

SYNTHESE EINES XYLOSE-HALTIGEN GLYCOPEPTIDES, DAS DIE AMINOSÄURE-SEQUENZ 4 BIS 7 DES NH₂-TERMINUS DER PROTEIN-CORE-STRUKTUR DES RINDERHAUT-PROTEODERMATAN-SULFATS ENTHÄLT*

HARI G. GARG**, THOMAS HASENKAMP UND HANS PAULSEN

Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg Martin-Luther-King-Platz 6; D-2000 Hamburg 13 (Bundesrepublik Deutschland)

(Eingegangen am 6. September 1985; angenommen am 12. November 1985)

ABSTRACT

The synthesis is described of α - β -D-xylopyranosyl-L-serylglycyl-L-isoleucyl-glycine (7), a glycopeptide containing the amino acid sequence of the protein core-structure of beef-skin proteodermatan sulfate; coupling of *N*-protected *O*-XylpSer with protected GlylleuGly followed by deprotection afforded 7.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird die Synthese von *O*- β -D-Xylopyranosyl-L-serylglycyl-L-isoleucyl-glycin (7) beschrieben. Das Glycopeptid stellt die Aminosäuresequenz der Protein Core-Struktur von Rinderhaut Proteodermatansulfat dar. Die Kupplung von SerGlylleuGly mit 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- β -D-Xylopyranose in Gegenwart von Trimethylsilyltriflat und anschließende Entblockierung ergibt 7.

EINFÜHRUNG

In den Proteoglycanen der Rinderhaut ist die Dermatan-Sulfat (DS)-Kette *O*-glycosidisch an die Protein-Core-Struktur gebunden. Die Verknüpfung erfolgt über eine β -glycosidische Bindung der β -Xylose mit den Hydroxylgruppen von L-Serin oder L-Threonin^{1,2}.

Für das DS-Proteoglycan von Rinderhaut geben Pearsen *et al.*³ eine Aminosäure-Sequenz des NH₂-Terminus der Protein-Core-Struktur an. Sie konnten zeigen, daß an das Serin der Position 4 eine DS-Kette gebunden ist. Über die Biosynthese der *O*-glycosidisch gebundenen Saccharidketten, insbesondere bei DS und anderen Proteoglycanen ist wenig bekannt. Synthetische Glycopeptide, die Xylose und eine Aminosäure-Sequenz enthalten, die der der DS-Proteoglycane entspricht,

*Diese Arbeit ist Roger W. Jeanloz mit besten Wünschen gewidmet.

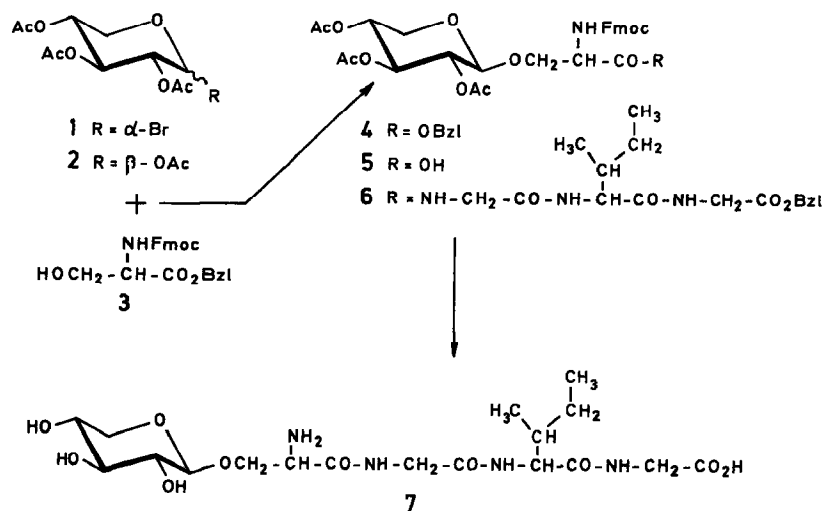
**Permanente Adresse: Dept. of Biological Chemistry, Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital and Shriners Burns Institute, Boston, MA 02114, U.S.A.

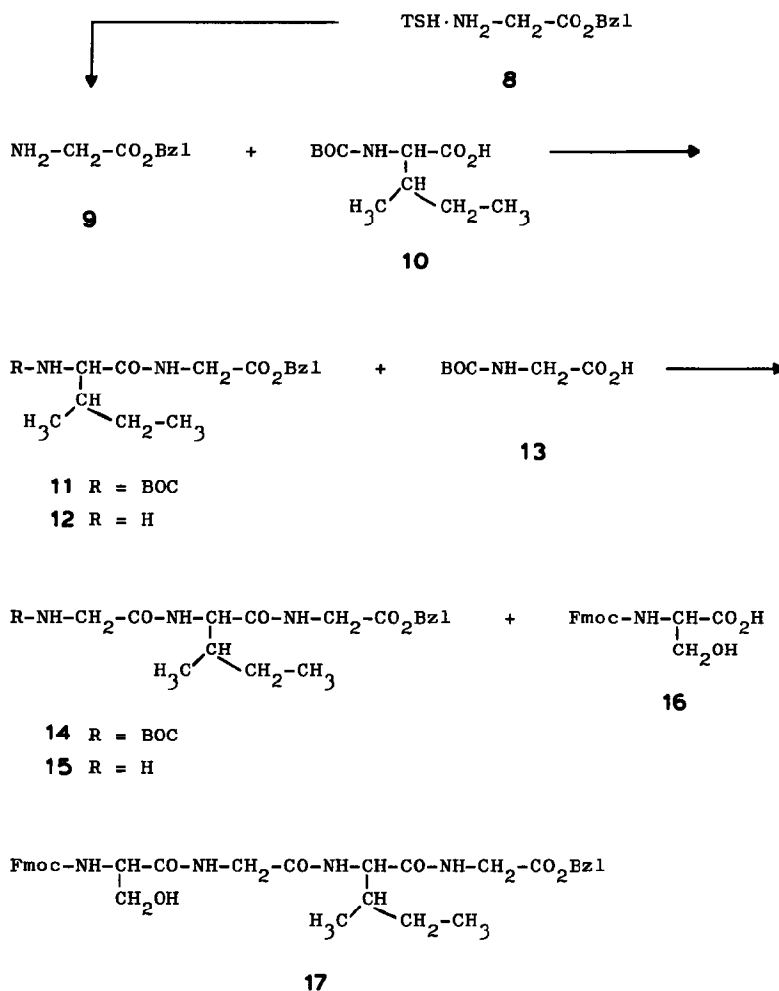
könnten eine große Hilfe sein, um die Biosynthese von DS-proteoglycanen in Haut- und Narbengewebe aufzuklären⁴. Auch wären diese Glycopeptide gute Standardkomponenten, um die basenkatalysierte β -Eliminierung von Xylose-haltigen Saccharid-Ketten in Proteoglycanen zu studieren⁵. In der vorliegenden Mitteilung wird daher die Synthese eines β -D-Xylopyranosylpeptides beschrieben, das die Sequenz 4–7 der NH_2 -terminanten Region des Core-Proteins des DS-Proteoglycans enthält.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Für die Glycopeptid-Synthese sollten zwei Strategien erprobt werden. Einerseits sollte die Xylose an ein selektiv entblockierbares Derivat des L-Serins gekuppelt werden, um einen Baustein von β -D-Xyl-L-Ser zu gewinnen, der universell in jede Peptidkette eingebaut werden kann. Zum anderen sollte geprüft werden, ob die Hydroxylgruppe des Serins des Tetrapeptides L-Ser-Gly-L-Ileu-Gly direkt mit D-Xylose glycosyliert werden kann. Zur Gewinnung des L-Serin-haltigen Bausteines wurde *N*-(Fluorenylmethoxycarbonyl)-L-serinbenzylester⁶ **3** mit 2,3,4-Tri-*O*-acetyl- α -D-xylopyranosylbromid (**1**) bei Gegenwart von Silberperchlorat oder, in einfacherer Weise und mit besserer Ausbeute, mit 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- β -D-xylopyranose (**2**) bei Gegenwart von Trimethylsilyltrifluormethansulfonsäure (TMS-Triflat) umgesetzt. man gelangt in beiden Fällen ausschließlich zum β -glycosidisch verknüpften Produkt **4**. Die Ausbeuten bei beiden Methoden betragen 49 bzw. 62%.

Der Aufbau der Peptid-Sequenz wurde wie folgt durchgeführt. Aus Glycinebenzylester-*p*-toluolsulfonat **8** wurde mit Triethylamin die Base **9** freigesetzt und bei Gegenwart von EEDQ (Ethyl-2-ethoxy-1,2-dihydro-1-chinolin-carboxylat)⁷ mit *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-L-isoleucin (**10**) gekuppelt. Im erhaltenen *N*-(*tert*-Butyl-





BOC = *tert*-Butyloxycarbonyl; Bzl = Benzyl;

Fmoc = 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl;

TSH = *p*-Toluolsulfonsäure

oxycarbonyl)-L-isoleucyl-glycinbenzylester **11** wurde die Aminogruppe mit Ameisensäure zu **12** freigesetzt und bei Gegenwart von EEDQ mit *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-glycin (**13**) kondensiert zu **14**. Durch Hydrolyse mit Ameisensäure erhielt man hieraus das an der Aminogruppe entblockierte Tripeptid **15**, das bereits für die Kupplung mit dem Xylose-haltigen Derivat **5** geeignet ist. Das Tripeptid **15** wurde ferner bei Gegenwart von EEDQ mit *N*-(Fluorenylmethoxycarbonyl)-L-serin (**16**) zum Tetrapeptid *N*-(Fluorenylmethyloxycarbonyl)-L-seryl-glycyl-L-iso-

leucyl-glycinbenzylester (**17**) kondensiert, das für die direkte Glycosylierung mit D-Xylose eingesetzt werden kann.

Zur Überprüfung der beiden Reaktionswege wurde zunächst das durch Spaltung des Benzylesters **4** gewinnbare L-Xylose-Derivat **5** bei Gegenwart von EEDQ mit dem Tripeptid **15** umgesetzt. Man gelangte auf diesem Weg in 22% Ausbeute zu dem gewünschten L-Xylose-tetrapeptid **6**. Sehr bemerkenswert ist jedoch, daß auch die direkte Glycosylierung des Tetrapeptid-Derivatives **17** gelingt. Wegen der schlechten Löslichkeit von **17** mußte die Glycosidsynthese allerdings in Nitromethan durchgeführt werden. Die Umsetzung des β -Acetats **2** mit **17** lieferte bei Gegenwart von TMS-Triflat mit sehr guter Selektivität in 39% Ausbeute das gleiche L-Xylose-tetrapeptid **6**. Die letztere Reaktionsfolge hat den Vorteil, das zwei zusätzliche Entblockierungsschritte entfallen.

Aus **6** wurden durch Umsetzung mit Morpholin die Fmoc-Gruppe und anschließend mit Ameisensäure-Palladium der Benzylester abgespalten. Die Entfernung der *O*-Acetylgruppen gelang im letzten Schritt durch Behandlung mit methanolischer Kaliumcyanid-Lösung⁸. Eine β -Eliminierung tritt hierbei nicht ein. Damit steht das gewünschte Glycopeptid β -D-Xylopyranosyl-L-seryl-glycyl-L-isoleucyl-glycin **7** für Biosynthesestudien zur Verfügung.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden. — Alle Fraktionen wurden dünnschichtchromatographisch auf Aluminiumfolien (Kieselgel 60, F₂₅₄, Merck) geprüft. Lösungsmittelgemische: *A* (Toluol–Ethanol, 5:2, v/v), *B* (Butanol–Pyridin–Essigsäure–Wasser, 4:1:1:2, v/v), *C* (Toluol–Aceton, 10:1, v/v), *D* (Toluol–Aceton, 1:1, v/v). Detektion: 20% Schwefelsäure und Erhitzen auf 200° und UV-Licht-Absorption. Präparative Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (70–230 mesh, ASTM, Merck). Molekularsieb: 4Å in Perlform (Merck). Schmelzpunkte: Leitz Heitzischmikroskop, unkorrigiert. Optische Drehungen: Perkin–Elmer-Polarimeter 243, 1-dm-Küvetten. N.m.r.-Spektren: Bruker WH 270 und Bruker WM 400, innerer Standard Me₄Si. Die Auswertung der Kopplungskonstanten erfolgte nach erster Ordnung.

3-*O*-(2,3,4-*Tri-O*-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-*N*-(fluorenylmethoxycarbonyl)-L-serin-benzylester (**4**). — (a) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- β -D-xylopyranose⁹ (**2**, 100 mg, 314 μ mol) wird in absol. Dichlormethan (0.5 mL) gelöst und mit Bromwasserstoff in Dichlormethan (1 mL) versetzt. Nach 10 min bei Raumtemp. wird *in vacuo* zum Sirup eingengt. Das erhaltene Bromid **1** wird unmittelbar weiter umgesetzt. Zu einer Mischung von *N*-(Fluorenylmethoxycarbonyl)-L-serinbenzylester (**3**, 131 mg, 314 μ mol), Silberperchlorat (92 mg) und Molekularsieb 4Å in absol. Toluol (1.5 mL) und absol. Dichlormethan (1.5 mL) wird eine Lösung des Bromids **1** in absol. Toluol (2 mL) gegeben. Es wird 18 h bei Raumtemp. gerührt, über Celite filtriert, *in vacuo* eingengt und mit Chloroform (25 mL) aufgenommen. Die organische Phase wird mit NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄

getrocknet und *in vacuo* zum Sirup eingengt. Das Produkt wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 (Gemisch C) gereinigt; DC (Gemisch C), R_F 0.27. Kristallisation erfolgt aus Ether-Petrolether. Ausb. 106 mg (48.9%); Schmp. 134–136°, $[\alpha]_D^{20}$ -29.2° (c 0.9, Chloroform).

(b) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- β -D-xylopyranosid (**2**) (100 mg, 314 μ mol) wird in absol. Nitromethan (1.4 mL) gelöst, Molekularsieb 4Å, *N*-(Fluorenylmethyloxycarbonyl)-L-serinbenzylester (**3**, 131 mg, 314 μ mol) und Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (0.5 equiv. 28 μ L) werden zugegeben, und das Gemisch wird bei Raumtemp. 2 h stehengelassen. Es wird mit Triethylamin neutralisiert, filtriert und *in vacuo* zum Sirup eingengt. Die Reinigung erfolgt durch Chromatographie wie oben beschrieben. Ausb. 134 mg (61.8%) Sirup.

$^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 2.02, 2.05, 2.06 (3 s, 9 H, 3 COCH_3), 3.26 (dd, $J_{4,5b}$ 7.8, $J_{5a,5b}$ 11.9 Hz, 1 H, H-5b), 3.79 (dd, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CHb}}$ 3.2, $J_{\beta\text{CHa},\beta\text{CHb}}$ 10.2 Hz, 1 H, Ser- βCHb), 3.91 (dd, $J_{4,5a}$ 4.7, $J_{5a,5b}$ 11.8 Hz, 1 H, H-5a), 4.23 (dd, $J_{\text{CH},\text{CHa}}$ 7.0, $J_{\text{CH},\text{CHb}}$ 7.0 Hz, 1 H, Fmoc-CH), 4.26 (dd, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CHa}}$ 2.6, $J_{\beta\text{CHa},\beta\text{CHb}}$ 10.2 Hz, 1 H, Ser- βCHa), 4.39 (dd, $J_{\text{CH},\text{CHb}}$ 7.0, $J_{\text{CHa},\text{CHb}}$ 10.5 Hz, 1 H, Fmoc-CHb), 4.46 (dd, $J_{\text{CH},\text{CHa}}$ 7.0, $J_{\text{CHa},\text{CHb}}$ 10.5 Hz, 1 H, Fmoc-CHa), 4.49 (d, $J_{1,2}$ 6.0 Hz, 1 H, H-1), 4.56 (m, 1 H, Ser- αCH), 4.84 (ddd, $J_{3,4}$ 7.9, $J_{4,5a}$ 4.7, $J_{4,5b}$ 7.8 Hz, 1 H, H-4), 4.86 (dd, $J_{1,2}$ 6.0, $J_{2,3}$ 7.9 Hz, 1 H, H-2), 5.11 (dd, $J_{2,3}$ 7.9, $J_{3,4}$ 7.9 Hz, 1 H, H-3), 5.18 (d, $J_{\text{CHa},\text{CHb}}$ 12.2 Hz, 1 H, CH-Ph), 5.23 (d, $J_{\text{CHa},\text{CHb}}$ 12.2 Hz, 1 H, CH-Ph), 5.64 (d, $J_{\text{NH},2}$ 8.4 Hz, 1 H, Ser-NH), 7.10–7.80 (m, 13 H, Aromaten-H).

Anal. Ber. für $\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{NO}_{13}$ (690.7): C, 62.60; H, 5.25; N, 2.03. Gef.: C, 62.71; H, 5.32; N, 2.09.

3-*O*-(2,3,4-Tri-*O*-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-*N*-(fluorenylmethyloxycarbonyl)-L-seryl-glycyl-L-isoleucyl-glycinbenzylester (**6**). — (a) Zu einer Mischung von Pd-Mohr (208 mg) in Ameisensäure (14 mL) wird unter Stickstoff bei Raumtemp. eine Lösung von **4** (260 mg, 376 μ mol) in absol. Methanol (4 mL) gegeben. Nach 30 min wird filtriert und *in vacuo* eingengt. Es wird mit Dichlormethan (75 mL) aufgenommen, mit 5% KHSO_4 -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und *in vacuo* eingengt. Das erhaltene Produkt **5** wird in Dichlormethan-*N,N*-Dimethylformamid (1:1, v/v, 30 mL) gelöst und am NH_2 -Terminus entblockiertes **15** (wie bei **17** beschrieben, aus **14** dargestellt) (164 mg, 376 μ mol) und EEDQ (95 mg, 376 μ mol) zugefügt und 20 h bei Raumtemp. gerührt. Es wird *in vacuo* eingengt, in Dichlormethan (75 mL) aufgenommen, mit 5% KHSO_4 , H_2O , m NaHCO_3 und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und *in vacuo* eingengt. Das Produkt wird an Kieselgel 60 chromatographiert (Gemisch D). Ausb. 75 mg (21.8%).

(b) Das Acetat **2** (99 mg, 310 μ mol) wird in absol. Nitromethan (2 mL) gelöst, Molekularsieb 4Å, das Tetrapeptid **17** (200 mg, 310 μ mol) und Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (1.5 equiv. 84 μ mol) werden zugegeben, und das Gemisch wird bei Raumtemp. 5 h stehengelassen. Es wird mit Triethylamin neutralisiert, filtriert und *in vacuo* eingengt. Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel 60 (Gemisch D); DC (Gemisch D), R_F 0.48. Kristallisation erfolgt aus Dichlormethan-Petrolether. Ausb. 110 mg (39.3%); Schmp. 204°, $[\alpha]_D^{20}$ -31.1° (c 1.0, Chloroform).

$^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 0.86 (t, $J_{\gamma\text{CH},\gamma\text{CH}_3}$ 7.4 Hz, 3 H, Ileu- γCH_3), 0.92 (d, $J_{\beta\text{CH},\beta\text{CH}_3}$ 6.7 Hz, 3 H, Ileu- βCH_3), 1.12 (m, 1 H, Ileu- γCH), 1.49 (m, 1 H, Ileu- γCH), 1.92 (m, 1 H, Ileu- βCH), 2.00, 2.02, 2.04 (3 s, 9 H, 3 COCH_3), 3.35 (m, 1 H, H-5b), 3.75–4.12 (m, 7 H, 2 Gly- CH_2 , Ser- βCH , H-5a), 4.20 (dd, $J_{\text{CH},\text{CHa}}$ 6.7, $J_{\text{CH},\text{CHb}}$ 6.8 Hz, 1 H, Fmoc-CH), 4.38–4.52 (m, 5 H, Ileu- αCH , Ser- αCH , Fmoc- CH_2 , H-1), 4.93 (dd, $J_{1,2}$ 7.0, $J_{2,3}$ 8.9 Hz, 1 H, H-2), 4.97 (ddd, $J_{3,4}$ 8.9, $J_{4,5a}$ 5.2, $J_{4,5b}$ 8.8 Hz, 1 H, H-4), 5.13 (s, 2 H, CH_2Ph), 5.18 (dd, $J_{2,3}$ 8.9, $J_{3,4}$ 8.9 Hz, 1 H, H-3), 5.88 (d, 1 H, Ser-NH), 6.83 (m, 2 H, 2 NH), 7.15 (m, 1 H, 1 NH), 7.34 (m, 2 H, Fmoc-Aromat), 7.31 (m, 5 H, 1 Ph), 7.39, 7.58, 7.76 (m, 6 H, Fmoc-Aromat).

Anal. Ber. für $\text{C}_{46}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_{15}$ (903.0): C, 61.19; H, 6.03; N, 6.20. Gef.: C, 61.26; H, 6.08; N, 6.10.

3-O-(β -D-Xylopyranosyl)-L-seryl-glycyl-L-isoleucyl-glycin (7). — Verbindung 6 (41 mg, 44.6 μmol) wird in Morpholin (1 mL) gelöst und bei Raumtemp. gerührt. Nach 3 h wird *in vacuo* eingeengt, in Ethylacetat (0.5 mL) und Methanol (0.75 mL) gelöst, mit Pd-Kohle (10%, 75 mg) versetzt und bei Raumtemp. unter H_2 gerührt. nach 18 h wird filtriert, *in vacuo* eingeengt, in Methanol (3 mL) gelöst, mit ethanolischer KCN-Lösung (gesättigt, 7 mL) versetzt und bei Raumtemp. gerührt. Nach 5 h wird mit Ameisensäure neutralisiert und *in vacuo* eingeengt. Reinigung erfolgt an Sephadex G-10 mit H_2O -Methanol. Ausb. 14 mg (66.7%) Sirup, $[\alpha]_D^{20}$ -17.0° (c 0.5, Methanol).

$^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CD_3OD): 0.90–1.00 (m, 4 H, Ileu- βCH_2 ; Ileu- βCH), 1.18 (t, 3 H, Ileu- γCH_2), 1.51 (m, 1 H, Ileu- γCH), 1.93 (m, 1 H, Ileu- γCH), 3.22, 3.24 (m, 2 H, H-5b, Ser- βCH), 3.40–4.00 (m, 10 H), 4.09 (ddd, 1 H, H-4), 4.30 (dd, $J_{2,3}$ 6.8, $J_{3,4}$ 7.2 Hz, 1 H, H-3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_{10}$ (464.5): C, 46.55; H, 6.94; N, 12.06. Gef.: C, 46.67; H, 6.88; N, 12.15.

N-(tert-Butyloxycarbonyl)-L-isoleucyl-glycinbenzylester (11). — Zu einer Lösung von Glycinbenzylester-*p*-Toluolsulfonat (8) (3.37 g, 10 mmol), Triethylamin (1 g, 10 mmol) und N-(tert-Butyloxycarbonyl)-L-isoleucin (10, 2.31 g, 10 mmol) in Dichlormethan (20 mL) wird bei 0° EEDQ⁶ (2.47 g, 10 mmol) hinzugefügt. Nach 1 h wird auf Raumtemp. erwärmt und 20 h gerührt. Die Mischung wird nacheinander mit 5% KHSO_4 , H_2O , m NaHCO_3 und H_2O gewaschen und über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* eingeengt. Der Rückstand kristallisiert aus Ethylacetat-Petrolether. Ausb. 2.94 g (78%), Schmp. 91° , $[\alpha]_D^{20}$ -14.0° (c 1.0, CHCl_3); DC (Gemisch A) R_F 0.56.

$^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 0.90 (t, $J_{\gamma\text{CH},\gamma\text{CH}_3}$ 7.4 Hz, 3 H, Ileu- γCH_3), 0.94 (d, $J_{\beta\text{CH},\beta\text{CH}_3}$ 6.9 Hz, 3 H, Ileu- βCH_3), 1.11 (m, 1 H, Ileu- γCH), 1.43 (s, 9 H, BOC), 1.45 (m, 1 H, Ileu- γCH), 1.89 (m, 1 H, Ileu- βCH), 4.06 (m, 3 H, Ileu- αCH , Gly- CH_2), 5.09 (d, $J_{\text{NH},\alpha\text{CH}}$ 8.8 Hz, 1 H, Ileu-NH), 5.18 (s, 2 H, CH_2Ph), 6.67 (dd, $J_{\text{NH},\alpha\text{CH}}$ 5.2 Hz, 1 H, Gly-NH), 7.35 (m, 5 H, 1 Ph).

Anal. Ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$ (378.5): C, 63.46; H, 8.00; N, 7.40. Gef.: C, 63.85; H, 8.05; N, 7.48.

N-(tert-Butyloxycarbonyl)-glycyl-L-isoleucyl-glycinbenzylester (14). — Das

Dipeptid **11** (900 mg, 2.38 mmol) wird mit Ameisensäure (36 mL) bei Raumtemp. behandelt und *in vacuo* eingengt. Das gebildete, am NH_2 -Terminus entblockierte Dipeptid **12** wird in Dichlormethan (100 mL) aufgenommen, mit *M* NaHCO_3 intensiv bis zur Säurefreiheit gewaschen und *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wird in Dichlormethan (20 mL) gelöst, *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-glycin (**14**) (416 mg, 2.38 mmol) zugegeben, dann wird auf 0° abgekühlt und unter Rühren EEDQ (600 mg, 2.40 mmol) zugefügt. Nach 1 h wird auf Raumtemp. erwärmt und 20 h gerührt. Die Mischung wird, wie bei **11** beschrieben, aufgearbeitet. Kristalle aus Ethylacetat-Petrolether. Ausb. 809 mg (78%), Schmp. 96–98°, $[\alpha]_D^{20}$ -17.6° (*c* 1.0, CHCl_3), DC (Mischung A) R_F 0.50.

$^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 0.88 (t, 3 H, Ileu- γCH_3), 0.93 (d, 3 H, Ileu- βCH_3), 1.11 (m, 1 H, Ileu- γCH), 1.44 (s, 3 H, BOC), 1.51 (m, 1 H, Ileu- γCH), 1.91 (m, 1 H, Ileu- βCH), 3.80 (m, 2 H, Gly- CH_2 , N-term.), 4.05 (m, 2 H, Gly- CH_2 , C-term.), 4.42 (dd, $J_{\text{NH},\alpha\text{CH}}$ 8.8, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 6.9 Hz, 1 H, Ileu- αCH), 5.16 (s, 2 H, CH_2Ph), 5.39 (m, 1 H, Gly-NH, N-term.), 6.93 (d, $J_{\text{NH},\alpha\text{CH}}$ 8.8 Hz, 1 H, Ileu-NH), 7.11 (m, 1 H, Gly-NH, C-term.), 7.36 (m, 5 H, 1 Ph).

Anal. Ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_6$ (435.6): C, 60.67; H, 7.65; N, 9.65. Gef.: C, 60.75; H, 7.57; N, 9.51.

N-(Fluorenylmethyloxycarbonyl)-L-seryl-glycyl-L-isoleucyl-glycinbenzylester (**17**). — Das Tripeptid **14** (997 mg, 2.29 mmol) wird bei Raumtemp. 60 min mit Ameisensäure (35 mL) behandelt. Das partiell entblockierte Tripeptid **15** wird, wie bei **12** beschrieben, isoliert. Es wird in Dichlormethan-*N,N*-Dimethylformamid (1:1, v/v, 50 mL) gelöst und *N*-(Fluorenylmethyloxycarbonyl)-L-serin (**16**, 750 mg, 2.29 mmol) und EEDQ (997 mg, 2.3 mmol) zugefügt. Die Mischung wird 20 h bei Raumtemp. gerührt und, wie bei **11** beschrieben, aufgearbeitet. Kristalle aus Dichlormethan. Ausb. 850 mg (58%), Schmp. 163–165°, $[\alpha]_D^{20}$ -12.4° (*c* 1.0, DMF). DC (Mischung A) R_F 0.20, (Mischung B) R_F 0.86.

$^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, $\text{DMF-}d_7$): δ 0.81 (t, $J_{\gamma\text{CH},\gamma\text{CH}_3}$ 7.5 Hz, 3 H, Ileu- γCH_3), 0.91 (d, $J_{\beta\text{CH},\beta\text{CH}_3}$ 6.7 Hz, 3 H, Ileu- βCH_3), 1.15 (m, 1 H, Ileu- γCH), 1.51 (m, 1 H, Ileu- γCH), 1.88 (m, 1 H, Ileu- βCH), 3.83–4.07 (m, 6 H, 2 Gly- CH_2 , Ser- βCH_2), 4.23–4.41 (m, 5 H, Fmoc- CH_2 , Fmoc-CH, Ileu- αCH , Ser- αCH), 5.17 (s, 2 H, CH_2Ph), 5.23 (m, 1 H, Ser-NH), 7.34–7.45 (m, 11 H, Fmoc-Aromat, 1 Ph), 7.54, 7.78, 7.82 (m, 3 H, 2 Gly-NH, 1 Ileu-NH), 7.93 (m, 2 H, Fmoc-Aromat).

Anal. Ber. für $\text{C}_{35}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_8 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (662.8): C, 63.42; H, 6.40; N, 8.45. Gef.: C, 63.84; H, 6.10; N, 8.08.

DANK

H. G. Garg dankt dem Deutschen Akademischen Austauschdienst, Bonn, für die Gewährung eines Forschungsaufenthaltes.

LITERATUR

- 1 U. LINDAHL UND L. RODÉN, in A. GOTTSCHALK (Ed.), *Glycoproteins: Their Composition, Structure, and Function*, Vol. 5A, Elsevier, Amsterdam, 1972, pp. 491–517.
- 2 E. L. STERN, B. LINDAHL UND L. RODÉN, *J. Biol. Chem.*, 246 (1971) 5707–5715.
- 3 C. H. PEARSON, N. WINTERBOTTOM, D. S. FACKRE, P. G. SCOTT UND M. R. CARPENTER, *J. Biol. Chem.*, 258 (1983) 15101–15104.
- 4 H. G. GARG UND D. A. SWANN, *Proc. 7th Int. Symp. Glycoconjugates*, Lund–Ronneby, 1983, p. 796.
- 5 A. GOTTSCHALK, in Ref. 2.
- 6 L. A. CARPINO UND N. Y. HAN, *J. Org. Chem.*, 37 (1972) 3404–3409.
- 7 B. BELLEAU UND G. MALEK, *J. Am. Chem. Soc.*, 90 (1968) 1651–1652.
- 8 H. PAULSEN, M. SCHULTZ, J.-D. KLAMANN, B. WALLER UND M. PAAL, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, (1985) 2028–2048.
- 9 C. S. HUDSON UND J. M. JOHNSON, *J. Am. Chem. Soc.*, 37 (1915) 2748–2753.