

## Couplage en milieu « neutre » d'acides aminés *N*-trifluoroacétylés

Amina Benouargha, Jean Verducci\*, Robert Jacquier

URA-CNRS 468, Acides aminés et peptides,  
Université Montpellier II, place E-Bataillon, 34095 Montpellier cedex 05, France

(reçu le 27 juin 1994, accepté le 23 juin 1995)

**Summary – Coupling of *N*-trifluoroacetyl amino acids under 'neutral' conditions.** The possibility of using the trifluoroacetyl group as a base-labile *N*-protection in peptide synthesis is discussed. Under normal coupling conditions, a very high level of racemization is observed. However, when 'neutral' coupling conditions (by silylation of amino acids or peptides) were used, the coupling racemization decreased as much as 1–2%.

peptide coupling / *N*-protection / *N*-trifluoroacetyl amino acid / racemization / silylated amino acid

### Introduction

La synthèse convergente de longs peptides se fait en général à partir de fragments protégés obtenus en phase solide. La stratégie actuellement la plus employée pour la synthèse de ces fragments fait appel :

- à une protection semi-permanente acidolabile de type Boc, *t*Bu des chaînes latérales.
- à un bras liant le peptide à la résine clivable en milieu acide faible (2% de TFA par exemple), permettant la conservation des protections des chaînes latérales.
- à une protection basolabile (Fmoc) pour la protection temporaire de la fonction amine terminale.

Le groupement Fmoc, introduit par Carpino et Han [1] en 1970, connaît donc actuellement un grand succès dans le domaine de la synthèse peptidique en phase solide. Par contre, il reste très peu utilisé en phase homogène car la déprotection par une amine secondaire conduit à des sous-produits difficilement séparables du peptide. D'autre part, son coût relativement élevé constitue également un frein à son utilisation.

Compte tenu de l'intérêt présenté par une *N*-protection basolabile et des inconvénients que nous venons de citer pour le groupement Fmoc, la recherche de nouveaux groupements de ce type reste d'actualité [2]; nous avons donc décidé d'étudier les possibilités d'utilisation d'un autre type de *N*-protection basolabile, le groupement trifluoroacétyle.

Ce groupement de type acyle, contrairement à une protection de type uréthane, risque de conduire à une racémisation importante dans les couplages par formation d'oxazolone intermédiaire [3]. Cette racémisation est catalysée par les bases présentes dans le milieu lors de la réaction de couplage; ceci a conduit Bodanszky *et al* [4–7] à rechercher des conditions de couplage en milieu « neutre » de façon à minimiser cette racémisation. Nous avons dans notre équipe [8–11] mis au point

une méthode de couplage en milieu « neutre », par silylation des fonctions mises en jeu (schéma 1), qui inhibe la racémisation lors du couplage des *N*-acylaminoacides.

Par rapport à un couplage classique, ce schéma ne fait pas intervenir d'addition de base tertiaire, connue pour catalyser la cyclisation en oxazolone et donc favoriser la racémisation; d'autre part, la *N*-silylation du composant aminé diminue fortement sa basicité. Dans cette approche, **E-Cl** sont des électrophiles chlorés ( $\text{PCl}_3$ ,  $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{PO-Cl}$ ...) capables d'activer directement les aminoesters silylés. Cette approche a conduit à un fort abaissement et même à une suppression totale de la racémisation dans un certain nombre de couplages. Par contre, dans le cas où la *N*-protection **P** est un groupement benzoyle, connu pour induire les plus forts taux de racémisation [12], l'abaissement de la racémisation est très faible; ces résultats s'expliquent par la très grande tendance à la racémisation du modèle (effets électroniques du noyau phényle) qui permet à des facteurs secondaires, tels que la diminution des vitesses de réaction dans le cas des dérivés silylés ou à la basicité de l'ion chlorure (« ion chloride effect » [13]), d'induire des racémisations importantes.

Dans ce cas, seule l'addition d'acides de Lewis tels que  $\text{ZnCl}_2$  conjointement à l'emploi des conditions « neutres » a permis d'inhiber la racémisation.

### Couplage des acides aminés *N*-trifluoroacétylés dans des conditions classiques

L'utilisation de la protection *N*-trifluoroacétyle a déjà été décrite dans la littérature [3, 14, 15], mais aucune étude précise du taux de racémisation n'a été réalisée. Nous avons donc décidé de faire cette étude sur des exemples à haut risque de racémisation faisant intervenir des acides aminés encombrés

\* Correspondance et tirés à part

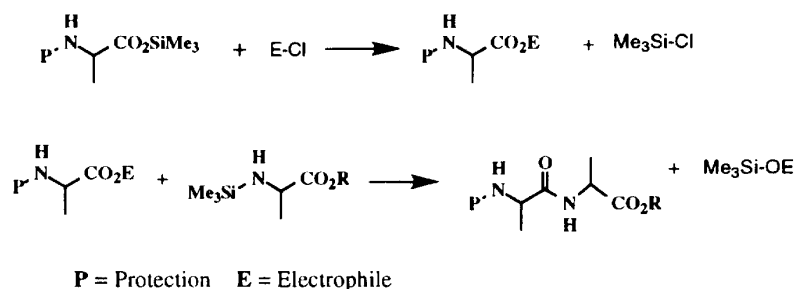


Schéma 1. Couplage en milieu «neutre».

Tableau I.

Couplage	Réactif	Produit	Conditions classiques R=H		Conditions «neutres» R=SiMe <sub>3</sub>	
			Rdt (%)	D,L (%)*	Rdt (%)	D,L (%)*
TFA-Val-OR + R-Val-OMe	1	10	56	52,9	90	1,3
TFA-Val-OR + R-Pro-OMe	1	11	32	63,1	84	1,5
Bz-Val-OR + R-Val-OMe	1		26	72	43	69
TFA-Val-OR + R-Val-OMe	2	10	50	51	56	3,1
TFA-Val-OR + R-Pro-OMe	2	11	30	38	53	3,6
Bz-Val-OR + R-Val-OMe	2		79	69,8	83	64,7
TFA-Val-OR + R-Val-OMe	3	10	55	61	69	3,8
TFA-Val-OR + R-Pro-OMe	3	11	51	56	56	4,2
Bz-Val-OR + R-Val-OMe	3		80	70	52	41
Bz-Val-OR + R-Val-OMe	DCC/HOBt			6,9**		
Bz-Val-OR + R-Pro-OMe	DCC/HOBt			26**		
TFA-Val-OR + R-Val-OMe	DCC/HOBt	10	94	7,4		
TFA-Val-OR + R-Pro-OMe	DCC/HOBt	11	90	27		

\* Les quantités de diastéréoisomères (L,L) et (D,L) sont déterminées par HPLC sur colonne de silice C18, avec une précision de 0,1%, les couplages étant réalisés avec des aminoacides de configuration L.

\*\* D'après Miyazawa [12].

(Val + Val) ou un iminoacide (Val + Pro). Les réactifs de couplage utilisés sont le système classique et peu racémisant dicyclohexylcarbodiimide/*N*-hydroxybenzotriazole (DCC/HOBt) mais aussi des électrophiles chlorés tels que le complexe de Vilsmeier 1, le trichlorure de phosphore 2 et le chlorure de diphenylphosphinyle (DppCl 3). Les résultats, comparés à ceux obtenus avec la *N*-protection benzoyl, connue pour conduire à des taux de racémisation très élevés [12], sont présentés dans le tableau I.

L'examen de ce tableau met en évidence des taux de racémisation extrêmement élevés dans le cas des réactifs de couplage chlorés. Les plus forts sont observés pour la Bz-Val (70-72%) avec les trois réactifs 1, 2 et 3; cette valeur correspond probablement au maximum possible, c'est-à-dire l'induction asymétrique obtenue à partir de l'oxazolone racémique provenant de Bz-Val.

Dans le cas des dérivés *N*-TFA, la racémisation est en général un peu moins élevée que dans celui des dérivés *N*-benzoylés : les effets électroniques du groupement CF<sub>3</sub> sont moins favorables soit à la cyclisation en oxazolone, soit à la tautomérie permettant à celle-ci de se racémiser. Les variations du taux de racémisation sont plus grandes (51 à 61% de composé D,L) pour TFA-Val + ValOMe et 38 à 63% pour TFA-Val + ProOMe) laissant supposer que dans un certain nombre

de cas, le maximum de racémisation possible n'est pas atteint, la réaction ne s'effectuant que partiellement par l'intermédiaire de l'oxazolone.

L'utilisation du système DCC/HOBt, connu pour être peu racémisant conduit à des pourcentages de composés D,L du même ordre pour les dérivés *N*-benzoylés et *N*-trifluoroacétylés (7% pour Val + Val et 26-27% pour Val + Pro); cependant ces taux sont beaucoup trop élevés pour envisager l'utilisation de ces systèmes en synthèse peptidique.

#### Couplage des aminoacides *N*-trifluoroacétylés en «milieu neutre»

Compte tenu de ce qui a été présenté précédemment et en vue de préciser l'amélioration apportée sur le plan de la racémisation par notre nouvelle méthode de couplage en milieu «neutre», nous l'avons appliquée aux modèles *N*-trifluoroacétylés. Cette méthode fait intervenir la silylation des aminoacides et des peptides, laquelle a fait l'objet de nombreux travaux [16, 17] :

La *N*-silylation des chlorures d'esters méthyliques de la valine et de la proline est réalisée par action d'un excès de 40% de triméthylsilyldiéthylamine (TMSDEA) dans l'éther à reflux (schéma 2).

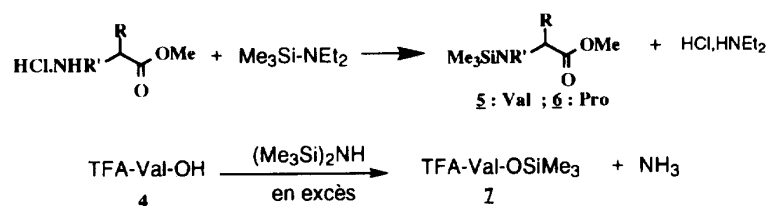


Schéma 2. Silylation des aminoacides.

Les dérivés *N*-silylés de la proline et de la valine sont isolés par distillation. Ils peuvent être conservés sous azote pendant une période d'un mois sans se décomposer.

— La *O*-silylation du composant *N*-protégé (TFA-ValOH par exemple) est réalisée par action de l'hexaméthylidisilazane (HMDS) (schéma 2). Un excès (2 équiv) de réactif est nécessaire pour déplacer rapidement le sel d'ammonium qui se forme intermédiairement.

Les dérivés *O*-silylés obtenus sont trop peu volatils pour être distillés dans des conditions classiques. Ils sont obtenus à l'état pur par élimination sous pression réduite du solvant et du réactif en excès; étant excessivement sensibles à l'hydrolyse, ils sont utilisés dès leur préparation.

Le couplage des aminoacides *O* et *N*-silylés dans des conditions «neutres» en présence des électrophiles chlorés cités précédemment est réalisé en absence de toute base tertiaire. Dans le cas du DppCl, la formation de l'anhydride mixte étant équilibrée, de l'époxy-cyclopentane est ajouté afin de déplacer l'équilibre par consommation du chlorotriméthylsilane formé. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau I.

L'examen de l'ensemble des résultats obtenus met en évidence une bonne efficacité de cette approche, notamment en utilisant le complexe de Vilsmeier 1 qui conduit à d'excellents rendements pour les couplages difficiles que nous réalisons (90 et 84%).

Du point de vue de la racémisation, on constate dans le cas des aminoacides *N*-trifluoroacétylés une très forte diminution par rapport aux mêmes réactions réalisées dans des conditions classiques; ici encore les meilleurs résultats sont obtenus avec le complexe de Vilsmeier (1,3-1,5% de composé D,L). Par contre, dans le cas des aminoacides *N*-benzoylés, la racémisation reste à un niveau très élevé (40 à 70% de composé D,L).

Cette étude montre que le groupement basolabile *N*-TFA, bien que légèrement moins racémisant que le groupement benzoyle conduit à un niveau de racémisation très élevé; l'emploi des conditions «neutres» par silylation des composés diminue fortement cette racémisation, sans toutefois l'éliminer complètement.

Les travaux réalisés dans notre laboratoire [8-11], ont montré que l'addition d'acides de Lewis permet d'augmenter les rendements de couplage et d'abaisser considérablement la racémisation dans le cas des aminoacides *N*-benzoylés, au dessous de 0,2-0,3% (par exemple Bz-Val-Val-OMe en présence de 1/ZnBr<sub>2</sub> (1/1) donne moins de 0,1% de composé D,L).

Ainsi nous avons fait des essais de couplage avec les réactifs cités précédemment en présence d'un équivalent d'acide de Lewis tel que ZnBr<sub>2</sub> ou le complexe

ZnCl<sub>2</sub>/Et<sub>2</sub>O. Le suivi des réactions par CCM montre l'absence de dipeptide même après 24 h de réaction; ceci est confirmé par le traitement du mélange réactionnel qui ne conduit qu'à des traces de peptide attendu.

Pensant que ce manque de réactivité pouvait être attribué à l'encombrement stérique important des modèles choisis, nous avons alors tenté un couplage moins difficile entre TFA-Val-OTMS et TMS-AlaOMe, en présence du complexe de Vilsmeier, PCl<sub>3</sub> ou DppCl, tout en utilisant à chaque fois un équivalent de ZnBr<sub>2</sub> ou ZnCl<sub>2</sub>/Et<sub>2</sub>O comme acide de Lewis. Dans tous les cas, nous n'avons pas observé la formation du dipeptide.

Ces résultats sont difficiles à interpréter. Ils pourraient être attribués à la diminution de l'aptitude à la complexation entre l'acide de Lewis et le groupement trifluoroacétyle comparée à celle du groupement benzoyle. Dans ces conditions, la complexation pourrait ne plus se faire avec les carbonyles de l'aminoester mais plutôt avec le groupement *N*-TMS du nucléophile; ainsi, non seulement l'activation de la fonction ester n'aurait pas lieu, mais de plus, le nucléophile serait désactivé expliquant l'absence totale de réactivité.

## Conclusion

Cette étude montre que le groupement basolabile *N*-trifluoroacétyle utilisé lors du couplage de modèles difficiles, dans des conditions classiques, en présence de DCC/HOBt ou de réactifs chlorés (complexe de Vilsmeier, PCl<sub>3</sub> ou DppCl) est quasiment aussi racémisant que le groupement *N*-benzoyle.

L'utilisation des mêmes modèles *N* et *O*-silylés couplés dans des conditions «neutres» avec les réactifs cités précédemment conduit d'une part à une amélioration des rendements et d'autre part à une très forte diminution de la racémisation. Par contre l'emploi d'acide de Lewis en vue de supprimer totalement la racémisation entraîne en fait un blocage de la réaction.

## Partie expérimentale

— Les spectres RMN ont été enregistrés sur des appareils Varian T60 ou Bruker WP80; les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au TMS pris comme référence interne. Les spectres de masse ont été enregistrés sur un appareil Jeol DX 300 en impact électronique ou en ionisation FAB en utilisant le glycérol comme matrice. Les points de fusion non corrigés sont mesurés à l'aide d'un appareil Büchi.

Les (L) aminoacides libres ou protégés commerciaux proviennent de la Société Propeptide; les réactifs, trifluoroacétate de méthyle, triméthylsilyldiéthylamine, DCC, HOBt proviennent de la Société Janssen.

– L'appareillage HPLC utilisé pour les mesures de rendement et de racémisation est le suivant :

– Appareil Waters muni de deux pompes (modèle 510) et d'un détecteur UV (modèle 441).

– Intégrateur-enregistreur : DELSI-ENICA 10.

– Colonne : Spherisorb ODS-25 cm. maintenue à 35°C dans un four thermostaté.

Phase mobile : eau/méthanol

Débit : 1 mL/min

– Détection : 214 nm

### Synthèse des produits de départ

#### • Synthèse de la N-(trifluoroacétyl)valine 4

Dans un ballon relié à une source d'azote et muni d'un réfrigérant sont introduits 5,86 g (50 mmol) de valine dans 25 mL de trifluoroacétate de méthyle. La solution est agitée et refroidie à 0°C par un bain de glace. On ajoute alors 8,64 g (75 mmol) de tétraméthylguanidine et le mélange réactionnel est agité 5 min à 0°C, puis 48 h à température ambiante. L'excès de trifluoroacétate de méthyle est ensuite éliminé sous pression réduite. Le résidu est repris dans un minimum d'eau puis acidifié par l'acide chlorhydrique 12N jusqu'à pH = 1; après 5 extractions successives à l'acétate d'éthyle, les phases organiques sont regroupées, séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporées sous pression réduite. La recrystallisation du produit brut dans un mélange benzène-hexane conduit à 10,1 g de composé 4.

Rdt = 95%; F = 88-89°C (Lit [14], 87°C).

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ : 1,0 (d, J = 7 Hz, 6H; CH<sub>3</sub>); 2,3 (m, 1H; CH<sub>β</sub>); 4,6 (m, 1H; -CH<sub>α</sub>); 7,0 (d, J = 9 Hz, 1H; NH); 10,6 (s, 1H; OH).

#### • Synthèse des N-(triméthylsilyl)aminoesters

A 100 mmol de chlorhydrate d'aminoester en suspension dans 150 mL d'éther anhydre, on ajoute 140 mmol (26,5 mL) de triméthylsilyldiéthylamine (TMSDEA). Après 2 h d'agitation à reflux et sous atmosphère inerte, le précipité de chlorure de diéthylammonium est filtré rapidement. Le solvant est évaporé sous atmosphère d'azote au moyen d'une trappe de Dean-Stark. Le résidu obtenu est distillé sous pression réduite. Le produit est caractérisé par RMN et spectrométrie de masse.

Les aminoesters N-triméthylsilylés se conservent plusieurs mois dans un flacon soigneusement bouché, à froid et sous atmosphère inerte.

#### ■ N-(triméthylsilyl)valinate de méthyle 5

Rdt = 75%; Eb<sub>70</sub> = 100°C.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ : 0,1 (s, 9H; SiMe<sub>3</sub>); 0,9 (d, J = 7 Hz, 6H; 2-CH<sub>3</sub>); 1,7 (m, 1H; CH<sub>β</sub>); 3,1 (m, 1H; CH<sub>α</sub>); 3,7 (s, 3H; OCH<sub>3</sub>); 7,1 (d, J = 8 Hz, 1H; NH).

SM : m/z 203.

#### ■ N-(triméthylsilyl)prolinate de méthyle 6

Rdt = 75%; Eb<sub>150</sub> = 124°C.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ : 0,1 (s, 9H; SiMe<sub>3</sub>); 1,8 (m, 4H; CH<sub>2</sub>); 3 (m, 2H; CH<sub>2</sub>); 3,6 (s, 3H; OCH<sub>3</sub>); 3,7 (m, 1H; CH<sub>α</sub>).

SM : m/z 187.

#### • Synthèse de l'ester triméthylsilylé de la N-(trifluoroacétyl)valine 7

A une solution de 0,53 g (2,5 mmol) de trifluoroacétylvaline 4 dans 25 mL de dichlorométhane anhydre, on ajoute 5 mmol d'hexaméthyldisilazane (HMDS). Après 2 h d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'azote,

le solvant, l'excès d'HMDS ainsi que l'ammoniac sont éliminés sous pression réduite à l'abri de l'humidité. L'évaporation complète de l'HMDS (Eb = 125°C) est obtenue par un léger chauffage au bain d'eau. On obtient un résidu huileux (0,7 g) qui est immédiatement utilisé pour le couplage, après contrôle par RMN.

Rdt = 100%.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ : 0,3 (s, 9H; OSiMe<sub>3</sub>); 1,0 (d, J = 7 Hz, 6H; CH<sub>3</sub>); 2,2 (m, 1H; CH<sub>β</sub>); 4,7 (q, J = 7 Hz, 1H; CH<sub>α</sub>); 7,1 (d, J = 8 Hz, 1H; NH).

#### • Synthèse de la N-benzoylvaline 8

A 50 mmol (5,85 g) de valine en solution dans 30 mL de soude 2N refroidie à 0°C, on ajoute alternativement 50 mmol (7 g) de chlorure de benzoyle et 30 mL de soude 2N, tout en contrôlant le pH qui doit rester basique. Après 30 min d'agitation à température ambiante, de l'acide chlorhydrique 12N est alors ajouté jusqu'à pH = 2. Le milieu réactionnel est extrait 3 fois à l'éther. Les phases organiques sont lavées à l'eau puis séchées sur sulfate de sodium; le solvant est ensuite éliminé sous pression réduite. La recrystallisation du produit brut dans l'éther conduit à 9 g de composé 8.

Rdt = 82%; F = 133°C (Lit [17] 132-133,5°C).

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ : 1,0 (d, J = 7 Hz, 6H; CH<sub>3</sub>); 2,3 (m, 1H; CH<sub>β</sub>); 4,7 (m, 1H; CH<sub>α</sub>); 6,8 (d, J = 7 Hz, 1H; NH); 7,3-7,7 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 10,6 (s, 1H; OH).

#### • Mode opératoire général de couplage par le système DCC/HOBT

A 10 mmol d'aminoester en solution dans 20 mL de chlorure de méthylène sont ajoutés 10 mmol d'acide N-protégé, puis 10 mmol (1,35 g) d'HOBT. Après avoir refroidi le mélange à 0°C, on ajoute 11 mmol (2,3 g) de DCC en solution dans 10 mL de dichlorométhane. Le mélange est agité 15 min à 0°C, puis 30 min à température ambiante. La dicyclohexylurée (DCU) formée est filtrée, le filtrat est lavé successivement par 10 mL d'une solution 1N d'acide citrique, 10 mL d'une solution saturée de bicarbonate de sodium, puis à l'eau jusqu'à pH neutre. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, puis évaporée sous pression réduite. Le résidu est repris par un minimum d'acétone, abandonné au réfrigérateur pendant plusieurs heures puis filtré. Le peptide est obtenu par évaporation du solvant. Ce protocole a été appliqué aux couplages Bz-Val + Val-OMe, Bz-Val + Pro-OMe, TFA-Val + Val-OMe, TFA-Val + Pro-OMe ainsi qu'à la préparation du peptide standard Bz-Val-Gly-OMe 9.

#### • Synthèse du chlorure de N,N-diméthylchloroformamidinium (complexe de Vilsmeier) 1

La synthèse du complexe de Vilsmeier a été réalisée suivant la méthode décrite par Stadler [19].

Dans un ballon bicol maintenu sous azote, on place 200 mg (2,5 mmol) de DMF dans 30 mL de dichlorométhane anhydre; l'ensemble est refroidi à -20°C par un bain d'alcool; on ajoute ensuite goutte à goutte 0,22 mL (2,5 mmol) de chlorure d'oxalyle préalablement dilué dans 5 mL de dichlorométhane; il se produit un dégagement gazeux de CO et de CO<sub>2</sub>; le complexe de Vilsmeier précipite après 20 min d'agitation à -20°C; la réaction est quantitative. La suspension ainsi obtenue est en général utilisée directement pour les réactions.

#### Couplage dans des conditions classiques

A 2,5 mmol (530 mg) de TFA-Val en solution dans 15 mL de dichlorométhane on ajoute 7,5 mmol (0,4 mL) de triéthylamine puis 2,5 mmol de réactif 1, 2 ou 3. Le mélange est agité 40 min pour 1 à -20°C, 20 min pour 2 et 60 min

Tableau II. Conditions de séparation en HPLC.

Test	Conditions	Temps de rétention
TFA-Val-Val-OMe	43% MeOH	837 s : Bz-Val-Gly-OMe <b>9</b> 1 030 s : TFA-ValValOMe (L,L) <b>10</b> 1 255 s : TFA-ValValOMe (D,L)
	57% H <sub>2</sub> O	
TFA-Val-Pro-OMe	32% MeOH	1 240 s : Bz-Val-Gly-OMe <b>9</b> 1 875 s : TFA-Val-Pro-OMe (D,L) 2 215 s : TFA-Val-Pro-OMe (L,L) <b>11</b>
	68% H <sub>2</sub> O	
Bz-Val-Val-OMe	52% MeOH	500 s : Bz-Val-Gly-OMe <b>9</b> 1 350 s : Bz-Val-Val-OMe (L,L) 1 540 s : Bz-Val-Val-OMe (D,L)
	48% H <sub>2</sub> O	

pour **3** à température ambiante. On ajoute ensuite, à 0°C, 2,5 mmol de chlorure d'aminoester dans 5 mL de dichlorométhane; l'addition terminée, on laisse revenir à température ambiante et on poursuit l'agitation pendant 16 h. On ajoute alors 2,5 mmol (730 mg) de peptide standard (Bz-Val-Gly-OMe) afin de permettre la détermination du rendement par HPLC; la solution est lavée successivement par une solution d'acide citrique 1N, par une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub>, par l'eau puis séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite et le peptide obtenu soumis à l'analyse par HPLC.

Les rendements respectifs des deux peptides **TFA-Val-Val-OMe 10** et **TFA-Val-Pro-OMe 11** sont indiqués dans le tableau I.

#### Couplage dans des conditions « neutres »

On dissout 2,5 mmol d'ester silylé de l'acide amino N-protégé et 2,5 mmol de réactif **1**, **2** ou **3** (+ 5 mmol d'époxydicyclopentane pour **3**) dans 20 mL de dichlorométhane anhydre. La solution est maintenue sous azote et agitée (40 min pour **1** à -20°C, 20 min pour **2** et 60 min pour **3** à température ambiante; on ajoute ensuite à ce mélange 2,5 mmol de N-silylaminoester solubilisé dans 5 mL de dichlorométhane anhydre. Le mélange est agité pendant 16 h puis la solution est traitée comme précédemment (lavages acido-basiques, séchage de la phase organique et évaporation sous pression réduite).

#### • Caractérisation des peptides :

##### ■ N-[N-(trifluoroacétyl)-L-valyl]valinate de méthyle **10**

F = 105°C.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ : 0,9 (m, 12H; CH<sub>3</sub>); 2,1 (m, 2H; CH<sub>3</sub>); 3,8 (s, 3H; OCH<sub>3</sub>); 4,6 (m, 2H; CH<sub>α</sub>); 6,96 (d, J = 8 Hz, 1H; NH); 7,68 (d, J = 8 Hz, 1H; NH).

MS (FAB) : [M + H]<sup>+</sup> m/z 327.

##### ■ N-[N-(Trifluoroacétyl)-L-valyl]prolinate de méthyle **11**

F = 120°C.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ : 0,9 (m, 6H; CH<sub>3</sub>); 2,1 (m, 5H; CH<sub>2</sub>(Pro) et CH(Val)); 3,7 (s, 3H; OCH<sub>3</sub>); 3,6-3,9 (m, 2H; CH<sub>2</sub>(Pro)); 4,5 (m, 1H; CH<sub>α</sub> (Val)); 7,8 (d, J = 8 Hz, 1H; NH).

[M + H]<sup>+</sup> m/z 325.

##### ■ N-(N-Benzoyl-L-valyl)glycinate de méthyle **9**

F = 155°C.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ : 1,0 (d, J = 7 Hz, 6H; CH<sub>3</sub>); 2,2 (m, 1H; -CH<sub>β</sub>); 3,7 (s, 3H; OCH<sub>3</sub>); 4,1 (d, J = 7 Hz, 2H; CH<sub>2</sub> (Gly)); 4,7 (m, 1H; CH<sub>α</sub>); 7,6 (m, 5H; C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,4 (t, J = 7 Hz).

[M + H]<sup>+</sup> m/z 293.

#### Détermination des rendements et de la racémisation par HPLC

Pour la détermination des rendements, après la synthèse du peptide et avant les lavages, 1 équivalent de peptide standard Bz-Val-Gly-OMe est ajouté.

Le tableau II donne les conditions utilisées pour chaque test ainsi que les temps de rétention mesurés.

#### Références

- Carpino LA, Han GY, *J Am Chem Soc* (1970) 92, 5748
- Samukov VV, Sabirov AN, Pozdnyakov PI, *Tetrahedron Lett* (1994) 35, 7821
- Weygand F, Glocker U, *Chem Ber* (1956) 89, 653
- Bodanszky MM, Bednarek MA, Bodanszky A, *Int J Pept Prot Res* (1982) 20, 387
- Bodanszky M, Bodanszky A, *Int J Pept Prot Res* (1984) 24, 563
- Bodanszky M, Bodanszky A, *Int J Pept Prot Res* (1985) 26, 98
- Bodanszky M, Bodanszky A, Casaretto M, Zahn H, *Int J Pept Prot Res* (1985) 26, 550
- Pévère V, *Thèse de Doctorat* (1989), USTL Montpellier
- Ibéa M, *Thèse de Doctorat* (1989), USTL Montpellier
- Jacquier R, Ibéa M, Verducci J, *Rhône-Poulenc Chimie, Brevet N° FR 87-16341*, 1987
- Jacquier R, Pévère V, Verducci J, *Rhône-Poulenc Chimie, Brevet N° FR 87-15398*, 1987
- Miyazawa T, Yamada T, Kuwata S, *Pept Chem* (1982) 69
- Williams MW, Young GT, *J Chem Soc* (1964) 3701
- Weygand F, Geiger R, *Chem Ber* (1956) 89, 647
- Steglich W, Hinze S, *Synthesis* (1976) 399
- Pierce AE, *Silylation of Organic Compounds*, Pierce Chemical Co, Rockford III, 1968, p 218
- Kashtina MV, Ioffe SL, Tartakovski VA, *Russian Chem Rev* (1975) 44, 733
- Miyazawa T, Otomatsu T, Fukui Y, Yamada T, Kuwata S, *Int J Pept Prot Res* (1992) 39, 308
- Stadler PA, *Helv Chem Acta* (1978) 61, 1675