

Peptidsynthesen mit 3'-Iod-L-tyrosin, II<sup>1,2)</sup>

## Synthese von Peptiden mit 3'-Iod-L-tyrosin ohne Blockierung der Phenolfunktion

Barbara Rzeszotarska\*, Barbara Nadolska und Jerzy Tarnawski

Chemisches Institut der Pädagogischen Hochschule Opole,  
Ulica Oleska 48, P-45-052 Opole, Polen

Eingegangen am 4. August 1980

3'-Iod-L-tyrosin (Ity<sup>3)</sup>) kann ohne Schutz der phenolischen Hydroxygruppe in konventionellen Peptidsynthesen Verwendung finden, wie am Beispiel der Synthesen einiger Modellpeptide mit Glycin gezeigt wird.

### Peptide Syntheses with 3'-Iodo-L-tyrosine, II<sup>1,2)</sup>. – Syntheses of Peptides with 3'-Iodo-L-tyrosine without Blocking of the Phenol Function

3'-Iodo-L-tyrosine (Ity<sup>3)</sup>) can be used for conventional peptide syntheses without protection of the phenolic hydroxy group as shown by several examples of glycine model peptide syntheses.

In der vorangegangenen Mitteilung<sup>2)</sup> berichteten wir über einige Peptidsynthesen mit 3'-Iod-L-tyrosin (Ity<sup>3)</sup>), dessen Phenolgruppe durch den Benzylrest geschützt war. Ity läßt sich auch ohne Schutz der Hydroxygruppe zu Peptidsynthesen verwenden, was an einigen Beispielen hier gezeigt wird.

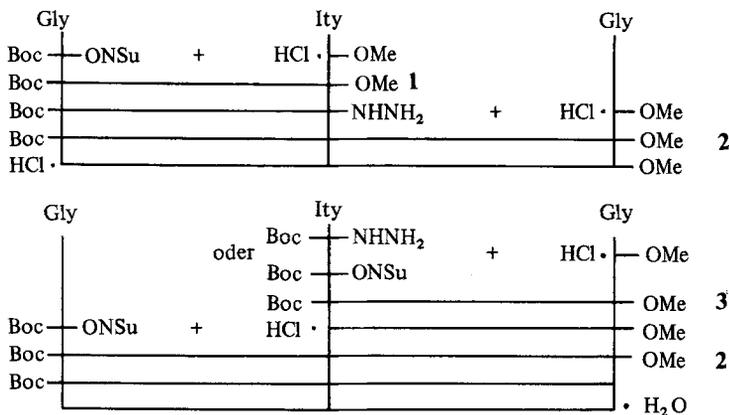
Zur Abtrennung kleiner Mengen von 3',5'-Diiodytyrosin und Tyrosin vom Ity eignet sich die Kristallisation des Ity-methylester-hydrochlorids (das mit Thionylchlorid in Methanol erhalten wurde) mit darauffolgender Esterverseifung. Bei einer direkten Veresterung von Ity mit HCl in Methanol trat merkliche Disproportionierung zu Tyrosin und Diiodytyrosin ein. Aus chromatographisch reinem Ity und seinem Methylester wurden die Boc- und Z-Derivate hergestellt. Die bei Einführung von Boc oder Z in geringer Menge entstandenen O-acylierten Nebenprodukte wurden mit Ammoniak zerlegt. Boc – Ity kristallisierte mit einem mol Ethylacetat. Z – Ity – ONSu<sup>3)</sup> bildet mit organischen Lösungsmitteln Addukte, die durch unscharfe Schmelzpunkte gekennzeichnet sind. In beiden Fällen sind die Lösungsmittel äußerst fest gebunden. Mit den beschriebenen Derivaten von Ity haben wir unter Anwendung bekannter Methoden die in den Schemata 1 – 3 aufgezeichneten Synthesen der geschützten Modellpeptide 1 – 6 mit Glycin durchgeführt.

Die Peptidsynthesen mit ONSu-Derivaten wurden wegen des späteren Auftretens eines nicht einfach abtrennbaren Nebenprodukts nicht länger als 2 Stunden durchgeführt; nicht umgesetzter Ester wurde mit *N,N*-Dimethylethylendiamin in das basische Amid übergeführt, das mit Salzsäure aus der Ethylacetatlösung extrahiert wurde. Eine der Synthesen von Z – Gly – Ity – Gly – OMe wurde mit Hilfe von DCCI + HOBT<sup>3,4)</sup> mit

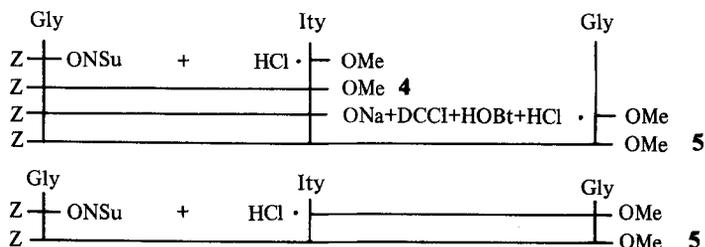
Liebigs Ann. Chem. 1981

ungereinigtem Natriumsalz<sup>5)</sup> von Z-Gly-Ity-OMe ausgeführt. Die alkalische Ester-verseifung der Ity-Peptide verlief wie üblich. Für die Abspaltung des Boc-Rests eignete sich HCl in Diethylether, während HCl in Methanol oder Dioxan zu Nebenprodukten führten. Die Z-Gruppe wurde mit TFA<sup>3)</sup> bei 38°C entfernt<sup>2)</sup>.

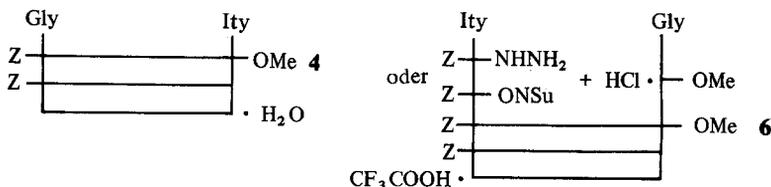
Schema 1



Schema 2



Schema 3



Diese Arbeit wurde im Rahmen des Objekts MR I-12 durch das Institut für Organische Chemie der Polnischen Akademie der Wissenschaften finanziell unterstützt.

### Experimenteller Teil

Verdampfen von Lösungsmitteln bedeutet Abdestillieren im Rotationsverdampfer bei 20–30°C. – Lösungsmittel zur Kristallisation, Schmelzpunkte (unkorrigiert, Boëtius-Heiztischmikroskop), optische Drehwerte (Polamat A der Fa. C. Zeiss) und Analysendaten der dargestellten Verbindungen sind in den Tabellen 1 und 2 aufgeführt. – Die Präparate wurden durch DC an Kieselgel 60 (Fa. Merck) auf Einheitlichkeit geprüft; Fließmittel: A = Phenol/Wasser (3:1), B = Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:1), C = Butanol/Eisessig/Ethylacetat/Wasser (1:1:1:1), D = Chloroform/Eisessig (15:1), E = Chloroform/Methanol/Eisessig (95:5:3), F = Benzol/Me-

thanol/Eisessig (43:8:4), G = Chloroform/Methanol/25proz. Ammoniak (4:6:1), H = Chloroform/Methanol/25proz. Ammoniak (12:9:4), I = Chloroform/Methanol/Dioxan/25proz. Ammoniak (12:7:5:1), J = Butanol/Pyridin/Wasser (2:1:2), K = Butanol/Pyridin/Eisessig/Wasser (15:10:3:12), L = Butanon/Pyridin/Wasser/Eisessig (70:15:15:2), M = Chloroform/Methanol (4:1), N = Chloroform/Methanol (15:1), O = Chloroform/Aceton (1:1), P = Dioxan/Chloroform (4:1) [dieses System diente zur Reinheitsuntersuchung von Hydrochloriden; vor der Entwicklung des Chromatogramms ließ man auf die sich auf der Startlinie befindenden Verbindungen Diethylamin einwirken], R = 2-Propanol/Wasser (7:4). Die Substanzen wurden mit Ninhydrin oder Chlor-Tollidin-Reagenz sichtbar gemacht. – Die Massenspektren wurden mit einem Spektrometer LKB 2091 aufgenommen (70 eV). – Abkürzungen in Fußnote<sup>3</sup>).

**3'-Iod-L-tyrosin-methylester-hydrochlorid:** In eine unter  $-5^{\circ}\text{C}$  abgekühlte Suspension von 24.808 g (80.8 mmol) Ity (Handelspräparat) in 247 ml absol. Methanol wurden unter Rühren 10.5 ml (88.7 mmol) Thionylchlorid so langsam getropft, daß die Temp. unterhalb  $-5^{\circ}\text{C}$  blieb. Nach 41 h bei  $20^{\circ}\text{C}$  wurde das Methanol abgedampft und der Rückstand aus Methanol/Diethylether fraktionierend kristallisiert. Die Fraktionen wurden durch DC auf Tyrosin-methylester untersucht ( $\text{HCl} \cdot \text{Tyr} - \text{OMe}$ :  $R_F$  in P = 0.40,  $\text{HCl} \cdot \text{Ity} - \text{OMe}$ :  $R_F$  = 0.22). Die ersten Fraktionen (ca. 24 g), welche Spuren von  $\text{HCl} \cdot \text{Tyr} - \text{OMe}$  enthielten, wurden vereinigt und nochmals wie oben fraktionierend kristallisiert. Dabei bestanden die drei ersten Fraktionen (21.928 g, 76%) aus reinem Produkt. –  $R_F$  in A = 0.83, in I = 0.61, in L = 0.77, in P = 0.22.

**3'-Iod-L-tyrosin** (chromatographisch rein<sup>8</sup>): 35.75 g (100 mmol) des voranstehenden Esters wurden in 88.5 ml 3.4 N NaOH (300 mmol) gelöst und nach 2 h mit 50.5 ml 3.95 N HCl (200 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 24 h im Kühlschrank aufbewahrt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und mit kaltem Wasser gewaschen. Ausb. 29.26 g (95%); Schmp.  $210.5$  bis  $211^{\circ}\text{C}$  (Zers.) [Lit.<sup>6</sup>]:  $204 - 206^{\circ}\text{C}$  (Zers.)]. –  $R_F$  in A = 0.44, in B = 0.42.

**Boc-3'-Iod-L-tyrosin-methylester:** In eine Suspension von 21.46 g (60 mmol) des voranstehenden Esters in 375 ml Chloroform wurde während 30 min trocknes Ammoniak eingeleitet. Dann wurde das Ammoniumchlorid abfiltriert und das Chloroform abgedampft. Zur Lösung des Rückstands in 30 ml Pyridin wurden 18 ml (130 mmol) Boc-Azid gegeben. Nach 4.5 Tagen wurde eingedampft, der Rückstand in Ethylacetat gelöst, mit 1 N HCl und Wasser gewaschen und nach Abdampfen von Ethylacetat in Methanol über Aktivkohle stehengelassen. Nach Filtrieren und Abdampfen des Lösungsmittels erhielt man 20.22 g (80%) Produkt. –  $R_F$  in D = 0.60, in G = 0.77, in K = 0.91, in M = 0.77.

**Z-3'-Iod-L-tyrosin-methylester:** 3.56 g (12 mmol) des oben beschriebenen freien Esters wurden in 5.6 ml Pyridin gelöst; die Lösung wurde mit 5.03 g (18 mmol) Benzyl-8-chinolylylcarbonat<sup>7</sup>) versetzt und nach 23 h abgedampft. Die Lösung des Rückstands in Ethylacetat wurde mit 1 N HCl bis zum Verschwinden der gelben Farbe extrahiert und dann mit 1.15 ml 5.12 N HCl (6 mmol) in Dioxan versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, das Filtrat mit 1 N  $\text{KHCO}_3$  und Wasser gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdampfen blieben 4.48 g (82%) Produkt zurück. –  $R_F$  in D = 0.58, in G = 0.80, in I = 0.72, in K = 0.66, in M = 0.70.

**Boc-3'-Iod-L-tyrosin-ethylacetat:** Zur Lösung von 6.140 g (20 mmol) Ity (chromatographisch rein<sup>8</sup>) in 10.0 ml 3.65 N NaOH (36.5 mmol) und 4 ml Wasser wurden unter Rühren 4 ml Dioxan und 3.06 ml (24.0 mmol) Boc-Azid gegeben. Die Lösung wurde noch 24 h gerührt; während dieser Zeit wurden weitere ca. 3.64 ml N NaOH bis zum Erreichen von pH 9.8 zugesetzt. Danach wurde mit Diethylether extrahiert und abgedampft. Der Rückstand wurde in 10 ml konz. Ammoniak gelöst, die Lösung nach 2 h eingedampft, der Rückstand in Wasser gelöst, die Lösung mit Ethylacetat extrahiert, mit HCl auf pH 3 angesäuert und wieder mit Ethylacetat extrahiert. Nach Abdampfen des Ethylacetats erhielt man 8.618 g (87%) Produkt. – MS bei  $20^{\circ}\text{C}$ :  $m/e = 43$

(100%), 29 (40%); MS bei 150°C:  $m/e = 350$  [6%];  $M^+ - (CH_3)_3C$ . –  $R_F$  in D = 0.26, in G = 0.73, in I = 0.26, in K = 0.76, in M = 0.51.

*Z-3'-Iod-L-tyrosin*: Die Lösung von 2.457 g (8 mmol) Ity (chromatographisch rein<sup>8)</sup>) in 8 ml 2 N NaOH (16 mmol) wurde mit einer Lösung von 3.352 g (12 mmol) Benzyl-8-chinolylicarbonat<sup>7)</sup> in 12 ml Dimethylformamid versetzt, 10 min kräftig geschüttelt und danach 1 h bei 20°C stehengelassen. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand in Wasser gelöst, die Lösung mit Ethylacetat extrahiert, eingedampft und der Rückstand in 2 ml konz. Ammoniak gelöst. Nach 45 min wurde eingedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und die wäßrige Lösung mit Ethylacetat extrahiert, mit HCl auf pH 3 angesäuert und wiederum mit Ethylacetat extrahiert. Nach Eindampfen erhielt man 3.071 g (87%) Produkt. –  $R_F$  in D = 0.26, in G = 0.64, in I = 0.14, in K = 0.70, in M = 0.43.

*Dicyclohexylammoniumsalze*: In eine auf 5°C abgekühlte Lösung von 1.84 mmol Boc-Ity oder Z-Ity in 3 ml Diethylether wurden 0.4 ml (2 mmol) Dicyclohexylamin (DCHA) eingebracht. Der Ansatz wurde über Nacht bei –5°C aufbewahrt und der Niederschlag abfiltriert. Ausb. 1.050 g (97%) bzw. 2.076 g (97%) DCHA-Salze.

*N-Hydroxysuccinimidester*: Zu einer auf 5°C gekühlten Lösung von 10 mmol Boc-Ity oder Z-Ity und 1.151 g (10 mmol) N-Hydroxysuccinimid in 12 ml Dioxan wurden 2.063 g (10 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCCI) gegeben; die Mischung wurde bei 3°C stehengelassen. Nach 18 h wurde von 2.198 g (98%) Dicyclohexylharnstoff abfiltriert und das Lösungsmittel abgedampft. Im Fall von Z-Ity-ONSu wurde der Rückstand in Aceton gelöst und das Lösungsmittel abgedampft. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt. Ausb. 4.186 g (83%) Boc-Ity-ONSu bzw. 5.904 g (99%) Z-Ity-ONSu + Aceton. – MS bei 45°C:  $m/e = 58$  (25%), 43 (100%); MS bei 210°C:  $m/e = 447$  (8%);  $M^+ - C_6H_5CH_2$ .

*Hydrazide*: Die Lösung von 20 mmol der N-geschützten Methylester in 30–60 ml Methanol wurde mit 3 ml (60 mmol) Hydrazin-hydrat versetzt und der Ansatz 24 h bei 20°C, danach über Nacht im Kühlschrank stehengelassen, wobei sich die Hydrazide abschieden. Boc-Gly-Ity-NHNH<sub>2</sub> wurde auf dem Filter mit Wasser bis pH 7 gewaschen. – Die Ausbeuten und charakteristischen Daten der Produkte sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengestellt.

Boc-Ity-NHNH<sub>2</sub>:  $R_F$  in D = 0.21, in G = 0.73, in K = 0.75, in L = 0.96, in M = 0.40.

Z-Ity-NHNH<sub>2</sub>:  $R_F$  in D = 0.25, in I = 0.57, in K = 0.67, in M = 0.51.

Boc-Gly-Ity-NHNH<sub>2</sub>:  $R_F$  in B = 0.83, in C = 0.78, in G = 0.58, in H = 0.80, in I = 0.56, in L = 0.90, in M = 0.71.

*Hydrolyse von Boc-Ity-OMe, Z-Ity-OMe und N-geschützten Peptidestern*: 5 mmol N-geschützte Verbindung wurden in 5 ml Aceton gelöst (falls notwendig unter Erwärmen mit darauffolgender Abkühlung auf Raumtemp.); dazu wurden 5.25 ml 2 N NaOH (10.5 mmol) gegeben. Nach 2 h wurde das Aceton abgedampft, die wäßrige Lösung mit Ethylacetat gewaschen, mit HCl auf pH 3 angesäuert und mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Die Ausbeuten und charakteristischen Daten der Produkte sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengestellt.

Boc-Ity:  $R_F$  in D = 0.26, in G = 0.73, in I = 0.26, in K = 0.76, in M = 0.51.

Z-Ity:  $R_F$  in D = 0.26, in G = 0.64, in I = 0.14, in K = 0.70, in M = 0.43.

Boc-Gly-Ity-Gly:  $R_F$  in A = 0.54, in C = 0.83, in I = 0.13, in K = 0.56, in R = 0.47.

Z-Gly-Ity:  $R_F$  in A = 0.53, in F = 0.17, in I = 0.34, in L = 0.76, in R = 0.82.

Z-Ity-Gly:  $R_F$  in A = 0.52, in F = 0.32, in I = 0.12, in L = 0.71, in R = 0.78.

Tab. 1. Hergestellte Derivate von 3'-Iod-L-tyrosin

Produkt	Umkrist. aus <sup>a)</sup> Schmp. [°C]	% Ausb.	$[\alpha]_{346}^{19-27^b)}$ (c = 1)	Summenformel (Molmasse)	N	C	H	I
Ity-OMe · HCl	I/II 194,5–197	76–87	+8,0 I	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> ClINO <sub>3</sub> (357,6)	Ber. 35,59 Gef. 35,45	3,67	35,49	3,92 <sup>b)</sup> 3,62
Boc-Ity-OMe	II/VI 101–103	80	+19,0 I	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> INO <sub>5</sub> (421,2)	Ber. 42,77 Gef. 42,57	4,79	30,13	3,33 3,32
Z-Ity-OMe	II/VI 99,5–101	82	+2,0 I	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> INO <sub>5</sub> (455,2)	Ber. 47,49 Gef. 47,75	3,99	27,88	3,08 3,09
Boc-Ity-NHNH <sub>2</sub>	I 188–188,5 (Zers.)	85	+26,0 I	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> IN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (421,2)	Ber. 39,92 Gef. 40,10	4,79	30,13	9,98 10,20
Boc-Ity · CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	III/VI 82–83,5 <sup>c)</sup> 83–85,5 <sup>d)</sup>	83 87	+25,0 III	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> INO <sub>7</sub> (495,3)	Ber. 43,65 Gef. 43,48	5,29	25,62	2,83 3,12
Z-Ity	III/VI 123–124 <sup>e)</sup> 123–124 <sup>d)</sup>	91 87	+12,0 I	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> INO <sub>5</sub> (441,2)	Ber. 46,28 Gef. 46,18	3,66	28,76	3,17 3,20
Z-Ity-NHNH <sub>2</sub>	Rohprodukt 211,5–213 (Zers.)	94	–7,0 VII	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> IN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (455,2)	Ber. 44,85 Gef. 44,55	3,99	27,88	9,23 9,20
Boc-Ity · DCHA	IV 124–125	97	+34,0 I	C <sub>26</sub> H <sub>41</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (588,5)	Ber. 53,06 Gef. 53,24	7,02	21,56	4,76 4,73
Boc-Ity-ONSu	V 169–170	83	+20,0 III	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (504,3)	Ber. 42,87 Gef. 42,69	4,20	25,17	5,56 5,29
Z-Ity-ONSu · CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	Amorph	99	–25,0 III	C <sub>24</sub> H <sub>25</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>8</sub> (596,4)	Ber. 48,34 Gef. 48,36	4,22	21,28	4,70 4,91
Z-Ity · DCHA	IV 164–165	97	+37,0 I	C <sub>29</sub> H <sub>39</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (622,5)	Ber. 55,95 Gef. 56,23	6,31	20,38	4,50 4,23

<sup>a)</sup> Verwendete Lösungsmittel: I = Methanol, II = Diethylether, III = Essigester, IV = Ethanol, V = 2-Propanol, VI = Petrolether, siedend im Bereich 40–60°C, VII = *N,N*-Dimethylformamid. – <sup>b)</sup> Cl: ber. 9,92%, gef. 9,72%. – <sup>c)</sup> Darstellung aus Boc-Ity-OMe. – <sup>d)</sup> Darstellung aus 3'-Iod-L-tyrosin. – <sup>e)</sup> Darstellung aus Z-Ity-OMe.

Tab. 2. Hergestellte Peptide mit 3'-Iod-L-tyrosin

Produkt	Umkrist. aus <sup>a)</sup> Schmp. [°C]	% Ausb.	$[\alpha]_{346}^{19-27^b)}$ (c = 1)	Summenformel (Molmasse)	N	C	H	I
Boc-Gly-Ity-OMe (1)	I/IV 133-133.5	88	+ 8.0 V	C <sub>17</sub> H <sub>27</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>6</sub> (478.3)	Ber. 42.69 Gef. 42.83	4.85	26.53	5.86 6.00
Boc-Gly-Ity-NHNH <sub>2</sub>	II/IV 198-199 (Zers.)	82	+ 4.0 II	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> IN <sub>4</sub> O <sub>5</sub> (478.3)	Ber. 40.18 Gef. 39.95	4.85	26.53	11.72 11.70
Boc-Gly-Ity-Gly-OMe (2)	III/IV 88-90 <sup>b)</sup> 88-90 <sup>c)</sup> Rohprodukt 150-153	82 84 99	+ 1.0 III + 15.0 III	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> IN <sub>3</sub> O <sub>7</sub> (535.3)	Ber. 42.63 Gef. 42.52	4.90	23.71	7.85 7.70
Gly-Ity-Gly-OMe · HCl	Rohprodukt	99	+ 15.0 III	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> ClIN <sub>3</sub> O <sub>5</sub> (471.7)	Ber. 35.65 Gef. 35.47	4.06	26.80	8.91 8.70
Boc-Ity-Gly-OMe (3)	III/IV 141-141.5 <sup>d)</sup> 141.5-142 <sup>e)</sup> Rohprodukt 132-135	89 82 99	+ 10.0 III + 27.0 III	C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>6</sub> (478.3)	Ber. 42.69 Gef. 42.62	4.85	26.53	5.86 5.65
Ity-Gly-OMe · HCl	Rohprodukt	99	+ 27.0 III	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> ClIN <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (414.6)	Ber. 34.76 Gef. 34.49	3.89	30.61	6.76 <sup>d)</sup> 6.53
Boc-Gly-Ity-Gly	Amorph	93	+ 4.0 III	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> IN <sub>3</sub> O <sub>7</sub> (521.3)	Ber. 41.46 Gef. 41.59	4.64	24.35	8.06 7.76
Gly-Ity-Gly · H <sub>2</sub> O	IV/VI 200-203 (Zers.)	83	+ 7.0 IV	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> IN <sub>3</sub> O <sub>6</sub> (439.2)	Ber. 35.55 Gef. 35.59	4.13	28.88	9.57 9.29

Tab. 2 (Fortsetzung)

Produkt	Umkrist. aus <sup>a)</sup> Schmp. [°C]	% Ausb.	[α] <sub>D</sub> <sup>19-27<sup>b)</sup></sup> (c = 1)	Summenformel (Molmasse)	Analyse			
					N	C	H	I
Z-Gly-Ity-OMe (4)	III/IV 140-141	85	+34.5 V	C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>6</sub> (512.3)	Ber. 46.89 Gef. 47.18	4.13 4.42	24.77 24.97	5.47 5.26
Z-Gly-Ity-Gly-OMe (5)	III/IV 137-138 <sup>e)</sup> 136-137 <sup>b)</sup>	80 85	+1.0 III	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> IN <sub>3</sub> O <sub>7</sub> (569.4)	Ber. 46.41 Gef. 46.43	4.25 4.54	22.29 22.41	7.38 7.30
Z-Gly-Ity	I/IV 152-154	84	+56.0 V	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>6</sub> (498.3)	Ber. 45.80 Gef. 46.02	3.84 4.12	25.47 25.32	5.62 5.37
Gly-Ity · H <sub>2</sub> O	Rohprodukt 196-198 <sup>b)</sup>	91	+39.0 <sup>b)</sup> VIII	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (382.3)	Ber. 34.55 Gef. 34.52	3.96 4.03	33.21 33.01	7.33 7.14
Z-Ity-Gly-OMe (6)	V 149-150 <sup>b)</sup> 150-151 <sup>b)</sup>	85 83	-3.0 III	C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>6</sub> (512.3)	Ber. 46.89 Gef. 46.99	4.13 4.20	24.77 24.57	5.47 5.44
Z-Ity-Gly	I/IV 174-176	84	-4.0 V	(C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>6</sub> (498.3)	Ber. 45.80 Gef. 45.93	3.84 4.16	25.47 25.49	5.62 5.42
Ity-Gly · CF <sub>3</sub> COOH	III/VII 172-174 <sup>b)</sup>	79	+12.0 <sup>b)</sup> CF <sub>3</sub> COOH	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> IN <sub>2</sub> O <sub>6</sub> (478.2)	Ber. 32.65 Gef. 32.46	2.95 3.03	26.55 26.71	5.86 5.81

a) Verwendete Lösungsmittel: I = 2-Propanol, II = N,N-Dimethylformamid, III = Methanol, IV = Wasser, V = Essigester, VI = Aceton, VII = Diäthylether, VIII = Dimethylsulfoxid. - <sup>b)</sup> Darstellung aus I (über Hydrazid, Azid) + Gly-OMe. - <sup>c)</sup> Darstellung aus Boc-Gly-ONSu + 3 (nach Boc-Abspaltung). - <sup>d)</sup> Darstellung aus Boc-Ity-NHNH<sub>2</sub>. - <sup>e)</sup> Darstellung aus Boc-Ity-ONSu. - <sup>f)</sup> Cl: ber. 8.55%, gef. 8.42%. - <sup>g)</sup> Bei der Darstellung aus 4 (nach Esterverseifung aus ungetrenntem Natriumsalz) + HCl · Gly-OMe mit DCCI + HOBt; Rekryst. aus V. - <sup>h)</sup> Darstellung aus Z-Gly-ONSu + 3 (nach Boc-Abspaltung). - <sup>i)</sup> Lit.<sup>2)</sup>; Schmp. 201-204°C, [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> = +38.0 (c = 1, in VIII). - <sup>j)</sup> Darstellung aus Z-Ity-NHNH<sub>2</sub>. - <sup>k)</sup> Darstellung aus Z-Ity-ONSu. - <sup>l)</sup> Lit.<sup>2)</sup>; Schmp. 167-169°C, [α]<sub>D</sub><sup>346</sup> = +11.0 (c = 1, in CF<sub>3</sub>COOH).

*Synthese der Peptide 1–6 nach der N-Hydroxysuccinimidester-Methode:* Zu einer Lösung oder Suspension von je 5 mmol HCl · Ity – OMe, HCl · Gly – OMe oder HCl · Ity – Gly – OMe in 5 ml *N,N*-Dimethylformamid wurden unter Rühren 0.70 ml (5 mmol) Triethylamin und nach 15 min 5 mol Boc – Gly – ONSu, Z – Gly – ONSu, Boc – Ity – ONSu oder Z – Ity – ONSu gegeben. Nach 1.5 h wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand in Ethylacetat gelöst und die Lösung mit 1 *N* HCl, 5proz. KHCO<sub>3</sub> sowie Wasser gewaschen. Etwa nicht umgesetzter *N*-Hydroxysuccinimidester wurde durch Zugabe von 0.80 ml (7.5 mmol) *N,N*-Dimethylethylendiamin und 1stdg. Stehenlassen ins Amid verwandelt, das aus der Essigesterlösung mit 1 *N* HCl und Wasser ausgewaschen wurde. Danach wurde die Lösung über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel abgedampft. Die Ausbeuten und charakteristischen Daten der Produkte sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengestellt.

1:  $R_F$  in D = 0.31, in F = 0.62, in I = 0.64, in K = 0.80, in M = 0.39.

2:  $R_F$  in C = 0.80, in I = 0.76, in K = 0.75, in L = 0.91, in M = 0.69.

3:  $R_F$  in D = 0.52, in I = 0.57, in K = 0.67, in M = 0.84.

4:  $R_F$  in B = 0.87, in D = 0.23, in E = 0.53, in F = 0.53, in I = 0.82, in K = 0.79, in M = 0.72.

5:  $R_F$  in B = 0.87, in E = 0.61, in I = 0.63, in K = 0.70, in M = 0.61, in O = 0.56.

6:  $R_F$  in D = 0.30, in E = 0.44, in I = 0.52, in K = 0.83, in M = 0.71.

*Synthese der Peptide 2, 3 und 6 nach der Azid-Methode:* Zu einer auf –40°C abgekühlten Lösung von 10 mmol Boc – Gly – Ity – NHNH<sub>2</sub>, Boc – Ity – NHNH<sub>2</sub> oder Z – Ity – NHNH<sub>2</sub> in 10 ml Dimethylformamid wurden unter Rühren 4.30 ml 4.65 *N* HCl (20 mmol) in Dioxan und 1.35 ml (10 mmol) abgekühltes Isopentylnitrit gegeben. Nach 2 h wurden bei –40°C 2.8 ml (20 mmol) Triethylamin zugegeben, gefolgt von einer Mischung von 1.256 g (10 mmol) HCl · Gly – Ome und 1.4 ml (10 mmol) Triethylamin in 10 ml *N,N*-Dimethylformamid. Darauf wurde die Reaktionsmischung auf –5°C erwärmt und 14 h bei dieser Temp. stehengelassen. Nach weiteren 6 h bei 20°C wurde eingedampft, der Rückstand in Ethylacetat gelöst und die Lösung mit 1 *N* HCl, 5proz. KHCO<sub>3</sub> und Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Die Ausbeuten und charakteristischen Daten der Produkte sind in den Tabellen 2 zusammengestellt. Die  $R_F$ -Werte waren den oben angegebenen gleich.

*Gly – Ity – Gly · HCl und Ity – Gly · HCl:* 4.5 mmol 2 oder 3 wurden in 15.8 ml 5.71 *N* HCl (90 mmol) in Diethylether suspendiert. Nach 50 min wurde das Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand in Diethylether suspendiert und eingedampft. Suspendieren und Abdampfen wurde noch dreimal wiederholt. Der Rückstand wurde über KOH i. Vak. getrocknet. Ausb. 2.101 g (99%) Tripeptidester-hydrochlorid bzw. 1.851 g (99%) Dipeptidester-hydrochlorid.

Gly – Ity – Gly · HCl:  $R_F$  in A = 0.54, in B = 0.47, in C = 0.56, in I = 0.51, in K = 0.53, in L = 0.66, in P = 0.14.

Ity – Gly · HCl:  $R_F$  in B = 0.37, in I = 0.63, in L = 0.87, in M = 0.17.

*Z – Gly – Ity – Gly – Ome (5) aus 4:* 1.025 g (2 mmol) 4 wurden in der Wärme in 2 ml Aceton gelöst. Zur abgekühlten Lösung wurden 2 ml 2 *N* NaOH (4 mmol) gegeben. Nach 1 h wurde das Aceton abgedampft, zur wäßrigen Lösung 1 ml 2 *N* HCl (2 mmol) zugesetzt und eingedampft. Der Rückstand wurde in 2 ml *N,N*-Dimethylformamid gelöst und mit 0.251 g (2 mmol) HCl · Gly – Ome sowie 0.284 g (2.1 mmol) HOBt versetzt. Nach Abkühlung auf –5°C und Zugabe von 0.433 g (2.1 mmol) DCCI wurde 20 h bei Raumtemp. stehengelassen. Der Dicyclohexylharnstoff wurde abfiltriert und das Dimethylformamid abgedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und die Lösung mit 1 *N* HCl, 5proz. KHCO<sub>3</sub> und Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in Dioxan gelöst, die Lösung mit Diethylether

versetzt und 3 h bei 3°C aufbewahrt. Der Niederschlag (Dicyclohexylharnstoff) wurde abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Ausb. 0.911 g (80%) **5**. –  $R_F$  in B = 0.87, in E = 0.61, in I = 0.63, in K = 0.70, in M = 0.61, in O = 0.56.

*Gly-Ity-Gly · H<sub>2</sub>O*: Zur Lösung von 0.559 g (1.07 mmol) Boc-Gly-Ity-Gly (aus **2** durch alkalische Verseifung erhalten) in 1 ml Dioxan wurden 4.18 ml 5.12 N HCl (21.4 mmol) in Dioxan gegeben. Nach 10 min wurde Diethylether zugesetzt und das Lösungsmittel abgedampft. Das Produkt wurde mit Diethylether neutral gewaschen und in 1 ml Methanol gelöst. Zur Lösung wurden 0.15 ml (1.1 mmol) Triethylamin gegeben, wobei das Tripeptid ausfiel. Ausb. 0.391 g (83%). –  $R_F$  in A = 0.30, in J = 0.52, in K = 0.37, in R = 0.68.

*Gly-Ity · H<sub>2</sub>O*: 0.160 g (0.32 mmol) Z-Gly-Ity (aus **4** durch alkalische Verseifung erhalten) wurden in 32 ml TFA/Anisol (9:1) 5 h bei 38°C stehengelassen. Danach wurde das Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand mit siedendem Diethylether (10mal 20 ml) extrahiert, dann in 5 ml Methanol unter Erhitzen gelöst. Der nach Abkühlen ausgeschiedene Niederschlag wurde filtriert (0.078 g), das methanolische Filtrat eingedampft, der Rückstand mit siedendem Diethylether extrahiert (5mal 20 ml) und in 3 ml Methanol unter Erhitzen gelöst. Der nach Abkühlen ausgeschiedene Niederschlag wurde abfiltriert (0.027 g). Gesamtausb. 0.105 g (91%). –  $R_F$  in A = 0.34, in J = 0.43, in K = 0.40, in R = 0.67.

*Ity-Gly-CF<sub>3</sub>COOH*: 0.498 g (1 mmol) Z-Ity-Gly (aus **6** durch alkalische Verseifung erhalten) wurden in 100 ml TFA/Anisol (9:1) 7 h bei 38°C stehengelassen. Danach wurde das Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand mit siedendem Diethylether (10mal 20 ml) extrahiert und das Produkt als Rückstand der ersten Fraktion erhalten. Die verinigten Extrakte wurden eingedampft, und der Rückstand wurde wiederum mit siedendem Diethylether (5mal 20 ml) extrahiert. Der Rückstand aus der zweiten Fraktion bestand aus dem Produkt. Beide Produkte wurden vereinigt; Ausb. 0.379 g (79%). –  $R_F$  in A = 0.38, in J = 0.47, in K = 0.46, in R = 0.69.

<sup>1)</sup> Vorläufige Mitteilungen: B. Rzeszotarska, K. Pawełczak, B. Nadolska und J. Tarnawski in Peptides 1978. Proceedings of the Fifteenth European Peptide Symposium, Gdańsk 1978 (I. Z. Siemion und G. Kupryszewski), S. 191, Wrocław University Press, 1979; B. Rzeszotarska, B. Nadolska und J. Tarnawski in V. Konferenz „Chemie der Aminosäuren und Peptide“ in Bronisławowo 1979, S. 65, Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź 1979.

<sup>2)</sup> I. Mitteilung: J. Tarnawski, B. Rzeszotarska, B. Nadolska und K. Pawełczak, Liebigs Ann. Chem. 1979, 761.

<sup>3)</sup> Abkürzungen: Ity = 3'-Iod-L-tyrosin, -OMe = Methyl ester, -ONSu = N-Hydroxysuccinimidester, Boc = tert-Butoxycarbonyl, Z = Benzoyloxycarbonyl, DCHA = Dicyclohexylamin, DCCI = Dicyclohexylcarbodiimid, HOBt = 1-Hydroxybenzotriazol, TFA = Trifluoressigsäure.

<sup>4)</sup> W. König und R. Geiger, Chem. Ber. 103, 788 (1970).

<sup>5)</sup> B. Rzeszotarska, E. Masiukiewicz und B. Nadolska, Poln. Pat. 108951 (4. Okt. 1979).

<sup>6)</sup> C. R. Harington und R. Pitt-Rivers, Biochem. J. 38, 320 (1944).

<sup>7)</sup> B. Rzeszotarska und G. Pałka, Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Chim., 16, 23 (1968).

<sup>8)</sup> Dünnschichtchromatographisch weniger als 0.5% Verunreinigungen nachweisbar.