Untersuchungen zur Knüpfung der Peptidbindung mit α-trifluormethylsubstituierten α-Aminosäuren [1]

Wolfgang Hollweck

Garching, Institut für Organische Chemie und Biochemie der Technischen Universität

Klaus Burger

Leipzig, Institut für Organische Chemie der Universität

Eingegangen am 9. Dezember 1994

Chemical Peptide Bond Formation with α -Trifluoromethyl Substituted α -Amino Acids

Abstract. The reaction of α -trifluoromethyl substituted N-^tbutoxycarbonyl amino acids (Boc-TFM-Xaa-OH) **1** with dicyclohexylcarbodiimide results in formation of 2-^tbutoxy-4-trifluoromethyl-5(4H)-oxazolones **2** within minutes. Compounds **2** react with amino acid esters to give Boc pro-

 α, α -Disubstituierte α -Aminosäuren, z.B. Aminoisobuttersäure (Aib) oder Isovalin (Iva), sind aus mehreren Gründen interessante Kandidaten für die Peptidmodifikation. Die zweifache Substitution am α -C-Atom schränkt die konformationelle Flexibilität derartig modifizierter Peptide stark ein [2]. Der Einbau von Aib in Peptide bietet sich somit zur Synthese von Oligopeptid-Segmenten mit stabiler Sekundärstruktur an [3, 4]. In der Natur sind hohe Anteile an Aib und Iva charakteristisch für eine wichtige Familie von natürlichen Peptidantibiotika, den Peptaibolen, die die Ionenpermeabilität von Membranen beeinflussen [5, 6]. Die Schwierigkeiten bei der Kupplung α, α -disubstituierter α -Aminosäuren sind seit langer Zeit bekannt. Unter anderem erwiesen sich 5-(4H)-Oxazolone als nützliche Intermediate für die Peptidsynthese [7, 8, 9]. Bei einer Aktivierung der Cterminalen α , α -disubstituierten α -Aminosäure kann bei Fragmentverknüpfungen häufig eine Epimerisierung der vorletzten Aminosäure beobachtet werden [10, 11]. Im Falle der natürlichen Aminosäuren stellt die Racemisierung über den Oxazolon-Mechanismus bei der Aktivierung der Carboxylgruppe häufig ein Problem dar [12, 13], auch wenn Additive, wie zum Beispiel CuCl₂, die Racemisierungstendenz via 5(4H)-Oxazolon-Zwischenstufe herabsetzen [14, 15]. Gerade in jüngster Zeit wurden neue Erkenntnisse hinsichtlich der Kupplung sterisch gehinderter Aminosäuren sowohl in Lösung [16, 17, 18, 19] als auch an der Festphase [20] gewonnen. Diese Ergebnisse können jedoch nur betected dipeptide esters 4. However, at room temperature compounds 2 decompose to give Leuchs anhydrides 3, via retro-ene reaction. Therefore, α -trifluoromethyl substituted N-^tbutoxycarbonyl amino acids (Boc-TFM-Xaa-OH) are of limited value for peptide synthesis.

dingt auf α -trifluormethylsubstituierte α -Aminosäuren (TFM-Aminosäuren) [21, 22, 23, 24, 25] übertragen werden [26], deren Einbau in Peptide aufgrund der Größe der Trifluormethylgruppe (van der Waals Radius: CH₃, 200 pm; CF₃, 270 pm; van der Waals Volumen: CH₃, 0.0168 nm³; CF₃, 0.0426 nm³) [27] die konformative Flexibilität im Vergleich zu α -Methylaminosäuren noch stärker einschränken sollte. Darüber hinaus erhöht die Präsenz der Trifluormethylgruppe die Lipophilie [28].

Wie bereits gezeigt, gelingt mit der aminolytischen Öffnung trifluormethylsubstituierter N-Carboxyanhydride [29] oder 2-Benzyloxy-5(4H)-oxazolone [30] der Einbau von TFM-Aminosäuren in die N-terminale Position von Peptiden. Boc-geschützte α -trifluormethylsubstituierte α -Aminosäuren (Boc-TFM-Aminosäuren) sind bislang noch nicht auf ihre Eignung für die Peptidsynthese untersucht worden.

Bei der Aktivierung der Boc-TFM-Aminosäuren 1 mit Carbodiimiden [31], z.B. Dicyclohexylcarbodiimid (DCC), zeigte sich, daß die Dauer der Aktivierung einen entscheidenden Einfluß auf den Reaktionsverlauf nimmt. Die Oxazolone 2 werden bei 0 °C innerhalb von 15–20 min quantitativ gebildet. Die Entstehung symmetrischer Anhydride kann ¹⁹F-NMR-spektroskopisch nicht nachgewiesen werden. Höhere Reaktionstemperaturen und eine Verlängerung der Aktivierungszeit haben die Bildung von Leuchs-Anhydriden 3 zur Folge; diese entstehen bereits bei Raumtemperatur via Retro-En-Reaktion.



	R	T [°C]	t [min]	2 [%]	3 [%]
a	CH ₃	0	15	100	
b	$CH_2CH(CH_3)_2$	25	15	95	5
c	CH ₂ C ₆ H ₅	25	60	100	
d	C_6H_5	0	20	100	
d	C_6H_5	0	75	70	30

Die Umwandlung $2 \rightarrow 3$ kann ¹H-, ¹³C- und ¹⁹F-NMRspektroskopisch verfolgt werden: in CDCl₃ zerfallen bei Raumtemperatur 2a und 2d innerhalb von Stunden; 2b zerfällt innerhalb von Minuten und konnte aus diesem Grund spektroskopisch nicht vollständig charakterisiert werden. 2c zersetzt sich innerhalb mehrerer Tage. Neben den charakteristischen Signalen für die Leuchs-Anhydride [32] werden im ¹³C-NMR-Spektrum noch Resonanzsignale bei 24.13 ppm, 110.50 ppm und 142.53 ppm gefunden, die dem freigesetzten Isobuten zugeordnet werden können. Im Gefrierschrank bei -30°C sind die Oxazolone 2 jedoch mehrere Wochen lagerbar. Die Aminolyse der 2-^tButoxy-5(4H)-oxazolone 2 mit Aminosäureestern zu den Boc-geschützten Dipeptidestern 4 verläuft etwas langsamer als die der 2-Benzyloxy-5(4H)-oxazolone [30]. Aus diesem Grund ist es von Vorteil, mit einem Überschuß an Aminosäureester zu arbeiten, damit die Bildung der N-terminal ungeschützten Dipeptidester 5, die via 3 erfolgt, nach Möglichkeit unterdrückt wird.

Im Fall der Verbindung **4a** können die Diastereomeren durch Flash-Chromatographie getrennt werden. Werden Aktivierung und Kupplung als Eintopfreaktion durchgeführt, so kann der Reaktionsverlauf ¹⁹F-NMR-spektroskopisch (Aktivierung: Hochfeldverschiebung, Kupplung: Tieffeldverschiebung der ¹⁹F-Resonanzsignale) exakt verfolgt werden.

Von den Boc-TFM-Aminosäuren 1 cyclisiert bei der Aktivierung nach der Mischanhydrid-Methode [33] nur 1a zum 5(4H)-Oxazolon 2a. 1b und 1c bilden mit Chlorameisensäureethylester zwar das entsprechende Mischanhydrid 6, aufgrund der starken sterischen Abschirmung der Carboxylgruppe durch die zweifache Substitution am α -C Atom unterbleibt jedoch der intramolekulare Ringschluß selbst in Gegenwart eines Überschusses an tertiärer Base. Im Gegensatz zu den Mischanhydriden der natürlichen Aminosäuren, die eine starke Tendenz zur Disproportionierung bzw. Oxazolonbildung aufweisen [34], können die Mischanhydride 6 der trifluormethylsubstituierten Aminosäuren sogar isoliert werden.

Mit überschüssiger tertiärer Base bildet das Anhydrid **6b** innerhalb von 10–12 Tagen das 1,3,5-Dioxazepin-2,7-dion **7**. Cyclisierung zum 5(4*H*)-Oxazolon **2b** bzw. Öffnung von **2b** durch das freigesetzte Ethanol zum entsprechenden trifluormethylsubstituierten Aminosäureester erfolgen nur in untergeordnetem Maße (< 30%).



^{a)} Aktivierung bei 25°C; der Wert in Klammern entspricht der Ausbeute an 5c.



Für die Peptidsynthese sind die Verbindungen 6 daher ungeeignet. Die Aminolyse mit Aminosäureestern erfolgt für 6b, 6c und 6d ausschließlich an der sterisch weniger gehinderten Carboxylgruppe. Die Boc-TFM-Aminosäuren 1b, 1c werden quantitativ zurückgebildet, daneben entstehen die N-terminal geschützten Aminosäureester 8.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für die finanzielle Förderung dieser Untersuchungen. Die Firma Hoechst AG, Frankfurt/Main, unterstützte dieses Projekt dankenswerterweise durch großzügige Chemikalienspenden.

Beschreibung der Versuche

Schmelzpunkte (unkorrigiert): Apparatur nach Tottoli (Fa. Büchi). – IR-Spektren: Perkin Elmer 157 G bzw. 257. – ¹H-NMR: Bruker AC 250 (250,1 MHz) bzw. Bruker AM 360 (360.1 MHz), Tetramethylsilan als interner Standard. - ¹³C-NMR: Bruker AM 360 (90,6 MHz) bzw. Bruker AC 250 (62,9 MHz), Tetramethylsilan als interner Standard. - ¹⁹F-NMR: Jeol C 60 HL (56,5 MHz) bzw. Bruker AC 250 (235,3 MHz), Trifluoressigsäure als externer Standard. - Elementaranalysen: C,H,N-Analysenautomat EA 415/0, Monar System (Fa. Heraeus). - Drehwerte: Perkin Elmer 241 MC Polarimeter. - Flash-Chromatographie: Kieselgel S (Riedel de Haen), Korngröße 30-63 µm. - Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (Riedel de Haen), Korngröße 63-200 µm.

2-^tButoxy-4-trifluormethyl-5(4H)-oxazolone (2) durch Umsetzung von Boc-TFM-Aminosäuren (1) mit Dicyclohexylcarbodiimid

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

2 mmol der Boc-TFM-Aminosäure (1) werden bei 0°C in 10 ml Methylenchlorid mit 0,39 g (1,9 mmol) Dicyclohexyl-

2-^tButoxy-4-methyl-4-trifluormethyl-5(4H)-oxazolon (2a)

Sdp.: 60 °C/12 Torr (Kugelrohr); Ausbeute 26%; IR (Film): $\nu = 1840, 1675 \text{ cm}^{-1}$.

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1,62$ (s; 9 H, C(CH₃)₃), 1,63 ppm (s; 3 H, CH₃). - ¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 18,27$ (*CH*₃), 27,33 (C(*CH*₃)₃), 71,79 (q; J = 30,7 Hz, *C*-CF₃), 88,37 (OC(CH₃)₃), 123,02 (q; J = 283,1 Hz, *CF*₃), 157,80 (*C*=N), 170,52 ppm (*C*=O). - ¹⁹F-NMR (CDCl₃): $\delta = -0,04$ ppm (s; *CF*₃). C₉H₁₂F₃NO₃ Ber.: C 45,19 H 5,06 N 5,86 (239,19) Gef.: C 44,86 H 5,05 N 6,16

$2^{t}Butoxy-4$ -benzyl-4-trifluormethyl-5(4H)-oxazolon (2c)

Fp. 76–80 °C (Zersetzung); Ausbeute 91%; IR (Film): $\nu = 1835, 1670 \text{ cm}^{-1}$.

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1,51 (s; 9 H, C(CH₃)₃), 3,26 (d; J = 13,3 Hz, 1 H, CH₂), 3,39 (d; J = 13,3 Hz, 1 H, CH₂), 7,14– 7,18 (m; 2 Aromaten-*H*), 7,24–7,28 ppm (m; 3 Aromaten-*H*). – ¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 27,33 (C(CH₃)₃), 36,84 (CH₂), 76,86 (q; J = 27,9 Hz, C-CF₃), 88,12 (OC(CH₃)₃), 122,92 (q; J = 283,8 Hz, CF₃), 128,00, 128,51, 130,67, 131,83 (Aromaten-C), 157,64 (C=N), 169,59 ppm (C=O). – ¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ = 1,59 ppm (s; CF₃). C₁₅H₁₆F₃NO₃ Ber.: C 57,14 H 5,12 N 4,44

 $\begin{array}{cccc} C_{15}H_{16}F_3NO_3 & \text{Ber.:} & C \ 57,14 & H \ 5,12 & N \ 4,44 \\ (315,29) & \text{Gef.:} & C \ 57,60 & H \ 5,41 & N \ 4,84 \end{array}$

2-^tButoxy-4-phenyl-4-trifluormethyl-5(4H)-oxazolon (2d)

Öl; Ausbeute 90%; IR (Film): $\nu = 1835$, 1675 cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1,70$ (s; 9 H, C(CH₃)₃), 7,39–7,46 (m; 3 Aromaten-*H*), 7,82–7,86 ppm (m; 2 Aromaten-*H*). – ¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 27,41$ (C(*CH*₃)₃), 75,69 (q; J = 29,9 Hz, C-CF₃), 88,60 (OC(CH₃)₃), 122,25 (q; J = 284,2 Hz, CF₃), 127,34, 128,62, 129,84, 130,48 (Aromaten-C), 157,82 (*C*=N), 168,66 ppm (*C*=O). – ¹⁹F-NMR (CDCl₃): $\delta = 2,04$ ppm (s; CF₃).

$C_{14}H_{14}F_{3}NO_{3}$	Ber.:	C 55,82	H 4,08	N 4,65
(301,26)	Gef.:	C 56,69	H 5,31	N 5,06

Peptidsynthesen mit 2-^tButoxy-5(4H)-oxazolonen

2 mmol 2-^tButoxy-5(4H)-oxazolon **2** werden in 10 ml Methylenchlorid mit 2 mmol des entsprechenden Aminosäureesterhydrochlorids und 0,51 g (5 mmol) Triethylamin bzw. 2 mmol des Aminosäureesters bei Raumtemperatur gerührt, bis die ¹⁹F-NMR-Analyse vollständigen Umsatz anzeigt (2-48 Stunden). Das ausgefallene Salz wird abfiltriert und das Filtrat eingeengt. Die Rohprodukte werden säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

$N-(N'-^{t}Butoxycarbonyl-2-trifluormethylalanyl)-alaninbenzyl$ ester (4a)

Diastereomerengemisch (Verhältnis 1 : 1); Reinigung und Abtrennung eines Diastereomeren durch Flash-Chromatographie (Eluent: Essigester/Hexan = 1 : 4); farbloses Öl; Ausbeute 57%; IR (KBr): ν = 3450, 1735, 1700, 1675, 1530 cm⁻¹. Diastereomer 1: Fp. 83–84 °C. Ausbeute 22%. ¹H-NMR (CDCl₃): = 1,43 (d; J = 7,2 Hz, 3 H, CH₃), 1,43 (s; 9 H, C(CH₃)₃), 1,78 (s; 3 H, C-CH₃), 4,63 (dq; J = 7,2 Hz, J = 7,4 Hz, 1 H, CH), 5,14 (d; J = 12,3 Hz, 1 H, OCH₂), 5,21 (d; J = 12,3 Hz, 1 H, OCH₂), 5,57 (s; 1 H, Urethan-N*H*), 6,89 (d; J = 7,4 Hz, 1 H, Amid-N*H*), 7,35 ppm (s; 5 H, Aromaten-*H*). - ¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 17,30 (*CH*₃), 17,87 (*CH*₃), 27,99 (C(*CH*₃)₃), 48,72 (*CH*), 62,51 (q; J = 27,6 Hz, C-CF₃), 67,23 (*OCH*₂), 81,20 (*OC*(CH₃)₃), 124,32 (q; J = 285,6 Hz, *CF*₃), 128,07, 128,41, 128,53, 135,07 (Aromaten-*C*), 153,51 (*C*=O, Urethan), 165,34, 172,16 ppm (*C*=O, Amid und Ester). - ¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ = 1,54 ppm (s; CF₃). - [α]²⁰_D = 2,95° (c 1,0 in CHCl₃).

Diastereomer 2 (angereichert): farbloses Öl. Ausbeute 35%. ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1,41-1,44$ (m; 12 H, CH₃ und C(CH₃)₃), 1,75 (s; 3 H, C-CH₃), 4,60–4,68 (m; 1 H, CH), 5,15-5.19 (m; 2 H, OCH₂), 5,57 (s; 1 H, Urethan-NH), 7,04 (d; J = 6.8 Hz, 1 H, Amid-NH), 7,32–7,35 ppm (m; 5 H, Aromaten-H). – ¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 17,63 (CH₃), 18,11 (CH_3) , 28,01 (C (CH_3)), 48,67 (CH), 62,59 (q; J = 27,6 Hz, C- CF_3), 67,24 (OCH₂), 81,38 (OC(CH₃)₃), 124,33 (q; J = 285,6 Hz, CF₃), 128,10, 128,43, 128,56, 135,10 (Aromaten-C), 153,54 (C=O, Urethan), 165,46, 172,24 ppm (C=O, Amid und Ester). - ¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ = 1,66 ppm (s; CF₃). C₁₉H₂₅F₃N₂O₅ Ber.: C 54,54 H 6,02 N 6,70 (418, 41)Gef.: C 54,34 H 6.09 N 6.99

$N-(N'-^{t}Butoxycarbonyl-2-trifluormethylphenylalanyl)-glycin$ methylester (4b)

Reinigung durch Säulenchromatographie (Eluent: Essigester/ Hexan = 1 : 2); Fp. 116 °C; Ausbeute 87%; IR (KBr): ν = 3350–3440, 1720–1750, 1690 cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1,45$ (s; 9 H, C(CH₃)₃), 3,39 (d; J = 14,4 Hz, 1 H, Phe-CH₂), 4,00 (d; J = 14,4 Hz, 1 H, Phe-CH₂), 3,76 (s; 3 H, OCH₃), 4,05-4,10 (m; 2 H, Gly-CH₂), 5,67 (s; 1 H, Urethan-N*H*), 6,94 (s; breit, 1 H, Amid-N*H*), 7,20-7,29 ppm (m; 5 H, Aromaten-*H*).- ¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 28,05 (C(*CH*₃)₃), 34,43 (Phe-*CH*₂), 41,87 (Gly-*CH*₂), 52,42 (O*CH*₃), 65,94 (q; J = 26,8 Hz, C-CF₃), 80,88 (OC(CH₃)₃), 124,28 (q; J = 287,8 Hz, *CF*₃), 127,38, 128,27, 130,22, 133,24 (Aromaten-*C*), 153,60 (*C*=O, Urethan), 165,14, 169,37 ppm (*C*=O, Amid und Ester). – ¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ = 5,72 ppm (s; CF₃). C₁₈H₂₃F₃N₂O₅ Ber.: C 53,46 H 5,73 N 6,93

$N-(N'-^{t}Butoxycarbonyl-2-trifluormethylphenylglycyl)-glycin$ benzylester (4c)

Reinigung durch Flash-Chromatographie (Eluent: Essigester/ Hexan = 1 : 3), Fp. 110 °C; Ausbeute 46%; IR (KBr): ν = 3390, 1745, 1690, 1535 cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃): = 1,31 (s; 9 H, C(CH₃)₃), 4,00–4,06 (m; 2 H, Gly-CH₂), 5,09–5,16 (m; 2 H, OCH₂), 6,28 (s; 1 H, Urethan-N*H*), 6,60 (s; breit, 1 H, Amid-N*H*), 7,28–7,39 (m, 8 H, Aromaten-*H*), 7,46–7,48 ppm (m, 2 H, Aromaten-*H*). – ¹³C-NMR (CDCl₃): = 27,96 (C(*CH*₃)₃), 42,07 (Gly-*CH*₂), 67,27 (O*CH*₂), 68,02 (q; J = 27,6 Hz, *C*-CF₃), 80,99 (O*C*(CH₃)₃), 123,95 (q, J = 287,8 Hz, *CF*₃), 127,32 (q, J = 0,9 Hz, Aromaten-*C*), 128,42, 128,58, 128,63, 128,71, 129,11, 132,92, 135,01 (Aromaten-*C*), 153,29 (*C*=O, Urethan), 166,38,

168,50 ppm (C=O, Amid und Ester). $-{}^{19}$ F-NMR (CDCl₃): = 7,40 ppm (s; CF₃). C₂₃H₂₅F₃N₂O₅ Ber.: C 59,22 H 5,40 N 6,01 (466,46) Gef.: C 59,38 H 5,51 N 6,01

N-(2-Trifluormethylphenylglycyl)-glycinbenzylester (5c)

Nebenprodukt bei der Umsetzung von 2-^tButoxy-4-phenyl-4-trifluormethyl-5(4H)-oxazolon **2d** mit Glycinbenzylester, Reinigung durch Flash-Chromatographie (Eluent: Essigester/ Hexan = 1 : 3), farbloses Öl; Ausbeute 23%; IR (Film): ν = 3260–3440, 1740, 1685, 1510 cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃): = 2,39 (s; 2 H, NH2), 3,99 (dd; J = 5,3 Hz, J = 18,3 Hz, 1 H, Gly-CH₂), 4,13 (dd; J = 5,3 Hz, J = 18,3 Hz, 1 H, Gly-CH₂), 5,13-5,20 (m; 2 H, OCH₂), 7,32-7,42 (m; 8 H, Aromaten-H), 7,67-7,70 (m; 2 H, Aromaten-*H*), 7,63 ppm (t; J = 5,3 Hz, 1 H, Amid-NH).- ¹³C-NMR $(CDCl_3)$: = 41,36 (Gly-CH₂), 66,26 (q; J = 26,8 Hz, C-CF₃), $67,27 (OCH_2), 125,21 (q; J = 285,7 Hz, CF_3), 126,37 (q; J =$ 1,6 Hz, Aromaten-C), 128,38, 128,57, 128,65, 128,74, 129,20, 134,07, 135,07 (Aromaten-C), 168,23, 169,14 ppm (C=O, Amid und Ester). – 19 F-NMR (CDCl₃): = 4,07 ppm (s; CF₃). $C_{18}H_{17}F_3N_2O_3$ Ber.: C 59,02 H 4,68 N 7.65 (366, 34)Gef.: C 58,74 H 4,77 N 7,59

Mischanhydride der N-¹Butoxycarbonyl-aminosäuren

Zu 0,67 g (2 mmol) Boc-TFM-Phe-OH 1c und 2 mmol des jeweiligen Säurechlorids in 10 ml Essigester werden bei 0°C 0,21 g (2,1 mmol) N-Methylmorpholin getropft. Die Mischung wird bei dieser Temperatur gerührt und der Reaktionsverlauf ¹⁹F-NMR-spektroskopisch (Tieffeldverschiebung) verfolgt. Die Anhydride werden nach 10 min bis 1 h quantitativ gebildet. N-Methylmorpholinhydrochlorid wird abfiltriert und der Niederschlag mit 2 ml Essigester gewaschen. Das Filtrat wird eingeengt und der Rückstand in 10 ml Hexan aufgenommen. Die Lösung wird 1 h bei 0°C aufbewahrt, um restliches Hydrochlorid auszufällen. Nach Filtration wird das Lösungsmittel abdestilliert.

O-Ethoxycarbonyl-N-^t*butoxycarbonyl-2-trifluormethylphenylalanin* (**6c**)

Fp. 72–75 °C; Ausbeute 75%; IR (KBr): $\nu = 3280, 3170, 1820, 1765, 1705 \text{ cm}^{-1}$.

¹H-NMR (CDCl₃): = 1,37 (t; J = 7,1 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1,46 (s; 9 H, C(CH₃)₃), 3,46 (d; J = 13,4 Hz, 1 H, Phe-CH₂), 3,87 (s; breit, 1 H, Phe-CH₂), 4,37 (q; J = 7,1 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 5,33 (s; 1 H, NH), 7,25-7,33 ppm (m; 5 H, Aromaten-H). – ¹³C-NMR (CDCl₃): = 13,86 (CH₂CH₃), 28,06 (C(CH₃)₃), 35,25 (Phe-CH₂), 66,72 (CH₂CH₃), 66,72 $(q; J = 27,7 Hz, C-CF_3), 81,39 (OC(CH_3)_3), 123,60 (q; J =$ 288,5 Hz, CF₃), 127,98, 128,64, 130,57, 132,42 (Aromaten-C), 147,39 (C=O, Carbonat), 153,50 (C=O, Urethan), 161,51 ppm (C=O, Carboxyl). – ¹⁹F-NMR (CDCl₃): = 5,79 ppm (s; CF₃). $C_{18}H_{22}F_{3}NO_{6}$ Ber.: C 53,33 H 5,47 N 3,46 (405, 37)Gef.: C 53,43 H 5,23 N 3,53

O-Pivaloyl-N-^t*butoxycarbonyl-2-trifluormethylphenylalanin* (6d)

Fp. 96–99 °C; Ausbeute 59%; IR (KBr): $\nu = 3390$, 1815, 1750, 1725 cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃): = 1,27 (s; 9 H, C(CH₃)₃), 1,45 (s; 9 H, Piv-C(CH₃)₃), 3.46 (d; J = 14.7 Hz, 1 H, Phe-CH₂). 3,89 (d; J = 14,7 Hz, 1 H, Phe-CH₂), 5,30 (s, 1 H, NH), 7,17-7,34 ppm (m, 5 H, Aromaten-H). - ¹³C-NMR (CDCl₃): = 26,06 (Piv-C(CH₃)₃), 28,08 (C(CH₃)₃), 35,03 (Phe-CH₂), 40,35 ($C(CH_3)_3$), 66,65 (q; J = 27,6 Hz, C-CF₃), 81,17 $(OC(CH_3)_3)$, 123,72 (q; J = 288,9 Hz, CF₃), 127,79, 128,54, 130,34, 132,54 (Aromaten-C), 153,39 (C=O, Urethan), 162,26 (C=O, Carboxyl), 171,29 ppm (C=O, Pivaloyl). - ¹⁹F-NMR $(CDCl_3)$: = 5,80 ppm (s; CF₃). C₂₀H₂₆F₃NO₅ Ber.: C 57,55 H 6,28 N 3,36 (417, 42)Gef.: C 57,76 H 6.24 N 3.50

4-^tButoxy-6-(2-methylpropyl)-6-trifluormethyl-6H-1,3,5dioxazepin-2,7-dion (7)

Zu 0,60 g (2 mmol) Boc-TFM-Leu-OH **1b** und 0,22 g Chlorameisensäureethylester (2 mmol) in 10 ml Essigester werden 0,3 g N-Methylmorpholin (3 mmol) getropft, danach wird bei 20 °C 10–12 Tage gerührt. Der Reaktionsverlauf wird ¹⁹F-NMR-spektroskopisch verfolgt. Die Lösung wird filtriert, das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Eluent: Essigester/Hexan = 1 : 3).

Farbloses Öl; Ausbeute 40%; IR (Film): $\nu = 2980$, 1875, 1805, 1755 cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃): = 0,90 (d; J = 6,6 Hz, 3 H, CH(CH₃)₂), 1,02 (d; J = 6,6 Hz, 3 H, CH(CH₃)₂), 1,68 (m, 1 H, CH), 1,58 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 2,12 (dd; J = 9,0 Hz, J = 14,3 Hz, 1 H, CH₂), 2,61 ppm (dd; J = 4,4 Hz, J = 14,3 Hz, 1 H, CH₂). – 13 C-NMR (CDCl₃): = 22,06, 22,43, 24,12 (CH, (CH(CH₃)₂), 27,71 (C(CH₃)₃), 36,22 (CH₂), 70,72 (q; J = 29.8 Hz, C-6), 87,37 (OC(CH₃)₃), 122,10 (q; J = 288,4 Hz, CF₃), 145,55, 146,26 (C-2, C-4) 161,80 ppm (C-7). $- {}^{19}$ F-NMR (CDCl₃): = 3,79 ppm (s; CF₃). C₁₃H₁₈F₃NO₅ Ber.: C 48,00 H 5.58 N 4.31 Gef.: C 48,39 (325, 28)H 5,73 N 4,41

Literatur

- [1] α-Trifluormethylsubstituierte α-Aminosäuren, 25. Mitteilung. – 24. Mitteilung: B. Koksch, D. Ullmann, H.-D. Jakubke, N. Sewald, K. Burger, Peptides 1994, im Druck
- [2] I. L. Karle, J. L. Flippen-Anderson, K. Uma, P. Balaram, Current Science 59 (1990) 575.
- [3] I. L. Karle, P. Balaram, Biochemistry 29 (1990) 6746
- [4] G. R. Marshall, E. E. Hodgkin, D. A. Langs, G. D. Smith, J. Zabrocki, M. T. Leplawy, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 87 (1990) 487
- [5] S. Rebuffat, L. Conraux, M. Massias, C. Auvon-Guette, B. Bodo, Int. J. Peptide Proteine Res. 41 (1993) 74
- [6] I. L. Karle, J. L. Flippen-Anderson, S. Agarwalla, P. Balaram, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88 (1991) 5307
- [7] M. T. Leplawy, D. S. Jones, G. W. Kenner, R. C. Sheppard, Tetrahedron 11 (1960) 39
- [8] M. Narita, K. Ishikawa, K. Kudo, T. Endo, Chem. Soc. Jpn., 58 (1985) 3125
- [9] H. Heimgartner, Angew. Chem. 103 (1991) 271; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 30 (1991) 237
- [10] P. Wipf, H. Heimgartner, Helv. Chim. Acta 69 (1986) 1153

- H. Brückner, M. Currle in: "Second Forum of Peptides", A. Aubry, M. Maurrad, B. Vitoux, Edit., Coloque IN-SERM/John LibbeyEurotext Ltd 1989, Vol. 174, 251
- [12] M. Goodmann, W. J. McGahren, Tetrahedron 23 (1967) 2031
- [13] J. Meienhofer in: "The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology", E. Gross, J. Meienhofer, Edit., Academic Press, New York, Vol. 1, 1979, S. 263-314
- [14] T. Miyazawa, T. Donkai, T. Yamada, S. Kuwata, Int. J. Peptide Protein Res. 40 (1992) 49
- [15] T. Miyazawa, T. Otomatsu, Y. Fukui, T. Yamada, S. Kuwata, Int. J. Peptide Protein Res. 39 (1992) 308
- [16] T. Yamada, Y. Omote, Y. Nakamura, T. Miyazawa, S. Kuwata, Chem. Letters 1993, 1583
- [17] E. Frerot, J. Coste, A. Pantaloni, M.-N. Dufour, P. Jouin, Tetrahedron 47 (1991) 259
- [18] J. R. Spencer, V. V. Antonenko, N. G. J. Delaet, M. Goodman, Int. J. Pept. Prot. Res. 40 (1992) 282
- [19] C. Auvin-Guette, E. Frerot, J. Coste, S. Rebuffat, P. Jouin, B. Bodo, Tetrahedron Lett. 34 (1993) 2481
- [20] H. Wenschuh, M. Beyermann, E. Krause, M. Brudel, R. Winter, M. Schümann, L. A. Carpino, M.Bienert, J. Org. Chem. 59 (1994) 3275
- [21] V. P. Kukhar', Yu. L. Yagupol'skii, V. A. Soloshonok, I. I. Gerus, Zh. Org. Khim. 23 (1987) 2308; Chem. Abstr. 109 (1988) 55185p
- [22] S. N. Osipov, V. B. Sokolov, A. F. Kolomiets, I. V. Martynov, A. V. Fokin, Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim 1987, 1185, Chem. Abstr. 108 (1988) 186849k
- [23] K. Burger, K. Geith, K. Gaa, Angew. Chem. 100 (1988) 860; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 27 (1988) 848

- [24] J. T. Welch in: "Selective Fluorination in Organic and Bioorganic Chemistry", J. T. Welch, Edit., ACS Symposium Series 456, 1991, S. 7
- [25] K. Burger, K. Gaa, Chem. Ztg. 114 (1990) 101
- [26] W. Hollweck, Dissertation, TU München 1994
- [27] D. Seebach, Angew. Chem. 102 (1990) 1363; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 29 (1990) 1320
- [28] N. Muller, J. Pharm. Sci. 75 (1986) 987
- [29] C. Schierlinger, K. Burger, Tetrahedron Lett. 1992, 193
- [30] K. Burger, K. Mütze, W. Hollweck, B. Koksch, P. Kuhl, H.-D. Jakubke, J. Riede, A. Schier, J. prakt. Chem. 335 (1993) 321
- [31] D. H. Rich, J. Singh, "The Carbodiimide Method", in: "The Peptides; Analysis, Synthesis, Biology", Gross, J. Meienhofer, Edit., Academic Press, New York 1979, Vol. 1, Chap. 5 S. 241
- [32] C. Schierlinger, Dissertation TU München 1991, 198
- [33] J. Meienhofer, "The Mixed Carbonic Anhydride Method of Peptide Synthesis", in: "The Peptides; Synthesis, Analysis, Biology", E. Gross, J. Meienhofer, Edit., Academic Press, New York 1979, Vol. 1, Chap. 6, S. 263
- [34] N. L. Benoiton, Y. C. Lee, Francis M. F. Chen, Int. J. Peptide Protein Res. 41 (1993) 338

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. K. Burger Institut für Organische Chemie Universität Leipzig Talstr. 35 D-04103 Leipzig, Germany