

Tertiäres Phosphan/Hexachlorethan als Kondensationsreagenz für die Peptidsynthese¹⁾

Rolf Appel* und Lothar Willms

Anorganisch-Chemisches Institut der Universität Bonn,
Gerhard-Domagk-Str. 1, D-5300 Bonn 1

Eingegangen am 19. Mai 1978

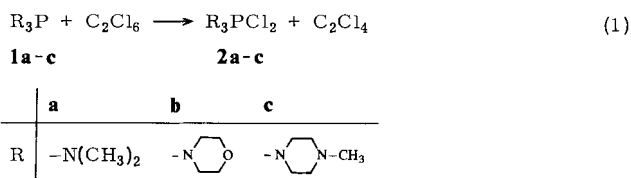
Mit dem Dehydratisierungsreagenz tertiäres Phosphan/Hexachlorethan lassen sich *N*-geschützte Aminosäuren und Aminosäureester in hohen Ausbeuten zu Peptiden kondensieren. Funktionelle Gruppen in den Seitenketten von Serin, Threonin, Tyrosin, Asparagin und Glutamin werden nicht angegriffen. Unter Zusatz von 1-Hydroxybenzotriazol verläuft der *Anderson*-Test racemisierungsfrei.

Tertiary Phosphane/Hexachloroethane as Condensing Agent in Peptide Synthesis¹⁾

The action of tertiary phosphane/hexachloroethane on *N*-protected amino acids and amino acid esters is found applicable for peptide synthesis. No difficulties are found when the side chains of serine, threonine, tyrosine, asparagine and glutamine are present. By addition of 1-hydroxybenzotriazole racemisation is prohibited as indicated by the test of *Anderson*.

Die Kombination tertiäres Phosphan/Hexachlorethan als Kondensationsreagenz zur Peptidsynthese ist bereits beschrieben worden^{2,3)}. Als besonders günstig erwies sich die Verwendung eines triphenylphosphinhaltigen Polystyrols, da bei dieser Arbeitsweise ein von Phosphinoxid freies Produkt erhalten wird. Ein weiterer Vorteil dieses Verfahrens liegt darin, daß die Harze nach ihrer Regenerierung mit Phosgen wieder voll verwendungsfähig sind, was mit gutem Erfolg für ein repetitives Syntheseverfahren genutzt werden konnte⁴⁾.

Die Verwendung von tertiärem Aminophosphan/Hexachlorethan in einem „Eintopfverfahren“ genügt jedoch hinsichtlich Ausbeute und Reinheit der Reaktionsprodukte nicht den Forderungen einer leistungsfähigen Kondensationsmethode²⁾. Weitaus günstigere Ergebnisse lassen sich dagegen erzielen, wenn die Aminophosphankomponenten **1a–c** mittels Hexachlorethan gemäß Gl. (1) zunächst in die Dichlorphosphoran-Verbindungen **2a–c** übergeführt werden, die erst anschließend der gekühlten Lösung der Aminosäure- bzw. Peptidkomponenten zugesetzt werden.



Wie aus Tab. 1 ersichtlich, bewährt sich bei dieser Methode besonders der Zusatz von 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt)⁵⁾, da auf diese Weise die Racemisierungsrate im *Anderson*-Test⁶⁾ stark gesenkt werden kann. Weniger vorteilhaft erwies sich die Verwendung von

3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-1,2,3-benzotriazin (HOObt)⁷⁾. Zwar wird die Racemisierung auch hier vollständig unterbunden, jedoch verringert sich dabei die Ausbeute erheblich.

Im Unterschied zu der DCCI/HOObt-Methode⁷⁾ läßt sich auch durch die Voraktivierung der Carboxylkomponente (12stündige Reaktion von Z-Gly-L-Phe-OH mit $(\text{Me}_2\text{N})_3\text{PCl}]^+\text{Cl}^-/\text{HOObt}$, anschließend Zugabe von H-Gly-OEt · HCl) die Ausbeute nur geringfügig steigern. Gleichzeitig ist eine nahezu vollständige Racemisierung des Anderson-Peptids festzustellen (vgl. Tab. 1, Nr. 4 u. 5). Auch der Zusatz von N-Hydroxysuccinimid⁸⁾ lieferte kein sterisch einheitliches Produkt.

Tab. 1. Anderson-Test (Synthese von Z-Gly-Phe-Gly-OEt aus Z-Gly-Phe-OH und HCl · H-Gly-OEt, Hilfsbase N-Ethylmorpholin, Lösungsmittel DMF) nach der $\text{R}_3\text{P}/\text{C}_2\text{Cl}_6$ -Methode mit verschiedenen Zusätzen (jeweils 1 Moläquiv.)

Nr.	Verknüpfungsmethode	Zusatz	% Ausb.	% D-Verb.
1	1a / C_2Cl_6	ohne	86	12.0
2	1a / C_2Cl_6	N-Hydroxysuccinimid	82	6.7
3	1a / C_2Cl_6	1-Hydroxybenzotriazol	93	0.0
4	1a / C_2Cl_6	3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-1,2,3-benzotriazin	66	0.0
5	1a / C_2Cl_6 (Voraktivierung)	3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-1,2,3-benzotriazin	73	38.2
6	1b / C_2Cl_6	1-Hydroxybenzotriazol	77	0.0
7	1c / C_2Cl_6	1-Hydroxybenzotriazol	86	0.0

Für die weiteren Untersuchungen wurde das leicht zugängliche Tris(dimethylamino)phosphan (**1a**) verwendet, da die Kombinationen Trimorpholinophosphan (**1b**)/ C_2Cl_6 bzw. Tris(4-methyl-1-piperazino)phosphan (**1c**)/ C_2Cl_6 , abgesehen von der leichteren Dosierbarkeit der Reagenzien, keine wesentlichen Vorteile aufweisen.

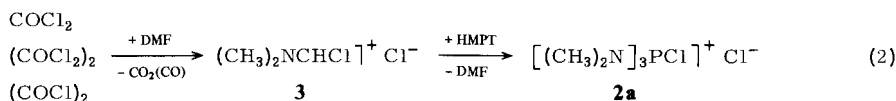
Bei der Auslotung der Anwendungsbreite des neuen Verfahrens haben wir uns auch mit der Frage nach der Wasserempfindlichkeit des Systems befaßt. Wie die Versuche Nr. 2 und 3, Tab. 2, zeigen, wirkt sich der Zusatz von drei Äquivalenten Wasser in der Lösung der Aminosäurekomponenten nur geringfügig auf die Ausbeute aus. Absolute Lösungsmittel zu verwenden, ist daher überflüssig, im Vergleich zu dem früher von uns beschriebenen Verfahren zur Peptid-Verknüpfung⁹⁾ eine ganz wesentliche Erleichterung. Ein nicht unerheblicher weiterer Vorteil des hier beschriebenen Verfahrens liegt darin, daß auf den Schutz der alkoholischen bzw. phenolischen Gruppen in Serin, Threonin und Tyrosin verzichtet werden kann. Bei der Verwendung von $\text{Ph}_3\text{P}/\text{C}_2\text{Cl}_6/\text{HOObt}$ — auch bei stöchiometrischem Einsatz des Kondensationsreagenzes — muß dagegen mit einer Chlorierung der Seitenkette gerechnet werden¹⁷⁾.

Die Amidfunktion von asparagin- und glutaminhaltigen Peptiden braucht ebenfalls nicht geschützt zu werden, da eine Dehydratisierung zur Nitrilgruppe oder andere Nebenreaktionen nicht zu beobachten waren. Bei der Synthese argininhaltiger Peptide ist der Schutz der Guanidinfunktion durch Protonierung ausreichend. Hier empfiehlt sich besonders der Zusatz des Natriumsalzes von 1-Hydroxybenzotriazol^{18, 19)} zur Neutralisation des entstehenden Chlorwasserstoffs, da so die Abtrennung des Basenhydrochlorids entfällt, wodurch die Isolierung des Peptidderivats erleichtert wird. Auch histidinhaltige Peptide mit ungeschützter Imidazolfunktion in der Aminkomponente sind nach dem beschriebenen Verfahren leicht zugänglich.

Tab. 2. Synthese verschiedener Peptidderivate nach der TDAP/C₂Cl₆/HOBT-Methode

Nr.	Peptidderivat	Lösungsmittel	Äquiv. % HOBT Ausb.	Schmp. (°C) (Lit.)	[α] _D	Lit.
1	Z-Pro-Gly-OBzl	Py/DMF (2:1)	ohne	88–88.5 (88–89) ⁹⁾	–58.7° (22°C, c = 1, EtOH)	–56.9° (22°C, c = 1, EtOH) ⁹⁾
2	Z-Pro-Gly-OBzl	Py/DMF (2:1)	1	88–89 (88–89) ⁹⁾	–58.4° (22°C, c = 1, EtOH)	–56.9° (22°C, c = 1, EtOH) ⁹⁾
3	Z-Pro-Gly-OBzl	Py/DMF (2:1) 3 Äquiv. H ₂ O	1	88–89 (88–89) ⁹⁾	–58.6° (22°C, c = 1, EtOH)	–56.9° (22°C, c = 1, EtOH) ⁹⁾
4	Z-Ser-Gly-OEt	CH ₂ Cl ₂	1	97–99 (98–100) ¹⁰⁾	–5.9° (20°C, c = 1, EtOH)	–5.5° (20°C, c = 1, EtOH) ¹⁰⁾
5	Z-Thr-Gly-OBzl	CH ₂ Cl ₂	1	104–106 (102–104) ¹¹⁾	–15.8° (22°C, c = 4.9, MeOH)	–17.1° (22°C, c = 4.9, MeOH) ¹¹⁾
6	Z-Tyr-Gly-OMe	CH ₂ Cl ₂ /DMF (2:1)	1	138–140 (141–143) ¹²⁾	–24.8° (20°C, c = 1.3, DMF)	–22.2° (20°C, c = 1.3, DMF) ¹²⁾
7	Z-Phe-Ser-OMe	CH ₂ Cl ₂	1	122–123 (125) ¹³⁾	–6.4° (21°C, c = 1, DMF)	–5.7° (21°C, c = 1, DMF) ¹³⁾
8	Z-Asn-Gly-OEt	CH ₂ Cl ₂ /DMF (2:1)	1.1	182–185 (185–187) ¹⁰⁾	–6.1° (23°C, c = 1, DMF)	–5.6° (23°C, c = 1, DMF) ¹⁰⁾
9	Z-Asn-Leu-OMe	DMF	1.1	174–176 (176) ⁵⁾	–26.9° (23°C, c = 2, MeOH)	–26.3° (23°C, c = 2, MeOH) ⁵⁾
10	Z-Asn-Ser(tBu)-OtBu	DMF	1.1	144–146 (151–152) ⁵⁾	+0.6° (23°C, c = 1, DMF)	+0.8° (23°C, c = 1, DMF) ⁵⁾
11	Z-Gln-Gly-OBzl	CH ₃ CN	1	195–196 (199) ⁹⁾	–2.0° (20°C, c = 1, DMSO)	–1.0° (20°C, c = 1, DMSO) ⁹⁾
12	Z-Phe-Arg(NO ₂)- ONBzl	CH ₂ Cl ₂ /DMF (2:1)	1	169–171 (174) ¹³⁾	–11.0° (22°C, c = 1, MeOH)	–9.9° (22°C, c = 1, MeOH) ¹³⁾
13	Z-Arg(HCl)-Leu-OMe	Py/DMF (2:1)	2 NaOBt	120–123 (122–124) ¹⁴⁾	–24.2° (22°C, c = 1, MeOH)	–23.1° (22°C, c = 1, MeOH) ¹⁴⁾
14	Z-Ser(tBu)-His-OMe	DMF	1.1	104–105 (100–106) ¹⁵⁾	+42.8° (20°C, c = 1, EE)	+37.5° (25°C, c = 1, EE) ¹⁵⁾
15	Boc-Ser-Pro-OBzl	DMF	1.1	63–66 (65–67) ¹⁶⁾	–52.3° (21°C, c = 0.57, DMF)	–55.0° (21°C, c = 0.57, DMF) ¹⁶⁾

Erneut sind wir auch der Frage nachgegangen, wie sich das bei diesem Verfahren anfallende Hexamethylphosphorsäuretriamid (HMPT) am besten zum Dichlorphosphoran **2a** reaktivieren läßt. Mängel des sonst eleganten Phosgen-Verfahrens^{20, 21)} sind die schlechten Ausbeuten bei kurzer Reaktionszeit (Vers. Nr. 2 u. 3 der Tab. 3) und die schwierige Dosierung beim Arbeiten im Laboratoriumsmaßstab. Besser geeignet ist die Umsetzung von HMPT mit Diphosgen oder Oxalylchlorid²²⁾ (Tab. 3), zumal beide Chlorierungsmittel leicht dosierbar und weniger gefährlich zu handhaben sind als Phosgen. Beide Chlorierungen verlaufen allerdings nur nach Zusatz von Dimethylformamid hinreichend schnell, was auf die primäre Bildung des Dimethylformamidchlorids (**3**)²³⁾ zurückzuführen ist, welches im zweiten Schritt mit HMPT zu **2a** reagiert (Gl. (2)).



Auf diesem Wege (Vers. Nr. 6 bzw. 7, Tab. 3) erzeugte Dichlorphosphoranlösungen sind ebenfalls zur Peptidverknüpfung geeignet (Tab. 4). Eine geringfügige Verminderung der Ausbeuten (bis zu 10%) muß jedoch in Kauf genommen werden. Von allen untersuchten Verfahren zur Darstellung von **2a** verläuft nur die Tris(dimethylamino)phosphan/Hexachlorethan-Reaktion nahezu quantitativ.

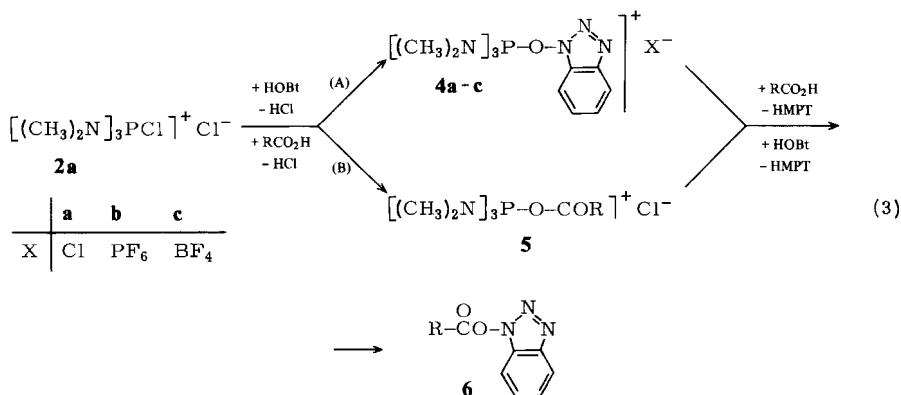
Tab. 3. Darstellung von Dichlortris(dimethylamino)phosphoran (**2a**)
(Lösungsmittel Dichlormethan)

Nr.	Ausgangsverbindungen	Temp. °C (min)	% Ausb.
1	$[(\text{CH}_3)_2\text{N}]_3\text{P}/\text{C}_2\text{Cl}_6$	0°(5), RT (55)	97.0
2	$[(\text{CH}_3)_2\text{N}]_3\text{PO}/\text{COCl}_2$	0°(5), RT (55)	46.0
3	$[(\text{CH}_3)_2\text{N}]_3\text{PO}/\text{COCl}_2$	40 °C (60)	45.0
4	$[(\text{CH}_3)_2\text{N}]_3\text{PO}/\text{COCl}_2$	RT (24 h)	94.5
5	$[(\text{CH}_3)_2\text{N}]_3\text{PO}/(\text{COCl}_2)_2/\text{DMF}$	0°(5), RT (55)	75.0
6	$[(\text{CH}_3)_2\text{N}]_3\text{PO}/(\text{COCl}_2)_2/\text{DMF}$	0 (5), RT (120)	87.0
7	$[(\text{CH}_3)_2\text{N}]_3\text{PO}/(\text{COCl})_2/\text{DMF}$	0 (5), RT (55)	89.0
8	$[(\text{CH}_3)_2\text{N}]_3\text{PO}/(\text{CH}_3)_2\text{NCHCl}]^+ \text{Cl}^-$	0°(5), RT (55)	90.0

Tab. 4. Darstellung verschiedener Peptidderivate (nach den Varianten Nr. 6 bzw. Nr. 7, Tab. 3, unter Zusatz von 1.1 Äquiv. HOBT)

Nr.	Verknüpfungsmethode	Peptidderivat	% Ausb.	Schmp. (°C)	$[\alpha]_D$
1	Nr. 6, Tab. 3	Z-Pro-Gly-OBzl	91	88–89	–58.2° (c = 1, EtOH)
2	Nr. 7, Tab. 3	Z-Pro-Gly-OBzl	86	87–89	–58.1° (c = 1, EtOH)
3	Nr. 7, Tab. 3	Z-Asn-Leu-OMe	71	175–176	–27.3° (c = 2, MeOH)

³¹P-NMR-spektroskopische Untersuchungen zeigten, daß die Reaktion in Anwesenheit von 1-Hydroxybenzotriazol über das von Castro²⁰⁾ beschriebene Benzotriazolyl-oxytris(dimethylamino)phosphoniumchlorid (**4a**) verläuft, welches mit der Carboxylkomponente zu dem von König und Geiger⁵⁾ beschriebenen aktivierten Ester **6** reagiert (Weg A, Gl. (3)). Hinweise auf das intermediäre Auftreten eines Acyloxyphosphoniumsalzes **5** konnten wir nicht finden, was den Weg B jedoch nicht völlig ausschließen kann.



Der Vorteil des beschriebenen Verfahrens liegt in der leichten Zugänglichkeit der Reagenzien und in der einfachen Abtrennung der entstehenden Nebenprodukte. Die aufwendige und kostspielige Isolierung und Stabilisierung von **4a** zu **4b**²⁰⁾ bzw. **4c**²⁴⁾, die von anderen Autoren beschrieben wurde, läßt sich in der angegebenen Weise umgehen.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die Förderung dieser Arbeit durch eine Sachbeihilfe.

Experimenteller Teil

Die verwendeten Aminosäurederivate sind in dünn-schichtchromatographisch einheitlicher Form eingesetzt worden und stimmen in Schmelzpunkt und Drehwert mit Literaturangaben überein. — Die Phosphane **1a**²⁵⁾, **1b**²⁶⁾ und **1c**²⁷⁾, Diphosgen²⁸⁾ und 3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-1,2,3-benzotriazin²⁹⁾ wurden nach Literaturangaben hergestellt. Die übrigen Chemikalien sind Handelsware. — Die Schmelzpunkte wurden auf einem Apparat der Firma Büchi, Flawil/Schweiz, bestimmt und sind nicht korrigiert. Die Drehwerte wurden in einem thermostatisierten 1-dm-Rohr im Polarimeter 141 der Firma Perkin-Elmer gemessen. — ¹H-NMR-Spektren: 60 MHz, Varian A 56/60, TMS interner Standard. — ³¹P-NMR-Spektren: 80 MHz, Varian CFT 20, protonenentkoppelt, externer Standard 85proz. Phosphorsäure.

Abkürzungen:

HMPT = Hexamethylphosphorsäuretriamid

TDAP = Tris(dimethylamino)phosphan

DMF = Dimethylformamid

HOBT = 1-Hydroxybenzotriazol

HOObt = 3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-1,2,3-benzotriazin

NaObt = Natriumsalz von 1-Hydroxybenzotriazol

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Peptidverknüpfung mit R₃P/C₂Cl₆/N-Hydroxyverbindung

Lösung I: 2.61 g (11 mmol) Hexachlorethan werden bei 0°C in 10 ml absol. Dichlormethan unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt und mit 12 mmol **1a–c** versetzt. Nach 5 min wird das Eisbad entfernt und die Lösung 1 h bei Raumtemp. gerührt. Lösung II: 10 mmol der *N*-geschützten Aminosäure, 10 mmol Aminosäureester-Salz und 10 mmol der *N*-Hydroxyverbindung werden in 20 bis 30 ml des angegebenen Lösungsmittels gelöst bzw. suspendiert und auf –20°C gekühlt. Nach Zugabe von 30 mmol *N*-Ethylmorpholin wird die Dichlorphosphoran-Lösung I zugegeben und das Gemisch 2 h bei –20°C gerührt. Nach dem Auftauen im Eisbad (ca. 6 h) wird der Ansatz

bei Raumtemp. über Nacht gerührt. Nach Zugabe von wenig Wasser wird das Lösungsmittel i. Ölpumpenvak. abgezogen und der Rückstand in Essigester/Wasser (Nr. 14, Tab. 2: Chloroform/Wasser) aufgenommen, mit 1 N HCl, 10proz. Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und nach dem Eindampfen geeignet umkristallisiert.

Das Peptidderivat Nr. 13, Tab. 2, wird nach der Reaktion durch Filtration von ausgefallenem Natriumchlorid befreit und nach der Vorschrift von Jäger et al.¹⁴⁾ aufgearbeitet.

Bei Nr. 14, Tab. 2, entfällt das Waschen mit Salzsäure. Das Peptidderivat wird in heißem Essigester gelöst und bei 0°C unter Zusatz von Petrolether (40/60°C) auskristallisiert.

Das Peptidderivat Nr. 9, Tab. 2, bzw. Nr. 3, Tab. 4, wird durch Eintropfen der von Dichlormethan befreiten Reaktionslösung in Wasser ausgefällt. Nach dem Absaugen wird der Niederschlag mit NaHCO₃-Lösung verrieben, mit Wasser gewaschen und getrocknet.

Untersuchungen zur Darstellung von 2a (Tab. 3)

Methode Nr. 1 (Tris(dimethylamino)phosphan/Hexachlorethan): 6.52 g (27.5 mmol) Hexachlorethan werden unter Stickstoffatmosphäre in 50 ml absol. Dichlormethan gelöst und Hexachlorethan tropfenweise mit 4.08 g (25 mmol) Tris(dimethylamino)phosphan versetzt. Nach 5 min wird das Eisbad entfernt und die klare Lösung 55 min bei Raumtemp. gerührt. – Die gaschromatographische Untersuchung des Reaktionsgemisches zeigt eine quantitative Reaktion an: Gehalt an C₂Cl₄ 25.2 mmol, an C₂Cl₆ 2.2 mmol (Gerät der Firma Pye & Co, Ltd., Cambridge, Unicam 104, Trennsäule: 2 m SE 30, Trägergas Helium (60 ml/min), Trenntemp. 150°C, Detektor WLD-Zelle, 220 mA Brückenstrom). – Anschließend wird das Lösungsmittel i. Ölpumpenvak. abdestilliert und der verbleibende Rückstand mit 200 ml absol. Ether ausgerührt. Der Feststoff wird abfiltriert und mit Ether gewaschen: 5.68 g (97%) [(CH₃)₂N]₃PCl⁺Cl⁻ (**2a**). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 3.1 (d, J(PNCH) = 12 Hz). – ³¹P-NMR (CDCl₃): δ = 50.8.

Methode Nr. 2 (Hexamethylphosphorsäuretriamid/Phosgen): In eine Lösung von 8.96 g (50 mmol) HMPT in 50 ml absol. Dichlormethan werden ca. 30 ml Phosgen unter Inertbedingungen bei 0°C einkondensiert. Nach 1 h Rühren bei Raumtemp. wird analog Methode Nr. 1 aufgearbeitet: 5.38 g (46%) **2a**, spektroskop. Daten wie unter Nr. 1.

Methode Nr. 3: In eine Lösung von 8.96 g (50 mmol) HMPT in 50 ml absol. Dichlormethan wird unter Rückfluß 1 h lang Phosgen eingeleitet. Aufarbeitung wie Nr. 1. 5.27 g (45%) **2a**, spektroskop. Daten wie unter Nr. 1.

Methode Nr. 4: Versuchsführung wie unter Nr. 2, das Reaktionsgemisch wird 24 h bei Raumtemp. gerührt: 11.06 g (94.5%) **2a**, spektroskop. Daten wie unter Nr. 1.

Methode Nr. 5 bzw. Nr. 6 (Hexamethylphosphorsäuretriamid/Diphosgen/Dimethylformamid): 8.96 g (50 mmol) absol. HMPT werden in 50 ml absol. Dichlormethan unter Inertgasatmosphäre vorgelegt, bei 0°C mit 2.47 g (12.5 mmol) Diphosgen und tropfenweise mit 2.5 ml absol. DMF versetzt. Unter lebhafter Gasentwicklung fällt nach kurzer Zeit ein voluminöser Niederschlag aus, der nach dem Entfernen des Eisbades innerhalb von 15 min vollständig in Lösung geht. Insgesamt wird 1 bzw. 2 h bei Raumtemp. gerührt, das Lösungsmittel i. Ölpumpenvak. abdestilliert und der Rückstand wie unter Nr. 1 aufgearbeitet: 4.39 g (75%) bzw. 5.09 g (87%) **2a**, spektroskop. Daten wie unter Nr. 1.

Methode Nr. 7 (Hexamethylphosphorsäuretriamid/Oxalychlorid/Dimethylformamid): 8.96 g (50 mmol) HMPT werden in 50 ml CH₂Cl₂ bei 0°C vorgelegt, mit 3.17 g (25 mmol) Oxalychlorid und anschließend tropfenweise mit 2.5 ml absol. DMF unter Stickstoffatmosphäre versetzt. Die unter starker Gasentwicklung ausfallende Masse löst sich nach 15 min Rühren bei Raumtemp. vollständig auf. Insgesamt wird der Ansatz 1 h gerührt, das Lösungsmittel i. Ölpumpenvak. abdestilliert und wie unter Nr. 1 aufgearbeitet: 5.20 g (89%) **2a**, spektroskop. Daten wie unter Nr. 1.

Werden die Versuche Nr. 6 und Nr. 7 ohne DMF-Zugabe durchgeführt, so lassen sich selbst nach 24 h Reaktionsdauer nur geringe Mengen an Dichlorphosphoran isolieren.

Methode Nr. 8 (Hexamethylphosphorsäuretriimid/Dimethylformamidchlorid): 6.4 g (50 mmol) Dimethylformamidchlorid werden in 50 ml absol. Dichlormethan unter Stickstoffatmosphäre suspendiert und bei Raumtemp. mit 8.96 g (50 mmol) HMPT versetzt. Nach 1 h wird das Lösungsmittel abdestilliert und wie unter Nr. 1 aufgearbeitet: 10.53 g (90%) **2a**, spektroskop. Daten wie unter Nr. 1.

Dimethylformamid/Diphosgen: 3.65 g (50 mmol) absol. DMF in 50 ml CH_2Cl_2 werden unter Inertgasatmosphäre bei 0°C tropfenweise mit 4.94 g (25 mmol) Diphosgen versetzt. Der voluminöse Niederschlag wird nach 20 min mit 200 ml absol. Ether versetzt, abfiltriert, mit Ether gewaschen und i. Ölpumpenvak. getrocknet: 6.05 g (94.5%) **3**, Schmp. $139-142^\circ\text{C}$. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ_{CHCl} = 11.2, $\delta_{\text{N}(\text{CH}_3)_2}$ = 4.0. Cl^- -Gehalt: ber. 55.5%, gef. 56.4%.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Peptidverknüpfung mit HMPT/Diphosgen/HOBt bzw. HMPT/Oxalylchlorid/HOBt

Lösung I: 3.58 g (20 mmol) HMPT werden bei 0°C in 20 ml absol. Dichlormethan unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt, mit 1.1 g (5.5 mmol) Diphosgen bzw. mit 1.40 g (11 mmol) Oxalylchlorid und tropfenweise mit 1 ml DMF versetzt. Nach 5 min wird das Eisbad entfernt und die Lösung 1 h bei Raumtemp. gerührt.

Herstellung der Lösung II und weitere Aufarbeitung wie unter Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Peptidverknüpfung mit $\text{R}_3\text{P}/\text{C}_2\text{Cl}_6/\text{N-Hydroxyverbindung}$.

Literatur

- ¹⁾ 7. Mitteilung über phosphororganische Peptidknüpfungsreagentien; 6. Mitteil., siehe Lit.³⁾.
- ²⁾ R. Appel und L. Willms, Chem. Ber. **110**, 3209 (1977).
- ³⁾ R. Appel, E. Gabel und L. Willms, Abstracts 26th International Congress of Pure and Applied Chemistry, S. 1271, Tokyo, Japan, 4–10 Sept. 1977.
- ⁴⁾ R. Appel und H. Janssen, in Vorbereitung.
- ⁵⁾ W. König und R. Geiger, Chem. Ber. **103**, 788 (1970).
- ⁶⁾ G. W. Anderson und F. M. Callahan, J. Am. Chem. Soc. **80**, 2902 (1958).
- ⁷⁾ W. König und R. Geiger, Chem. Ber. **103**, 2024 (1970).
- ⁸⁾ E. Wünsch und F. Drees, Chem. Ber. **99**, 1451 (1966).
- ⁹⁾ R. Appel, G. Bäumer und W. Strüver, Chem. Ber. **108**, 2680 (1975).
- ¹⁰⁾ T. Mukaiyama, R. Matsueda und M. Suzuki, Tetrahedron Lett. **1970**, 1901.
- ¹¹⁾ K. Ogata und S. Ishii, Chem. Pharm. Bull. **15**, 707 (1967).
- ¹²⁾ J. Beacham, P. H. Bentley, G. W. Kenner, J. M. MacLeod, J. J. Mendive und R. C. Sheppard, J. Chem. Soc. C **1967**, 2520.
- ¹³⁾ R. A. Boissonnas, S. Guttman und P.-A. Jaquenoud, Helv. Chim. Acta **43**, 1349 (1960).
- ¹⁴⁾ G. Jäger, W. König, H. Wissmann und R. Geiger, Chem. Ber. **107**, 215 (1974).
- ¹⁵⁾ D. v. Wachtendonk, Dissertation, TH Aachen 1971.
- ¹⁶⁾ O. Nishimura und M. Fujino, Chem. Pharm. Bull. **24**, 1568 (1976).
- ¹⁷⁾ L. Willms, Dissertation, Univ. Bonn 1978.
- ¹⁸⁾ Sandoz Ltd. (Erf. F. Kuhnen), Swiss Pat. 535, 265 (15. Mai 1973) [Chem. Abstr. **79**, 32063 v (1973)].
- ¹⁹⁾ W. König und R. Geiger, Chem. Ber. **106**, 3626 (1973).
- ²⁰⁾ B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin und C. Selve, Tetrahedron Lett. **1975**, 1219; Synthesis **11**, 751 (1976).
- ²¹⁾ BASF A.-G. (Erf. R. Appel und G. Heinzelmann), German Pat. 1192205 (6. Mai 1965) [Chem. Abstr. **63**, 8405 (1965)].
- ²²⁾ M. Masaki und F. Fukui, Chem. Lett. **1977** (2), 151.
- ²³⁾ H. H. Bossard, R. Mory, H. Schmid und H. Ch. Zollinger, Helv. Chim. Acta **42**, 1653 (1959).
- ²⁴⁾ I. J. Galpin, P. F. Gordon, R. Ramage und W. D. Thorpe, Tetrahedron **32**, 2417 (1976).
- ²⁵⁾ A. B. Burg und P. J. Slota, J. Am. Chem. Soc. **82**, 2145 (1960).
- ²⁶⁾ R. Burgauda, Ann. Chim. (Paris) **8** (5–6), 347 (1963).
- ²⁷⁾ Y. Takeuchi und S. Yamada, Chem. Pharm. Bull. **22** (4), 832 (1974).
- ²⁸⁾ H. C. Ramsperger und G. Waddington, J. Am. Chem. Soc. **55**, 214 (1933).
- ²⁹⁾ D. Harrison und A. C. B. Smith, J. Chem. Soc. **1960**, 2157.