

Synthesen von selenhaltigen Peptiden, I

Zur Darstellung von *Se*-Benzyl-DL- und -L-selenocystein enthaltenden Di- und Tripeptiden*

Von

Werner Frank

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Tübingen
(Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Weitzel)

(Der Schriftleitung zugegangen am 10. Juli 1964)

In den letzten Jahren wurde eine Reihe von Arbeiten veröffentlicht, die sich mit dem Vorkommen von organisch gebundenem Selen im Pflanzen- und Tierreich beschäftigten¹. So konnte durch Isotopenversuche gezeigt werden, daß radioaktives Selen an Stelle von Schwefel in Eiweiß² und Wachse³ eingebaut wird. Bei *Lactobacillus helveticus* kann Panthetin durch die analoge Selenverbindung vollständig ersetzt werden⁴. Durch Cystin- und Vitamin-E-Mangelkost läßt sich bei Ratten eine Lebernekrose erzeugen, die durch Zugabe eines selenhaltigen Faktors aus Schweinenieren, aber auch durch Verfütterung von anorganischen und einfachen organischen Selenverbindungen verhindert werden kann⁵. Ein ähnlicher nekroseverhindernder, selenhaltiger Faktor scheint auch in der Milch vorhanden zu sein⁶.

Diese Befunde legten nahe, selenhaltige Peptide zu synthetisieren und sie an biologischem Material zu testen.

Als Ausgangsverbindung für alle Synthesen dienten *Se*-Benzyl-DL- und -L-selenocystein. Die racemische Verbindung wurde bereits von drei Autoren beschrieben⁷.

* In den hier verwendeten Trivialnamen bedeutet „Seleno-“ den Ersatz von Schwefel durch Selen, z. B. *Se*-Benzyl-selenocystein = [2-Amino-2-carboxy-äthyl]-benzyl-selenid (= Benzyl-seleno-alanin = $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot Se \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot CO_2H$).

¹ M. J. Horn, *J. biol. Chemistry* **139**, 649 [1941]; A. Smith u. A. L. Moxon, *Proc. South Dakota Acad. Sci.* **28**, 46 [1949]; S. F. Trelease, A. A. DiSomma u. A. L. Jakobs, *Science [Washington]* **132**, 618 [1960].

² K. P. McConnell u. B. J. Cooper, *J. biol. Chemistry* **183**, 459 [1950]; K. P. McConnell u. E. J. Van Loon, ebenda **212**, 747 [1955]; K. P. McConnell u. C. H. Wabnitz, ebenda **226**, 765 [1957]; A. Schrift, *Amer. J. Bot.* **41**, 223 [1954].

³ R. J. McColloch, J. W. Hamilton u. S. K. Brown, *Biochem. biophysic. Res. Commun.* **11**, 7 [1963].

⁴ H. G. Mautner u. W. H. Günther, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 2762 [1960].

⁵ K. Schwarz, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 3292 [1957]; *J. biol. Chemistry* **233**, 248 [1958].

⁶ H. Fink, *Naturwissenschaften* **21**, 449 [1960].

⁷ A. Fredga, *Svensk. kem. Tidskr.* **48**, 160 [1936]; R. Williams u. A. Rave, *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 1244 [1948]; E. P. Painter, ebenda **69**, 229 [1947].

Fredga setzte DL-3-Chlor-2-amino-propionsäure mit K_2Se_2 in alkalischer Lösung um unter Sauerstoffausschluß. Das entstandene dem Cystin entsprechende DL-Diselenid spaltete er mit Quecksilber an der *Se-Se*-Bindung und benzylierte durch Zugabe von Benzylchlorid. Die Ausbeute beträgt nur 20%.

Williams und Raove setzten Phthalimidomalonester mit Chlormethylbenzylselenid um und erhielten durch Verseifung und gleichzeitige Decarboxylierung in 59proz. Ausbeute *Se*-Benzyl-DL-selenocystein. Nach dieser Methode läßt sich aber nicht die L-Verbindung darstellen. Diesen Vorteil besitzt die Synthese nach Painter, bei der DL-3-Chlor-2-amino-propionsäure-methylester mit Natriumbenzylselenid in absol. Alkohol zum *Se*-Benzyl-DL-selenocystein-methylester umgesetzt wird; saure Hydrolyse führt zur freien Aminosäure. Durch eine kleine Variation wurde die Ausbeute um 20% gesteigert. Ebenso konnte, ausgehend vom L-3-Chlor-2-amino-propionsäure-methylester⁸, *Se*-Benzyl-L-selenocystein hergestellt werden. Um jede Racemisierung während des Syntheseganges auszuschließen, wurde das Produkt mit D-Weinsäure umgesetzt, wie bei der Racematspaltung von S-Benzyl-DL-cystein beschrieben⁹. Nach Zerlegung des Hydrogentartrats mit Ammoniak in Äther besaß das erhaltene *Se*-Benzyl-L-selenocystein dieselbe optische Drehung wie das Ausgangsprodukt.

Se-Benzyl-selenocystein ist in reinem, kristallinem Zustand ziemlich beständig; innerhalb von 6 Monaten konnte keine merkliche Zersetzung nachgewiesen werden. In neutraler und saurer wäßriger Lösung scheidet sich nach einiger Zeit rotes Selen ab; äußerst instabil ist *Se*-Benzyl-selenocystein in 1*n* NaOH. Unter Verbrauch von O_2 scheidet sich nach kurzer Zeit im Dunkeln beinahe quantitativ Dibenzylidiselenid ab, wie durch Mischschmelzpunkt und chromatographischen Vergleich mit der synthetischen Verbindung nachgewiesen wurde. Ein anderes definiertes Spaltstück, z. B. Serin oder Brenztraubensäure, war nicht zu identifizieren.

Die durch Abspaltung des Benzylrestes mit Natrium in flüssigem Ammoniak entstehende freie Hydroseleno-Gruppe ist gegen Luftsauerstoff sehr empfindlich und wird sofort zum Diselenid oxydiert. Das Redoxpotential des Systems Diselenocystin/Selenocystein wurde polarographisch bei pH 7,0 zu $-0,60$ V bestimmt.

Bei den Peptidsynthesen wurde die Aminogruppe des *Se*-Benzyl-selenocysteins durch den Benzylloxycarbonylrest geschützt¹⁰. In 2*n* HBr/Eisessig läßt sich diese Schutzgruppe wieder abspalten¹¹, ohne daß die *Se*-Benzyl-Bindung gespalten wird. Mit Natrium in flüssigem Ammoniak findet dagegen immer auch eine Abspaltung der Benzylgruppe statt, mit Palladium/Wasserstoff manchmal; die Rebenzylierung mit Benzylchlorid ergibt schlechte Ausbeuten. Die Carboxylgruppe des *Se*-Benzyl-selenocysteins wurde mit Methanol oder Äthanol verestert. Als Kondensationskatalysatoren dienten trockener Chlorwasserstoff¹² und Thionylchlorid¹³. Die Ausbeuten waren bei beiden Verfahren etwa gleich gut. Die Methyl- und Äthylesterhydrochloride färben sich im Tageslicht nach wenigen Tagen infolge starker Selenabscheidung rot.

⁸ H. Beyanz u. G. Trausch, Chem. Ber. **93**, 782 [1960].

⁹ G. Losse u. G. Moschall, J. prakt. Chem. **7**, 38 [1959].

¹⁰ St. Goldschmidt u. Ch. Jutz, Chem. Ber. **86**, 1116 [1953].

¹¹ D. Ben Ishai u. A. Berger, J. org. Chemistry **17**, 1564 [1952].

¹² E. P. Painter, J. Amer. chem. Soc. **69**, 230 [1947].

Die meisten Di- und Tripeptide wurden nach der Methode der gemischten Anhydride dargestellt¹⁴. Da in Chloroform teilweise Racemisierung eintritt¹⁵, wurde zur Herstellung von optisch aktiven Peptiden in Tetrahydrofuran gearbeitet. Dieses besitzt außerdem den Vorteil, daß man zur Kupplung mit dem gemischten Anhydrid auch die freien Aminosäuren, in der äquivalenten Menge Natronlauge gelöst, einsetzen kann. In einigen Fällen wurden zur Peptidverknüpfung Dicyclohexylcarbodiimid¹⁶ und der *p*-Nitro-phenylester des *Se*-Benzyl-selenocysteins verwendet. Aktive Ester, und hier besonders der *p*-Nitro-phenylester von Aminosäuren, wurden in letzter Zeit häufig für Synthesen verwendet¹⁷. Auch beim *Se*-Benzyl-selenocystein kann man den aktiven Ester durch Umsetzung der Benzyloxycarbonyl-Verbindung in Tetrahydrofuran mit *p*-Nitro-phenol und Dicyclohexylcarbodiimid leicht kristallin erhalten.

Um die Estergruppen abzuspalten, wurden die Peptide in Methanol, Aceton oder Dioxan gelöst und mit 1*n* NaOH, die bei Raumtemperatur unter kräftigem Rühren tropfenweise zugegeben wurde, verseift. Dabei trat in den meisten Fällen eine teilweise Abspaltung von Benzylselenol auf; die *Se*-Benzylgruppe scheint in den Peptiden noch wesentlich labiler gegen Alkali zu sein als bei *Se*-Benzylselenocystein beschrieben. Ebenso lassen sich die Peptide photochemisch viel leichter zersetzen, wobei Spuren von Verunreinigungen als Sensibilisatoren zu wirken scheinen. So konnte z. B. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-seleno-cysteinylglycin nur nach mehrfachem Umkristallisieren und Arbeiten unter Lichtausschluß für kurze Zeit farblos erhalten werden. Selbst wenn die Verbindung in der Dunkelheit aufbewahrt wurde, färbte sie sich nach einem Tag braun.

In der Tabelle sind einige Daten der Ausgangsverbindungen sowie der synthetisierten Di- und Tripeptide zusammengestellt.

Beschreibung der Versuche

1. Benzylselenol: Zu einer Suspension von 50 g Magnesiumpulver in 1 l trockenem Äther in einem Dreihalskolben, ausgerüstet mit Rückflußkühler und Rührer, wurden unter kräftigem Rühren im Verlauf von 4 Stdn. ein Gemisch von 230 ml Benzylchlorid und 250 ml trockenem Äther zugetropft. Danach wurde noch eine weitere Stunde zu schwachem Sieden erhitzt und dann auf Raumtemp. abgekühlt. Nun wurden in kleinen Portionen 150 g schwarzes Selen zugegeben (Dauer 2 Stdn.) und noch weitere 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemp. wurde das Reaktionsprodukt durch vorsichtiges Zutropfen von 600 ml 8*n* HCl unter stürmischer Reaktion in Benzylselenol und Magnesiumchlorid zerlegt. Die Ätherschicht wurde abgetrennt, mit Wasser gewaschen und mit einer Lösung von 80 g NaOH in 300 ml Wasser extrahiert. Die wäßr. Phase wurde in Eiswasser gekühlt, mit 250 ml konz. Salzsäure vorsichtig angesäuert und 2mal mit.

¹³ G. Kupryszewski u. J. Sokolowska, Acta biochim. polon. 4, 85 [1957]

¹⁴ T. Wieland, W. Kern u. R. Sehreg, Liebigs Ann. Chem. 569, 117 [1950]; R. A. Boissonnas, Helv. chim. Acta 34, 874 [1951].

¹⁵ J. R. Vaughan, J. Amer. chem. Soc. 74, 6137 [1952].

¹⁶ J. C. Sheehan u. G. D. Hess, J. Amer. chem. Soc. 77, 1067 [1955].

¹⁷ R. Schwyzer, B. Iselin u. M. Feurer, Helv. chim. Acta 38, 69 [1955]; B. Iselin, W. Rittel, P. Sieber u. R. Schwyzer, ebenda 40, 373 [1957]; M. Goodmann u. K. C. Stueben, J. Amer. chem. Soc. 81, 3980 [1959].

Ausgangsverbindungen und synthetisierte Di- und Tripeptide. X = *Se*-Benzylselenocystein; -OEt = Äthylester; -OMe = Methylester; -ONP = *p*-Nitrophenylester; Z = *N*-Benzyloxycarbonyl-.

Verbindung	Vers.- Beschr. Nr.	Schmp.*	Darstellungs- methode**	Opt. Drehung
L-X	2.	191—192 ⁰		$[\alpha]_D^{23}$: +35,6 ⁰
L-X-OEt · HCl	4.	153—154 ⁰	HCl in Äthanol	
DL-X-OEt · HCl	5.	135—136 ⁰	HCl in Äthanol	
L-X-OMe · HCl	10.	147—148 ⁰	SOCl ₂ in Methanol	$[\alpha]_D^{23}$: +6,85 ⁰
DL-X-OMe · HCl	9.	139 ⁰	HCl in Methanol	
Z-L-X	11.	104—105 ⁰		$[\alpha]_D^{23}$: —46,4 ⁰
Z-DL-X	12.	80—81 ⁰		
Z-L-X-ONP	13.	94—96 ⁰		$[\alpha]_D^{25}$: —34,3 ⁰
Z-DL-X-Gly-OEt	14.	84 ⁰	Gem. Anhydrid, CHCl ₃	
Z-L-X-Gly-OEt	15.	102—103 ⁰	DCC, CHCl ₃	$[\alpha]_D^{26}$: —29,8 ⁰
Z-DL-X-Gly	16.	145—146 ⁰		
DL-X-Gly	17.	206—207 ⁰ (Zers.)		
Z-DL-X-Gly-Gly-OEt	18.	85 ⁰	Gem. Anhydrid, CHCl ₃	
Z-L-X-Gly-Gly-OEt	19.	98—100 ⁰	Aktiver Ester, CHCl ₃	
Z-DL-X-Gly-Gly	20.	149 ⁰		
DL-X-Gly-Gly	21.	196—197 ⁰		
Z-DL-X-DL-Ser-OMe	22.	110 ⁰	Gem. Anhydrid, CHCl ₃	
Z-DL-X-DL-Ser	23.	145 ⁰		
DL-X-DL-Ser(Ac)	24.	207—208 ⁰ (Zers.)		
Z-DL-X-DL-X-OEt	25.	106 ⁰	Gem. Anhydrid, CHCl ₃	
Z-L-X-L-X	26.	139—140 ⁰	Gem. Anhydrid, THF	
L-X-L-X	27.	122 ⁰ (Zers.)		
Z-DL-X-L-His-OMe	28.	121 ⁰	Gem. Anhydrid, CHCl ₃	
Z-DL-X-L-His	29.	124—125 ⁰		
Z-DL-X-DL-Ala-OMe	30.	130 ⁰	Gem. Anhydrid, CHCl ₃	
Z-L-Asp(NH ₂)-L-X-OMe	31.	181—182 ⁰	Aktiver Ester, DMF	$[\alpha]_D^{24}$: —26,4 ⁰
Z-L-Asp(NH ₂)-L-X	32.	194—196 ⁰		
Z-L-X-L-Tyr-OMe	33.	84—85 ⁰	a) Aktiver Ester, CHCl ₃ b) Gem. Anhydrid, CHCl ₃	
Z-L-X-L-Tyr	34.	202—204 ⁰	DCC, DMF	
L-X-L-Tyr	35.	196—198 ⁰ (Zers.)		
Z-L-Glu(NH ₂)-L- Asp(NH ₂)-L-X-OMe	36.	229—230 ⁰	a) Aktiver Ester, DMF b) Gem. Anhydrid, THF, Dioxan	
Z-L-Glu(NH ₂)-L- Asp(NH ₂)-L-X	37.	200—201 ⁰	a) Gem. Anhydrid, THF/Dioxan b) Verseifung Z-L-X-L-Tyr + L-Ile	
Z-L-X-L-Tyr-L-Ile	38.	163 ⁰	Gem. Anhydrid, THF	

* Alle Schmelzpunkte wurden im Kapillarrohr im Apparat nach Tottoli bestimmt und sind nicht korrigiert.

** DCC = Dicyclohexylcarbodiimid; THF = Tetrahydrofuran; DMF = Dimethylformamid.

je 300 ml Äther extrahiert. Der Ätherextrakt wurde über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet, der Äther abgezogen und das Benzylselenol im Wasserstrahlvakuum bei einer Badtemp. von 110° destilliert. Ausb. 177 g (34% d. Th.).

2. *Se*-Benzyl-L-selenocystein: In 700 ml absol. Äthanol wurden 160 g Benzylselenol gelöst und mit 18 g Natriummetall in kleinen Portionen versetzt. Nach vollständigem Lösen des Natriums wurde rasch eine Lösung von 34,6 g L-3-Chlor-2-amino-propionsäure-methylester-hydrochlorid⁸ zugegeben und 30 Min. bei 45° gehalten. Dann wurden 50 ml konz. Salzsäure zugefügt und 3 Stdn. Luft durch die Lösung gesaugt. Das Lösungsmittel wurde im Vak. entfernt, der Rückstand in 400 ml verd. Salzsäure gelöst, zum Sieden erhitzt und 5mal mit je 500 ml Benzol extrahiert. Die wäßr. Phase wurde im Vak. zur Trockene eingedampft, der Rückstand in 400 ml verd. Salzsäure gelöst, $\frac{1}{2}$ Stde. zum Sieden erhitzt, weitere 12 Stdn. bei Raumtemp. belassen, das Wasser im Vak. abgezogen und der Rückstand in 300 ml Wasser aufgenommen. Die Lösung wurde mit konz. Natronlauge auf pH 5 gebracht und das Benzyl-L-selenocystein nach Aufbewahren über Nacht im Kühlschrank abgesaugt, mit kaltem Wasser, Äthanol und Äther gewaschen und über P_2O_5 im Vak. getrocknet. Ausb. 30,4 g (59% d. Th.).

Zur Analyse wurde aus Wasser umkristallisiert. Lange weiße Nadeln. $[\alpha]_{\text{D}}^{23} +35,6^\circ$ ($c = 2$ in 1*n* NaOH).

$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_2\text{Se}$ (258,2) Ber. N 5,42 Gef. N 5,25

3. *Se*-Benzyl-DL-selenocystein wurde ebenso wie die L-Verbindung aus Benzylselenol und DL-3-Chlor-2-amino-propionsäure-methylester-hydrochlorid¹⁸ dargestellt.

4. *Se*-Benzyl-L-selenocystein-äthylester-hydrochlorid: 10 g *Se*-Benzyl-L-selenocystein wurden mit 150 ml absol. Äthanol versetzt und ohne Kühlung trockener Chlorwasserstoff bis zur Sättigung eingeleitet. Nach 2 Stdn. bei Raumtemp. wurde das Lösungsmittel im Vak. abgezogen und das Verfahren noch 2mal wiederholt. Dann wurde der Rückstand in 100 ml absol. Äthanol gelöst und in 1 l trockenen Äther filtriert. Das Esterhydrochlorid fiel in feinen weißen Nadeln aus. Nach Stehenlassen über Nacht im Kühlschrank wurde abfiltriert, mit Äther gewaschen und über P_2O_5 im Vak. getrocknet. Ausb. 10,5 g (84% d. Th.).

$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_2\text{Se} \cdot \text{HCl}$ (322,7) Ber. N 4,34 Gef. N 4,37

5. *Se*-Benzyl-DL-selenocystein-äthylester · HCl wurde aus *Se*-Benzyl-DL-selenocystein ebenso dargestellt wie unter 4. beschrieben.

6. *Se*-Benzyl-L-selenocystein-äthylester: 10 g des Hydrochlorids nach 4. wurden in 200 ml absol. Äther suspendiert und die Suspension mit getrocknetem Ammoniakgas gesättigt. Das ausgeschiedene Ammoniumchlorid wurde abfiltriert, mit Äther gewaschen und das Lösungsmittel im Vak. abgezogen. Der dünnflüssige, wasserklare Ester wurde einige Stunden im Hochvakuum getrocknet. Ausb. 8,6 g (97% d. Th.).

7. *Se*-Benzyl-L-selenocystein-äthylester-D-hydrogentartrat: 8,6 g *Se*-Benzyl-L-selenocystein-äthylester (nach 6.) wurden in 15 ml absol. Äthanol gelöst und mit einer filtrierten Lösung von 8,0 g D-Weinsäure in 70 ml absol. Äthanol versetzt. Nach eintägigem Stehenlassen im Kühlschrank war das L-Ester-D-hydrogentartrat auskristallisiert. Es wurde abgesaugt, mit Äthanol gewaschen und über P_2O_5 im Vak. getrocknet. Ausb. 11,38 g (87% d. Th.).

8. Zerlegung des Hydrogentartrats: Einige Gramm des Hydrogentartrates wurden in absol. Äther suspendiert und trockenes Ammoniakgas eingeleitet bis zur Sättigung. Dann wurde der Rückstand abfiltriert, der Äther im Vak. abgezogen und der zurückbleibende Ester in 10 ml 2*n* HCl gelöst. Nach 3stdg. Erhitzen unter Rückfluß und weiteren 12 Stdn. bei Raumtemp. wurde das auskristallisierte *Se*-Benzyl-L-selenocystein abfiltriert, mit kaltem Wasser, Äthanol und Äther gewaschen und getrocknet. Eine Probe wurde nochmals aus Wasser umkristallisiert.

¹⁸ E. Fischer u. K. Raske, Ber. dtsh. chem. Ges. 40, 3717 [1907].

Aus 2 Messungen ergab sich: $[\alpha]_D^{21}$: +35,5° ($c = 2,0$ in $1n$ NaOH).

9. *Se*-Benzyl-DL-selenocystein-methylester-hydrochlorid: 1,4 g *Se*-Benzyl-DL-selenocystein wurden mit 40 ml absol. Methanol versetzt und trockener Chlorwasserstoff bis zur Sättigung eingeleitet. Dann wurde unter Rückfluß zum Sieden erhitzt und das Lösungsmittel im Vak. abgezogen. Dieses Verfahren wurde noch 2mal wiederholt, dann der Rückstand in 10 ml absol. Methanol gelöst und durch Zugabe von Äther das Hydrochlorid gefällt; das ausgefallene Öl kristallisierte nach kurzer Zeit. Das Esterhydrochlorid wurde mit Äther gewaschen und über P_2O_5 getrocknet. Ausb. 1,5 g (60% d. Th.).

10. *Se*-Benzyl-L-selenocystein-methylester-hydrochlorid: 15 ml absol. Methanol wurden auf -10° abgekühlt und nacheinander 2,7 ml Thionylchlorid und 5,0 g *Se*-Benzyl-L-selenocystein eingetragen. Die Suspension wurde 4 Stdn. bei 45° und weitere 2 Stdn. bei Raumtemp. gehalten; danach war alles in Lösung gegangen. Das Lösungsmittel wurde im Vak. abgezogen, der Rückstand in 15 ml absol. Methanol gelöst und in 250 ml trockenen Äther filtriert. *Se*-Benzyl-L-selenocystein-methylester-hydrochlorid fiel als weißer kristalliner Niederschlag aus. Ausb. 5,1 g (85% d. Th.). $[\alpha]_D^{23}$: +6,85° ($c = 1,0$ in Äthanol).

$C_{11}H_{15}NO_2Se \cdot HCl$ (308,7) Ber. N 4,53 Gef. N 4,41

11. *N*-Benzylloxycarbonyl-*Se*-benzyl-L-selenocystein: 4,9 g *Se*-Benzyl-L-selenocystein wurden in 20 ml $1n$ NaOH gelöst und unter Eiskühlung und heftigem Rühren innerhalb $\frac{1}{2}$ Stde. mit 4 ml Benzylloxycarbonylchlorid und 15 ml $2n$ NaOH versetzt. Danach wurde noch 90 Min. ohne Kühlung weitergerührt, durch Wasserzusatz ungelöstes Natriumsalz in Lösung gebracht und die Lösung 4mal mit je 30 ml Äther extrahiert. Nach dem Ansäuern der wäbr. Phase mit konz. HCl wurde das ausgefallene Öl in 200 ml Äther aufgenommen, die Ätherphase mit Wasser säurefrei gewaschen und über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet. Nach Abziehen des Äthers blieb die Benzylloxycarbonyl-Verbindung als feste weiße Masse zurück. Sie wurde aus verd. Äthanol umkristallisiert. Ausb. 6,8 g (91% d. Th.). $[\alpha]_D^{23}$: -46,4° ($c = 1,0$ in Äthanol).

$C_{18}H_{19}NO_4Se$ (392,34) Ber. N 3,59 Gef. N 3,55

12. *N*-Benzylloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocystein wurde analog der L-Verbindung aus *Se*-Benzyl-DL-selenocystein dargestellt.

13. *N*-Benzylloxycarbonyl-*Se*-benzyl-L-selenocystein-*p*-nitrophenylester: 1,50 g *N*-Benzylloxycarbonyl-*Se*-benzyl-L-selenocystein wurden in 10 ml frisch dest. Tetrahydrofuran gelöst, mit 0,81 g *p*-Nitrophenol versetzt und auf -5° abgekühlt. Dann wurden 0,86 g Dicyclohexylcarbodiimid, in 2 ml Tetrahydrofuran gelöst, zugegeben und die Lösung 10 Min. bei -5° gehalten. Nach einer weiteren Stunde bei Raumtemp. wurde der ausgeschiedene Dicyclohexylharnstoff abfiltriert, mit 10 ml Tetrahydrofuran gewaschen und das Lösungsmittel i. Vak. abgezogen. Der zurückgebliebene Sirup kristallisierte beim Verreiben mit Äthanol. Ausb. 1,73 g (51% d. Th.). $[\alpha]_D^{25}$: -34,3° ($c = 1$ in Dimethylformamid).

$C_{24}H_{22}N_2O_6Se$ (513,4) Ber. N 5,46 Gef. N 5,43

14. *N*-Benzylloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocysteinyl-glycin-äthylester: 4,8 g *N*-Benzylloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocystein wurden in 40 ml trockenem Chloroform gelöst, mit 2,0 ml Triäthylamin versetzt und auf -10° abgekühlt. Unter kräftigem Rühren wurden 1,6 ml Chlorkohlensäure-äthylester und nach 10 Min. eine Lösung von 1,6 g Glycin-äthylesterhydrochlorid in 80 ml Chloroform und 2 ml Triäthylamin zugegeben. Die Lösung wurde 80 Min. bei Raumtemp. weitergerührt, dann 20 Min. auf 60° erwärmt und wieder auf Raumtemp. abgekühlt. Die nunmehr schwach gelb gefärbte Lösung wurde nacheinander mit $2n$ HCl, gesätt. $NaHCO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen, über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet und das Chloroform im Vak. abgezogen. Es blieb eine gelb gefärbte Kristallmasse zurück, die aus verd. Äthanol (1:1) umkristallisiert wurde. Ausb. 5,3 g (94% d. Th.).

$C_{22}H_{26}N_2O_5Se$ (461,5) Ber. N 5,99 Gef. N 6,00

15. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl-glycin-äthylester: 7,8 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocystein wurden in 60 ml trockenem Chloroform gelöst, mit einer Lösung von 3,0 g Glycin-äthylester-hydrochlorid in 30 ml Chloroform und 2,8 ml Triäthylamin versetzt und auf 0° abgekühlt. Dann wurden 4,1 g Dicyclohexylcarbodiimid in 10 ml Chloroform zugegeben und das Reaktionsgemisch $\frac{1}{2}$ Stde. bei 0° und weitere 12 Stdn. bei Raumtemp. belassen. Nun wurde vom ausgeschiedenen Dicyclohexylharnstoff abfiltriert, die Chloroformlösung nacheinander mit 3*n* HCl, gesätt. NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Abziehen des Chloroforms im Vak. blieb ein kristalliner Rückstand, der aus verd. Äthanol umkristallisiert wurde. Ausb. 7,3 g (80% d. Th.). $[\alpha]_D^{25}$: -19,8° (*c* = 1,48 in Äthanol).

C₂₂H₂₆N₂O₃Se (461,5) Ber. N 5,99 Gef. N 5,99

16. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*DL*-selenocysteinyl-glycin: 2,8 g des Äthylesters wurden in 10 ml Aceton gelöst und unter Rühren mit 10 ml 0,5*n* NaOH versetzt. Das Öl, das sich nach Zugabe der Natronlauge zunächst ausgeschieden hatte, ging rasch in Lösung. Nach $\frac{3}{4}$ Stde. bei Raumtemp. wurde mit 5 ml 1*n* HCl neutralisiert und das ausgefallene Öl in Essigester aufgenommen. Der Essigester wurde mit Wasser gewaschen, über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet und im Vak. abgezogen. Ausb. 1,8 g (66% d. Th.).

C₂₀H₂₂N₂O₃Se (449,4) Ber. N 6,23 Gef. N 6,19

17. *Se*-Benzyl-*DL*-selenocysteinyl-glycin: 100 mg *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*DL*-selenocysteinyl-glycin wurden in 8 ml 2*n* HBr/Eisessig gelöst und nach 45 Min. bei Raumtemp. mit 90 ml trockenem Äther versetzt. Das sich ölig ausscheidende Hydrobromid wurde mehrmals mit trockenem Äther gewaschen und im Vak. getrocknet. Das gelb-braune amorphe Pulver wurde in wenig Wasser gelöst und der pH-Wert mit Ammoniak auf 5–6 gebracht. Das Dipeptid schied sich kristallin aus. Es wurde abzentrifugiert, gewaschen und aus Wasser umkristallisiert. Feine weiße Nadeln, die sich nach kurzer Zeit braun färben. Ausb. 50 mg (71% d. Th.).

C₁₂H₁₆N₂O₃Se (315,3) Ber. N 8,88 Gef. N 8,70

18. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*DL*-selenocysteinyl-glycyl-glycin-äthylester: 2,0 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*DL*-selenocystein wurden in 20 ml Chloroform gelöst, mit 1,0 ml Triäthylamin versetzt und auf -10° abgekühlt. Dann wurden unter Rühren 0,8 ml Chlorkohlensäure-äthylester und nach 10 Min. 1,0 g Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid¹⁹ in 40 ml Chloroform und 1,0 ml Triäthylamin zugefügt. Die klare Lösung wurde 1 Stde. auf 60° erwärmt, auf Raumtemp. abgekühlt und nacheinander mit 2*n* HCl, gesätt. NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über wasserfreiem Na₂SO₄ wurde das Chloroform im Vak. abgezogen und der Rückstand aus heißem Äthanol umkristallisiert. Ausb. 1,7 g (64% d. Th.).

Zur Analyse wurde das Dipeptid aus absol. Äthanol umkristallisiert.

C₂₄H₂₉N₃O₆Se (518,52) Ber. N 7,69 Gef. N 7,67

19. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl-glycyl-glycin-äthylester: 0,50 g des *p*-Nitro-phenylesters (nach 13.) wurden in 2 ml Chloroform gelöst und mit einer Lösung von 0,16 g Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid in 3 ml Chloroform und 0,16 ml Triäthylamin versetzt. Nach 2 Tagen bei Raumtemp. wurde die Lösung mit Wasser, gesätt. NaHCO₃-Lösung und 3*n* HCl gewaschen, über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet und das Chloroform im Vak abgezogen. Der Rückstand wurde aus Äthanol umkristallisiert. Ausb. 0,45 g (90% d. Th.).

C₂₄H₂₉N₃O₆Se (518,5) Ber. N 7,69 Gef. N 7,48

20. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*DL*-selenocysteinyl-glycyl-glycin: 1,18 g des Äthylesters (nach 18.) wurden in 10 ml Methanol gelöst und mit 2,5 ml 1*n* NaOH versetzt. Nach 2 Stdn. bei Raumtemp. wurde vom beträcht-

¹⁹ E. Fischer, Ber. dtsch. chem. Ges. **34**, 2872 [1901].

lichen Rückstand abfiltriert und mit 1*n* HCl neutralisiert. Die Lösung wurde im Vak. eingedampft, der kristalline Rückstand aus Wasser umkristallisiert und im Vak. über P₂O₅ bei 60° getrocknet. Ausb. 0,2 g (17% d. Th.).

C₂₂H₂₅N₃O₆Se (506,5) Ber. N 8,29 Gef. N 8,29

21. *Se*-Benzyl-DL-selenocysteinyl-glycyl-glycin: 100 mg *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocysteinyl-glycyl-glycin wurden in 1 ml 2*n* HBr/Eisessig gelöst und nach 1 Stde. bei Raumtemp. mit 20 ml trockenem Äther versetzt. Der Niederschlag wurde nochmals mit Äther gewaschen und dann nach kurzem Trocknen in Wasser gelöst. Mit NH₃ wurde der pH-Wert auf 6 gebracht und die doppelte Menge Äthanol zugesetzt. Nach Stehenlassen über Nacht im Kühlschrank wurde das auskristallisierte Dipeptid abzentrifugiert, mit sehr wenig kaltem Wasser, Äthanol und Äther gewaschen und im Vak. über P₂O₅ bei 60° getrocknet. Es färbte sich nach kurzer Zeit infolge Abscheidung von Selen rot. Ausb. 45 mg (61% d. Th.).

C₁₄H₁₉N₃O₄Se (372,3) Ber. N 11,29 Gef. N 11,32

22. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocysteinyl-DL-serin-methylester: 4,0 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocysteinyl-DL-serin wurden in 40 ml trockenem Chloroform gelöst, mit 2,0 ml Triäthylamin versetzt und auf -10° abgekühlt. Unter kräftigem Rühren wurden 1,6 ml Chlorkohlensäure-äthylester und nach 10 Min. eine Lösung von 1,6 g DL-Serin-methylester-hydrochlorid in 80 ml trockenem Chloroform und 2,0 ml Triäthylamin zugegeben. Die klare Lösung wurde weitere 10 Min. bei -10° gerührt und dann 1 Stde. auf 60° erwärmt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemp. wurde die Chloroformlösung mit 2*n* HCl und gesätt. NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen und über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vak. abgezogen, der Rückstand in wenig Äthanol gelöst, mit Aktivkohle behandelt, filtriert und bis zur beginnenden Trübung mit Wasser versetzt. Beim Stehenlassen im Kühlschrank fiel das Dipeptid als Öl aus, das nach ungefähr 14 Tagen zu kristallisieren begann. Es wurde aus verd. Äthanol umkristallisiert und über P₂O₅ getrocknet. Ausb. 3,99 g (82% d. Th.).

C₂₂H₂₆N₂O₆Se (477,5) Ber. N 5,86 Gef. N 5,83

23. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocysteinyl-DL-serin: 3,88 g des eben beschriebenen Methylesters wurden in 20 ml Methanol und 10 ml Dioxan gelöst und unter Rühren tropfenweise mit 10 ml 1*n* NaOH versetzt. Dabei schied sich rotes Selen in größeren Mengen ab. Nach 50 Min. bei Raumtemp. wurde filtriert, mit 10 ml 1*n* HCl neutralisiert und das Lösungsmittel im Vak. unter 50° abgezogen. Der Rückstand wurde aus Wasser umkristallisiert und über P₂O₅ im Vak. getrocknet. Ausb. 1,7 g (45% d. Th.).

C₂₁H₂₄N₂O₆Se (463,4) Ber. N 6,04 Gef. N 6,05

24. *Se*-Benzyl-DL-selenocysteinyl-DL-*O*-acetyl-serin: 132 mg *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocysteinyl-DL-serin wurden in 1,5 ml 2*n* HBr/Eisessig gelöst und nach 1 Stde. bei Raumtemp. mit 30 ml trockenem Äther versetzt. Der Niederschlag wurde nochmals mit trockenem Äther gewaschen, in einigen ml Wasser gelöst und der pH-Wert mit NH₃ auf 6 gebracht. Dann wurde die doppelte Menge Äthanol zugegeben und die Lösung im Kühlschrank aufbewahrt. Nach 24 Stdn. wurden die ausgeschiedenen Kristalle abzentrifugiert, mit eiskaltem Wasser, Äthanol und Äther gewaschen und im Vak. über P₂O₅ getrocknet. Ausb. 25 mg (22% d. Th.).

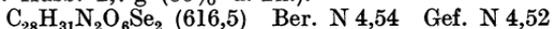
C₁₅H₂₀N₂O₅Se (387,3) Ber. N 7,24 Gef. N 7,38

25. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocysteinyl-*Se*-benzyl-DL-selenocystein-äthylester: 1,17 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocystein (nach 12.) wurden in 15 ml trockenem Chloroform gelöst, auf -10° abgekühlt und unter Rühren mit 0,51 ml Triäthylamin und 0,30 ml Chlorkohlensäure-äthylester versetzt. Nach 10 Min. wurde eine Lösung von 0,31 g *Se*-Benzyl-DL-selenocystein-äthylester-hydrochlorid in 10 ml trockenem Chloroform und 0,43 ml Triäthylamin zugegeben, die Lösung noch weitere

10 Min. bei -10° gerührt und dann 45 Min. auf 60° erwärmt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemp. wurde die Chloroformlösung mit $2n$ HCl und gesätt. NaHCO_3 -Lösung extrahiert, mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen, und über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vak. abgezogen, der sirupöse Rückstand in heißem Äthanol gelöst und bis zur beginnenden Trübung mit Wasser versetzt. Beim Aufbewahren im Kühlschrank fiel ein Öl aus, das nach einer Woche zu kristallisieren begann. Die ersten Kristalle wurden abgetrennt, der restliche Rückstand wieder gelöst und mit den Kristallen geimpft. Nach vollständiger Kristallisation wurde abgesaugt, aus verd. Äthanol umkristallisiert und im Vak. über P_2O_5 getrocknet. Ausb. 0,75 g (39% d. Th.).



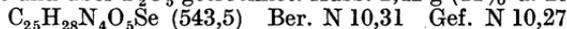
26. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocystein: 2,0 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocystein (nach 11.) wurden in 30 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst, mit 1,0 ml Triäthylamin und nach Abkühlen auf -10° unter kräftigem Rühren mit 0,8 ml Chlorkohlensäure-äthylester versetzt. Nach 10 Min. wurden 1,5 g *Se*-Benzyl-*L*-selenocystein, in 40 ml Tetrahydrofuran und 6 ml $1n$ NaOH gelöst und ebenfalls auf -10° abgekühlt, zugegeben und noch weitere 10 Min. bei -10° und 2 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Das Tetrahydrofuran wurde im Vak. abgezogen, der Rückstand mit 100 ml Wasser und 200 ml Essigester versetzt, mit konz. Salzsäure angesäuert und durchgeschüttelt. Die Essigesterschicht wurde mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen, über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet und der Essigester im Vak. abgezogen. Der kristalline Rückstand wurde aus verd. Äthanol umkristallisiert. Ausb. 2,7 g (86% d. Th.).



27. *Se*-Benzyl-*L*-selenocysteinyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocystein: 1,5 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl-*Se*-benzylselenocystein wurden in 8 ml $2n$ HBr/Eisessig gelöst und nach 90 Min. bei Raumtemp. mit 100 ml trockenem Äther versetzt. Das kristalline Hydrobromid wurde mit Äther gewaschen, in 10 ml Wasser gelöst und der pH-Wert mit konz. Ammoniak auf 6 eingestellt. Das ausgefallene Dipeptid wurde nach Stehenlassen im Kühlschrank abzentrifugiert, mit Wasser gewaschen und über P_2O_5 getrocknet. Ausb. 0,95 g (81% d. Th.).

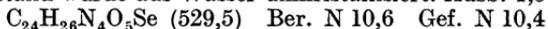


28. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*DL*-selenocysteinyl-*L*-histidin-methylester: 4,0 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*DL*-selenocystein wurden in 40 ml trockenem Chloroform gelöst, auf -10° abgekühlt und mit 2,0 ml Triäthylamin und 1,6 ml Chlorkohlensäureäthylester versetzt. Die Lösung wurde 10 Min. bei -10° gerührt, dann 2,44 g *L*-Histidin-methylester-dihydrochlorid in 80 ml Chloroform und 4,0 ml Triäthylamin zugegeben. Nach weiteren 10 Min. bei -10° und 60 Min. bei 60° wurde die Chloroformlösung mit gesätt. NaHCO_3 -Lösung extrahiert, mit Wasser gewaschen und über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet. Das Chloroform wurde im Vak. abgezogen, der Rückstand in heißem Äthanol gelöst und bis zur beginnenden Trübung mit Wasser versetzt. Das Dipeptid fiel beim Aufbewahren im Kühlschrank als Öl aus, das aber nach ungefähr 2 Wochen nach erneutem Wasserzusatz kristallisierte. Es wurde aus verd. Äthanol umkristallisiert und über P_2O_5 getrocknet. Ausb. 2,42 g (44% d. Th.).



29. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*DL*-selenocysteinyl-*L*-histidin: 2,1 g des Methylesters wurden in 20 ml Aceton gelöst und unter Rühren tropfenweise mit 15 ml $1n$ NaOH versetzt. Nach 90 Min. bei Raumtemp. wurde filtriert, mit 15 ml $1n$ HCl neutralisiert und das Lösungsmittelgemisch im Vak. abgezogen.

Der Rückstand wurde aus Wasser umkristallisiert. Ausb. 1,5 g (73% d. Th.).



30. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocysteinyl-DL-alanin-methylester: In 20 ml trockenem Chloroform wurde 1,0 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-DL-selenocysteinin gelöst, auf -5° abgekühlt und unter Rühren mit 0,5 ml Triäthylamin und 0,40 ml Chlorkohlensäure-äthylester versetzt. Nach 10 Min. wurden 0,46 g DL-Alanin-methylester-hydrochlorid in 20 ml Chloroform und 0,5 ml Triäthylamin gelöst, zugegeben und 20 Min. bei -5° weitergerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch 1 Stde. auf 60° erwärmt, nach dem Abkühlen auf Raumtemp. mit 2*n* HCl, gesätt. NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen und über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet. Nach Abziehen des Chloroforms im Vak. wurde der kristalline Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Ausb. 0,87 g (71% d. Th.).

C₂₂H₂₆N₂O₅Se (477,4) Ber. N 5,86 Gef. N 6,01

31. *N*-Benzyloxycarbonyl-L-asparaginyll-[*Se*-benzyl-L-selenocystein]-methylester: 0,93 g *Se*-Benzyl-L-selenocystein-methylester-hydrochlorid und 1,16 g *N*-Benzyloxycarbonyl-L-asparagin-*p*-nitrophenylester²⁰ wurden in 5 ml Dimethylformamid gelöst und mit 0,5 ml Triäthylamin versetzt. Unter leichter Erwärmung erfolgte sehr rasch Abscheidung von Triäthylamin-hydrochlorid. Nach 2 Stdn. bei Raumtemp. war das Reaktionsgemisch zu einer gelben Kristallmasse erstarrt, die nach weiteren 12 Stdn. mit 100 ml Wasser gut verrieben und abgesaugt wurde. Das Dipeptid wurde mit Wasser und Aceton gewaschen und blieb zuletzt als weiße Kristallmasse zurück. Diese wurde im Vak. über P₂O₅ bei 60° getrocknet. Ausb. 1,27 g (81% d. Th.).

Zur Analyse wurde aus Äthanol umkristallisiert. $[\alpha]_{D}^{24}$: $-26,4^{\circ}$ ($c = 1,0$ in Pyridin).

C₂₃H₂₇N₃O₆Se (520,4) Ber. N 8,08 Gef. N 8,30

32. *N*-Benzyloxycarbonyl-L-asparaginyll-[*Se*-benzyl-L-selenocystein]: 1,23 g des Methylesters wurden in 8 ml Pyridin und 8 ml Dioxan gelöst und unter kräftigem Rühren tropfenweise mit 5 ml Natronlauge versetzt. Nach 45 Min. bei Raumtemp. wurde filtriert, das Filter mit 5 ml Pyridin gewaschen und das Filtrat mit 200 ml Äther versetzt. Der Niederschlag wurde kurz im Vak. getrocknet, in 20 ml Wasser gelöst und mit konz. Salzsäure auf pH 1—2 gebracht. Die ausgefallene Gallerte verfestigte sich nach kurzer Zeit im Kühlschrank, wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Aus verd. Äthanol umkristallisiert. Ausb. 0,56 g (47% d. Th.).

C₂₂H₂₅N₃O₆Se (506,4) Ber. N 8,29 Gef. N 8,43

33. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-L-selenocysteinyl-L-tyrosin-methylester: a) 5,2 g des *p*-Nitro-phenylesters (nach 13.) wurden mit einer Lösung von 2,4 g L-Tyrosin-methylester-hydrochlorid²¹ in 20 ml Chloroform und 1,8 ml Triäthylamin versetzt und über Nacht bei Raumtemp. belassen. Dann wurde das Chloroform im Vak. abgezogen, der Rückstand in 50 ml Essigester gelöst, mehrmals mit 1*n* NH₃-Lösung extrahiert, mit 1*n* HCl und Wasser gewaschen und über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet. Nach Abziehen des Essigesters blieb ein öliger Rückstand, der aus verd. Äthanol umkristallisiert wurde.

b) 2,0 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-L-selenocystein wurden in 20 ml wasserfreiem Chloroform gelöst, auf -10° abgekühlt und nacheinander unter Rühren mit 1 ml Triäthylamin und 0,8 ml Chlorkohlensäure-äthylester versetzt. Nach 10 Min. bei -10° wurde eine Lösung von 1,2 g L-Tyrosin-methylester-hydrochlorid in 40 ml Chloroform und 1 ml Triäthylamin zugegeben und weitere 10 Min. bei -10° und 1 Stde. bei Raumtemp. gerührt. Dann wurde die Lösung 15 Min. bei 60° gehalten, das Chloroform im Vak. abgezogen und der Rückstand in Essigester gelöst. Die Lösung wurde mit Wasser, 1*n* HCl, 1*n* NH₃-Lösung und Wasser gewaschen, über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet und der Essigester im Vak. abgezogen. Das zurückbleibende Öl wurde in heißem Methanol

²⁰ M. Bodanszky u. V. du Vigneaud, J. Amer. chem. Soc. 81, 5688 [1959].

²¹ R. A. Boissonnas u. St. Guttmann, Helv. chim. Acta 38, 1491 [1955].

gelöst und bis zur Trübung mit Wasser versetzt. Im Kühlschrank kristallisierte das Dipeptid. Es wurde aus verd. Äthanol umkristallisiert. Ausb. 2,1 g (72% d. Th.).
 $C_{28}H_{30}N_2O_6Se$ (569,5) Ber. N 4,92 Gef. 5,01

34. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl-*L*-tyrosin: 2,86 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl-*L*-Tyrosin-methylester²² wurden in 5 ml Dimethylformamid gelöst, auf -5° abgekühlt und mit einer Lösung von 1,66 g Dicyclohexylcarbodiimid in 2 ml Dimethylformamid versetzt. Nach 1 Stde. bei -5° und weiteren 3 Tagen bei Raumtemp. wurden 15 ml Essigester zugesetzt, der gebildete Dicyclohexylharnstoff abgefilitert, mit 20 ml Essigester gewaschen und die vereinigten Filtrate mit 1*n* HCl, 1*n* NH₃ und Wasser ausgeschüttelt. Die Lösung wurde über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet und im Vak. zur Trockene eingedampft. Der feste Rückstand (4,1 g) wurde in 16 ml Methanol gelöst und unter Eiskühlung und kräftigem Rühren tropfenweise mit 20 ml 1*n* NaOH versetzt. Nach 90 Min. wurde etwas Aktivkohle zugesetzt, filtriert und das Filtrat mit 1*n* HCl angesäuert. Der kristalline weiße Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Das Dipeptid kristallisierte mit 1 Mol Kristallwasser. Ausb. 3,70 g (88% d. Th.).

$C_{27}H_{28}N_2O_6Se \cdot H_2O$ (573,5) Ber. N 4,88 Gef. N 4,83

35. *Se*-Benzyl-*L*-selenocysteinyl-*L*-tyrosin: 0,4 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl-*L*-tyrosin wurden in 5 ml 2*n* HBr/Eisessig gelöst und nach 1 Stde. bei Raumtemp. mit 100 ml Äther versetzt. Das ausgefallene Hydrobromid wurde mit Äther mehrmals gewaschen und im Vak. kurz getrocknet. Dann wurde es in wenig Wasser gelöst, filtriert und die Lösung mit konz. Ammoniak neutralisiert. Nach Einengen auf ein kleines Volumen kristallisierte das Dipeptid aus. Es wurde im Vak. über P₂O₅ bei 80° getrocknet. Erhalten wurden nur einige mg, da die Trennung von anorganischen Salzen infolge der großen Löslichkeit in Wasser sehr schwierig war.

$C_{18}H_{22}N_2O_4Se$ (421,4) Ber. N 6,65 Gef. N 6,58

36. *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-glutaminyll-*L*-asparaginyll-*[Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl]-methylester: a) 0,80 g *N*-Benzyloxycarbonyll-*L*-asparaginyll-*[Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl]-methylester (nach 31.) wurden in 5 ml 2*n* HBr/Eisessig gelöst und nach 1 Stde. bei Raumtemp. mit 100 ml trockenem Äther versetzt. Nach Stehenlassen im Kühlschrank wurde der kristalline Niederschlag mehrmals mit Äther gewaschen und kurze Zeit im Vak. über NaOH getrocknet. Dann wurde das Hydrobromid in 4 ml Dimethylformamid gelöst, mit 0,45 g *N*-Benzyloxycarbonyll-*L*-glutamin-*p*-nitro-phenylester²⁰ und 0,3 ml Triäthylamin versetzt und 12 Stdn. bei Raumtemp. aufbewahrt. Der dicke Kristallbrei wurde mit 50 ml Wasser gut verrieben, abfiltriert und mit Wasser und Aceton gewaschen. Zur Analyse wurde aus Pyridin/Wasser umkristallisiert, mit Wasser gewaschen und über P₂O₅ im Vak. bei 60° getrocknet. Ausb. 0,65 g (65% d. Th.); Schmp. 229—230°.

$C_{28}H_{35}N_5O_8Se$ (648,6) Ber. N 10,8 Gef. N 10,8

b) 0,82 g *N*-Benzyloxycarbonyll-*L*-glutamin²¹ wurden in 25 ml Tetrahydrofuran/Dioxan 1:1 gelöst, auf -10° abgekühlt und mit 0,41 ml Triäthylamin und 0,28 ml Chlorkohlensäure-äthylester versetzt. Nach 10 Min. wurde eine Lösung von *L*-Asparaginyll-*[Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl]-methylester (dargestellt aus 1,0 g *N*-Benzyloxycarbonyll-*L*-asparaginyll-*[Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl]-methylester in 5 ml 2*n* HBr/Eisessig, Fällen des Hydrobromids nach 1 Stde. bei Raumtemp., Waschen mit Äther, Trocknen und Lösen in 5 ml Tetrahydrofuran, 0,5 ml Triäthylamin und 2 ml Wasser) zugegeben und 4 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel im Vak. abgezogen und der Rückstand mit 100 ml Wasser versetzt. Nach Aufbewahren im Kühlschrank wurde der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus Pyridin/Wasser umkristallisiert. Ausb. 0,91 g (73% d. Th.); Schmp. 228—229°.

²² E. Fischer, Ber. dtsh. chem. Ges. 41, 855 [1908].

37. *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-glutaminyl-*L*-asparaginyl- [*Se*-benzyl-*L*-selenocystein]: a) 1,7 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-asparaginyl- [*Se*-benzyl-*L*-selenocystein] wurden in 10 ml 2*n* HBr/Eisessig gelöst und nach 1 Stde. bei Raumtemp. mit 250 ml Äther versetzt. Das Hydrobromid wurde mit Äther mehrmals gewaschen, getrocknet, in 10 ml Wasser gelöst und mit Triäthylamin bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt. In 20 ml Tetrahydrofuran, 20 ml Dioxan und 0,7 ml Triäthylamin wurden 1,3 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-glutamin gelöst, auf -10° abgekühlt und mit 0,44 ml Chlorkohlensäure-äthylester versetzt. Nach 10 Min. bei -10° wurde die Lösung von *L*-Asparaginyl- [*Se*-benzyl-*L*-selenocystein] zugegeben, bei Raumtemp. noch 3 Stdn. weitergerührt und das Lösungsmittel im Vak. abgezogen. Der Rückstand wurde in 10 ml Wasser aufgenommen, angesäuert und das ausgefallene Dipeptid nach Stehenlassen im Kühlschrank abfiltriert. Es wurde aus Wasser umkristallisiert und über P_2O_5 getrocknet. Das Tripeptid kristallisierte mit 2 Mol Kristallwasser. Ausb. 0,62 g (28% d. Th.).

$C_{27}H_{33}N_5O_8Se \cdot 2H_2O$ (670,6) Ber. N 10,4 Gef. N 10,4

b) 0,26 g *N*-Benzyloxycarbonyl-Methylester (nach 36.) wurden in 4 ml warmem Dimethylformamid gelöst und nach dem Erkalten unter Rühren tropfenweise mit 0,60 ml 1*n* NaOH versetzt. Nach 1 Stde. bei Raumtemp. wurde mit 0,60 ml 1*n* HCl neutralisiert und das Lösungsmittel im Vak. bis auf einen kleinen Rückstand abgezogen. Dann wurden 2 ml Wasser zugegeben, mit Salzsäure schwach angesäuert, auf 0° abgekühlt und der Niederschlag abfiltriert. Es wurde mit kaltem Wasser und Aceton gewaschen und über P_2O_5 getrocknet. Ausb. 0,06 g (22% d. Th.).

38. *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl-*L*-tyrosyl-*L*-isoleucin: 0,72 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*Se*-benzyl-*L*-selenocysteinyl-*L*-tyrosin (nach 34.) wurden in 15 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 0,3 ml Triäthylamin versetzt und auf -10° abgekühlt. Unter Rühren wurden 0,23 ml Chlorkohlensäure-methylester und nach 10 Min. eine Lösung von 0,18 g *L*-Isoleucin in 3 ml Wasser und 0,23 ml Triäthylamin zugegeben. Die Lösung wurde 10 Min. bei -10° und noch weitere 2 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Dann wurde das Tetrahydrofuran im Vak. abgezogen, die wäßr. Lösung mit Salzsäure schwach angesäuert und mit Essigester extrahiert. Der Essigester wurde mit Wasser gewaschen, über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet, im Vak. abgezogen und der sirupöse Rückstand aus verd. Äthanol umkristallisiert. Ausb. 0,50 g (61% d. Th.).

$C_{33}H_{39}N_3O_7Se$ (668,6) Ber. 6,29 Gef. 6,30

Zusammenfassung

Es werden Darstellung und Eigenschaften von *Se*-Benzyl-*L*-selenocystein, einigen Derivaten sowie die Synthese von Di- und Tripeptiden mit Hilfe der Dicyclohexylcarbodiimid-, aktiven Ester- und gemischten Säureanhydridmethode beschrieben.

Summary

The preparation and properties of *Se*-benzyl-*L*-selenocysteine and some derivatives are described. Di- and tripeptides were synthesised with the aid of dicyclohexylcarbodiimide, the active, esters, and the mixed acid anhydrides.

Dr. Werner Frank, Max-Planck-Institut für Virusforschung, 74 Tübingen, Spemannstraße 35.