

# CHEMISCHE BERICHTE

In Fortsetzung der

BERICHTE DER DEUTSCHEN CHEMISCHEN GESELLSCHAFT

herausgegeben von der

GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

103. Jahrg. Nr. 6

S. 1655—2010

*Friedrich Weygand†, Wolfgang Steglich und Walter Oettmeier*

Fluorierte Aminosäuren, V<sup>1)</sup>

## Reaktionen von 3.3.3-Trifluor-alanin und seine Verwendung für Peptidsynthesen

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München

(Eingegangen am 2. Januar 1970)

■  
Aus 3.3.3-Trifluor-alanin (**1**) werden verschiedene *N*-Acyl-Derivate und Ester dargestellt. Ungewöhnlich ist die Bildung eines kristallinen Dicyclohexylammonium-Salzes und die Veresterung zu **2** mit ätherischem Diazomethan. Mit Basen tritt leicht Eliminierung von HF ein. Die Synthese von Dipeptid-Derivaten, die **1** enthalten, wird beschrieben.

Fluoro Amino Acids, V<sup>1)</sup>

Reactions of 3.3.3-Trifluoroalanine and its Use for Peptide Syntheses

*N*-Acyl derivatives and esters of 3.3.3-trifluoroalanine (**1**) are prepared. The formation of a crystalline dicyclohexylammonium salt and esterification with diazomethane/ether to give **2** are unusual. With bases an easily occurring elimination of HF is observed. The synthesis of dipeptide derivatives of **1** is described.

■  
3.3.3-Trifluor-alanin (**1**)<sup>1-3)</sup> zeigt neben den üblichen Aminosäure-Reaktionen auch solche, bei denen sich der Einfluß der Trifluormethylgruppe bemerkbar macht. Ihre Kenntnis ist für die Synthese von Peptiden des Trifluoralanins von Bedeutung.

### A. Reaktionen der Carboxyl- und Aminogruppe

Die erhöhte Acidität der Carboxylgruppe bei stark verminderter Basizität der Aminofunktion<sup>1)</sup> führt dazu, daß **1** ein kristallisiertes Dicyclohexylammonium-Salz

<sup>1)</sup> IV. Mittel.: *F. Weygand†, W. Steglich und W. Oettmeier*, Chem. Ber. **103**, 818 (1970).

<sup>2)</sup> *F. Weygand, W. Steglich, W. Oettmeier, A. Maierhofer und R. S. Loy*, Angew. Chem. **78**, 640 (1966); Angew. Chem. internat. Edit. **5**, 600 (1966).

<sup>3)</sup> *F. Weygand, W. Steglich und F. Fraunberger*, Angew. Chem. **79**, 822 (1967); Angew. Chem. internat. Edit. **6**, 807 (1967).

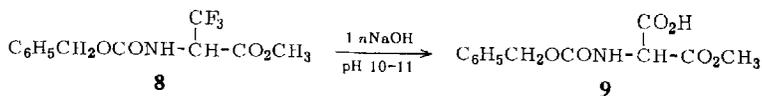
bildet und beim Suspendieren in ätherischem Diazomethan unter lebhafter Stickstoffentwicklung in Lösung geht. Dabei entstehen neben dem Methylester **2** auch die am Stickstoff mono- und dimethylierten Ester. Ihre Bildung kann durch Zusatz von Methanol unterdrückt werden. Durch säurekatalysierte Anlagerung von Isobuten an 3.3.3-Trifluor-*N*-benzyloxycarbonyl-alanin (**3**)<sup>1)</sup> wird **4** erhalten, das sich durch katalytische Hydrierung in 3.3.3-Trifluor-alanin-tert.-butylester (**5**) verwandeln läßt. Die mit Trifluoressigsäureanhydrid aus **1** entstehende *N*-Trifluoracetyl-aminosäure **6**

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
<b>1</b>	H	H
<b>2</b>	H	CH <sub>3</sub>
<b>3</b>	CO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H
<b>4</b>	CO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
<b>5</b>	H	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
<b>6</b>	COCF <sub>3</sub>	H
<b>7</b>	2.4-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	H

wird im Gegensatz zum *N*-Trifluoracetyl-alanin<sup>4)</sup> durch überschüssiges Acylierungsmittel nicht zum Oxazol(5) cyclisiert. 2.4-Dinitro-fluorbenzol und Chlorameisensäure-benzylester reagieren mit **1** unter Bildung der *N*-substituierten Derivate **7** und **3**. Infolge der verringerten Nucleophilie der Aminogruppe beträgt die Ausbeute im letzteren Fall allerdings nur etwa 40%.

## B. Reaktionen unter Verlust von Fluor

Kocht man 3.3.3-Trifluor-alanin mit Wasser, so läßt sich schon nach 20 Minuten die Bildung von Glycin nachweisen. Nach 8 Tagen bei 120° ist **1** vollkommen verschwunden. Wir nehmen an, daß die Reaktion mit einer HF-Eliminierung beginnt<sup>5)</sup>, worauf sich die entstehende 3.3-Difluor-2-amino-acrylsäure über Amino-malonsäuremonofluorid und Amino-malonsäure in Glycin verwandelt. Die große Empfindlichkeit der Trifluormethylgruppe gegen Alkalien zeigt sich auch beim Ester **8**. Hier wird sie schneller verseift als die Estergruppe:

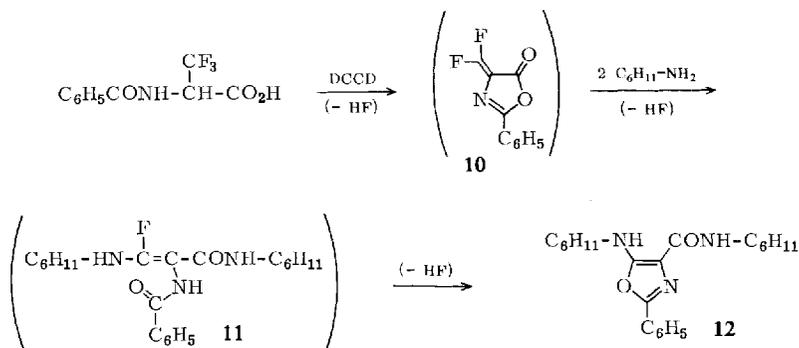


**9** wird beim Erhitzen zum Glycin-Derivat decarboxyliert. Versucht man, 3.3.3-Trifluor-*N*-benzoyl-alanin<sup>1)</sup> und Cyclohexylamin mit Dicyclohexylcarbodiimid in das Amid zu verwandeln, so wird an seiner Stelle das Oxazol **12** isoliert. Als Zwischenstufen sind dabei das 4-Difluormethylen-oxazol(5) **10** und das β-Fluor-acrylsäure-Derivat **11** anzunehmen<sup>6)</sup>.

<sup>4)</sup> Vgl. *W. Steglich* in Fortschr. chem. Forsch. **12** (1), 82 (1969).

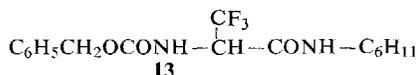
<sup>5)</sup> Vgl. z. B. *I. L. Knunjanz* und *Ju. A. Tscheburkow*, Nachr. Akad. Wiss. UdSSR, Abt. chem. Wiss. (russ.) **1960**, 2162, C. A. **55**, 16412 (1961).

<sup>6)</sup> *R. Pflieger* und *H. Vogt* beobachteten bereits die Cyclisierung einer β-Chlor-α-acylamino-acrylsäure zum Oxazol-Derivat, Chem. Ber. **90**, 1467 (1957).



### C. Synthese von Peptiden des 3.3.3-Trifluor-alanins

3.3.3-Trifluor-*N*-benzyloxycarbonyl-alanin (**3**) gibt mit Cyclohexylamin und Dicyclohexylcarbodiimid oder Methyläthynyl-diäthylamin<sup>7)</sup> glatt das Amid **13**.



Verwendet man Aminosäureester, so werden 3.3.3-Trifluor-*N*-benzyloxycarbonyl-alanyl-aminosäureester erhalten. Ebenso können *N*-Acyl-aminosäuren mit 3.3.3-Trifluor-alaninestern zu Peptiden mit carboxylendständigem **1** umgesetzt werden. Eine Übersicht über die dargestellten Dipeptid-Derivate gibt die Tabelle.

*N*-Acyl-dipeptidester des 3.3.3-Trifluor-alanins

Verbindung	<i>N</i> -Acyl-dipeptidester	% Ausb. (Methode)*	Schmp.
<b>14</b>	Z-DL-(Trifluor-Ala)-Gly-OCH <sub>3</sub>	79 (a)	174° (Zers.)
<b>15</b>	Z-DL-(Trifluor-Ala)-L-Phe-OCH <sub>3</sub>	58 (a) 74 (b)	158°
<b>16</b>	Z-DL-(Trifluor-Ala)-L-Leu-OtBu	67 (a)**	123°
<b>17</b>	Z-L-Phe-DL-(Trifluor-Ala)-OCH <sub>3</sub>	71 (a)	165°
<b>18</b>	Z-L-Ala-DL-(Trifluor-Ala)-OtBu	55 (a)	114–115°
<b>19</b>	Z-DL-(Trifluor-Ala)-DL-(Trifluor-Ala)-OCH <sub>3</sub>	59 (a)	187–195°

\* Methode (a): Mit Dicyclohexylcarbodiimid.

Methode (b): Mit Methyläthynyl-diäthylamin<sup>7)</sup>.

\*\* Unter Zusatz von *N*-Hydroxy-succinimid.

Für die Verwendung zu Peptidsynthesen ist wichtig, daß der *N*-Benzyloxycarbonyl-Rest durch siedende Trifluoressigsäure<sup>8)</sup> entfernt werden kann. Unter diesen Bedingungen wird auch der tert.-Butylester in die freie Säure übergeführt. Methylester lassen sich wegen der Alkalilabilität der Trifluormethylgruppe nicht alkalisch verseifen.

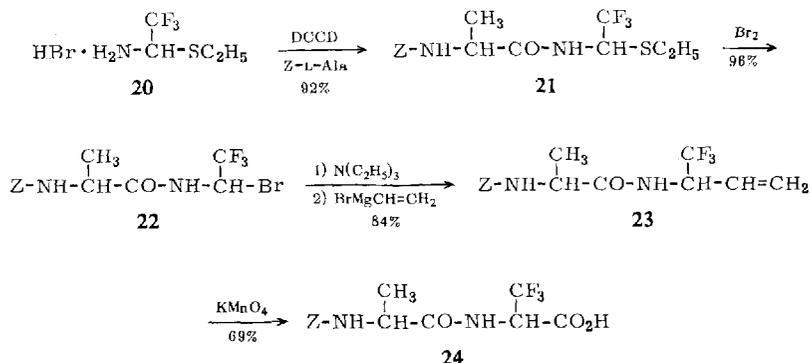
Sämtliche *N*-Acyl-dipeptidester der Tabelle wurden in *N*-Trifluoracetyl-dipeptid-methylester verwandelt und massenspektrometrisch in ihrer Struktur bestätigt.

<sup>7)</sup> R. Buyle und H. G. Viehe, Angew. Chem. **76**, 572 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. **3**, 582 (1964); F. Weygand, W. König, R. Buyle und H. G. Viehe, Chem. Ber. **98**, 3632 (1965).

<sup>8)</sup> F. Weygand und W. Steglich, Z. Naturforsch. **14b**, 472 (1959).

Peptide mit carboxylendständigem **1** können auch auf einem anderen Wege dargestellt werden, der bisher in der Peptidchemie keine Parallele hat.

Dazu verwendet man wie bei der früher beschriebenen Synthese der C-Perfluoralkyl-glycine<sup>1)</sup> einen Thioäther **21** als Ausgangsmaterial, der jedoch anstelle des *N*-Benzyloxycarbonyl-Restes einen *N*-Benzyloxycarbonylaminoacyl-Rest enthält. Die einzelnen Schritte sind im Schema zusammengestellt:



Das so erhaltene *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alanyl-3.3.3-trifluor-DL-alanin (**24**) erwies sich nach Abspaltung des Benzyloxycarbonyl-Restes mit dem durch Einwirkung von heißer Trifluoressigsäure auf **18** entstandenen Peptid identisch.

### Beschreibung der Versuche <sup>9)</sup>

*Dicyclohexylammonium-Salz des 3.3.3-Trifluor-alanins*: 0.040 g **1** werden in 10 ccm Chloroform suspendiert und mit 0.08 g frisch destilliertem *Dicyclohexylamin* 10 Stdn. gerührt. Die Lösung wird i. Vak. vorsichtig eingedampft und der kristalline Rückstand zur Entfernung von überschüssigem *Dicyclohexylamin* mit Petroläther 30 Min. gerührt und schließlich abfiltriert. Ausb. 0.078 g (84%), Schmp. 152–153° (Zers.).

IR (KBr): 3367 (s), 2915 (st), 2809 (st), 1634 (st), 1605 (st), 1567/cm (st).

$\text{C}_3\text{H}_4\text{F}_3\text{NO}_2 \cdot \text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{N}$  (324.4) Ber. C 55.52 H 8.39 N 8.64

Gef. C 55.03 H 8.36 N 8.60

*3.3.3-Trifluor-alanin-methylester (2)*: Eine Suspension von 0.50 g **1** in 5 ccm *Methanol* wird bis zur Beendigung der Gasentwicklung und bleibender Gelbfärbung mit ätherischer *Diazomethan*-Lösung versetzt. Dabei geht **1** langsam in Lösung. Dann wird das Lösungsmittel i. Vak. abgezogen und der Rückstand in einer Kurzwegdestillation i. Vak. destilliert. Ausb. 0.46 g (83%), Sdp.<sub>12</sub> 50–60° (Badtemp.).

IR (CCl<sub>4</sub>): 3436 (s), 3344 (s), 1757/cm (st).

NMR (CCl<sub>4</sub>):  $\delta = 2.01$  ppm (s, verschwindet mit D<sub>2</sub>O) [2]; 3.81 (s) [3]; 4.00 (q,  $J = 7.5$  Hz) [1].

$\text{C}_4\text{H}_6\text{F}_3\text{NO}_2$  (157.1) Ber. C 30.58 H 3.85 N 8.92 Gef. C 30.96 H 3.96 N 8.60

<sup>9)</sup> Die IR-Spektren wurden mit einem Gerät Modell 21 von Perkin-Elmer, die NMR-Spektren mit einem Varian A 60 aufgenommen. Standard Tetramethylsilan ( $\delta = 0.00$  ppm). Die relativen Intensitäten sind in eckigen Klammern beigefügt.

Nimmt man die Reaktion *ohne* Zusatz von Methanol vor, so erhält man ein Destillat, das gaschromatographisch<sup>10)</sup> aus 3 Komponenten besteht, die sich wie 58 : 30 : 12 verhalten. Bei den beiden in geringerem Umfang entstandenen Verbindungen handelt es sich nach dem NMR-Spektrum (Singulett bei  $\delta = 2.49$  ppm) um *N-Methyl-* und *N,N-Dimethyl-3.3.3-trifluor-alanin-methylester*.

**3.3.3-Trifluor-N-benzyloxycarbonyl-alanin-tert.-butylester (4):** In eine Suspension von 2.0 g **3.3.3-Trifluor-N-benzyloxycarbonyl-alanin (3)**<sup>1)</sup> in 60 ccm Methylenchlorid und 0.25 ccm konz. Schwefelsäure werden im Eis/Kochsalz-Bad ungefähr 40 ccm flüssiges *Isobuten* einkondensiert. Man läßt, mit Quecksilberventil verschlossen, 3 Tage bei Raumtemp. stehen, schüttelt dann mit *Natriumhydrogencarbonat*-Lösung und Wasser aus, trocknet und zieht Methylenchlorid i. Vak. ab. Ausb. 2.4 g (quantitat.). Umkristallisation aus Petroläther durch Kühlen auf  $-20^\circ$ , Schmp.  $58^\circ$ .

IR (KBr): 3344 (m), 2967 (s), 1745 (m), 1706 (st), 1517/cm (m).

$C_{15}H_{18}F_3NO_4$  (333.3) Ber. C 54.05 H 5.45 N 4.21 Gef. C 54.10 H 5.50 N 3.94

**3.3.3-Trifluor-alanin-tert.-butylester (5):** Durch eine Lösung von 2.0 g **4** in 50 ccm Methanol mit 0.6 g *Pd/BaSO<sub>4</sub>* wird unter Rühren solange *Wasserstoff* durchgeleitet, bis im austretenden Gas kein Kohlendioxid mehr nachweisbar ist (etwa 12–14 Stdn.). Man filtriert vom Katalysator ab, zieht das Methanol i. Vak. vorsichtig ab und destilliert den Rückstand i. Vak. in einer Kurzwegdestillation. Ausb. 0.67 g (56%), Sdp.<sub>10</sub> ca.  $80^\circ$  (Badtemp.).

IR (CCl<sub>4</sub>): 3448 (s), 3333 (s), 2994 (m), 1745/cm (st).

NMR (CCl<sub>4</sub>):  $\delta = 1.48$  ppm (s) [9]; 1.73 (s, verschwindet mit D<sub>2</sub>O) [2]; 3.81 (q,  $J = 8$  Hz) [1].

$C_7H_{12}F_3NO_2$  (199.2) Ber. C 42.21 H 6.08 N 7.03 Gef. C 43.00 H 6.19 N 6.62

**3.3.3-Trifluor-N-trifluoressigsäurealanin (6):** 0.286 g **1** werden unter Rühren mit 0.6 ccm *Trifluoressigsäureanhydrid* versetzt. Zunächst tritt Lösung ein, und nach wenigen Min. beginnt **6** auszufallen, bis das Reaktionsgemisch vollkommen erstarrt ist. Überschüssiges *Trifluoressigsäureanhydrid* wird i. Vak. abgezogen und der Rückstand aus Toluol umkristallisiert. Lange, farblose Nadeln, Ausb. 0.34 g (71%). Nach Sublimation bei  $80-90^\circ/1$  Torr Schmp.  $123-124^\circ$ .

IR (KBr): 3289 (m), 1724 (st), 1555/cm (m).

NMR (*Trifluoressigsäure*):  $\delta = 5.47$  ppm ( $d \times q$ ,  $J_{H,F} = 7.0$ ,  $J_{H,NH} = 9.2$  Hz) [1]; 7.90 (d) [1].

$C_5H_3F_6NO_3$  (239.1) Ber. C 25.12 H 1.27 N 5.86 Gef. C 25.24 H 1.41 N 5.82

Selbst bei längerem Erhitzen von **6** mit einem großen Überschuß an *Trifluoressigsäureanhydrid* wird nur unverändertes Ausgangsmaterial isoliert.

**3.3.3-Trifluor-N-[2.4-dinitro-phenyl]-alanin (7):** Zu einer Lösung von 0.143 g **1** und 0.2 g *Natriumcarbonat* in 4 ccm Wasser gibt man eine Lösung von 0.186 g *2.4-Dinitro-fluorbenzol* in 2 ccm Aceton zu und rührt im Dunkeln bei  $40^\circ$  2 Stdn. Es werden nochmals 0.1 g *Natriumcarbonat* zugegeben und weitere 15 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Dann wird dreimal mit Äther extrahiert und mit konz. *Salzsäure* angesäuert. Man extrahiert zweimal mit Essigester, trocknet und zieht den Essigester i. Vak. ab. Es bleibt ein gelbes Öl, das sehr langsam kristallisiert. Ausb. 0.20 g (65%), aus Benzol/Äthanol/Petroläther Schmp.  $180^\circ$  (Zers.).

IR (KBr): 3333 (s), 1742 (m), 1616 (st), 1590/cm (st).

$C_9H_6F_3N_3O_6$  (309.2) Ber. C 34.96 H 1.95 N 13.59 Gef. C 35.02 H 2.12 N 13.61

<sup>10)</sup> F & M Gerät, Modell 720, 2 m 10% SE 30 auf Diatoport W, 1/4 Zoll, Einspritzblock  $300^\circ$ , Wärmeleitfähigkeitsdetektor  $340^\circ$ , Brückenstrom 150 mA.

3.3.3-Trifluor-*N*-benzyloxycarbonyl-alanin (3): Eine Suspension von 0.143 g **1** in 20 ccm Chloroform wird unter Rühren mit 0.35 ccm *Triäthylamin* versetzt, wobei **1** in Lösung geht. Sodann werden zur eisgekühlten Lösung 0.15 ccm *Chlorameisensäure-benzylester* gegeben und noch 6 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Dann wird Chloroform i. Vak. abgezogen, in Essigester aufgenommen, vom Unlöslichen abfiltriert, mit verd. Salzsäure extrahiert, getrocknet und der Essigester i. Vak. abgedampft. Nach Versetzen des zurückbleibenden Öls mit verd. Natriumhydrogencarbonat wird filtriert und mit konz. Salzsäure angesäuert. Das dabei ausfallende Öl kristallisiert beim Animpfen und Reiben. Es wird abgenutscht und i. Vak. über  $P_2O_5$  getrocknet, Ausb. 0.107 g (39%). Die Substanz ist nach Schmp. und IR-Spektrum identisch mit der in l. c.<sup>1)</sup> beschriebenen.

*Zersetzung von 3.3.3-Trifluor-alanin (1) zu Glycin*

a) Eine wäßr. Lösung von **1** wird unter Rückfluß gekocht. Bereits nach 20 Min. kann dünnschichtchromatographisch *Glycin* nachgewiesen werden, dessen Menge bei weiterem Kochen ständig zunimmt.

b) Nach 8tägigem Erhitzen einer wäßrigen Lösung von **1** im Bombenrohr auf 120° ist dünnschichtchromatographisch kein **1** mehr nachweisbar. Dagegen sind mehrere Zersetzungsprodukte entstanden, wobei allerdings *Glycin* weitaus den größten Anteil hat.

Die wäßrige Lösung wird i. Vak. zur Trockne eingedampft und 12 Stdn. mit 1 *n* methanolischer *HCl*-Lösung stengelassen. Der nach Abziehen des Methanols i. Vak. und Nachdampfen mit Toluol erhaltene Rückstand wird in *Trifluoressigsäure/Trifluoressigsäureanhydrid* (9:1 v/v) aufgenommen, die Lösung zur Trockne eingedampft und unter Eiskühlung mit einem Überschuß an *Trifluoressigsäureanhydrid* behandelt. Das nach Abziehen des Anhydrids i. Vak. und Nachdampfen mit Toluol erhaltene Produkt erweist sich gaschromatographisch<sup>10)</sup> als mit authentischem *N*-*Trifluoracetyl-glycin-methylester* identisch.

3.3.3-Trifluor-*N*-benzyloxycarbonyl-alanin-methylester (8): 0.50 g **3**<sup>1)</sup> werden bis zur Beendigung der Gasentwicklung mit ätherischer *Diazomethan*-Lösung versetzt. Man filtriert und zieht das Lösungsmittel i. Vak. ab, Ausb. 0.45 g (86%), aus Petroläther Schmp. 90°.

IR (KBr): 3311 (st), 1754 (st), 1698 (st), 1538/cm (st).

$C_{12}H_{12}F_3NO_4$  (291.2) Ber. C 49.49 H 4.16 N 4.82 Gef. C 49.54 H 4.22 N 4.73

*Benzyloxycarbonylamino-malonsäure-monomethylester* (9): 0.29 g (1 mMol) **8** werden in einem Gemisch aus 20 ccm Aceton und 10 ccm Wasser unter Rühren durch Zutropfen von 1 *n* *NaOH* auf pH 10–11 gehalten. Nach etwa 2 Stdn. bleibt der pH-Wert konstant; bis dahin werden 3.06 ccm 1 *n* *NaOH* verbraucht. Man zieht Aceton i. Vak. ab und extrahiert zweimal mit Essigester. Die wäßrige Phase wird mit konz. Salzsäure angesäuert und erneut zweimal mit Essigester extrahiert. Nach Trocknen und Eindampfen bleibt ein Öl zurück, das beim Reiben unter Petroläther kristallisiert, Ausb. 0.12 g (44%). Aus Essigester/Petroläther Schmp. 84°.

IR (KBr): 3333 (st), 1770 (st), 1718 (st), 1686 (st), 1527/cm (st).

$C_{12}H_{13}NO_6$  (267.2) Ber. C 53.94 H 4.91 N 5.25 Gef. C 53.77 H 4.94 N 5.24

*N*-*Benzyloxycarbonyl-glycin-methylester* aus **9**: Erhitzt man **9** 30 Min. auf 160°, so bildet sich unter Gasentwicklung das *Glycin*-Derivat, das sich in einer Kurzwegdestillation bei 160–170°/0.3 Torr (Badtemp.) destillieren läßt. Es ist nach Sdp. und IR-Spektrum mit authentischem Material identisch.

5-*Cyclohexylamino-2-phenyl-oxazol-carbonsäure-(4)-cyclohexylamid* (12): Eine Lösung von 0.594 g 3.3.3-Trifluor-*N*-benzoyl-alanin<sup>1)</sup> und 0.412 g *Dicyclohexylcarbodiimid* in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran wird 2 Stdn. unter Eiskühlung gerührt. Dann filtriert man vom aus-

geschiedenen Dicyclohexylharnstoff ab, versetzt mit 1.14 ccm *Cyclohexylamin* und rührt bei Raumtemp. 4 Stdn. Nach Entfernen einer weiteren geringen Menge Dicyclohexylharnstoff wird Tetrahydrofuran i.Vak. abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Lösung mit verd. Salzsäure und Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt, getrocknet und i.Vak. eingedampft. Ausb. 0.630 g (86%; auf eingesetztes Dicyclohexylcarbodiimid bezogen). Aus Essigester/Petroläther Schmp. 183°.

IR (KBr): 3472 (breit, m), 2924 (m), 1658 (st), 1621 (st), 1595 (st), 1582/cm (m).

UV (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH):  $\lambda_{\max}$  334.8 m $\mu$  ( $\epsilon = 24600$ ).

C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> (367.5) Ber. C 71.89 H 7.96 N 11.44

Gef. C 71.80 H 8.07 N 11.44

Mol.-Gew. 367 (massenspektrometrisch)

#### Allgemeine Vorschrift für die Peptidsynthesen

a) Mit *Dicyclohexylcarbodiimid*: Zu einer Lösung der *N-Acyl-aminosäure* und des *Aminosäureesters* in absol. Tetrahydrofuran wird eine Lösung der berechneten Menge *Dicyclohexylcarbodiimid* in absol. Tetrahydrofuran unter Rühren und Eiskühlung getropft. Man rührt 1 Stde. im Eisbad und anschließend noch 20 Stdn. bei Raumtemperatur, filtriert, zieht das Tetrahydrofuran i.Vak. ab und nimmt in Essigester auf. Man schüttelt mit verd. Salzsäure (im Fall der tert.-Butylester mit Citronensäure-Lösung) und Natriumhydrogencarbonat-Lösung aus, trocknet und entfernt das Lösungsmittel durch Abdampfen i.Vak.

b) Mit *Methyläthynyl-diäthylamin*<sup>7)</sup>: Zu einer Lösung der *N-Acyl-aminosäure* und des *Aminosäureesters* (bzw. *Amins*) in absol. Tetrahydrofuran wird bei 40° im Verlauf von 15–20 Min. eine Lösung des *Inamins* in etwas absol. Tetrahydrofuran getropft. Man rührt dann noch 2 Stdn. bei 40° und verfährt weiter wie unter a).

3.3.3-Trifluor-*N-benzyloxycarbonyl-alanin-cyclohexylamid* (13): Nach b) aus 0.196 g **3**<sup>1)</sup>, 0.1 ccm *Cyclohexylamin* und 0.12 g *Methyläthynyl-diäthylamin*<sup>7)</sup> in 30 ccm absol. Tetrahydrofuran. Nach der Aufarbeitung wird an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Woelm, Aktivität III, neutral) chromatographiert; Elution mit Benzol/Petroläther (6:4 v/v). Ausb. 0.030 g (12%), Schmp. 217°.

IR (KBr): 3279 (m), 1698 (m), 1653 (st), 1534/cm (m).

C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (358.4) Ber. C 56.97 H 5.91 N 7.82 Gef. C 57.13 H 5.66 N 7.83

3.3.3-Trifluor-*N-benzyloxycarbonyl-DL-alanyl-glycin-methylester* (14): Nach a) aus 0.55 g **3**<sup>1)</sup>, 0.25 g *Glycin-methylester-hydrochlorid*, 0.28 ccm *Triäthylamin* und 0.41 g *Dicyclohexylcarbodiimid* in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran. Ausb. 0.55 g (79%), aus Chloroform/Petroläther Schmp. 174° (Zers.).

IR (KBr): 3300 (m), 1741 (m), 1706 (m), 1667 (st), 1538/cm (m).

C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (348.3) Ber. C 48.28 H 4.34 N 8.05 Gef. C 47.95 H 4.44 N 7.82

3.3.3-Trifluor-*N-benzyloxycarbonyl-DL-alanyl-L-phenylalanin-methylester* (15): Nach b) aus 0.138 g **3**<sup>1)</sup>, 0.120 g *L-Phenylalanin-methylester-hydrochlorid*, 0.08 ccm *Triäthylamin* und 0.111 g *Methyläthynyl-diäthylamin*<sup>7)</sup> in 25 ccm absol. Tetrahydrofuran. Der nach der Aufarbeitung erhaltene kristalline Rückstand wird mit Petroläther verrieben und abfiltriert. Ausb. 0.161 g (74%), aus Toluol/Petroläther Schmp. 158°.

IR (KBr): 3268 (m), 1733 (st), 1698 (st), 1653 (st), 1529/cm (m).

C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (438.4) Ber. C 57.52 H 4.83 N 6.39 Gef. C 57.97 H 4.75 N 6.62

Nach a) aus 0.83 g **3**<sup>1)</sup>, 0.65 g *L-Phenylalanin-methylester-hydrochlorid*, 0.42 ccm *Triäthylamin* und 0.62 g *Dicyclohexylcarbodiimid* in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran. Ausb. 0.75 g (58%).

**3.3.3-Trifluor-*N*-benzyloxycarbonyl-DL-alanyl-L-leucin-tert.-butylester (16):** Nach a) aus 0.83 g **3<sup>1)</sup>**, 0.56 g *L*-Leucin-tert.-butylester, 0.7 g *N*-Hydroxy-succinimid und 0.62 g Dicyclohexylcarbodiimid in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran. Ausb. 0.85 g (67%), aus Essigester/Petroläther Schmp. 123°.

IR (KBr): 3289 (m), 1733 (m), 1704 (m), 1658 (st), 1534/cm (m).

C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (446.5) Ber. C 56.49 H 6.55 N 6.28 Gef. C 56.23 H 6.50 N 6.46

***N*-Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-3.3.3-trifluor-DL-alanin-methylester (17):** Nach a) aus 0.83 g *N*-Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanin, 0.455 g **2** und 0.60 g Dicyclohexylcarbodiimid in 40 ccm absol. Tetrahydrofuran. Ausb. 0.90 g (71%), aus Essigester/Petroläther Schmp. 165°.

IR (KBr): 3279 (m), 1754 (m), 1695 (m), 1667 (st), 1541/cm (m).

C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (438.4) Ber. C 57.52 H 4.83 N 6.39 Gef. C 57.68 H 5.07 N 6.20

***N*-Benzyloxycarbonyl-L-alanyl-3.3.3-trifluor-DL-alanin-tert.-butylester (18):** Nach a) aus 0.343 g *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alanin, 0.306 g **5** und 0.317 g Dicyclohexylcarbodiimid in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran. Ausb. 0.340 g (55%), aus Essigester/Petroläther Schmp. 114–115°.

IR (KBr): 3322 (st), 3003 (m), 1748 (st), 1701 (Schulter), 1681 (st), 1529/cm (st).

C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (404.4) Ber. C 53.46 H 5.74 N 6.93 Gef. C 53.85 H 5.94 N 6.89

**3.3.3-Trifluor-*N*-benzyloxycarbonyl-DL-alanyl-3.3.3-trifluor-DL-alanin-methylester (19):** Nach a) aus 0.565 g **3<sup>1)</sup>**, 0.32 g **2** und 0.45 g Dicyclohexylcarbodiimid in 40 ccm absol. Tetrahydrofuran. Ausb. 0.50 g (59%), nach zweimaligem Umkristallisieren aus Essigester/Petroläther Schmelzbereich 187–195°.

IR (KBr): 3268 (st), 1745 (st), 1704 (m), 1672 (st), 1531/cm (m).

C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (416.3) Ber. C 43.27 H 3.39 N 6.73

Gef. C 43.44 H 3.43 N 6.55

Mol.-Gew. 416 (massenspektrometrisch)

*Abspaltung der Schutzgruppen bei den N-Acyl-dipeptidestern 14–19 und ihre Überführung in die N-Trifluoracetyl-dipeptid-methylester:* Die Entfernung des Benzyloxycarbonyl-Restes gelingt durch 45 Min. Kochen mit Trifluoressigsäure unter Rückfluß<sup>8)</sup>. Danach wird Trifluoressigsäure i. Vak. abgezogen und zweimal mit Toluol nachgedampft.

Im Falle der tert.-Butylester **16** und **18** werden unter diesen Bedingungen die freien Dipeptide erhalten, die beim Verreiben mit Äther oder Essigester kristallisieren. Sie wurden nicht näher charakterisiert.

Für die gaschromatographischen und massenspektrometrischen Untersuchungen wurden die *N*-Trifluoracetyl-dipeptid-methylester hergestellt. Die Veresterung (soweit erforderlich) und Trifluoracetylierung geschieht nach der weiter oben angegebenen Vorschrift für die Charakterisierung von Glycin als *N*-Trifluoracetyl-glycin-methylester.

**2.2.2-Trifluor-1-äthylmercapto-*N*-[*N*-benzyloxycarbonyl-L-alanyl]-äthylamin (21):** Nach a) aus 11.2 g *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alanin, 12 g 2.2.2-Trifluor-1-äthylmercapto-äthylaminhydrobromid (**20**)<sup>11)</sup>, 7 ccm Triäthylamin und 10.3 g Dicyclohexylcarbodiimid in 250 ccm absol. Tetrahydrofuran. Ausb. 16.7 g (92%), aus Essigester/Petroläther Schmp. 127–130°.

IR (KBr): 3279 (m), 1686 (m), 1667 (st), 1534/cm (m).

C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S (364.4) Ber. C 49.44 H 5.26 N 7.69 Gef. C 49.48 H 5.36 N 7.19

<sup>11)</sup> F. Weygand, W. Steglich und H. Tanner, Liebigs Ann. Chem. **658**, 128 (1962).

2,2,2-Trifluor-1-brom-*N*-[*N*-benzyloxycarbonyl-*L*-alanyl]-äthylamin (**22**): 7.1 g **21** werden in 125 ccm Tetrachlorkohlenstoff mit 2.1 ccm *Brom* 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. bleibt ein kristalliner Rückstand, der mit Petroläther verrieben, abfiltriert und gut mit Petroläther gewaschen wird. Ausb. 7.1 g (96%), aus Chloroform/Petroläther Schmp. 143–144°.

IR (KBr): 3289 (st), 1695 (Schulter), 1678 (st), 1536/cm (st).

$C_{13}H_{14}BrF_3N_2O_3$  (383.2) Ber. C 40.74 H 3.68 N 7.31 Gef. C 40.73 H 3.70 N 7.20

4,4,4-Trifluor-3-[(*N*-benzyloxycarbonyl-*L*-alanyl)-amino]-buten-(1) (**23**): Nach der in l. c.<sup>1)</sup> angegebenen allgemeinen Vorschrift zur Herstellung der Vinylverbindungen wird aus 5.1 g **22** mit 1.9 ccm *Triäthylamin* in 60 ccm absol. Tetrahydrofuran das *Aldimin* hergestellt und mit einer aus 2 g *Magnesium* bereiteten Suspension von *Vinylmagnesiumbromid* in absol. Tetrahydrofuran umgesetzt. Ausb. 3.7 g (84%). Die Verbindung läßt sich selbst durch mehrmaliges Umkristallisieren aus  $CCl_4$  nicht ganz sauber erhalten, Schmp. 152–157°.

IR (KBr): 3268 (st), 1686 (st), 1661 (st), 1536/cm (st).

$C_{15}H_{17}F_3N_2O_3$  (330.3) Ber. C 54.56 H 5.19 N 7.31 Gef. C 53.50 H 5.27 N 8.15

*N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-alanyl-3,3,3-trifluor-*DL*-alanin (**24**): Nach der in l. c.<sup>1)</sup> angegebenen allgemeinen Vorschrift zur Oxydation der Vinylverbindungen werden 1.1 g **23** oxydiert; jedoch unter Verwendung der eineinhalbfachen Menge Aceton. Die rohe *Säure* wird über das Natrium-Salz gereinigt. Ausb. 0.80 g (69%), nach Umkristallisation aus Essigester/Petroläther Zersetzung ab 170–179°.

IR (KBr): 3300 (m), 2933 (breit), 1745 (st), 1669 (st), 1629 (st), 1536/cm (st).

$C_{14}H_{15}F_3N_2O_5$  (348.3) Ber. C 48.26 H 4.34 N 8.05 Gef. C 48.39 H 4.52 N 7.87

Nach Abspaltung des Benzyloxycarbonyl-Restes erweist sich das freie Peptid dünnschichtchromatographisch mit dem aus **18** hergestellten identisch; ebenso die von **18** und **24** abgeleiteten *N*-Trifluoracetyl-dipeptid-methylester im Gaschromatogramm<sup>10)</sup>.