

L'HEXAFLUOROPHOSPHATE DE O-BENZOTRIAZOLYL-N,N-TETRAMETHYLURONIUM :
UN REACTIF DE COUPLAGE PEPTIDIQUE NOUVEAU ET EFFICACE

Vassilis DOURTOGLOU, Jean-Claude ZIEGLER et Bernard GROSS*

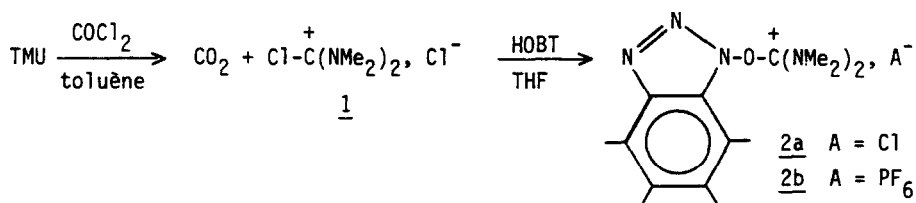
Université de Nancy I, Laboratoire de Chimie Organique III[†]
Case Officielle 140, 54037 Nancy Cédex, France

(Received in France 21 November 1977; received in UK for publication 27 February 1978)

Les réactifs de Vilsmeier-Haack, issus de la réaction entre une amide et un chlorure d'acide permettent le passage d'un alcool à l'halogénure correspondant par l'intermédiaire de sels d'alkoxyméthylène-ammonium ¹. Nous avons pensé qu'un sel de ce type issu de l'hydroxybenzotriazole (HOBT) pourrait constituer un réactif de couplage peptidique ². La présente note a pour objet d'exposer la préparation et quelques applications de ce nouveau réactif.

1) Préparation du réactif

Le sel 1, préparé à partir de tétraméthylurée (TMU) et d'une solution de phosgène dans le toluène, est traité par du N-hydroxybenzotriazole pour former le sel 2a sur lequel on peut procéder à l'échange de l'anion Cl⁻ par l'anion PF₆⁻, non nucléophile, accédant ainsi à l'hexafluorophosphate de O-benzotriazolyl-N,N-tétraméthyluronium (HBTU), 2b ³ :



Le sel 2b est un produit cristallisé dont la conservation ne pose aucun problème.

2) Emploi du réactif

Les acides aminés à condenser, protégés, sont dissous mole à mole dans le solvant choisi et additionnés d'un léger excès de triéthylamine. On ajoute alors en une fois, à température ordinaire (ou à 0°C), un équivalent + 10 % de HBTU. La condensation est généralement achevée en moins de 15 minutes avec un rendement en produit isolé de l'ordre de 90 % ⁴.

Le tableau I rassemble les résultats des essais réalisés.

*Equipe de Recherche Associée au CNRS

3) Discussion

Une qualité importante d'un réactif de couplage réside dans l'absence de racémisation du produit obtenu. Les essais 1 à 4 portent donc sur le test d'Young, très sévère à cet égard. Le plus faible taux de racémisation (25 % de DL) est obtenu dans l'acétonitrile à 0° et il ne semble pas que l'absence d'ions chlore (essais 3 et 4) diminue ce taux. Les essais 10 et 11 (tests de Weinstein⁸ et d'Anderson⁹) ne nous permettent pas de déceler de racémisation. Les essais 5, 6 et surtout 7, dont l'acide aminé à condenser par son atome d'azote possède une amine secondaire, montre que le réactif est particulièrement rapide et efficace dans le cas d'acides aminés encombrés. Enfin, les essais 8 et 9 illustrent l'absence de réactions parasites lors de l'emploi d'acides aminés portant des fonctions amide ou alcool libres.

Sur le plan du mécanisme de réaction, la parenté du HBTU avec des réactifs déjà utilisés^{10, 11, 12} nous incite à penser qu'il doit agir d'une manière analogue à celle décrite par Castro¹⁰, c'est-à-dire par formation préalable d'un ester de HOBt activé.

En résumé, le réactif proposé nous paraît particulièrement pratique sur les plans de sa préparation, de sa conservation et de sa mise en oeuvre qui sont très aisées. Sur celui de la racémisation, s'il n'équivaut pas à l'emploi des azides, il se compare avantageusement (tableau II) à des réactifs tels que le DCCI⁵, le BOP¹⁰ ou le réactif d'Itoh¹¹. Enfin, il conduit à des rendements élevés avec des temps de réaction particulièrement courts même dans des cas difficiles comme celui de l'essai 7.

Des recherches sont en cours pour préciser son mécanisme d'action, illustrer son emploi lors de la synthèse de polypeptides aussi bien en solution que sur support solide.

Remerciements

Nous remercions chaleureusement Mademoiselle G. Evin, Messieurs B. Castro et J.R. Dormoy pour d'intéressantes discussions ainsi que la DGRST pour son aide matérielle (Décision d'aide à la Recherche n° 77.7.0748).

Tableau I

Essai	Produit formé (a)	Rendement %	[α] _D ²⁰			PF°C		
			Conc.	Solvant	Litt.		Litt.	
1	Bz-L-Leu-Gly-OEt (b)	90	-21°	3,1	EtOH	-34° ⁵	148	156-7
2	Bz-L-Leu-Gly-OEt (b)	92	-25,6°	3,1	EtOH	-34° ⁵	148	156-7
3	Bz-L-Leu-Gly-OEt (c)	89	-21°	3,1	EtOH	-34° ⁵	144	156-7
4	Bz-L-Leu-Gly-OEt (d)	96	-21°	3,1	EtOH	-34° ⁵	144	156-7
5	Boc-L-Ile-L-Ile-OMe	88	-33,3°	1	EtOH	-34° ⁶	149-150	150
6	Z-L-Val-Gly-OEt	95	-24,9°	1	EtOH	-25,5° ⁶	164	164-5
7	Boc-L-Ala-N(CH ₃)-L-Phe-OMe	96	-108,1°(f)	2,3	MeOH			
8	Z-L-Asn-Gly-OEt	80	-6°	1	DMF	-5° ⁷	182	188-90
9	Z-L-Ser-Gly-OEt	92	-5,5°	1	EtOH	-5,9° ⁷	98	106-7
10	Z-L-Phe-L-Ala-OMe	94	(e)				130	130-1 ⁸
11	Z-L-Gly-L-Phe-Gly-OEt	96	-11,5°	2	EtOH	-13,5° ⁹	118-9	118-9

(a) Les rendements, pouvoirs rotatoires et PF concernent le produit brut. Les temps de réaction n'excèdent jamais 15 minutes sauf pour l'essai 7 où il est de 6 h avec 1,5 équivalent de HBTU. Le solvant est l'acétonitrile sauf dans les essais 6 et 10 où il s'agit de dichlorométhane ; (b) A partir de HCl, Gly-OEt ; (c) A partir de Gly-OEt ; (d) A partir de TFA, Gly-OEt ; (e) On ne détecte pas de racémisation ($\leq 3\%$) par RMN ; (f) L'examen du signal du -OMe par RMN à 250 MHz ne permet pas de déceler de racémisation¹³.

Tableau II

Méthode	Azides ⁵	DCCI ⁵	Ester de p.NO ₂ -phényle ⁵	Anhydride mixte (carbonique) ⁵	ITOH ¹⁰	BOP ¹⁰	HBTU
Rdt %	67-87	70-84	84-95	85-88	95	68-92	90-96
-[α] _D ²⁰	29,8 à 3,4	5,5 à 19,2	25,6 à 34,3	6,1 à 7,6	8,5	13,5	21 à 25,6
% DL	12 à 0	84 à 46	25 à 0	82 à 78	75	60	39 à 25
Durée de réaction / Température	>24 h / 0°	23 h / 0°	>24 h	24 h / -5 à 24°	2,5 h / 24°	15-90 mn / 24°	15 mn / 24°

Comparaison de différentes méthodes sur le test d'Young

BIBLIOGRAPHIE ET NOTES

- ¹ D.R. Hepburn et H.R. Hudson, J.C.S. Perkin I, 1976, 754-757
- ² W. König et R. Geiger, Chem. Ber., 1970, 103, 788-798
- ³ Préparation de 2b : à 5,8 g (0,05 M) de TMU¹⁴, on ajoute à 0°C, 30 ml d'une solution à 20 % de COCl₂ dans le toluène (environ 0,06 M) ; on laisse revenir à température ambiante et après cessation du dégagement de CO₂, le solvant est évaporé sous vide. Le solide obtenu est lavé (3 x 25 ml éther). On obtient 8 g de sel 2a qui est mis en suspension dans 50 ml de THF ; on y verse, en agitant, une solution de 6 g (0,045 M) de HOBT dans 100 ml de THF. Il apparaît une huile lourde ; le solvant est évaporé sous vide. La gomme obtenue est reprise par 25 ml de CH₂Cl₂ ; on traite par une solution de 16 g de NH₄PF₆ dans 25 ml d'eau. Le précipité obtenu est essoré, lavé (3 x 25 ml H₂O, 3 x 25 ml CH₂Cl₂) et séché. On recristallise dans CH₃CN. P.F. : 254° (décomp.). RMN : δ massif 7,6 à 8,2 ppm, 4 H aromatiques ; δ singulets à 3,05 et 3,4 ppm, 6 et 6 H pour NMe₂ (δ exprimés en p.p.m., le TMS pris comme référence interne dans le CD₃CN comme solvant). Anal. : Calc. : C, 34,83 ; H, 4,25 ; N, 18,46 ; P, 8,16 ; F, 30,05 ; Tr. : C, 34,87 ; H, 4,23 ; N, 18,66 ; P, 8,28 ; F, 29,63
- ⁴ Le peptide est alors isolé, après évaporation à sec du solvant et reprise à AcOEt, par les traitements usuels au cours desquels la TMU est éliminée complètement et facilement lors d'un lavage acide.
- ⁵ N.W. Williams et G.T. Young, J. Chem. Soc., 1963, 881-889
- ⁶ G. Evin, Thèse de 3e cycle, Nancy, 1977
- ⁷ S. Yamada et Y. Takeuchi, Tetrahedron Letters, 1971, 3595-8
- ⁸ B. Weinstein et A.E. Pritchard, J.C.S. Perkin I, 1972, 1015-1020
- ⁹ G.W. Anderson et F.M. Callahan, J. Amer. Chem. Soc., 1958, 2902-2903
- ¹⁰ B. Castro, J.R. Dormoy, G. Evin et C. Selve, J. Chem. Research (M), 1977, 2118-2125 et références citées
- ¹¹ M. Itoh, H. Nosuma, J. Notami, D. Hagiwara et K. Takai, Tetrahedron Letters, 1974, 3089-92
- ¹² J. Galpin, P.F. Gordon, R. Ramage et W.D. Thorpe, Tetrahedron, 1976, 32, 2417-2419
- ¹³ J.R. Dormoy, méthode originale, communication personnelle
- ¹⁴ La même série de réactions conduite sur la DMF à la place de TMU fournit un sel de type 2a, instable, sur lequel on ne peut procéder à l'échange de l'anion Cl⁻ sans destruction.