

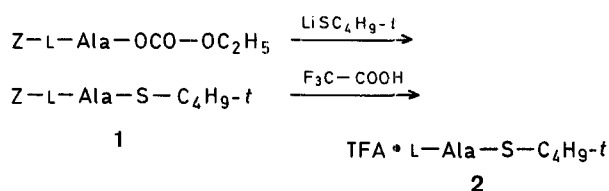
Über die Herstellung von Aminosäure-*t*-butylthioester und deren Verwendung in der Peptid-Synthese

Ulrich SCHMIDT*, Friederike STEINDL

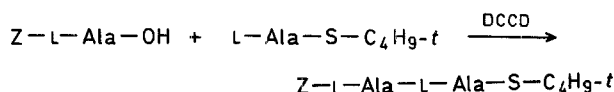
Organisch-chemisches Institut der Universität, Währingerstraße 38, A-1090 Wien 9, Österreich

α -Pyridylthioester^{1,2,3} und *t*-Butylthioester⁴ sind mit gutem Erfolg bei Macrolid-Ringschlüssen zur Carboxylaktivierung eingesetzt worden. Benzyloxycarbonyl- und *t*-Butoxycarbonylamino-säure-*t*-butylthioester (**1**) gewannen wir aus den Acylamino-säure-kohlensäureester-anhydriden (Methode A), Acylamino-säure-phosphorsäure-anhydriden (Methode B), Acylamino-säurehydroxysuccinimid-estern (Methode C), Acylamino-säureimidazoliden (Methode D), bei der Reaktion mit Lithium-*t*-butylthiolat⁵ und bei der Reaktion von Acylamino-säuren mit Dicyclohexylcarbodiimid (DCCD) und Thiol (Methode E). Nach Methode B oder D trat vollkommene Racemisierung ein. Nach A oder C erhielten wir die aktiven Thioester in ~50–60% Ausbeute, die nicht optimiert wurde⁶. Bei der Reaktion E erhielten wir ebenfalls die aktiven Thioester, doch waren die Ausbeuten ungenügend. Die *t*-Butoxycarbonyl-Gruppe ließ sich mit kalter, die Benzyloxycarbonyl-Gruppe mit heißer Trifluoroessigsäure abspalten. Beim Abdampfen der Trifluoroessigsäure fielen die stabilen Trifluoroacetate der Aminosäure-*t*-butylthioester (**2**) an. Die freien Ester können im Vakuum destilliert werden, bilden aber bei Raumtemperatur in einigen Tagen Dioxopiperazine. Die Prüfung der L-Aminosäure-*t*-butylthioester auf optische Reinheit-gaschromatographisch nach Acylierung mit Trifluoroacetylprolinchlorid⁷ – ergab ~10% an D-Verbindung,

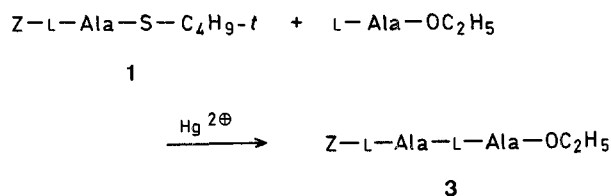
die durch einmaliges Umkristallisieren der Trifluoroacetate aus Acetonitril entfernt werden konnten.



Aminosäure-*t*-butylthioester besitzen eine freie Amino-Gruppe neben einer durch Schwermetall-Ionen aktivierbaren energiereichen Carboxyl-Funktion. Erstere kann direkt nach dem DCCD-Hydroxysuccinimid-Verfahren acyliert werden.



Die *N*-Acylamino-säure-*t*-butylthioester **1** oder entsprechende höhere Peptid-Derivate können ihrerseits bei Hg^{2⊕}-Aktivierung zur Acylierung verwendet werden.



Auch dieser Acylierungsschritt verläuft ohne merkbare Racemisierung: aus dem Z-Dipeptidester **3** wurde die Benzyloxycarbonyl-Gruppe abgespalten, das Produkt mit TFA-Prolin-

Tabelle. Herstellung der *t*-Butylthioester von *N*-Acylamino-säuren (**1**) bzw. von Aminosäure-Trifluoroacetaten (**2**)

<i>t</i> -Butylthioester von	Ausbeute [%]	F	Summenformel ^a (Mol.-Gew.)	[α] _D	¹ H-N.M.R. (CDCl ₃) δ [ppm]
Z-L-Ala	60	88–89°	C ₁₅ H ₂₁ NO ₃ S (295.4)	–16.09 (<i>c</i> =1.5, CHCl ₃ , 25°)	1.3 (d, 3H); 1.5 (s, 9H); 4.2 (q, 1H); 5.1 (s, 2H); 5.3 (s, 1H); 7.3 (m, 5H)
TFA·L-Ala	70	140°	C ₈ H ₁₆ F ₃ NO ₃ S (263.2)	+17.14 (<i>c</i> =0.2, CHCl ₃ , 25°)	1.3 (d, 3H); 1.5 (s, 9H); 4.2 (q, 1H); 4.9 (br. s, 3H)
Boc-L-Ala	65	116–118°	C ₁₂ H ₂₃ NO ₃ S (261.4)	–2.12 (<i>c</i> =1.08, CHCl ₃ , 20°)	1.5 (m, 21H); 4.2 (q, 1H); 5.0 (s, 1H)
Z-L-Val	54	Öl	C ₁₇ H ₂₅ NO ₃ S (323.4)	–6.8 (<i>c</i> =3.2, CHCl ₃ , 25°)	1.0 (d, 6H); 1.5 (s, 9H); 2.0 (m, 1H); 4.1 (m, 1H); 5.0 (s, 2H); 5.5 (d, 1H); 7.3 (m, 8H)
TFA·L-Val	80	148–150°	C ₁₁ H ₂₀ F ₃ NO ₃ S (303.3)	–30.63 (<i>c</i> =1.08, CHCl ₃ , 20°)	1.0 (d, 6H); 1.5 (s, 9H); 2.0 (m, 1H); 4.1 (m, 1H); 7.9 (br. s, 3H)
Boc-L-Val	51	43–45°	C ₁₄ H ₂₇ NO ₃ S (289.4)	–14.32 (<i>c</i> =1.8, CHCl ₃ , 20°)	1.0 (d, 6H); 1.5 (m, 18H); 2.1 (m, 1H); 4.1 (m, 1H); 5.03 (d, 1H)
Z-L-Pro	62	Öl	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃ S (321.4)	–78.77 (<i>c</i> =2.28, CHCl ₃ , 25°)	1.4 (s, 9H); 2.1 (m, 4H); 3.4 (t, 2H); 4.1 (t, 1H); 5.1 (s, 2H); 7.4 (m, 5H)
TFA·L-Pro	80	100–102°	C ₁₁ H ₁₆ F ₃ NO ₃ S (302.3)	+29.6 (<i>c</i> =0.5, CHCl ₃ , 25°)	1.4 (s, 9H); 2.1 (m, 4H); 3.4 (t, 2H); 4.1 (t, 1H); 9.5 (br. s, 3H)
Boc-L-Pro	63	Öl	C ₁₄ H ₂₅ NO ₃ S (287.4)	–74.78 (<i>c</i> =1.8, CHCl ₃ , 20°)	1.3 (m, 18H); 1.9 (t, 4H); 3.4 (t, 2H); 4.02 (t, 1H)
Z-L-Phe	50	55–57°	C ₂₀ H ₂₃ NO ₃ S (357.4)	–7.24 (<i>c</i> =1.27, CHCl ₃ , 25°)	1.4 (s, 9H); 3.1 (d, 1H); 5.0 (s, 2H); 5.1 (s, 1H); 7.3 (m, 10H)
TFA·L-Phe	57	164–166°	C ₁₃ H ₁₈ F ₃ NO ₃ S (325.3)	+85 (<i>c</i> =1.02, CH ₃ ON, 20°)	1.4 (s, 9H); 3.0 (d, 1H); 7.2 (m, 8H) ^b
Z-Gly	60	Öl	C ₁₄ H ₁₉ NO ₃ S (281.4)	—	1.5 (s, 9H); 4.03 (d, 2H); 5.1 (s, 2H); 5.6 (br s, 1H); 7.4 (m, 5H)
TFA-Gly	85	104–105°	C ₈ H ₁₄ F ₃ NO ₃ S (247.3)	—	1.5 (s, 9H); 4.1 (m, 2H); 5.3 (br. s, 3H)

^a Die Mikroanalysen der Verbindungen zeigten die folgenden maximalen Fehler: C –0.35; H –0.10; N +0.20.

^b In Aceton-d₆.

chlorid umgesetzt und das anfallende TFA-1-Pro-1-Ala-1-AlaOC₂H₅ frei von Diastereomeren befunden.

Acylaminosäure-*t*-butylthioester (1); allgemeine Herstellungsverfahren:

Einer Lösung von *N*-Acylaminosäure (0.01 mol) und trockenem Triethylamin (1.0 g) in abs. Tetrahydrofuran (50 ml) werden bei –20° Chloroameisensäure-Ethylester (1.08 g) in Ether (5 ml) langsam zugetropft. Nach 3 h Rühren bei –20° wird von Triethylaminhydrochlorid abfiltriert und zu der Lösung bei –20° eine Lösung von Lithium-*t*-butylthiolat (0.12 mol) in Ether (5 ml) zugetropft. Nach 1 h bei –20° läßt man auf Raumtemperatur erwärmen, schüttelt mit verdünnter Salzsäure, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser aus, trocknet mit Natriumsulfat und destilliert. Die Acylaminosäure-*t*-butylthioester werden im Kugelrohr bei einer Luftbadtemperatur von 120–170° im Hochvakuum destilliert.

Trifluoroacetate der Aminosäure-*t*-butylthioester (2); allgemeine Herstellungsverfahren:

Die *Z*-Aminosäure-*t*-butylthioester werden in wasserfreier Trifluoroessigsäure 30–50 min. unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wird i. Vak. die Trifluoroessigsäure abgedampft und der Rückstand mit abs. Ether verrieben. Man saugt ab und kristallisiert aus absol. Acetonitril um.

Herstellung von *Z*-1-Ala-1-Ala-OC₂H₅ (3):

Einer Lösung von L-Alanin-Ethylester (1.17 g, 0.01 mol) und Quecksilber(II)-trifluoroacetat (8.52 g, 0.02 mol) in Acetonitril (20 ml) wird *Z*-Alanin-*t*-butylthioester (2.95 g, 0.01 mol) in Acetonitril (90 ml) bei 0° zugetropft. Man rührt noch 1 h bei Raumtemperatur, filtriert von Quecksilber-Salzen ab, dampft ein, nimmt in Essigester auf, wäscht mit Wasser und verdampft das Lösungsmittel i. Vak.; Ausbeute: 1.93 g (60%); F: 116°.

Eingang: 28. August 1977

(Auf Wunsch der Autoren erst jetzt veröffentlicht.)

* Korrespondenzautor; jetzige Anschrift: Institut für Organische Chemie der Universität Stuttgart, Pfaffenwaldring 55, D-7000 Stuttgart 80.

¹ T. Endo, S. Ikenaga, T. Mukaiyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **43**, 2632 (1970).

² E. J. Corey, K. C. Nicolaou, *J. Am. Chem. Soc.* **96**, 5614 (1974).

³ H. Gerlach, A. Thalmann, *Helv. Chim. Acta* **57**, 2661 (1974).

⁴ S. Masamune, C. U. Kim, K. E. Wilson, C. O. Spessard, P. E. Georghiou, G. S. Bates, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 3512 (1975).

⁵ Thallium(I)-*t*-butylthiolat bringt keine Vorteile. Lithium-*t*-butylthiolat ist in organischen Lösungsmitteln Kohlenwasserstoffen – gut löslich.

⁶ Die Präparate enthalten ~10% D-Anteil. Auf der Stufe der Trifluoroacetate wird dieser Anteil durch einmaliges Umkristallisieren abgetrennt.

⁷ B. Halpern, J. W. Westly, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **19** (3), 361 (1965).