Der (2-Phenyl-2-trimethylsilyl)ethyl-(PTMSE)-Ester – eine neutral spaltbare Carboxyschutzgruppe

The (2-Phenyl-2-trimethylsiylyl)ethyl (PTMSE) Ester – a Carboxy Protecting Group Cleavable under Neutral Conditions

Michael Wagner und Horst Kunz

Institut für Organische Chemie der Universität Mainz, Duesbergweg 10–14, D-55128 Mainz, Germany

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. Kunz. Fax: +49 6131 39-24786.
E-mail: hokunz@mail.uni-mainz.de

Herrn Professor Dr. Wolfgang Kreiser zum 65. Geburtstag gewidmet

Z. Naturforsch. **57b**, 928–936 (2002); eingegangen am 4. April 2002

Carboxy Protecting Group, Peptides, Fluoride-Induced Elimination

(2-Phenyl-2-trimethylsilyl)ethyl (PTMSE) esters of aminoacids and peptides are stable under the conditions of hydrogenolytic cleavage of benzoxycarbonyl(Z) and benzyl ester groups, base-induced removal of Fmoc groups, palladium(0)-catalyzed removal of allyloxycarbonyl (Aloc) and even acidolytic cleavage of Boc groups. PTMSE esters are also stable under the conditions of peptide condensation reactions. The PTMSE ester is selectively cleaved by treatment with tetrabutylammonium fluoride (TBAF) trihydrate in dichloromethane, *i. e.* under almost neutral conditions, within a few minutes and, therefore, considered a valuable novel carboxy protecting group.

Einleitung

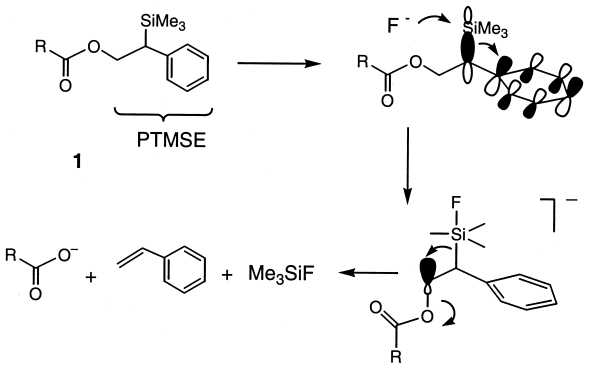
In der Synthese polyfunktioneller Moleküle und in der Kombinatorischen Chemie [1] sowohl in Lösung als auch an fester Phase spielen Schutzgruppen eine wichtige Rolle [2]. Für eine vielseitige Anwendbarkeit wünschenswert ist, daß eine Schutzgruppe selektiv neben anderen zu entfernen ist, selbst aber unter den Abspaltungsbedingungen für andere Schutzgruppen stabil bleibt. Für die Synthese empfindlicher Zielmoleküle ist darüber hinaus bedeutsam, daß die Schutzgruppe unter milden, möglichst neutralen Bedingungen abgespalten werden kann [3]. Silyl-Schutzgruppen erfüllen letztere Bedingungen. Ihre Stabilität kann außerdem durch Variation der Substituenten am Silicium eingestellt werden [2]. Für den Schutz von Carboxy- oder Aminogruppen sind die Silylgruppen jedoch zu hydrolyseempfindlich. 2-Silylethyl-Reste haben sich dagegen als nützliche Carboxy-Schutzgruppen erwiesen [4,5]. Sowohl der 2-Trimethylsilyl-ethylester [4,5] als auch die (2-Trimethylsilyl)ethoxy-methyl-(SEM)-Gruppe für den Schutz von OH-Funktionen [6] werden mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF)-trihydrat in polaren Lösungsmitteln wie THF, DMF oder NMP nach einem durch Fluorid induzierten Eliminierungsmechanismus [7] gespalten. Die Bedingungen sind allerdings deutlich basisch, so daß Nebenreaktionen eintreten können. Insbesondere wird die 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-(Fmoc)-Gruppe [8] durch TBAF in THF oder DMF binnen weniger Minuten vollständig gespalten [9,10], was die Verwendung der 2-Trimethylsilyl-ethyl-Schutzgruppen in Kombination mit der Fmoc-Gruppe einschränkt.

Wir beschreiben in dieser Arbeit den (2-Phenyl-2-trimethylsilyl)ethyl-(PTMSE)-Ester **1** [11] als eine Carboxy-Schutzgruppe, die durch Fluorid induziert unter neutralen Bedingungen gespalten wird. In diesem Ester liegt die C-Si-Bindung in benzylischer Position. Delokalisierung der C-Si-σ-Bindungselektronen in das entsprechende LUMO des Aromaten (ψ_4) läßt das Silicium empfänglicher für den Angriff des Fluorids werden, als dies beim unsubstituierten 2-Trimethylsilylethylester der Fall ist.

Aus dem im Gleichgewicht gebildeten pentakoordinierten Intermediat tritt im Sinne einer E1at-Eliminierung die Deblockierung des Carboxylats unter Freisetzung von Styrol und Trimethylfluorsilan ein. Dabei können die Bedingungen so

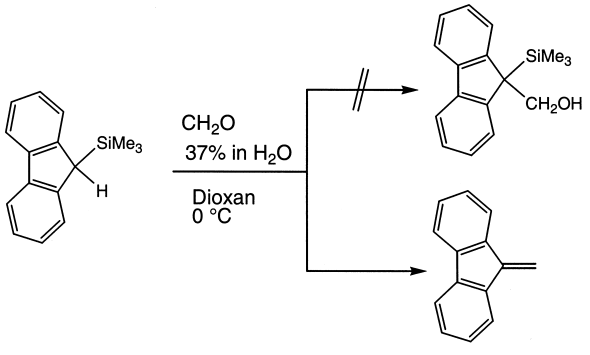
0932–0776/2002/0800–0928 $06.00 © 2002 Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen · www.znaturforsch.com

mild gehalten werden, daß die Fmoc-Gruppe und andere in der Peptidchemie gebräuchliche Schutzgruppen vollständig stabil bleiben (s. unten).



Schema 1

Der in Schema 1 skizzierte Delokalisierungseffekt kann nicht beliebig verstärkt werden. Versuche, eine zu **1** analoge 9-Trimethylsilyl-9-fluorenylmethyl-Schutzgruppe zu gewinnen, zeigten, daß 9-Trimethylsilyl-fluoren [12] bei Umsetzung mit Formaldehyd in Dioxan/Wasser bereits bei 0 °C ohne Zusatz von Basen quantitativ einer Peterson-Olefinierung unterliegt.



Schema 2

Zur Synthese von 2-Phenyl-2-trimethylsilylethanol **2** [13] wird 2-Trimethylsilyloxiran [14] unter modifizierten Bedingungen mit in situ hergestelltem Lithium-diphenylcuprat nucleophil regioselektiv geöffnet (Schema 3).

Zur Einführung der PTMSE-Esterschutzgruppe werden N-geschützten Aminosäuren **3** mit **2** nach dem Verfahren von Steglich und Neises [15] mit Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und Dimethylaminopyridin (DMAP) umgesetzt. Bei einer Reaktionstemperatur von 0 °C wurde NMR-spektroskopisch bzw. chomatoeraphisch keine Racemisierung bei Aminosäure beobachtet. Ausbeuten und Drehwerte der diastereomeren (1:1) PTMSE-geschützten Aminosäuredrivate **4** sind in Tab. 1 wiedergegeben.

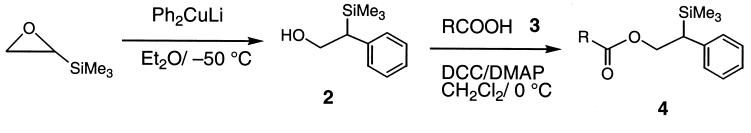
Unter diesen Bedingungen werden die α-Carboxy-Gruppen sowohl von Benzyloxycarbonyl (Z)- (**3a**), *tert*-Butyloxycarbonyl (Boc)- (**3b**), 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc)- (**3c**) als auch Allyloxycarbonyl (Aloc)-geschützten (**3d**) Aminosäuren in PTMSE-Ester übergeführt. Die β-Carboxyfunktion von Asparaginsäurederivaten wie **3e** und N-geschützte Dipeptide wie **3f** können so ebenfalls in die PTMSE-Ester umgewandelt werden.

Am Benzyloxycarbonyl-(Z)-phenylalanin-PTMSE-Ester (**4a**) wurde die Stabilität der neuen Schutzgruppe modellhaft geprüft. Dabei zeigte sich, daß die PTMSE-Gruppe gegen Diisopropylethylamin (Hünigs Base)/Dichlormethan (1:2), gegen Morpholin/Dichlormethan (1:2), Methylamin/Wasser/Dichlormethan (2:3:10) und Essigsäure/Dichlormethan (1:2) über 24 h völlig stabil ist. Von Trifluoressigsäure/Dichlormethan wird sie aber binnen 2 h gespalten.

Der PTMSE-Ester ist stabil unter den Bedingungen der katalytischen Hydrierung. So kann sowohl die Z-Gruppe aus **4a** als auch der Benzylester aus **4e** völlig selektiv entfernt werden (Schema 4).

Auch können die Fmoc-Gruppe mit Morpholin/DMF (1:20) aus **4c** und die Aloc-Gruppe mit einer katalischen Menge von $[Ph_3P]_4Pd(0)$ in Gegenwart von Dimedon [16] in THF aus **4d** selektiv abgespalten werden, ohne daß die PTMSE-Ester angegriffen werden (Schema 5).

Obwohl die PTMSE-Ester, wie an **4a** geprüft, säurelabil sind und von Trifluoressigsäure gespalten werden (siehe oben), kann doch die *tert*-Butyl-



Schema 3

Tab. 1: Synthese von Aminosäure- bzw. Peptid-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)-ethyl-estern **4** nach Schema 3.

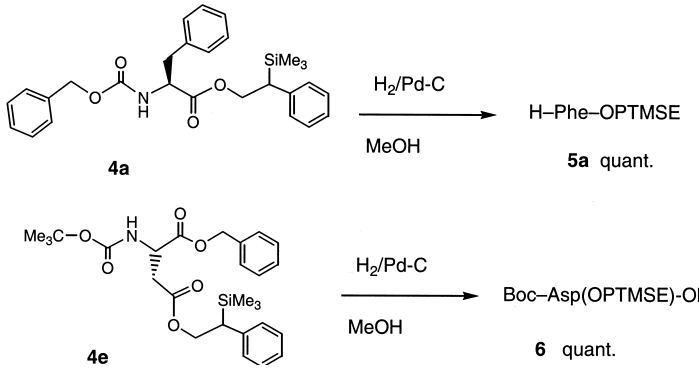
Edukt	**3**	Produkt	**4**	Ausb. (%)	$[\alpha]_D^{22}$ (cl, $CHCl_3$)
Z-L-Phe-OH	**3a**	Z-L-Phe-OPTMSE	**4a**	87	– 4.0
Boc-D-Phe-OH	**3b**	Boc-D-Phe-OPTMSE	**4b**	91	+ 6.6
Fmoc-L-Thr(*t*Bu)-OH	**3c**	Fmoc-L-Thr(*t*Bu)-OPTMSE	**4c**	90	+ 1.9
Aloc-L-Glu(O*t*Bu)-OH	**3d**	Aloc-L-Glu(O*t*Bu)-OPTMSE	**4d**	59	–13.2
Boc-L-Asp-OBzl	**3e**	Boc-L-Asp(OPTMSE)-OBzl	**4e**	87	+13.6
Fmoc-L-Ala-L-Val-OH	**3f**	Fmoc-L-Ala-L-Val-OPTMSE	**4f**	83	–16.0

oxycarbonyl(Boc)-Gruppe selektiv neben den PTMSE-Estern gespalten werden, z. B. von **4b** (Schema 6).

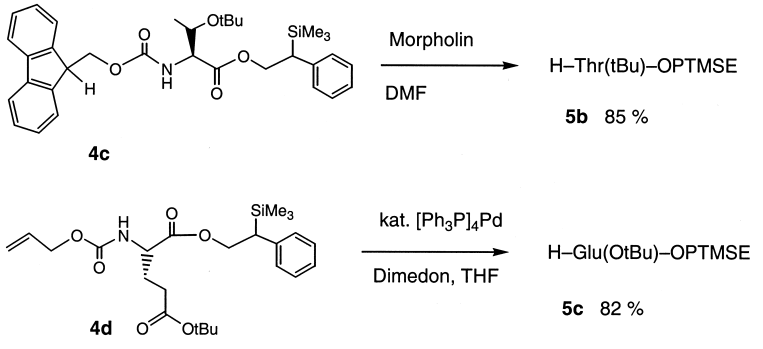
Die Behandlung von Verbindung **4b** entweder mit einem Äquivalent *p*-Toluolsulfonsäure in Ethanol/Ether (1:6) bei 65 °C oder mit 1.2 N HCl in Trifluorethanol bei Raumtemperatur ergaben die selektiv aminodeblockierte Verbindung **5d** in guten Ausbeuten. Die Abspaltung des PTMSE-Esters, z. B. aus **4a**, gelingt mit Tetrabutylammoniumfluorid-Trihydrat in Dichlormethan in wenigen Minuten.

Dabei werden keine Nebenreaktionen gefunden, etwa ein Angriff an Benzylestern, wie ihn

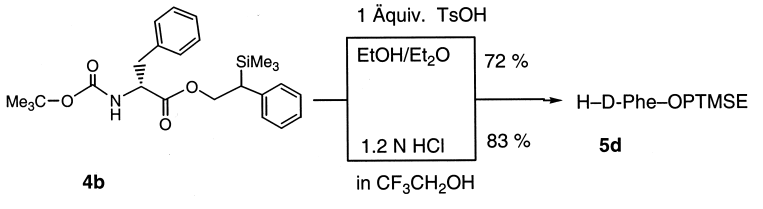
Schema 4

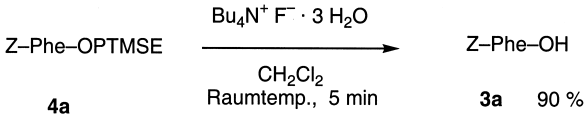


Schema 5



Schema 6





Schema 7

Sieber [4a] bei der Spaltung von 2-Trimethylsilylethyl(TMSE)-estern mit TBAF in DMF beobachtete.

Abschließend sei gezeigt, daß die PTMSE-Ester während der Peptidkondensation zuverlässig stabil bleiben. So reagiert Z-Phenylalanin **3a** mit *O*-*tert*-Butyl-threonin-PTMSE-ester **5b** unter Einwirkung entweder von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*′,*N*′-tetramethyluronium = hexafluorphosphat (HATU) und 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAT) in Gegenwart von Hünigs Base [17] oder von *O*-[Cyano(ethoxycarbonyl)methyliden]amino-*N*,*N*,*N*′,*N*′-tetra = methyluronium-tetrafluoroborat (TOTU) [18] in DMF in guter Ausbeute zum Dipeptid **7** (Schema 8). Das Kondensationsreagenz HATU/HOAT ist etwas effizienter. Die PTMSE-Gruppe bleibt in beiden Fällen vollständig erhalten.

Diese Beispiele zeigen, daß der neue (2-Phenyl-2-trimethylsilyl)ethylester als Carboxy-Schutzgruppe günstige orthogonale Stabilität zu den gebräuchlichen Aminoschutzgruppen in der Peptidchemie aufweist und bei der Peptidsynthese stabil ist. Dabei kann er selbst mit TBAF·$3H_2O$ in Dichlormethan unter neutralen Bedingungen selektiv entfernt werden. Er bietet damit einen neuen Freiheitsgrad in der selektiven Deblockierung von multifunktionellen Verbindungen, speziell Peptiden, und sollte für kombinatorische Anwendungen interessant sein.

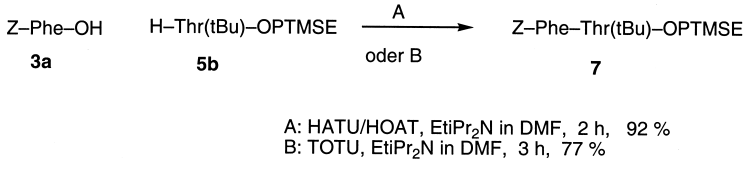
Experimenteller Teil

Die 200 MHz-^{1}H- und 50.3 MHz-^{13}C-NMR-Spektren wurden mit einem Bruker WT 200-Spektrometer, die optischen Drehwerte mit einem Perkin Elmer 241-Polarimeter gemessen. Die letzteren Meßwerte wurden auf die Na-D-Linie (λ = 589 nm) umgerechnet. Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium der Universität Mainz durchgeführt.

Säulenchromatographische Reinigungen wurden als Flash-Chromatographien an Kieselgel (30–60 μm) der Fa. Baker ausgeführt. Die Lösungsmittel wurden nach den üblichen Verfahren gereinigt. Geschützte Aminosäuren **3** wurden von der Fa. Novabiochem, **3d** von der Fa. Watanabe Chemicals, bezogen.

(2-Phenyl-2-trimethylsilyl)ethanol (**2**)

In einem 500 ml-Dreihalskolben werden bei 0 °C unter Argon zu einer Suspension von 8.19 g (0.043 mol) Cu(I)-iodid in 40 ml absol. Diethylether innerhalb von 60 min. 48.5 ml einer 1.8 M Lösung von Phenyllithium in *n*-Hexan (0.0864 mol) getropft. Zunächst färbt sich die Mischung tief gelb, dann rot-braun und zum Schluß grün-braun. Man gibt 160 ml absol. Diethylether zu und kühlt auf –50 °C, bevor 2.7 g (0.023 mol) 2-Trimethylsilyl-oxiran [14] zugetropft werden. Man rührt 3.5 h bei –50 °C und 14 h bei –15 °C, versetzt schließlich bei 0 °C mit 250 ml ges. NH_4Cl-Lösung und rührt 30 min. Nach Abtrennen der blaugefärbten wässrigen von der gelben organischen Phase wird letztere erneut mit 200 ml ges. NH_4Cl-Lösung, anschließend mit 200 ml ges. NaCl-Lösung ausgeschüttelt und über $MgSO_4$ getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak. wird das bräunliche, teilweise kristalline Rohprodukt durch Flash-Chromatographie in Petrolether(50–80)/Ethylacetat (10:1) gereinigt. Ausb.: 3.9 g (87%), farbl. Kristalle, Schmp. 65 °C (Lit. [13] 65–66 °C), R_f = 0.29 (Petrolether/Ethylacetat 7:1). – ^{1}H-NMR ($CHCl_3$): δ = 7.21–7.07 (m, 5H, Phenyl), 4.20–3.91 (m, 2H, CH_2O), 2.44 (dd, 1H, J = 9 Hz und 5.4 Hz, CH-Ph), –0.05 (s, 9H, CH_3-Si). – ^{13}C-NMR ($CHCl_3$): δ = 140.6 (ipso-Ph), 128.6–125.3 (Ph), 63.0 (CH_2O), 41.9 (CH-Ph), –2.6 (CH_3-Si). $C_{11}H_{18}OSi$ (194.4): ber. 67.98, H 9.33; gef. C 68.07, H 9.29.



Schema 8

N-Geschützte Aminosäure-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)ethylester (**4**)

Allgemeine Arbeitsvorschrift

Zu 1.6 mmol der N-geschützten Aminosäure **3** in 6 ml Dichlormethan gibt man 16 mg DMAP und 0.29 g (1.5 mmol) (2-Phenyl-trimethylsilyl)-ethanol (**2**). Nach Kühlen der Mischung auf 0 °C werden 0.46 g (2.2 mmol) 1,3-Dicyclohexylcarbodiimid zugegeben. Man läßt 10 min. bei 0 °C und 4 h bei R. T. rühren, filtriert von ausgefallenem Dicyclohexylharnstoff über Hyflo-Supercel® ab, engt das Filtrat i. Vak. ein und nimmt den Rückstand in 3 ml Dichlormethan auf. Es wird nochmals von ausfallendem Harnstoff abfiltriert. Zum Filtrat gibt man 20 ml Dichlormethan und schüttelt die Lösung mit 10 ml ges. $NaHCO_3$-Lösung und 10 ml ges. NaCl-Lösung aus, trocknet die organische Lösung über $MgSO_4$ und entfernt i. Vak. das Lösungsmittel. Der Rückstand wird durch Flash-Chromatographie an Kieselgel im angegebenen Laufmittelgemisch gereinigt. Ausbeute und Drehwerte s. Tab. 1.

N-Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanin-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)ethylester (**4a**)

Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat (10:1), farbl. Öl, R_f = 0.31 (Petrolether/Ethylacetat 7:1). – ^{1}H-NMR ($CHCl_3$): δ = 7.31–6.98 (m, 15H, 5 arom. H aus Z, 5 arom. H aus Phe, 5 arom. H aus PTMSE), (d, 1H, NH, J = 3.4 Hz), 5.03 (s, 2H, CH_2 aus Z), 4.75–4.40 (m, 3H, CH_2 aus PTMSE, α-CH Phe), 2.90–2.46 (m, 3H, CH aus PTMSE, CH_2 Phe), –0.01 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$. – ^{13}C-NMR ($CHCl_3$): δ = 171.78 (Ester C = O), 155.54 (Urethan C = O), 140.21 (C_{Ar}-CH aus PTMSE), 136.33, 135.88 (2C, C_{Ar}-CH_2 aus Z, C_{Ar}-CH_2 aus Phe), 130.26–125.14 (15C, arom. C), 66.88 (CH_2-O aus Z), 66.7 (CH_2-O aus PTMSE), 54.7 (α-CH Phe), 37.92 (CH aus PTMSE), 37.40 (CH_2 Phe), –2.60 ($Si(CH_3)_3$). – $C_{25}H_{35}O_4NSi$ (441.6): ber C 67.99, H 7.99, N 3.17; gef. C 67.63, H 7.62, N 2.99.

N-(tert-Butyloxycarbonyl)-D-phenylalanin-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)ethylester (**4b**)

Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat (15:1), farbl. Öl, R_f = 0.26 (Petrolether/Ethylacetat 10:1). – ^{1}H-NMR ($CHCl_3$, teilweise Signalverdoppelung, da Diastereomere vorliegen): δ = 7.29–6.97 (m, 10H, arom. H, 5H aus Phe, 5H aus PTMSE), 6.80 (s_{breit}, 1H, NH), 4.74–4.38 (m, 3H, CH_2 aus PTMSE, α-CH Phe), 2.90–2.44 (m, 3H, CH_2 Phe, CH aus PTMSE), 1.37 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), –0.01 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$). – ^{13}C-NMR ($CHCl_3$): δ = 172.11 (Ester C = O), 155.67 (Urethan C = O), 140.21 (C_{Ar}-CH aus PTMSE), 136.19 (C_{Ar}-CH_2 Phe), 129.33–125.21 (10C, 5C aus Phe, 5C aus PTMSE), 79.73 ($C(CH_3)_3$), 66.45 (CH_2-O aus PTMSE), 54.52 (α-CH Phe), 37.84 (CH aus PTMSE), 37.44 (CH_2 Phe), 28.30 ($C(CH_3)_3$), –2.60 ($Si(CH_3)_3$). – $C_{25}H_{35}O_4Si$ (441.6): ber. C 67.99, H 7.99, N 3.17; gef. C 67.63, H 7.62, N 2.99.

N-(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)-O-(tert-butyl)-L-threonin-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)ethylester (**4c**)

Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat (12:1), farbl. Öl, R_f = 0.31 (Petrolether/Ethylacetat 7:1). – ^{1}H-NMR ($CHCl_3$, teilweise Signalverdoppelung, da Diastereomere vorliegen): δ = 7.77–7.01 (m, 13H, arom. H, 8H aus Fmoc, 5H aus PTMSE), 5.49 (t, 1H, NH, J = 10.25 Hz), 4.69–3.93 (m, 7H, CH_2 aus Fmoc, CH aus Fmoc, α-CH Thr, β-CH Thr, CH_2 aus PTMSE), 2.50 (m, 1H, CH aus PTMSE), 1.15–0.97 (m, 12H, 9H aus *t*Bu, 3H aus CH_3 Thr), –0.01 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$). – ^{13}C-NMR ($CHCl_3$): δ = 171.55 (Ester C = O), 156.74 (Urethan C = O), 143.91 (2C Fmoc), 141.30 (2C Fmoc), 140.41 (C_{Ar}-CH aus PTMSE), 128.34–125.19 (6C Fmoc, 5C PTMSE), 119.97 (2C Fmoc), 73.92 ($C(CH_3)_3$), 67.38 (β-CH-O Thr), 67.15 (CH_2-O PTMSE), 66.80 (CH_2-O Fmoc), 59.94 (α-CH Thr), 47.21 (CH-CH_2-O Fmoc), 37.29 (CH aus PTMSE), 28.33 ($C(CH_3)_3$), 21.30 (CH_3 Thr), –2.58 ($Si(CH_3)_3$). – $C_{34}H_{43}O_5NSi$ (573.8). ber. C 71.18, H 7.56, N 2.45; gef. C71.62, H 7.82, N 2.66.

N-(Allyloxycarbonyl)-L-glutaminsäure(γ-tert-butylester)-α-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)ethylester (**4d**)

Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat (9:1), farbl. Öl, R_f = 0.16 (Petrolether/Ethylacetat 10:1). – ^{1}H-NMR ($CHCl_3$, teilweise Signalverdoppelung, da Diastereomere vorliegen): δ = 7.26–6.99 (m, 5H, arom. H aus PTMSE), 5.93–5.76 (m, 1H, olef. H aus Aloc), 5.30–5.14 (m, 3H, olef. CH_2 aus Aloc, NH), –4.82–3.92 (m, 5H, CH_2 aus Aloc, α-CH Glu, CH_2 aus PTMSE), 2.61–2.40 (m, 1H, CH aus PTMSE), 2.15–1.61 (m, 4H, β-CH_2 Glu, γ-CH_2 Glu), 1.39 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), –0.02 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$). – ^{13}C-NMR ($CHCl_3$): δ = 172.08, 171.72 (2 Ester C = O), 155.68 (Urethan C = O), 140.03 (C_{Ar}-CH aus PTMSE), 132.63 (CH = CH_2 aus Aloc), 128.62–125.25 (5C, arom. C aus PTMSE), 117.75 (CH = CH_2 aus Aloc), 80.55 ($C(CH_3)_3$), 66.28 (CH_2-O aus PTMSE), 65.77 (CH_2-O aus Aloc), 53.44 (α-CH Glu), 37.45 (CH aus PTMSE), 31.15 (γ-CH_2 Glu), 28.04 ($C(CH_3)_3$), 27.39 (β-CH_2 Glu), –2.69 ($Si(CH_3)_3$).

N-(tert-Butyloxycarbonyl)-L-asparaginsäure-β-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)ethylester-α-benzylester (**4e**)

Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat (10:1), farbl. amorpher Stoff, R_f = 0.20 (Petrolether/Ethylacetat 10:1). – ^{1}H-NMR ($CHCl_3$, teilweise Signalverdoppelung, da Diastereomere vorliegen): δ = 7.32–6.96 (m, 10H, arom. H, 5H aus Bzl, 5H aus PTMSE), 5.32–5.18 (m, 1H, NH), 5.07 (s, 2H, CH_2 aus Bzl), 4.61–4.32 (m, 3H, CH_2 aus PTMSE, α-CH Asp), 2.96–2.38 (m, 3H, CH aus PTMSE, CH_2 Asp), 1.4 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), –0.04 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$). – ^{13}C-NMR ($CHCl_3$): δ = 170.93, 170.81 (2 Ester C = O), 155.39 (Urethan C = O), 140.22 (C_{Ar}-CH aus PTMSE), 135.41 (C_{Ar}-CH_2 aus Bzl), 128.54–125.20 (10C arom. C, 5C aus PTMSE, 5C aus Bzl), 80.03 ($C(CH_3)_3$), 67.27 (CH_2-O aus Bzl), 65.94 (CH_2-O aus PTMSE), 49.96 (α-CH Asp), 37.22 (CH aus PTMSE), 36.77 (CH_2 Asp), 28.31 ($C(CH_3)_3$), –2.66 ($Si(CH_3)_3$).

N-(Fluorenylmethoxycarbonyl)-L-alanyl-L-valin-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)ethylester) (**4f**)

Zu 0.475 g (1.157 mmol) Fmoc-L-Ala-L-Val-OH in 5 ml absol. DMF werden unter Argon 12 mg DMAP und 0.2 g (1.029 mmol) (2-Phenyl-2-trimethylsilyl)ethanol gegeben. Bei 0° C werden dann 0.273 g (1.320 mmol) DCC zugefügt. Man läßt 10 min bei 0 °C und 18 h bei R. T. rühren. Der ausgefallene Harnstoff wird abfiltriert. Das Filtrat wird i. Vak. eingeengt. Noch vorhandenes DMF wird bei 0.1 Torr abgezogen. Anschließend wird in 5 ml Ethylacetat aufgenommen, erneut vom ausgefallenen Harnstoff abfiltriert, das Filtrat i. Vak. eingeengt und der Rückstand flash-chromatographisch an Kieselgel in Heptan/Ethylacetat 2:1 gereinigt. – Ausb.: 227 mg (37%); farbl. kristalliner Feststoff; Schmp.: 56–58° C; $[\alpha]_D^{25}$ = –16.0 (c = 1.0, $CHCl_3$); R_f = 0.31 (Heptan/Ethylacetat 2:1); R_f = 0.17 (Heptan /Ethylacetat 3:1). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.77–6.93 (m, 13H, arom. H, 8H aus Fmoc, 5H aus PTMSE); 6.27 (d, 1H, NH_{Fmoc}, J = 6.35 Hz), 5.34–5.12 (m, 1H, NH_{Peptid}), 4.82–4.18 (m, 7H, CH_2 aus Fmoc, CH aus Fmoc, α-CH Ala, α-CH Val, CH_2 aus PTMSE), 2.58–2.49 (m, 1H, CH aus PTMSE), 1.98–1.58 (m, 1H, CH Val), 1.39–1.15 (m, 3H, CH_3 Ala), 0.97–0.57 (m, 6H, 2 CH_3 Val), –0.01 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$). – ^{13}C-NMR ($CDCl_3$): δ = 171.97 (Ester C = O), 171.03 (Amid C = O), 155.95 (Urethan C = O); 143.78 (2C Fmoc), 141.34 (2C Fmoc), 140.15 (C_{Ar}-CH aus PTMSE), 128.35–125.10 (6C Fmoc, 5C PTMSE, arom. C), 120.04 (2C Fmoc), 67.07 (CH_2-O aus PTMSE), 66.08 (CH_2-O Fmoc), 57.18 (α-CH Val), 50.52 (α-CH Ala), 47.16 (CH-CH_2-O Fmoc), 37.57 (CH aus PTMSE), 31.10 (β-CH Val), 18.89 (CH_3 Ala), 17.32 (2CH_3 Val), –2.71 ($Si(CH_3)_3$). – $C_{34}H_{42}O_5N_2Si$ (586.81): ber.: C 69.59, H 7.21, N 4.77; gef.: C 69.47 H 7.07 N 4.70.

L-Phenylalanin-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)-ethylester (**5a**)

Zu 40 mg (0.0841 mmol) Z-L-Phe-OPTMSE (**4a**) in 2 ml Methanol werden unter Argon 30 mg Pd/C (10%) gegeben. Nach erneutem Befüllen mit Argon wird dieses durch Wasserstoff (Ballon) ersetzt. Man läßt 4 h bei R. T. rühren. Die Reaktionsmischung wird über Hyflo-Supercel® filtriert. Man wäscht mit 10 ml Methanol nach. Das Filtrat wird i. Vak. eingedampft. Es verbleibt das reine Produkt als Rückstand. Ausb.: 26 mg (quantitativ); farbl. Öl; $[\alpha]_D^{27}$ = –10.6 (c = 1.0, $CHCl_3$); R_f = 0.43 (CH_2Cl_2/CH_3OH/AcOH/H_2O 90:10:1:1). – ^{1}H-NMR (CD_3OD, teilw. Signalverdopplung, da Diastereomere vorliegen): δ = 7.34–6.96 (m, 10H, arom. H, 5H aus Phe, 5H aus PTMSE), 4.77–4.46 (m, 2H, CH_2 aus PTMSE), 3.70–3.53 (m, 1H, α-CH Phe), 2.85–2.40 (m, 3H, CH_2 Phe, CH aus PTMSE), –0.02 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$).

N-(tert-Butyloxycarbonyl)-L-asparaginsäure-β-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)ethylester (**6**)

Zu 40 mg (0.080 mmol) Boc-L-Asp(OPTMSE)-*O*Bzl (**4e**) in 2 ml Methanol werden unter Argon 30 mg Pd/C (10%) gegeben. Nach erneutem Ent- und Begasen mit Argon wird die Argonatmosphäre durch Wasserstoff ersetzt (Ballon mit H_2-Gas). Man läßt 3 h bei R. T. rühren, filtriert das Reaktionsgemisch über Hyflo-Supercel® und wäscht mit 10 ml Methanol nach. Das Filtrat wird i. Vak. eingedampft. Es bleibt das reine Produkt zurück. Ausb.: 31 mg (quantitativ); farbl. Öl; $[\alpha]_D^{25}$ = +3.8 (c = 1.0, $CHCl_3$). – ^{1}H-NMR ([D_6]DMSO, teilw. Signalverdopplung, da Diastereomere vorliegen): δ = 7.24–6.97 (m, 5H, arom. H aus PTMSE), 5.99 (s_{breit}, 1H, NH), 4.60–4.27 (m, 2H, CH_2 aus PTMSE), 4.07 (m, 1H, α-CH Asp), 2.61–2.44 (m, 3H, CH_2 Asp, CH aus PTMSE), 1.41 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), –0.06 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$).

O(-tert-Butyl)-L-threonin-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)ethylester (**5b**)

Zu 45 mg (0.113 mmol) Fmoc-L-Thr(O*t*Bu)-OPTMSE in 2 ml DMF werden 0.1 ml (1.149 mmol) Morpholin gegeben. Man läßt 3 h bei R. T. unter Argon rühren. Die Reaktionsmi-

schung wird mit 5 ml DMF verdünnt und das Lösungsmittel i. Vak. abgezogen. Der Rückstand wird in 5 ml DMF aufgenommen, welches wiederum i. Vak. abdestilliert wird. Das Rohprodukt, das neben dem gewünschten Produkt das Fulven-Morpholin-Addukt enthält, wird flash-chromatographisch an Kieselgel in Heptan/Ethylacetat 7:3 (+0.1% Triethylamin) gereinigt. Ausb.: 34 mg (85%); gelbliches Öl; R_f= 0.10 (Heptan/Ethylacetat, 7:3, +0.1% Triethylamin). – FD-MS: *m/z* = 352 ([M+H]$^+$). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, teilw. Signalverdopplung, da Diastereomere vorliegen): δ = 7.26–7.02 (m, 5H, arom. H aus PTMSE), 4.74–4.32 (m, 2H, CH_2 aus PTMSE), 3.81–3.67 (m, 1H, β-CH Thr), 3.13 (m, 1H, α-CH Thr), 2.57–2.49 (m, 1H, CH aus PTMSE), 1.06 (d, 3H, CH_3 Thr, J = 14.65 Hz), 1.03 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), –0.02 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$).

L-Glutaminsäure(γ-tert-butylester)-α-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)ethylester (**5c**)

Zu 30 mg (0.0664 mmol) Aloc-L-Glu(O*t*Bu)-OPTMSE (**4d**) in 2 ml absol. THF werden unter Argon 8 mg (0.00664 mmol) $Pd(Ph_3P)_4$ und 93.1 mg (0.6642 mmol) Dimedon gegeben [16]. Man läßt 2 h bei R. T. rühren. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert und der Rückstand flash-chromatographisch an Kieselgel in $CH_2Cl_2/CH_3OH/AcOH/H_2O$ 95:5:0.5:0.5 gereinigt. Die das Produkt **5c** enthaltenden Fraktionen werden mit Toluol versetzt und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Ausb.: 20.2 mg (80%); farbl. Öl; R_f = 0.20 ($CH_2Cl_2/CH_3OH/AcOH/H_2O$ 95:5:0.5:0.5); R_f = 0.39 ($CH_2Cl_2/CH_3OH/AcOH/H_2O$ 90:10:1:1). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, teilweise Signalverdopplung, da Diastereomere vorliegen): δ = 7.26–6.99 (m, 5H, arom. H aus PTMSE), 4.87–3.92 (m, 3H, α-CH Glu, CH_2 aus PTMSE), 2.61–2.40 (m, 1H, CH aus PTMSE), 2.21–1.59 (m, 4H, β-CH_2 Glu,γ-CH_2 Glu), 1.39 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), –0.02 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$).

D-Phenylalanin-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)-ethylester (**5d**)

a) Zu 30 mg (0.0679 mmol) Boc-D-Phe-OPTMSE (**4b**) in 1.2 ml Diethylether gibt man 12.9 mg (0.0679 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure-monohydrat in 0.2 ml EtOH. Der Diethylether wird i. Vak. bei 660–770 mbar abdestilliert. Das Wasserbad wird nun auf *ca.* 65° C gebracht. Man läßt bei dieser Temperatur und bei diesem Druck 30 min reagieren, dann wird i. Vak. zur Trockene eingeengt. Nach weiteren 30 min zeigt die DC-Kontrolle an, daß zwei mit Ninhydrin rot anfärbende Produkte entstanden sind (im Verhältnis 70:30). Das Produktgemisch wird durch Flash-Chromatographie an Kieselgel in $CH_2Cl_2/CH_3OH/AcOH/H_2O$ 95:5:0.5:0.5 getrennt. Allerdings kann nur eines der beiden Produkte isoliert werden. Ausb.: 16.7 mg (72%); gelbliches Öl; $[\alpha]_D^{25}$ = + 10.6 (c = 1.0, $CHCl_3$); R_f = 0.40 ($CH_2Cl_2/CH_3OH/AcOH/H_2O$ 95:5:0.5:0.5). – FD-MS: *m/z* = 343 ([M+H]$^+$). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, teilw. Signalverdopplung, da Diastereomere vorliegen): δ = 7.23–6.93 (m, 10H, arom. H, 5H aus Phe, 5H aus PTMSE), 4.75–4.42 (m, 2H, CH_2 aus PTMSE); 3.67 (m, 1H, α-CH Phe), 2.87–2.25 (m, 5H, CH_2 Phe, CH aus PTMSE, NH_2), –0.01 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$).

b) Zu 30 mg (0.0679 mmol) Boc-D-Phe-OPTMSE (**4b**) in 0.2 ml 90 proz 2.2.2-Trifluorethanol werden 0.2 ml einer 1.2 N HCl-Lsg. in 90-proz. 2.2.2-Trifluorethanol [4a] gegeben. Da laut dünnschichtchromatographischer Kontrolle nach 30 min nur etwa 50-proz. Umsatz vorliegt, werden weitere 0.2 ml der 1.2 N HCl-Lsg. in 90-proz. Trifluorethanol zugesetzt. Nach weiteren 10 min wird die Reaktion abgebrochen (100% Umsatz). Man versetzt mit 5 ml *tert*-Butanol und destilliert die Lösungsmittel i. Vak. ab. Diese Prozedur wird nochmals wiederholt. Der Rückstand (farbl. Öl) wird in 4 ml Ethylacetat aufgenommen und mit 2 ml halbgesättigter NaCl-Lsg. ausgeschüttelt, die organische Phase über $MgSO_4$ getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Es verbleibt ein farbloser, öliger Rückstand. Es sind zwei mit Ninhydrin rot anfärbende Substanzen im Verhältnis ≈ 80:20 entstanden. Das Produktgemisch wird durch Flash-Chromatographie an Kieselgel in $CH_2Cl_2/CH_3OH/AcOH/H_2O$ 95:5:0.5:0.5 getrennt. Nur eines der beiden Produkte kann isoliert werden. Die Produkt führenden Fraktionen werden mit etwas Toluol versetzt und i. Vak. eingeengt. Der Rückstand wird nochmals mit 3 ml Toluol kodestilliert, dann in 3 ml Diethylether gelöst. Schließlich wird i. Vak. eingeengt. Es verbleibt das reine Produkt **5d** als Rückstand. Ausb.: 19.2 mg (83%); gelbliches Öl; $[\alpha]_D^{25}$ = + 10.6 (c = 1.0, $CHCl_3$); R_f= 0.40 ($CH_2Cl_2/CH_3OH/AcOH/H_2O$ 95:5:0.5:0.5). – FD-MS: *m/z* = 343 ([M+H]$^+$). – ^{1}H-NMR-Spektrum: siehe unter a).

N-(Benzyloxycarbonyl)-L-phenylalanin (**3a**)

Zu 30 mg (0.0631 mmol) Z-L-Phe-OPTMSE (**4a**) in 2 ml absol. CH_2Cl_2 gibt man 60 mg (0.1892 mmol) Tetra-*n*-butylammoniumfluorid-trihydrat ($TBAF \cdot 3H_2O$) und rührt bei Raumtemperatur. Nach 5 min wird mit 10 ml Ethylacetat ver-

setzt und mit 5 ml H_2O ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird mit 5 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit 5 ml ges. NaCl-Lsg. gewaschen und über $MgSO_4$ getrocknet. Das Lösungsmittel wird i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand wird flash-chromatographisch an Kieselgel in $CH_2Cl_2/CH_3OH/AcOH/H_2O$ 95:5:0.5:0.5 gereinigt. Ausb.: 17.1 mg (90%); farbl. kristalliner Feststoff; $[\alpha]_D^{25} = +4.9$ ($c = 0.5$, AcOH); $R_f = 0.37$ ($CH_2Cl_2/CH_3OH/AcOH/H_2O$ 95:5:0.5:0.5). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): $\delta = 9.27$ (s_{breit}, 1H, COOH), 7.32–7.10 (m, 10H, arom. H, 5H aus PTMSE, 5H aus Phe), 5.19 (d, 1H, NH, J = 7.8 Hz), 5.08 (s, 2H, CH_2 aus Z), 4.69 (q, 1H, α-CH Phe, J = 9.1 Hz), 3.25–3.03 (m, 2H, CH_2 Phe).

N-(Benzyloxycarbonyl)-L-phenylalanyl-O-(tert-butyl)-L-threonin-(2-phenyl-2-trimethylsilyl)-ethylester (**7**)

A) Zu 14.5 mg (0.042 mmol) H-L-Thr(*t*Bu)-OPTMSE (**5b**) in 1 ml DMF werden unter Rühren 13.8 mg (0.0462 mmol) Z-L-Phe-OH, 6.3 mg (0.0462 mmol) HOAT, 10.9 mg (0.084 mmol) Hünigs Base und 17.6 mg (0.0462 mmol) HATU [17] gegeben. Man läßt 2 h bei R. T. rühren. Das Lösungsmittel wird i. Vak. abdestilliert und der Rückstand zwischen 5 ml Ethylacetat und 5 ml $NaHCO_3$-Lsg. verteilt. Die Phasen werden getrennt und wechselseitig mit Ethylacetat und ges. $NaHCO_3$-Lsg. gewaschen. Anschließend werden die vereinigten organischen Phasen mit 5 ml ges. NaCl-Lsg. gewaschen und über $MgSO_4$ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird der verbleibende Rückstand flash-chromatographisch an Kieselgel in Petrolether/Ethylacetat 3:1 gereinigt. Ausb.: 24.5 mg (92%); farbl. kristalliner Feststoff; Schmp.: 108–109° C; $[\alpha]_D^{25} = +10.8$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$); $R_f = 0.37$ (Petrolether/Ethylacetat 7:3). – Weitere Charakterisierung siehe unter B.

B) Zu 100 mg (0.1743 mmol) Fmoc-L-Thr(*t*Bu)-OPTMSE (**4c**) gibt man 0.2 ml (1.750 mmol) Morpholin in 2 ml DMF. Man läßt bei R. T. unter Argon 3 h rühren, versetzt mit weiteren 5 ml DMF und entfernt das Lösungsmittel i. Vak. Nochmalige Zugabe von 5 ml DMF und erneutes Abdestillieren i. Vak. liefern das Rohprodukt **5b**, das für die Kupplung mit Z-L-Phe-OH (**3a**) eingesetzt wird. Es wird in 3 ml DMF gelöst und mit 51.1 mg (0.1708 mmol) Z-L-Phe-OH versetzt. Bei 0° C werden 56 mg (0.1708 mmol) TOTU [18] hinzugefügt, gefolgt von 22.1 mg (0.1708 mmol) Hünigs Base in 1 ml DMF. Man läßt 10 min bei 0° C und 3 h bei R. T. rühren, engt i. Vak. ein, verteilt den Rückstand zwischen 5 ml Ethylacetat und 5 ml H_2O, wäscht die organische Phase mit 5 ml H_2O, 5 ml ges. $NaHCO_3$-Lsg. und 5 ml ges. NaCl-Lsg. und trocknet über $MgSO_4$. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird das Rohprodukt in Toluol aufgenommen und an Kieselgel in Petrolether/Ethylacetat 4:1 flash-chromatographisch gereinigt. Ausb.: 85.1 mg (77%); farbl. kristalliner Feststoff; Schmp.: 108–109° C; $[\alpha]_D^{25} = +10.8$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$); $R_f = 0.37$ (Petrolether/Ethylacetat 7:3). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, teilw. Signalverdopplung, da Diastereomere vorliegen): $\delta = 7.30–6.98$ (m, 15H, arom. H, 5H aus Z, 5H aus PTMSE, 5H aus Phe), 6.31 (t, 1H, NH Phe, J = 7.8 Hz), 5.28 (d, 1H, $NH_{Petptid}$, J = 6.4 Hz), 5.04 (s, 2H, CH_2 aus Z), 4.67–4.26 (m, 4H, CH_2 aus PTMSE, α-CH Phe, α-CH Thr), 4.08–3.86 (m, 1H, β-CH, Thr), 2.96 (t, 2H, CH_2 Phe, J = 3.2 Hz), 2.55–2.43 (m, 1H, CH aus PTMSE), 1.00 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 0.95 (d, 3H, CH_3 Thr, J = 7.8 Hz), –0.02 (s, 9H, $Si(CH_3)_3$). – ^{13}C-NMR ($CDCl_3$): $\delta = 171.10$ (Ester C = O), 170.73 (Amid C = O), 140.43 (C_{Ar}-CH aus PTMSE), 140.25 (C_{Ar}-CH_2 aus Phe), 136.46 (C_{Ar}-CH_2 aus Z), 129.56–125.25 (15C, arom. C, 5C aus PTMSE, 5C aus Phe, 5C aus Z), 74.02 ($C(CH_3)_3$), 67.19 (β-*C*H-O Thr), 66.87 (*C*H_2-O aus PTMSE), 66.52 (*C*H_2-O aus Z), 58.05 (α-*C*H Thr), 55.80 (α-*C*H Phe), 38.65 (CH aus PTMSE), 37.34 (CH_2 Phe), 28.30 ($C(CH_3)_3$), 20.95 (CH_3 Thr), –2.61 ($Si(CH_3)_3$). – ($C_{36}H_{48}O_6N_2Si$) (632.88): ber.: C 68.32, H 7.64, N 4.43; gef.: C 68.43, H 7.64, N 4.35.

[1] Übersichten s. z. B.: a) J. S. Früchtel, G. Jung, Angew. Chem. **108**, 19 (1996); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. **35**, 17 (1996); b) F. Schweitzer, O. Hindsgaul, Curr. Opin. Chem. Biol. **3**, 291 (1999).

[2] a) P. J. Kocienski, Protecting Groups, Thieme Verlag Stuttgart, New York (1994); b) T. W. Green, P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3. Aufl., J. Wiley, New York (1999).

[3] O. Seitz, ChemBioChem. **1**, 214 (2000).

[4] a) P. Sieber, Helv. Chim. Acta **60**, 2711 (1977); b) E. Wünsch, L. Moroder, O. Keller, Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. **362**, 1289 (1981).

[5] H. Gerlach, Helv. Chim. Acta **60**, 3039 (1977).

[6] B. M. Lipshutz, J. J. Pegram, Tetrahedron Lett. **21**, 3343 (1980).

[7] W. Bernhard, I. Flemming, J. Organomet. Chem. **271**, 281 (1984).

[8] L. A. Carpino, G. Y. Han, J. Am. Chem. Soc. **92**, 5748 (1972).
[9] M. Ueki, M. Amemiya, Tetrahedron Lett. **28**, 6617 (1987).
[10] H.-G. Chao, M. S. Bernatowicz, P. D. Reiss, C. E. Klimas, G. R. Matsueda, J. Am. Chem. Soc. **116**, 1746 (1994).
[11] M. Wagner, H. Kunz, Synlett 400 (2000).
[12] A. E. Bey, D. R. Weyenberg, J. Org. Chem. **31**, 2036 (1966).
[13] F. Hayakawa, S. Watnabe, N. Shimizu, Y. Tsuno, Bull. Chem. Soc. Jpn. **66**, 153 (1993).
[14] a) J. J. Eisch, J. E. Galle, J. Org. Chem. **41**, 2615 (1976); b) J. J. Eisch, J. E. Galle, J. Organomet. Chem. **341**, 293 (1988); c) T.-L. Chow, Hua Hsüeh Hsüeh Pao, Chem. Abstr. **24**, 426 (1958).
[15] B. Neises, W. Steglich, Angew. Chem. **90**, 556 (1978), Angew. Chem. Int. Ed. Engl. **17**, 522 (1978).
[16] H. Kunz, C. Unverzagt, Angew. Chem. **96**, 436 (1984); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. **23**, 426 (1984).
[17] L. A. Carpino, A. El-Faham, F. Albericio, Tetrahedron Lett. **35**, 2279 (1994).
[18] G. Breipohl, W. König (Höchst AG), European Patent EP-A 0460446, A1, 23.5.1990.