

Fluorameisensäure-1-adamantylester, ein neues Reagenz zur Einführung der 1-Adamantylloxycarbonyl-Schutzgruppe*

Luis MORODER, Lorenz WACKERLE und Erich WÜNSCH

Max-Planck-Institut für Biochemie, Abteilung für Peptidchemie, München

(Der Schriftleitung zugegangen am 15. September 1976)

Zusammenfassung: Aus Carbonylchloridfluorid und 1-Adamantanol läßt sich Fluorameisensäure-1-adamantylester in hoher Ausbeute als kristalline und stabile Substanz gewinnen, ein vortrefflicher Acyldonator zur Herstellung von 1-Adamantylloxycarbonyl-aminosäuren.

Die Umsetzungen verlaufen unter milden Bedingungen rasch und mit hohen Ausbeuten. Zudem eignet sich dieses Reagens zur Maskierung der Iminofunktion des Histidins im Peptidverband.

1-Adamantyl fluoroformate, a Useful Reagent in Peptide Chemistry

Summary: 1-Adamantyl fluoroformate was prepared from 1-adamantol and fluorophosgene. The crystalline and stable fluoroformate was allowed to react with amino acids to give the corresponding

1-adamantylloxycarbonyl derivatives in consistently high yields. Additionally this new reagent proved to be ideally reactive for acylation of the imidazol function of histidine and histidyl-peptides.

Key words: Adamantylloxycarbonyl fluoride, adamantylloxycarbonyl amino acid derivatives.

Der 1-Adamantylloxycarbonyl-Rest als säurelabiler Schutz von Aminogruppen und der Iminofunktion des Histidins wurde erstmals von W. L. Haas et al.^[2] beschrieben. Diese Schutzgruppe stellt aus verschiedenen Gründen eine zweckmäßige Alternative zum tert.-Butylloxycarbonyl-Rest dar: 1. Ihre Abspaltung gelingt unter milden Bedingungen analog der Entfernung des tert.-Butyl-

oxycarbonyl-Restes, wie z.B. mittels Trifluoressigsäure. 2. Die Stabilität dieser Maskierung ist im Vergleich zu der einer tert.-Butylurethan-Gruppierung (sowohl der α - und ω -Aminofunktion, wie auch der Iminofunktion des Histidins) aus sterischen Gründen erhöht. 3. Sie hat löslichkeitsvermittelnde Eigenschaften auf Grund des stark hydrophoben Adamantyl-Restes.

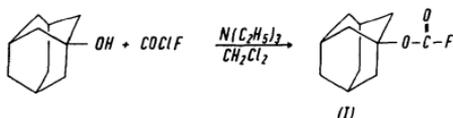
Abkürzungen:

Auf Grund der Vereinbarungen biochemischer Zeitschriften werden hier die von der IUPAC- IUB Commission on Biochemical Nomenclature empfohlenen Abkürzungen für Schutzgruppen verwendet. Die Autoren bevorzugen aber wegen ihrer universellen Anwendbarkeit die in Houben-Weyl (Methoden der Organischen Chemie, 4. Aufl., Bd. 15, S. 20 - 27, Verlag G. Thieme, Stuttgart 1975) verwendeten und eingehend erläuterten Abkürzungen.

* Als vorläufige Mitteilung vorgetragen am USSR-FRG Symposium on Chemistry of Peptides and Proteins, Dushanbe (USSR), April 1976^[1].

Die Synthese von 1-Adamantylloxycarbonyl-aminosäuren ist jedoch unbefriedigend, weil Chlorameisensäure-1-adamantylester unter den Bedingungen einer Schotten-Baumann-Reaktion relativ instabil ist und daher vorwiegend nur Umsatzraten von 30 - 60% zuläßt^[2].

Als ein zur Einführung der 1-Adamantylloxycarbonyl-Gruppe geeigneteres Reagenz erwies sich Fluorameisensäure-1-adamantylester, der nach dem von E. Schnabel et al.^[3-4] und L. Wackerle und L. Ugi^[5] für die Darstellung von Fluorameisensäure-tert.-butylester entwickelten Verfahren synthetisiert wurde. (Das hierzu benötigte Carbonylchloridfluorid ist nach der von G. Siegemund^[6] ausgearbeiteten Methode nunmehr auch in normalen Laboratorien leicht zugänglich.) Man erhält den gewünschten Fluorameisensäureester in ca. 90proz. Ausbeute als gut kristalline Substanz (I).



Fluorameisensäure-1-adamantylester acyliert schon bei Temperaturen um 0 °C rasch und praktisch quantitativ (dünnenschichtchromatographisch verfolgt) Aminosäuren; die reinen Aminosäurederivate wurden in Ausbeuten um 90% isoliert (s. Tab.).

Mit diesem Fluorameisensäureester läßt sich auch die Iminofunktion von Histidin und Histidin-Derivaten (s. Tab.) wie auch von Histidylpeptiden (z. B. der teilgeschützten Peptidfragmente der Sequenz 1 - 8 des Human-Big-Gastrins I^[7] und der Sequenz Desaminotyrosyl-β-alanyl-(1 - 6) des Sekretins^[8]) nunmehr vollständig durch Acylierung maskieren. Dies ist für die Synthese histidinhaltiger Peptide von erheblicher Bedeutung, da bekannterweise freies Imidazol (und damit ein *N*^{im}-ungeschützter Histidin-Rest) zu erhöhter Bildung von Nebenreaktionen (katalytische Beeinflussung der Razemisierung, Hydrolyse, Alkoholyse etc.) Anlaß geben kann. Auch die Beständigkeit von Peptiden mit aminoendständigem *N*^{im}-(1-Adamantylloxycarbonyl)histidin (sicherlich auch *N*^{im}-tert-Butylloxycarbonyl-histidin) ist unter diesen Bedingungen beeinflusst: Abspaltung des 1-Adamantylloxycarbonyl-Restes oder

Tabelle 1. Darstellung von 1-Adamantylloxycarbonyl-Aminosäuren.

Aminosäure	Methode	Kristallisiert aus	Ausb. [%]		Schmp. [°C]	[α] _D ²⁰	[α] ₅₄₆ ²⁰	Lösungsmittel (c = 2)
			Gef.	Lit. [2]				
Ala	A	Essigester/Petroläther	88	27	145	- 21.5°	- 25.6°	Methanol
Asn	A	Essigester/Äther	91	36	181 - 182	- 2.9° - 3.4°	- 3.7° - 9.4°	Methanol 80 proz. Essigsäure
Asp (OBzl)	A	Äther/Petroläther	86		95 - 97	+ 4.9°	+ 5.7°	80 proz. Essigsäure
Gln	A	Essigester/Petroläther	94	28	152 - 154	- 8.5°	- 10.0°	Methanol
Glu (OBzl)	B	Äther/Petroläther	84		74 - 75	- 6.2°	- 7.0°	80 proz. Essigsäure
His ^a	A	Essigester/Pentan	92	86	138 (Zers.)	+ 13.7° + 26.3°	+ 16.6° + 31.5°	Methanol Essigester
Z-His	B	Acetonitril/Wasser	94		70 (Zers.)	+ 39.7°	+ 47.9°	Essigester
Val ^b	A	Essigester	89		164 - 165	- 3.7°	- 4.4°	Dichlormethan

a *N*^α, *N*^{im}-Bis-(1-adamantylloxycarbonyl)-Derivat.

b Dicyclohexylammoniumsalz.

$N^{im} \rightarrow N^{\alpha}$ -Acylwanderung wurde besonders stark beobachtet bei solchen Peptid-Derivaten, deren Histidin-Iminofunktion mittels Chlorameisensäure-1-adamantylesters nicht 100proz. durch Acylierung geschützt werden konnte^[1]. N^{im} -1-Adamantyloxycarbonyl-Derivate von Histidin bzw. von Histidylpeptiden, die mittels Fluorameisensäureester erstellt wurden, scheinen nach unseren bisherigen Erkenntnissen relativ beständig zu sein: so konnte Z-His(Adoc)-Asn-Ile-Thr(Bu^f)-Gln-OBu^f in Dimethylformamid und in Anwesenheit von *p*-Toluolsulfonsäure hydrogenolytisch debenzoyloxycarbonyliert werden.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden im Apparat nach Dr. Tottoli bestimmt und sind nicht korrigiert. Die spezifischen Drehwerte wurden im lichtelektrischen Polarimeter (Modell 241 MC) der Fa. Perkin Elmer ermittelt.

I) Fluorameisensäure-1-adamantylester

Zu 75 g (0.5 mol) 1-Adamantanol und 70 ml (0.5 mol) Triäthylamin in 750 ml Dichlormethan wird Carbonylchloridfluorid (aus 600 g 65proz. Oleum und 150 ml Fluortrichlormethan gewonnen) bei -40°C aufkondensiert. Anschließend erwärmt man den Reaktionsansatz langsam auf Raumtemperatur und rührt 1 h nach. Das Lösungsmittel wird im Vak. abdestilliert und der Rückstand 3 mal mit je 500 ml *n*-Hexan extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden nach 24 h bei 0°C von eventuell ausgefallenem 1-Hydroxyadamantan abfiltriert und im Vak. zur Trockene gebracht; kristalliner Rückstand vom Schmp. $31 - 32^{\circ}\text{C}$; IR (KBr) 1242 cm^{-1} , 1824 cm^{-1} , 2340 cm^{-1} . Ausb. 90 g (91%)

$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{CO}_2\text{F}$ (198.08)

Ber. C 66,65 H 7,57

Gef. C 66,67 H 7,57

II) 1-Adamantyloxycarbonyl-aminosäuren, allgemeine Herstellungsverfahren

Methode A

10 mmol Aminosäure in 10 ml 1N NaOH werden nach Zusatz von 0.92 g (11 mmol) Natriumhydrogencarbonat unter Eiskühlung und Rühren mit einer Lösung von 2.18 g (11 mmol) Fluorameisensäure-1-adamantylester in 10 ml Dioxan versetzt. Anschließend rührt man die Reaktionsmischung mehrere Stunden bei Raumtemperatur. Nach beendeter Reaktion wird das Dioxan weitgehend im Vak. abgedampft, und nach 3 maliger Extraktion mit Äther wird unter Eiskühlung, Übersichten mit Essigsäure-äthylester und unter Rühren mit verd.

Kaliumhydrogensulfat-Lösung bis pH 2 - 3 angesäuert. Nach Trennen der Phasen wird die wäßrige Phase noch 2 mal mit Essigester ausgeschüttelt. Die vereinigten Extrakte werden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vak. eingedampft. Der erhaltene Rückstand wird umkristallisiert.

Methode B

10 mmol Aminosäure in 25 ml Dimethylformamid und 10 mmol organischer Base wie Tetramethylguanidin oder Triton B werden unter Eiskühlung und Rühren mit 2.18 g (11 mmol) Fluorameisensäure-1-adamantylester in 25 ml Dioxan (oder Dimethylformamid) und 11 mmol organischer Hilfsbase versetzt. Anschließend rührt man die Reaktionsmischung mehrere Stunden bei Raumtemperatur. Nach beendeter Reaktion wird das Lösungsmittel im Vak. entfernt und der Rückstand wie unter Methode A aufgearbeitet.

III) Spezielle Herstellungsverfahren

1) N^{ϵ} -(1-Adamantyloxycarbonyl)-L-lysin

Die siedende Lösung von 3.65 g (20 mmol) Lysin-mono-hydrochlorid in 150 ml Wasser wird mit 3.65 g basischem Kupfer(II)-carbonat versetzt. Die Mischung wird 20 min lang zum Sieden erhitzt und letztlich von Ungelöstem abfiltriert. Die Lösung wird bei 0°C unter Rühren mit 3.86 g (46.0 mmol) Natriumhydrogencarbonat und 9.11 g (46 mmol) Fluorameisensäure-1-adamantylester in 150 ml Dioxan versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur nachgerührt. Der gebildete Niederschlag wird abfiltriert, mit Wasser und Äther sorgfältig gewaschen und im Hochvak. getrocknet. In die Lösung des feinpulverisierten Kupfer(II)-salzes in 250 ml Methanol und 14.5 ml 3.35N Ammoniaklösung wird langsam (über 60 - 90 min) Schwefelwasserstoff eingeleitet. Nach Ansäuern mit 18.5 ml 3.9N Essigsäure wird die Suspension im Vak. entgast, vom Kupfer(II)-sulfid abfiltriert und auf ein kleines Volumen eingeeengt. Nach Zugabe von Wasser wird der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Methanol/Äther umgefällt. Schmp. 21.3°C (Zers.); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 13.8 \pm 0.5^{\circ}$ bzw. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 15.9^{\circ}$ ($c = 0.5$ in 80proz. Essigsäure); Ausb. 5.7 g (88%).

$\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ (324.42)

Ber. C 62.94 H 8.70 N 8.63

Gef. C 62.84 H 8.75 N 8.70

2) N^{δ} -(1-Adamantyloxycarbonyl)-L-ornithin

Wie unter 1) erstellt. Schmp. 210°C (Zers.); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 11.9 \pm 0.5^{\circ}$ bzw. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 14.5^{\circ}$ ($c = 1.0$; in 80proz. Essigsäure); Ausb. 86%.

$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$ (310.4)

Ber. C 61.92 H 8.44 N 9.02

Gef. C 61.77 H 8.47 N 9.04

Literatur

- 1 Moroder, L., Wackerle, L. & Wünsch, E. (1976) USSR-FRG Symposium on Chemistry of Peptides and Proteins, Dushanbe (USSR) Abstr. S. 36.
- 2 Haas, W. L., Krumhals, E. V. & Gerzon, K. (1966) *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 1988 - 1992.
- 3 Schnabel, E., Herzog, H., Hoffmann, P., Klauke, E. & Ugi, I. (1968) *Angew. Chem.* **80**, 396.
- 4 Schnabel, E., Herzog, H., Hoffmann, P., Klauke, E. & Ugi, I. (1968) *Ann. Chem.* **716**, 175 - 183.
- 5 Wackerle, L. & Ugi, I. (1975) *Synthesis*, 598 - 599.
- 6 Siegemund, G. (1973) *Angew. Chem.* **83**, 982.
- 7 Wünsch, E., Wendlberger, G., Hallet, A., Jaeger, E., Moroder, L., Thamm, P. & Wilschowitz, L. (1976) USSR-FRG Symposium on Chemistry of Peptides and Proteins, Dushanbe (USSR) Abstr. S. 3 - 4.
- 8 Moroder, L. & Wünsch, E. (1976) 10th International Congress of Gastroenterology, Budapest Juni 1976, Abstr. S. 606.

Prof. Dr. L. Moroder, Dr. L. Wackerle und Prof. Dr. E. Wünsch, Max-Planck-Institut für Biochemie, Abteilung für Peptidchemie,
Schillerstr. 42, D-8000 München 2.