ätherischer Salzsäure versetzt. Nach 5 Minuten wurden aus Nps-Glycin, Nps-Phe-OMe, Nps-Leu-Phe-OMe (Schmp. 107°,  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} - 27^{\circ}$  (c=1, Methanol)) und Nps-Ser(Bu<sup>+</sup>) die Hydrochloride der Aminverbindungen in reiner Form isoliert (85-95 % Ausbeute). Nps-Cys(Tri)-Ala-Gly (Schmp. 110-114°,  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} - 31.7^{\circ}$  (c=1, Chloroform)) gab das kristalline Tripeptid (Schmp. 156-157°,  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} + 3.8^{\circ}$  (c=1, Dimethylformamid)) in 84 % Ausbeute. Nebenreaktionen traten nicht auf.

Die in diesem Bericht mitgeteilten Forschungsarbeiten wurden mit Mitteln des Bundesministeriums für wissenschaftliche Forschung (Forschungsvorhaben St.-N. 213-66) gefördert.

Literatur

- 1) L. Zervas, D. Borovas und E. Gazis, J. Amer. chem. Soc. 85, 3660 (1963)
- 2) Über Versuche zur Spaltung der Thioätherbindung wird an anderer Stelle berichtet
- 3) O. Foss, Acta chem. scand. 1, 307 (1947)
- 4) H. Z. Lecher und E.M. Hardy, J. org. Chem. 20, 475 (1955)
- 5) B. Ekström und B. Sjöberg, Acta chem. scand. 19, 1245 (1965)
- 6) J. König, L. Novák und J. Rudinger, Naturwissenschaften 52, 453 (1965)
- 7) s. auch Lit. 13)
- 8) W. Kessler und B. Iselin, Helv. chim. Acta 49, 1330 (1966)
- 9) A. Fontana, F. Marchiori, L. Moroder und E. Scoffone, Tetrahedron Letters 26, 2985 (1966)
- 10) vgl. A. J. Parker und N. Kharasch, Chem. Reviews 59, 583 (1959)
- 11) M. Carmack und J. F. Harris, US Pat. 2 849 479 (26.8.1958)
- 12) vgl. E. E. Reid, Organic Chemistry of Bivalent Sulfur, Band 3, S. 367, Chemical Publishing Co., New York (1960)
- 13) K. Poduška, H. Zimmermannová - Maassen van den Brink, J. Rudinger und F. Šorm haben über die Spaltung mit 1 Äquivalent HCl/Alkohol berichtet (Proceedings of the VIIIth European Peptide Symposium, im Druck)