

130. Poly(dipeptamidinium)-Salze: Definition und Methoden zur präparativen Herstellung

von Heinz Moser¹⁾, Anton Fliri²⁾, Arthur Steiger³⁾, Gerard Costello⁴⁾, Jakob Schreiber
und Albert Eschenmoser*

Laboratorium für Organische Chemie, Eidgenössische Technische Hochschule, Universitätstrasse 16,
CH-8092 Zürich

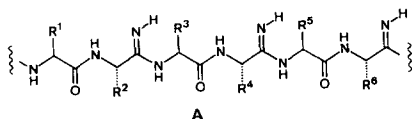
(6.V.86)

Poly(dipeptamidinium) Salts: Definition and Methods of Preparation

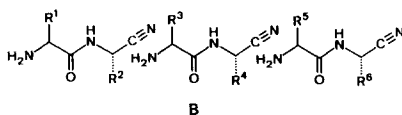
Poly(dipeptamides) are polypeptide derivatives in which the carbonyl oxygen of each second backbone amide group is replaced by an imine nitrogen (see A). So far, such derivatives have been unknown. Polyprotonated salts of them (= poly(dipeptamidinium) salts) are of interest in view of their intrinsic constitutional relationship to the structure of polynucleotides: the number of covalent bonds between neighboring centers of positive charge in poly(dipeptamidinium) salts is identical to the number of covalent bonds between neighboring centers of negative charge in natural polynucleotides (see D). Poly(dipeptamidinium) polycations and polynucleotide polyanions are constitutionally and electrostatically complementary structures. Since poly(dipeptamides) are (formally) polymers of dipeptide nitriles, and, since they can be expected to give polypeptides on hydrolysis, the relationship mentioned above deserves attention and experimental study in context with the problem of designing chemical models of biogenesis.

This paper describes methods for the chemical preparation, the spectral characterization, and some chemical properties of homodipeptidic poly(dipeptamidinium) salts in the L-alanyl-glycyl and L-phenylalanyl-glycyl series. The methods of preparation include a stepwise construction of defined lower oligomers (up to hexamer) as well as, in the L-alanyl-glycyl series, a one-operation poly-condensation procedure leading to polymers containing an average of ca. 20 dipeptamidinium units (Schemes 4, 6 and 7).

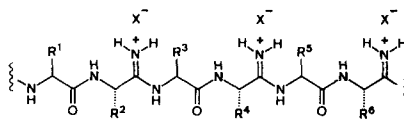
Als *Poly(dipeptamidine)* bezeichnen wir Polypeptid-Derivate, in welchen der Carbonyl-Sauerstoff jeder zweiten peptidischen Amid-Gruppe durch einen Imin-Stickstoff ersetzt ist (vgl. A). Solche Verbindungen sind formal Polymere von Dipeptid-nitrilen B.



A



B



C: R¹ = R² = R³ und R⁴ = R⁵ = R⁶, homo-dipeptidische Poly(dipeptamidinium)-Salze
R¹ ≠ R² ≠ R³ und R⁴ ≠ R⁵ ≠ R⁶, hetero-dipeptidische Poly(dipeptamidinium)-Salze

¹⁾ Vgl. die eben im Druck erschienene Dissertation von H. Moser [1].

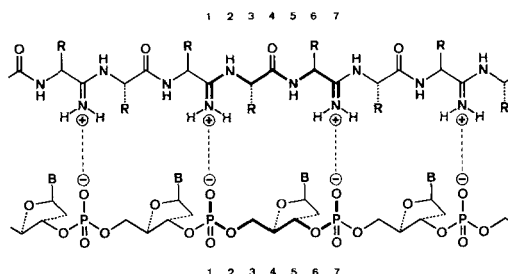
²⁾ Postdoktorat ETH, 1980–82.

³⁾ Dissertation in Vorbereitung.

⁴⁾ Postdoktorat ETH, 1980.

Homo-dipeptidische Poly(dipeptamidine) setzen sich aus konstitutionell identischen Dipeptid-Bausteinen zusammen, *hetero-dipeptidische* aus konstitutionell unterschiedlichen. Als Folge der hohen Basizität der Stoffgruppe der Amidine (pK_a meist über 10) werden Poly(dipeptamidine) in neutral gepuffertem Medium in protonierter, polykationischer Form vorliegen (vgl. C); eine experimentelle Chemie der Polydipeptamidine wird deshalb im wesentlichen eine solche der *Poly(dipeptamidinium)-Salze* sein.

Unsere Beschäftigung mit diesem speziellen, bislang experimentell unberührt gebliebenen Verbindungstyp ist Teil einer im grösseren Rahmen laufenden Untersuchung der Chemie der α -Amino-nitrile [2]. Im Brennpunkt unseres Interesses an Poly(dipeptamidinium)-Salzen liegt die folgende, unseres Wissens bislang nicht explizite ins Auge gefasste konstitutionelle Beziehung: *Die jeweilige Anzahl kovalenter Skelettbindungen zwischen aufeinanderfolgenden Amidinium-Gruppen in Poly(dipeptamidinium)-Salzen und zwischen aufeinanderfolgenden Phosphat-Gruppen in natürlichen Polynukleotiden ist identisch (vgl. D).* Polykationische Poly(dipeptamidinium)-Salze und polyanionische Polynukleotide



D: Konstitutionelle und elektrostatische Komplementarität zwischen den Strukturtypen der Poly(dipeptamidinium)-Salze und Polynukleotide

stellen konstitutionell und elektrostatisch komplementäre Polyelektrolyte dar⁵⁾). Der hieraus zu erkennende, verkappte Zusammenhang zwischen den Konstitutionstypen der Proteine und der Nukleinsäuren wirft im Verein mit dem eingangs angedeuteten Zusammenhang zwischen (polymeren) Poly(dipeptamidinen) und (monomeren) Dipeptid-nitrilen zahlreiche Fragen auf, von welchen wir glauben, dass sie für den Problembereich der präbiotischen Chemie von Belang sind. Hierzu gehört vor allem die Frage nach der Existenz von katalytisch wirksamen Templat-Wechselwirkungen zwischen Nukleotid-Polyanionen und Dipeptamidinium-Polykationen bei Bildung derselben aus monomeren

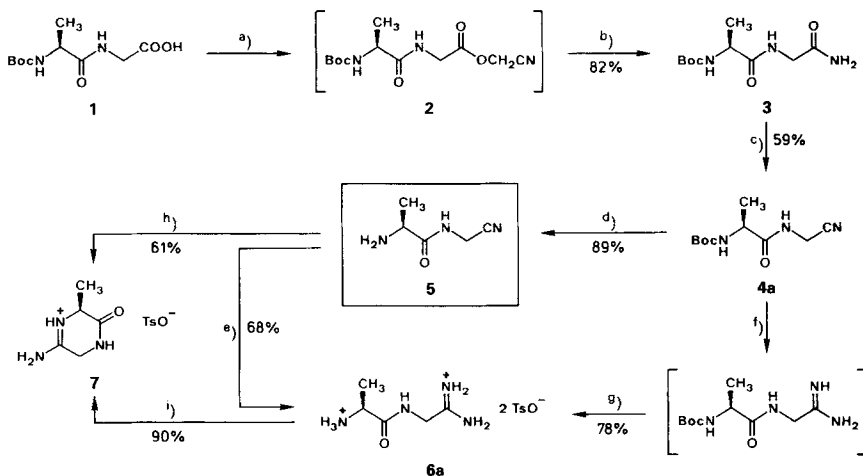
⁵⁾ Hinweise auf eine strukturelle Komplementarität zwischen Protein- und DNA-Struktur finden sich in der Literatur [3] [4] im Zusammenhang mit hypothetischen Modellvorstellungen über die Natur spezifischer Protein-DNA-Interaktionen. Nach Sussman und Mitarbeitern [3] weisen die antiparallel doppelsträngige β -Faltblatt-Struktur einer Protein-Kette und die kleine Furche der DNA (B-Form) 'complementary structural features' [3] auf, die eine repetitive H-Verbrückung zwischen ('*exo'*-gerichteten) Amid-NH-Gruppen des Faltblatts mit den (C(3'))-gebundenen O-Atomen der Desoxyribose-DNA-Bausteine ermöglichen sollen, und Carter und Kraut [4] haben in ähnlichem Zusammenhang eine 'fundamental complementarity between polynucleotids and polypeptides (...) that (...) results directly from the stereochemistry of the two classes of biopolymers' [4] angedeutet. Unsere Kenntnis dieser Literaturstellen verdanken wir einem Hinweis (Oktober 1985) von Prof. Dr. David Usher (Cornell University). Für einen Überblick auf die heutigen (von jenen frühen Modellvorstellungen abweichenden) Kenntnisse über spezifische Protein-DNA-Interaktion vgl. z. B. [5].

Bausteinen. Teilziel auf dem Wege zu einer experimentellen Bearbeitung solcher Fragen sind die chemische Synthese und Charakterisierung des bislang unbekannten Strukturtyps der Poly(dipeptamidinium)-Salze. Hier berichten wir über Methoden der präparativen Herstellung, die spektroskopische und chromatographische Charakterisierung, sowie über einige chemische Eigenschaften einfacher homo-dipeptidischer Vertreter dieser Verbindungsklasse.

Einige Derivate von Dipeptid-nitrilen und peptidischen Amidinen sind in anderem Zusammenhang von *Woolley et al.* [6] beschrieben worden. Andererseits finden sich in den Arbeiten von *Kawashiro* bzw. *Morimoto et al.* [7] charakterisierte Dipeptid-nitrile, die als Vergleichsprodukte für Untersuchungen über die Oligomerisation von α -Amino-nitrilen hergestellt worden sind. Die Motive hierzu gehen auf *Akabori* [8] zurück, der 1955 die Polymerisation von Glycin-nitril zu Polyamidin-Ketten, deren Hydrolyse zu Polyglycin und den nachträglichen Einbau von Seitenketten als potentiell präbiotischen Weg zu Polypeptiden vorgeschlagen und experimentell bearbeitet hatte. In diesen Zusammenhang gehören auch die kürzlich erschienenen Arbeiten von *Ree* und *Minoura* [9] über die 'Polymerisation' von *rac*- α -Amino-nitrilen in Gegenwart starker Basen (vgl. auch [10]). Definierte Amidin-Derivate von Polypeptiden sind in diesen Arbeiten nicht isoliert worden.

A. Vorversuche und Herstellung der Ausgangsstoffe. – Am Ausgangspunkt unserer Untersuchungen haben orientierende Vorversuche gestanden, welche die Darstellung eines einfachen, chiral-nicht-racemischen Dipeptid-nitrils und die Abklärung von dessen Eigenschaften im Hinblick auf die Möglichkeit einer Oligomerisation zum Ziele hatten. Die Wahl des *L*-Alanyl-glycin-nitrils (**5**; *Schema 1*) ergab sich u. a. aus der Überlegung, dass in Poly(dipeptamidinium)-Salzen die α -Stellungen von Amidinium-Gruppen im Vergleich zu Amid-Gruppen erhöhter Racemisierungsgefahr ausgesetzt sein dürften, und

Schema 1



a) CH₂ClCN, Et₃N, 40°. b) NH₃, *t*-BuOH, RT. c) POCl₃, Pyridin, -10°. d) HCOOH, RT. e) NH₃, MeOH, RT (Isolierung als Tosylat). f) NH₃, MeOH, RT. g) 2 Äquiv. TsOH, EtOH. h) NaOCH₃, MeOH, RT. (Isolierung als Tosylat; vgl. auch Cystein-Variante im *Exper. Teil*). i) NH₃, MeOH, RT.

dass deshalb die Verwendung von Glycin als entsprechender Aminosäure-Baustein angezeigt ist. Der zweite Baustein, Alanin, die einfachste der chiralen α -Aminosäuren, bietet die Gewähr dafür, dass in den Produkten der Versuchsreihe der konformationelle Einfluss der α -Substitution in einfachster Version präsent ist, und dass die Produkte Gelegenheit zur Ermittlung chiroptischer Eigenschaften bieten. *Schema 1* fasst die Ergebnisse der Voruntersuchungen zusammen.

Unser ursprünglich beschrittener Weg zur Darstellung des Zielprodukts L-Alanyl-glycin-nitril **5**⁶⁾ ging vom Boc-geschützten Dipeptid **1** aus und führte *via* **2** und das primäre Amid **3** (Cyanmethylester-Verfahren [11]) zum Dipeptid-nitril. Nitril-spezifische Schwierigkeiten bereitete vorerst die azidolytische Spaltung der Boc-Schutzgruppe der Vorstufe **4a**: weder die übliche Behandlung mit CF_3COOH , noch jene mit trockener HCl in AcOEt führte zu einheitlichen Reaktionsprodukten (vermutlich infolge proton-induzierter Nebenreaktionen an der Nitril-Gruppe, vgl. [12] [7a]); eine im wesentlichen quantitativ verlaufende Spaltung von **4a** zu **5** gelang dann aber durch Behandlung mit reiner HCOOH bei Raumtemperatur [13]. Freies L-Alanyl-glycin-nitril (**5**) ist im Hochvacuum um 100° im Kugelrohr destillierbar und als Ammonium-Salz der Dinitrobenzoesäure kristallisierbar. Später haben wir dann grössere Mengen des Boc-L-Alanyl-glycin-nitrils **4a** auf ergiebiger Art nach dem weiter unten besprochenen Verfahren (s. *Schema 3*) gewonnen.

Ein orientierender Versuch, mit Hilfe der bewährten *Pinner*-Reaktion [14], d. h. durch Überführung der Nitril-Gruppe in die (*N*-protonierte) Imid-*O*-methylester-Gruppe mit HCl/MeOH und anschliessender Amidierung mit NH_3/MeOH aus **5** das Amidin-Derivat **6a** herzustellen, verlief erfolglos (komplexes Reaktionsgemisch, nicht aufgeklärt). Auf Anhieb erfolgreich war indessen ein Versuch, der von der Überlegung ausging, dass die Nitril-Gruppe eines α -Acylamino-nitrils zu jenen gehören könnte, die sich als elektrophil aktivierte Nitril-Gruppen verhalten⁷⁾: Beliegt man das Boc-geschützte Nitril **4a** in NH_3 -gesättigtem *MeOH* bei Raumtemperatur, so waren nach vier Tagen gemäss DC nur noch Spuren des Ausgangsmaterials vorhanden. Die anschliessenden Versuche, das Amidin-Derivat als Tosylat zu isolieren, lieferten an dessen Stelle unter Abspaltung der Boc-Schutzgruppe das kristalline Amidinium-bis(tosylat) **6a** in 78% Ausbeute. Ausgehend von **5** führten die gleichen Reaktionsbedingungen (Zugabe von 2 Äquiv. TsOH nach Aufarbeitung) zu kristallinem **6a** in 68% Ausbeute. Diese bemerkenswert leicht erfolgende Umwandlung illustriert die erhöhte Elektrophilie peptidisch gebundener CN-Gruppen. Eine intramolekulare Version der Reaktion ist der Ringschluss von **5** zu dem als Tosylat **7** isolierten cyclischen Amidin-Derivat. Die Cyclisation erfolgt in *MeOH* in Gegenwart eines halben Moläquiv. NaOCH_3 bei Raumtemperatur innert Stunden. Einen Ringschluss zu dem (in seiner Salz-Form) gleichen Produkt geht auch **6a** ein; in NH_3 -haltigem *MeOH* bei Raumtemperatur cyclisiert dieses innert Minuten und liefert **7** nebst Ammonium-tosylat in je 90% Ausbeute. Der eigentliche Ringschluss wird hier zweifellos durch den Angriff der durch NH_3 freigesetzten, endständigen NH_2 -Gruppe auf die (positiv geladene) Amidinium-Gruppe eingeleitet. Dieser rasche Ringschluss des (Amino-amidinium)-Kations steht im bemerkenswerten Kontrast zur Stabilität des ent-

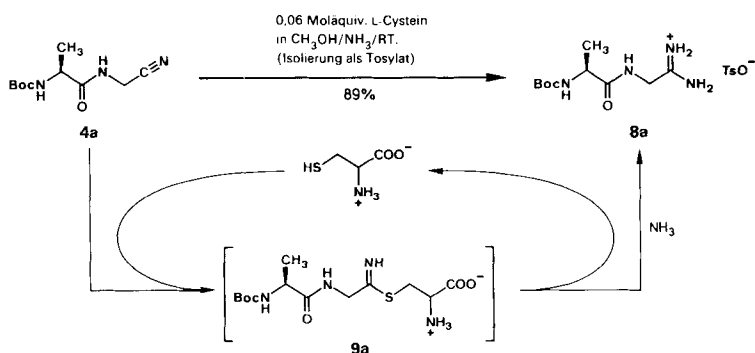
⁶⁾ Über eine frühere Herstellung von *rac*-**5** vgl. [7a].

⁷⁾ Erhöhte Elektrophilie der Nitril-Gruppen, in deren α -Stellung sich elektronegative σ -gebundene Substituenten befinden, ist wohlbekannt; vgl. z. B. [15].

sprechenden ungeladenen Amino-amidins, das ja bei seiner Entstehung aus **5** als freie Base in NH_3/MeOH während Tagen überlebt. Diese Befunde signalisieren eine potentiell hohe Bereitschaft von Poly(dipeptamidinium)-Salzen zur Cyclisation an deren Amino-Kettenende.

Ausgehend von der Vorstellung, dass die Amidin-Bildung der Dipeptid-nitrile **4a** und **5** in NH_3/MeOH über eine durch CH_3O^- initiierte Bildung eines Imid-*O*-methylester-Zwischenprodukts verläuft, das in einem Nachfolgeschritt mit NH_3 zum Amidin reagiert, haben wir in orientierenden Versuchen festgestellt, dass gewisse Thiole, im besonderen Cystein, präparativ wirksame Katalysatoren der Aminolyse von Dipeptid-nitrilen sind. Beliebt man in Vergleichsexperimenten 0,22M Lösungen von Boc-L-Alanyl-glycin-nitril (**4a**) in NH_3 -gesättigtem MeOH bei 19° a) in Abwesenheit von Cystein, b) in Gegenwart von 0,15 Äquiv. und c) von 0,30 Äquiv. L-Cystein, so waren nach 1 h im *Exper. a* noch 90%, im *Exper. b* noch 13% und im *Exper. c* nur noch ca. 3% **4a** isolierbar. In einem *Exper. d*, in welchem anstelle von L-Cystein 1,0 Moläquiv. S-Methyl-L-cystein zugesetzt wurde, wurden nach 2 h noch 83% **4a** isoliert. Schema 2 zeigt das Ergebnis einer Cystein-katalysierten Ammonolyse von **4a**→**8a** im präparativen Maßstab. Das Verfahren bewährt sich präparativ ausgezeichnet (vgl. auch Schema 3); bei der Aufarbeitung kann der Katalysator durch Filtration des Produktgemisches durch einen Ionenaustauscher (OH^- -Form) leicht entfernt werden.

Schema 2. Cystein-katalysierte Bildung von primären Dipeptamidinen aus Dipeptid-nitrilen mit NH_3



Unsere arbeitshypothetische Vorstellung hatte eine beschleunigende Wirkung des Cysteins auf die Ammonolyse als Resultat einer nukleophilen Katalyse durch die Thiolat-Gruppe erwartet. In NH_3/MeOH sollte die Thiol-Gruppe (mindestens zum Teil) als Thiolat-Gruppe vorliegen⁸⁾, und die Umwandlung von **4a** zu **8a** dürfte den Weg über das Zwischenprodukt **9a** (Schema 2) nehmen. In Übereinstimmung damit stehen die Unabhängigkeit der Reaktion von S-Methylcystein unter vergleichbaren Bedingungen sowie die Beobachtung, dass **4a** in MeOH-Lösung, aber in Abwesenheit von NH_3 , mit äquimolaren Mengen Cystein unter sonst gleichen Bedingungen keine Reaktion einging. Demge-

⁸⁾ Die drei pK_a -Werte des Cysteins (in H_2O , 25°) betragen: 1,8 ($-\text{COOH}$), 8,3 ($-\text{SH}$), 10,8 ($-\text{NH}_3^+$) [16].

genüber reagierte eine MeOH-Lösung äquimolarer Mengen des Substrats **4a** und Cystein in Gegenwart von NH_3 innert Minuten⁹⁾).

L-Cystein katalysiert auch die Bildung des cyclischen Amidin-Derivats **7** aus dem neutralen L-Alanyl-glycin-nitril **5**. Dieses gab in EtOH-Lösung in Gegenwart von 0,1 Moläquiv. L-Cystein bei Raumtemperatur innert Stunden das cyclische Amidin **7** in über 80% Ausbeute; in Abwesenheit von Cystein blieb **5** unter sonst gleichen Bedingungen während zwei Wochen fast unverändert.

Bei allen bisher erörterten, in den *Schemata 1* und *2* wiedergegebenen Ammonolysen an Dipeptid-nitrilen ist die reagierende CN-Gruppe eine solche des sterisch unbehinderten Glycin-nitril-Bausteins. Inwieweit die gemachten Erfahrungen auf andere Dipeptid-nitrile übertragbar sind, bleibt vorläufig offen¹⁰⁾.

Die in den bisher beschriebenen Voruntersuchungen gemachten Beobachtungen, insbesondere auch jene über den Einfluss des Cysteins auf die Ammonolyse und Aminolyse dipeptidischer CN-Gruppen, mündeten in das Projekt eines schrittweisen Aufbaus von Oligo(dipeptamidinium)-Salzen definierter Konstitution über Imidthiosäure-S-ester¹¹⁾ von Boc-geschützten Dipeptid-nitrilen ein. Das *Schema 3* fasst die Methoden zusammen, die sich für die präparative Herstellung der hierzu benötigten Ausgangsstoffe in den drei Versuchsreihen, nämlich der (Ala-Gly)-, der (Gly-Gly)- und der (Phe-Gly)-Reihe, bewährt haben. Zentrale Bausteine sind Dipeptamidinium-Salze des Strukturtyps **6** und die entsprechenden *N*-Boc-geschützten Dipeptid-imidthiosäure-ethylester **14**. Die Bausteine **6** wurden durch Kupplung der (käuflichen) *N*-Boc-geschützten Aminosäure-succinimidoester mit Glycin-nitril, anschliessende Cystein-katalysierte Ammonolyse der Boc-Dipeptidnitrile **4** und azidolytische Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit *p*-Toluolsulfonsäure hergestellt. In allen drei Versuchsreihen sind die (Ammonium-amidinium)-bis(tosylate) **6** als kristalline Verbindungen charakterisiert worden.

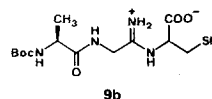
Die ergiebigste Herstellung der Imidthioester-Bausteine **14** ist die *N*-Acylierung von Glycinthioamid **12** (Herstellung vgl. *Exper. Teil*) mit den aktivierten Aminosäure-Derivaten **11** zu *N*-geschützten Dipeptid-thioamiden **13**¹²⁾, gefolgt von der selektiv verlaufenden *S*-Alkylierung mit Triethyloxonium-hexafluorophosphat [19] in CH_2Cl_2 und anschliessender Deprotonierung mit Polymerbase (Piperidylmethyl-polystyrol) unter Ausschluss von H_2O . Die in hoher Ausbeute erhaltenen, empfindlichen *N*-Boc-Dipeptid-imidthioester **14** fallen in der (Ala-Gly)- und in der (Gly-Gly)-Reihe als kristalline Substanzen an.

⁹⁾ Das Hauptprodukt der Reaktion in Gegenwart äquimolarer Mengen Cystein war nicht **8a**, sondern vermutlich **9b**, das aus **9a** durch intramolekulare Aminolyse entstehen kann. Isolierung und Konstitutionsbeweis für **9b** sowie der Nachweis der Rolle des Zwischenprodukts **9a** stehen aus.

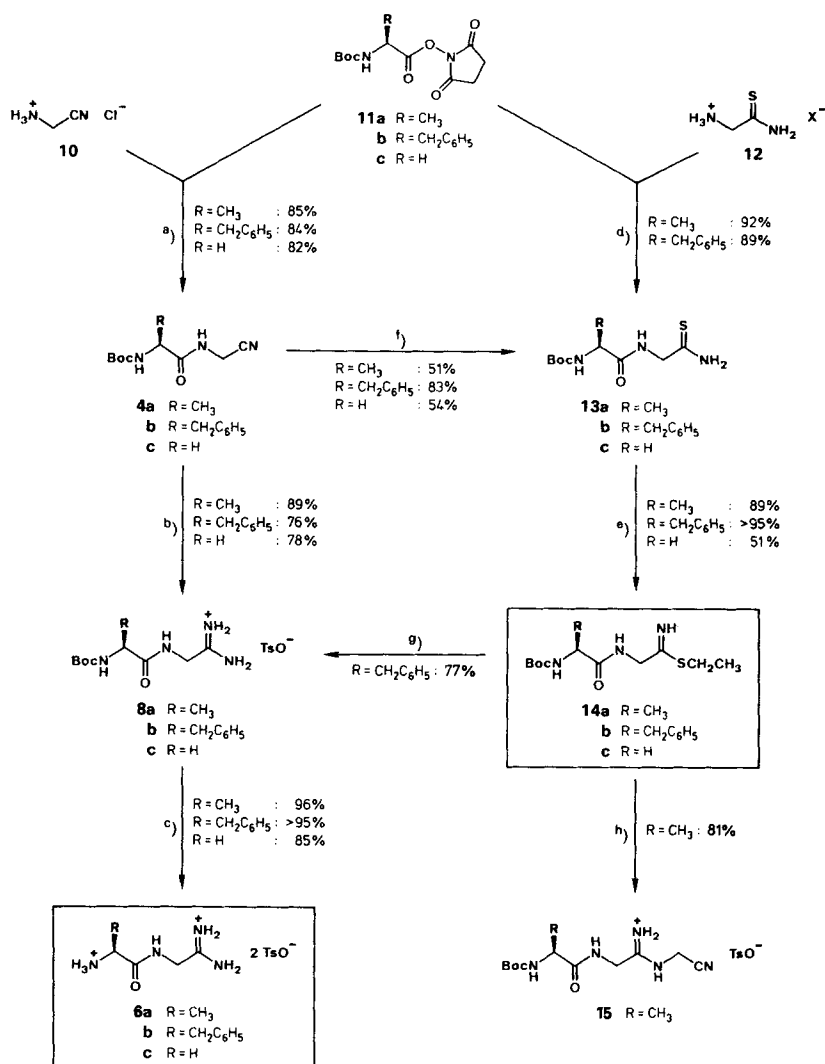
¹⁰⁾ Um den Einfluss des sterischen Faktors im Extremfall des Valin-nitril-Bausteins kennenzulernen, haben wir in einer orientierenden Arbeit [17] nach den in *Schema 1* verwendeten Verfahren das *N*-Boc-L-Phenylalanyl-L-valin-nitril hergestellt. Dieses blieb in NH_3 -gesättigtem MeOH (Reaktionsbedingungen *f* im *Schema 1*) während 3 Wochen im wesentlichen unverändert (vgl. auch *Fussnote 13*). Die Darstellung und Charakterisierung von *N*-Boc-L-Phenylalanyl-L-valin-nitril ist in [1], S. 100–113, im Detail beschrieben.

¹¹⁾ Über ein neueres Beispiel der Synthese von Amidin-Derivaten *via* entsprechende Thioiminoester vgl. Arbeiten von Rapoport und Mitarbeitern [18].

¹²⁾ Die Reaktion zum Boc-L-Phenylalanyl-glycin-thioamid **13b** wurde kürzlich von Salvadori *et al.* [21] beschrieben.



Schema 3



a) NaOH, Dioxan, H_2O , RT. b) 0,06 Moläquiv. L-Cystein, NH_3 , MeOH, RT. c) TsOH, EtOH, AcOEt, ca. 80° .

d) Et_3N , Dioxan, *i*-PrOH, H_2O , RT. e) $\text{Et}_3\text{O}^+/\text{PF}_6^-$, CH_2Cl_2 , RT (Aufarbeitung mit Polymerbase). f) LiOEt, H_2S , EtOH, RT. g) 0,84 Moläquiv. $\text{NH}_4^+ \text{TsO}^-$, DMF, 0° . h) 0,85 Moläquiv. $\text{NH}_3^+ \text{CH}_2\text{CN TsO}^-$, DMF, 0° .

Ein alternativer, jedoch präparativ weniger befriedigender Zugang zu den Dipeptid-thioamiden **13** besteht in der basenkatalysierten Addition von H_2S an die Dipeptid-nitrile **4** [20].

Orientierende Versuche haben bestätigt, dass die Boc-Dipeptid-imidthioester-Derivate **14** mit Ammonium-Salzen von primären Aminen in DMF bei 0° selektiv und in

hohen Ausbeuten zu entsprechenden (sekundären) Amidinium-Salzen reagieren¹³). Die Reaktion geht rasch und vollständig mit Ammonium-Salzen unterschiedlich starker Basen, wie Glycin-nitril (pK_a 5,3; vgl. **14a**→**15**), Benzylamin (pK_a 9,3; aus **14a** 80% Ausbeute, vgl. [1]) oder Methylamin (pK_a 10,3, aus **14a** 80% Ausbeute, vgl. [1]). Die Reaktion setzt wohl einen Protonentransfer vom Ammonium-Partner auf das relativ schwach basische Imin-N-Atom ($pK_a \sim 7$) der Imidthioester-Gruppe voraus, was einer komplementären Aktivierung der beiden Reaktionspartner gleichkommt. Die in den nachfolgenden Kapiteln beschriebenen Resultate sind eine Dokumentation der hervorragenden Eignung der Imidthioester-Gruppierung für den Aufbau von Poly(dipeptamidinium)-Salzen.

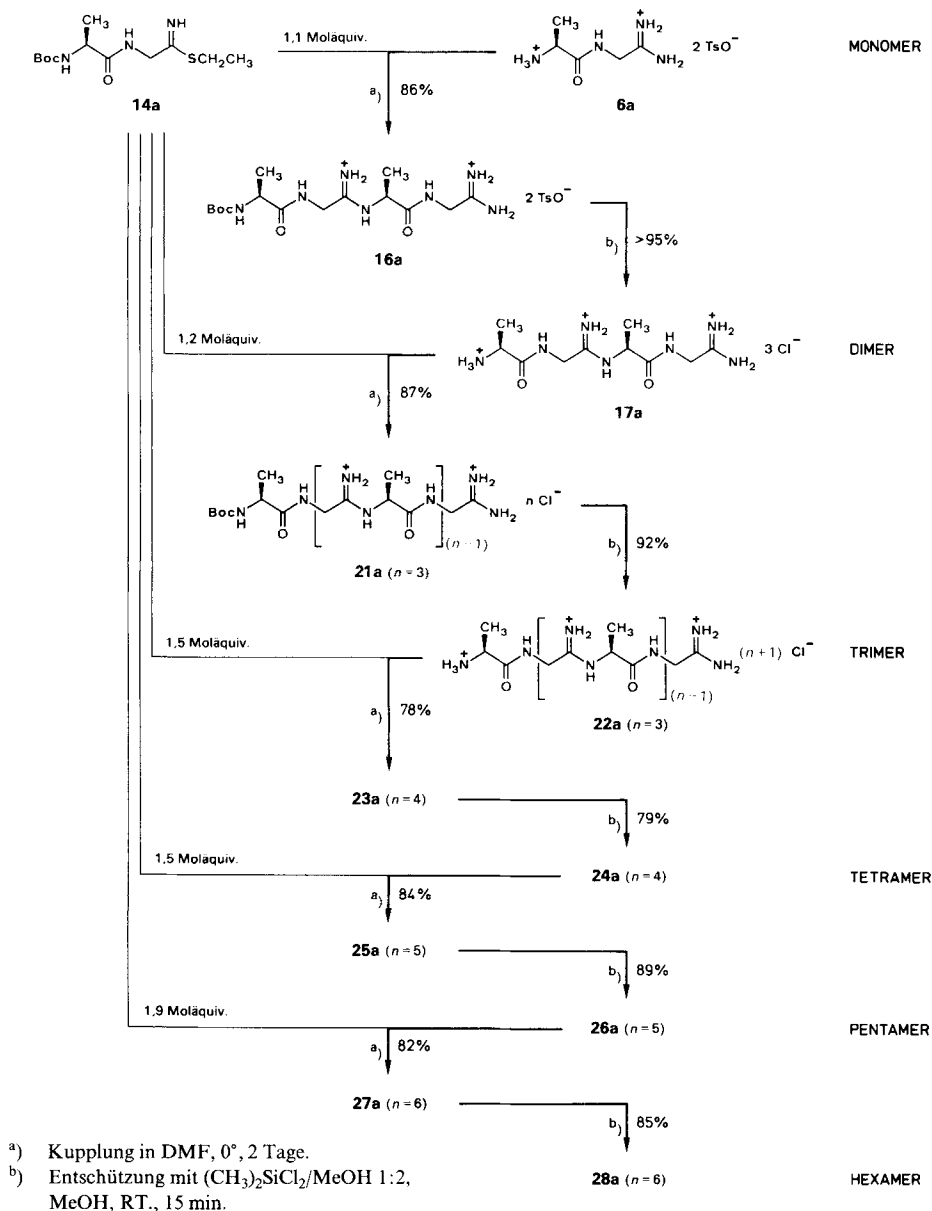
B. Schrittweiser Aufbau von Oligo(dipeptamidinium)-Salzen. – Das präparative Gelingen der Kupplung eines *N*-geschützten Dipeptid-imidthioesters des Typs **14** mit einem Dipeptamidinium-Salz **6** zu einem *N*-geschützten Bis(dipeptamidinium)-Salz des Typs **16** (*Schema 4*) beruht darauf, dass erstens die Ammonium-Gruppe des Partners **6** selektiv neben seiner Amidinium-Gruppe deprotoniert und damit zur Kupplungsreaktion selektiv freigesetzt werden kann, und dass zweitens die intramolekulare Umwandlung dieses Partners zu einem cyclischen Amidinium-Salz (vgl. die Reaktion **6a**→**7** im *Schema 1*) unter den Reaktionsbedingungen langsamer verläuft als die Kupplungsreaktion. Dies illustriert der ausgezeichnete Verlauf der Kupplung in der (Ala-Gly)-Reihe, wo durch Umsetzung des Bis(tosylats) **6a** mit einem geringen Überschuss des neutralen Imidthioesters **14a** in DMF bei 0° innert zwei Tagen das Boc-Bis(dipeptamidinium)-Salz **16a** in 86% Ausbeute rein erhalten wurde. Das Bis(tosylat) **16a** ist unter allen hergestellten Oligo(dipeptamidinium)-Salzen das bislang einzige, das in kristalliner Form erhalten wurde; die Einheitlichkeit der Verbindung ist durch Elektrophorese und DC belegt, und die ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren sowie das FAB-MS bezeugen die zugeordnete Struktur.

Fig. 1 zeigt gespreizte Ausschnitte aus den 300-MHz-¹H-NMR-Spektren (vgl. *Exper. Teil*) von **16a** in CD₃OD mit der Zuordnung der Signale. Hervorzuheben sind einerseits die stark unterschiedlichen Verschiebungswerte der diastereotopen Protonen von CH₂(2) bzw. CH₂(8) und andererseits die gegenüber dem Edukt **6a** deutlich nach tieferem Feld verschobene Lage des Signals von CH(5) (4,54 ppm im Vergleich zu 4,13 ppm in **6a** bzw. 3,99 ppm in **8a**), dessen Proton nun der durch die Kupplung zustande gekommenen Amidinium-Gruppierung benachbart ist. Im ¹³C-NMR-Spektrum von **16a** (vgl. *Exper. Teil*) manifestiert sich die neu entstandene Amidinium-Gruppe durch das Hinzutreten eines zweiten, im Frequenzbereich der Amidinium-C-Atome liegenden Singulett-Signals (167,9 ppm).

Unter mehreren Möglichkeiten der azidolytischen Entfernung der endständigen Boc-Schutzgruppe bei Oligo(dipeptamidinium)-Salzen des Typs **16a** hat sich vor allem folgendes Vorgehen bewährt: eine durch Mischen von Dimethyldichlorsilan und MeOH (1:2, v/v) frisch zubereitete methanolische HCl-Lösung führte bei Raumtemperatur innert Minuten zur praktisch quantitativen Abspaltung der Boc-Gruppe; aus solcher Reaktionslösung fiel das Reaktionsprodukt (als Chlorid) selektiv aus (vollständig nach Zugabe von AcOEt), womit sich das Problem der Produktisolierung auf einfache Weise löst.

¹³) Eine Ausnahme bildet der Imidthioester, der aus dem in *Fussnote 10* erwähnten Boc-L-Phenylalanyl-L-valin-nitril hergestellt worden ist (vgl. [1], S. 24): Das Iminium-hexafluorophosphat dieses Imidthioesters reagierte mit NH₃ in MeOH bei Raumtemperatur nicht zum entsprechenden primären Amidinium-Salz, sondern lieferte in 64% Ausbeute durch *Elimination statt Substitution* das entsprechende Nitril-Derivat zurück. (Sterische Beschleunigung und Begünstigung der Elimination durch raumbeanspruchende Valyl-Seitenkette, vgl. auch *Fussnote 10*.)

Schema 4. Stufenweiser Aufbau von L-Alanyl-oligo(glycinimidoyl-L-alanyl)-Salzen



N-Entschützte Oligo(dipeptamidinium)-chloride sind hygroskopische (bislang nicht kristallin erhaltene) Festkörper, die unter Feuchtigkeitsausschluss bei 0° aufbewahrbar sind.

Das so gewonnene Bis(amidinium)-Salz **17a** ist – von insgesamt ca. 5 Gew.-% Gehalt an Lösungsmitteln abgesehen – eine nach ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrum (vgl. *Exper. Teil*) einheitliche Substanz. Analog wie das entsprechende Monomer **6a** (Schema 1), wandelt

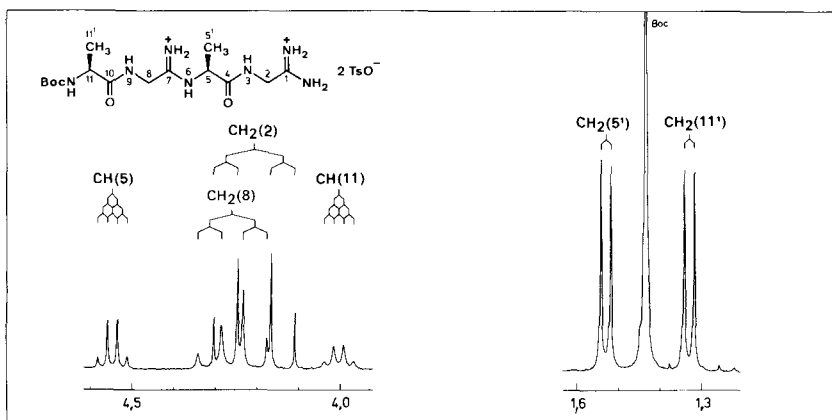
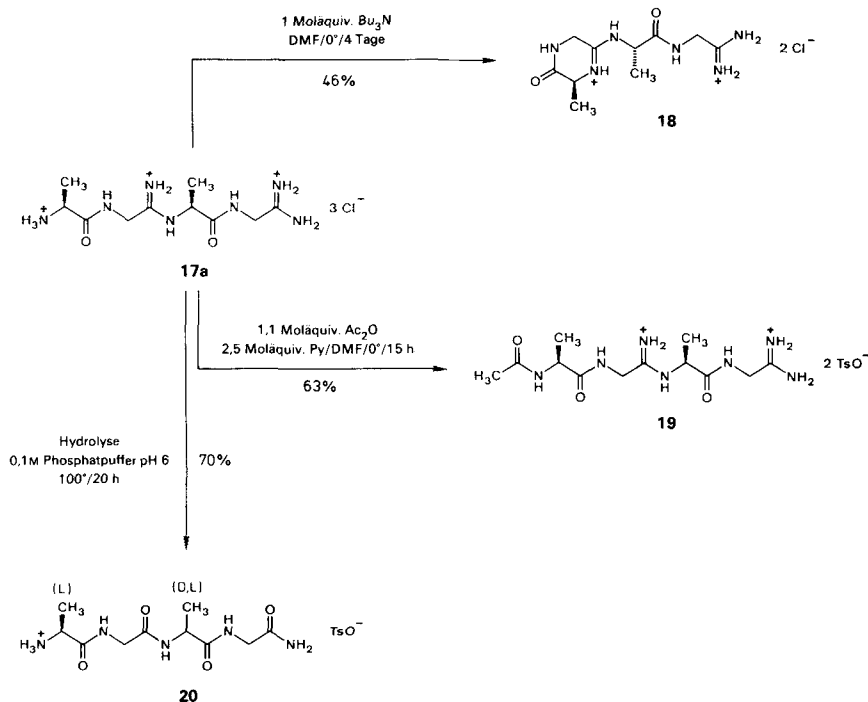


Fig. 1. Gespreiztes 300-MHz- ^1H -NMR-Spektrum von (–)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-glycinimidoyl-L-alanyl-glycin-amidin-bis(p-toluolsulfonat) (**16a**) in CD_3OD

sich **17a** in schwach basischem Medium in das cyclische Amidinium-Derivat **18** um (Schema 5); diese Reaktion erfolgt indessen (glücklicherweise) so langsam, dass **17a** z. B. mit 1,1 Äquiv. Ac_2O in Gegenwart von Pyridin ohne Schwierigkeit selektiv zur N-Acetyl-Derivat **19** (Schema 5) acetyliert werden kann. Diese Möglichkeit der selektiven Funktionalisierung der End- NH_2 -Gruppe ist wichtige Voraussetzung für das Gelingen des schrittweisen Aufbaus von Oligo(di-peptamidinium)-Salzen.

Schema 5. Einige chemische Eigenschaften von L-Alanyl-glycinimidoyl-L-alanyl-glycin-amidin-trihydrochlorid (**17a**)



Die Stabilität von Amidinium-Salzen des Strukturtyps **17a** bzw. **16a** gegenüber Hydrolyse ist stark vom pH-Wert der Lösung abhängig. In sauren Lösungen sind diese Verbindungen ziemlich hydrolysebeständig, nicht aber in neutralem oder basischem Medium. Die ^1H -NMR-spektroskopisch beobachtete Halbwertszeit des Boc-Derivats **16a** in wässrigen Phosphatpuffern (D_2O) bei Raumtemperatur betrug 30 h bei pH 6,0, jedoch nur 5 h bei pH 8. In einer Testreihe blieb das entschützte Amidinium-Salz **17a** bei Raumtemperatur in wässriger Pufferlösung mit pH-Wert von höchstens 3 während 31 Tagen unverändert (DC). An dieser Verbindung wurde der Verlauf der Hydrolyse bei pH 6,0 präparativ abgeklärt: 20-stündiges Erhitzen auf 100° in 0,1M wässrigem Phosphatpuffer ergab das amorphe Diastereoisomerengemisch L-Alanyl-glycyl-DL-alanyl-glycinamid **20** in 70% Ausbeute¹⁴⁾. Die Hydrolyse unter diesen Bedingungen führte zu konfigurationseller (1:1)-Äquibrierung am Chiralitätszentrum des mittleren Alanyl-Bausteins; dies wurde durch direkten Vergleich mit eigens hierzu synthetisch hergestellten authentischen Proben des L,L-Enantiomers und des L,DL-Diastereoisomerengemisches von **20** belegt.

Wie *Schema 4* anzeigt, wurde der schrittweise Aufbau in der (Ala-Gly)-Reihe bis zum Hexameren **28a** vorangetrieben. Die beiden wiederkehrenden Stufen, Kettenverlängerung um eine Dipeptideinheit und Abspaltung der endständigen Boc-Gruppe, sind analog den Umsetzungen **14a** + **6a** → **16a** → **17a** und wurden, mit Ausnahme zunehmender Überschüsse der Imidthioester-Komponente, bei der Kupplungsreaktion gleich wie dort durchgeführt. Da zur Zeit der Bearbeitung der (Ala-Gly)-Reihe die Charakterisierungssysteme für Polyamidinium-Salze im DC und in der Dünnschichtelektrophorese (DE) noch nicht entwickelt waren (vgl. unten), hatte die Optimierung der Reaktionsschritte bezüglich der zum Einsatz zu gelangenden Menge Imidthioester-Komponente mit Hilfe von 300-MHz- ^1H -NMR-Spektren zu erfolgen (Integralvergleich der Signale Amidinbenachbarter CH_3 -Gruppen bei 1,55–1,60 ppm relativ zum Signal der Boc-benachbarten CH_3 -Gruppe bei 1,35 ppm). Zum praktisch vollständigen Umsatz benötigten die Kupplungsstufen zunehmenden Überschuss an Imidthioester-Komponente. Die mit wachsender Kettenlänge zunehmende Schwerlöslichkeit der entschützten Oligo(dipeptamidinium)-chloride in DMF verhinderte ein Hinausgehen über das Hexamer **28a**; letzteres war in DMF bereits nahezu unlöslich und reagierte trotz Verwendung eines zweifachen Überschusses an Imidthioester **14a** nur noch unvollständig zum Boc-geschützten Heptameren; dabei wurde die Reaktionsmischung im Gegensatz zu den anderen Fällen innert zwei Tagen auch nicht mehr homogen.

Die Oligomeren **21a–28a** wurden als gewaschene, nicht-kristalline Präzipitate durch FAB-MS, ^1H -NMR-Spektren und chiroptische Daten charakterisiert; in der Reihe der entschützten Oligomeren **22a**, **24a**, **26a** und **28a** wurden auch die ^{13}C -NMR-Spektren bestimmt. Nachträglich (vgl. unten) wurden die Oligomeren **21a–28a** durch DC und Dünnschichtelektrophorese auf ihre Einheitlichkeit geprüft. Dabei wurde sichtbar, dass die Produkte mit wachsender Kettenlänge zunehmend durch geringe Mengen der jeweils nächstniederen Oligomeren verunreinigt gewesen waren (vgl. *Fig. 14* und *15* im *Exper. Teil*).

Die für uns in der Arbeitsgruppe von Prof. J. Seibl durch Dr. J. Meili aufgenommenen FAB-MS erwiesen sich für die Charakterisierung der Oligomeren als besonders wertvoll. Vor allem die Spektren in der Boc-Reihe zeigten

¹⁴⁾ Die verwendete Reaktionsdauer war zum vollständigen Umsatz des Edukts notwendig.

klar dominierende Signale der monopositiv geladenen Molekülonen, worin die restlichen kationischen Ladungen durch Deprotonierung aufgehoben sind (HCl-Elimination). Bemerkenswerterweise finden sich in den Spektren nebst diesem Molekülon immer auch die Molekülon-Signale aller entsprechenden kleineren Oligomeren, und zwar dies auch in Fällen, wo gemäss DC höchstens Spuren des nächstniederen Oligomeren als Verunreinigung vorlagen. Die Möglichkeit eines thermischen Zerfalls von (unprotonierten) Amidinen in entsprechende Nitrile und Amine ist bekannt [22], doch scheinen auch andere Fragmentierungswege eine Rolle zu spielen (vgl. FAB-MS von **15** im *Exper. Teil*).

Die im *Exper. Teil* abgebildeten und einander gegenüber gestellten $^1\text{H-NMR}$ -Spektren (Fig. 11 und 12) der beiden Oligomeren-Reihen **16a**, **21a–27a** und **17a**, **22a–28a** in CD_3OD demonstrieren den in Anbetracht der (mit Ausnahme von **16a**) amorphen Form der Isolate hohen Reinheitsgrad zumindest der niedrigeren Oligomeren und dokumentieren in transparenter Weise das konstitutionelle Wachstum der Kette. Verlängerung der Kette um eine Dipeptid-Einheit bereichert jeweils das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum durch je ein (CH_3) -Dublett (ca. 1,6 ppm) und ein (CH) -Quartett (ca. 4,6 ppm) des Alanyl-Bausteins sowie um ein AB -System der Glycyl- CH_2 -Gruppe (ca. 4,3 ppm).

Die $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren der entschützten Oligomeren in CD_3OD zeigen die zu erwartenden fünf Signal-Gruppen: Quartette der Alanyl- CH_3 -Gruppen, Triplette der Glycyl- CH_2 -Gruppen, Dublette der Alanyl- CH -Gruppen und Singulette sowohl der Amidin-, wie auch der Amid-C-Atome. Im Gegensatz zu den Signalen in den entsprechenden $^1\text{H-NMR}$ -Spektren treten die Signale der Kopf- bzw. Schwanzständigen Aminosäure-Bausteine (CH_2 und Amidinium-C-Atom des endständigen Glycins, CH_3 und CH des endständigen Alanyls) isoliert von den übrigen Signalen auf und spiegeln durch ihre abnehmende relative Intensität die zunehmende Kettenlänge der Oligomeren wider (vgl. Fig. 13 im *Exper. Teil*).

Bezüglich der *chiroptischen Eigenschaften* darf angenommen werden, dass die Aufbau-Schritte des Schemas 4 in keiner Phase zu merklicher Teilracemisierung führen, denn weder beim (nicht-kristallinen) Dimeren **17a**, noch beim Boc-geschützten Trimeren **21a** konnten im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum Anzeichen der Anwesenheit von diastereoisomeren Beimengungen beobachtet werden. Fig. 2 zeigt den bemerkenswerten und konformationsanalytisch relevanten, linearen Zusammenhang der molekularen Drehung $[M]_{436}$ der Oligomeren mit wachsender Kettenlänge (vgl. auch Kap. D).

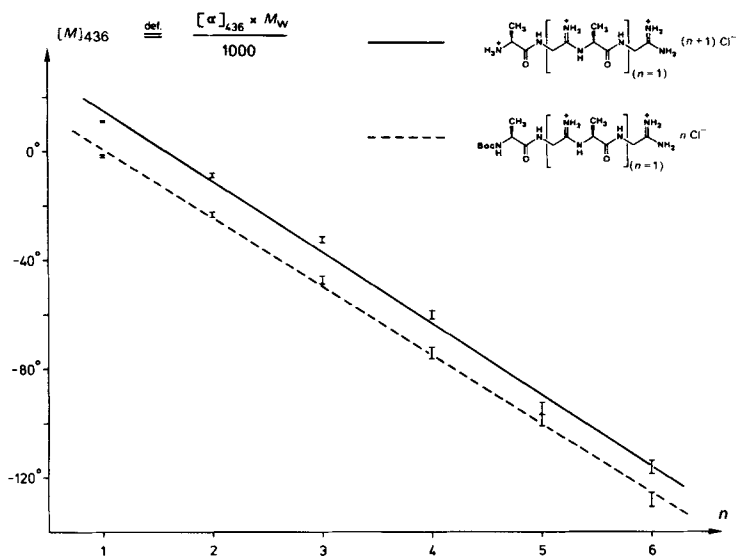
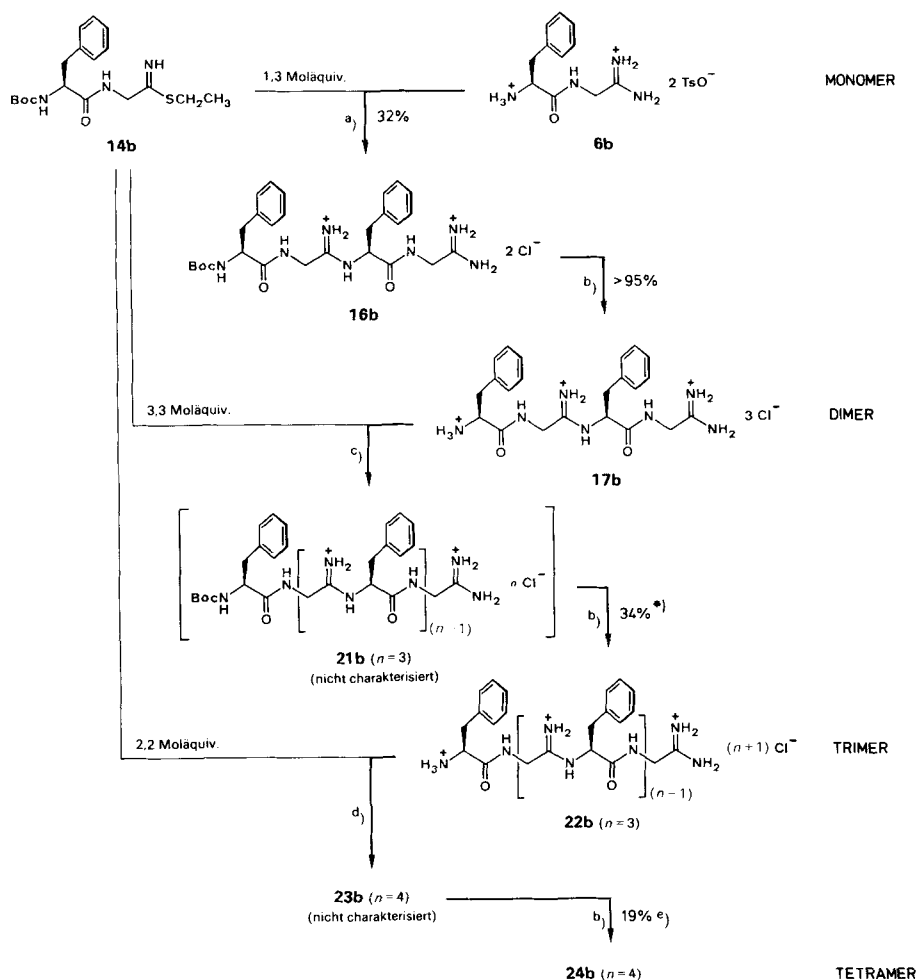


Fig. 2. Molekulare Drehungen $[M]_{436}$ von L-Phenylalanyl-oligo(glycinimidoyl-L-alanyl)-glycin-amidin-hydrochloriden in CH_3OH ($c = 0,3$)

Schema 6. Stufenweiser Aufbau von L-Phenylalanyl-oligo(glycinimidoyl-L-phenylalanyl)-glycin-aminidinium-Salzen



^{a)} DMF, 0°, 4 Tage (Aufarbeitung *Amberlite CG-400*, Cl-Form). ^{b)} (CH₃)₂SiCl₂/CH₃OH (1:2), CH₃OH, RT.

^{c)} DMF, 0°, 3 Tage. ^{d)} in DMF, 0°, 4 Tage. ^{e)} Ausbeute ber. über Kupplungs- und Entschützungs-schritt.

Schema 6 zeigt den analogen schrittweisen Aufbau homo-dipeptidischer Oligo(di-peptamidinium)-Salze in der (L-Phenylalanyl-glycin)-Reihe bis zum Tetramer **24b**. Wie zu vermuten war (vgl. die kinetische Studie über die Reaktion von Benzoimid säure-methylester mit Aminosäuren [23]), reagiert die End-Amino-Gruppe der (Phenylalanyl-glycin)-Komponente **6b** mit der Imidthioester-Komponente **14b** deutlich langsamer; selbst nach vier Tagen bei 0° in DMF und einem Überschuss an **14b** von 0,3 Moläquiv. war der Umsatz von **6b** mit **14b** nicht vollständig und nicht einheitlich (DC). Der *Exper. Teil* orientiert über Reinigungsschritte, die zur Isolierung von spektroskopisch einheitlichem Boc-geschütztem Dimeren **16b** verwendet wurden; dabei spielte die Fällung von **16b** als

schwerlösliches Salz der Naphthalin-2,7-disulfonsäure¹⁵) eine wichtige Rolle. Im Gegensatz zur Kupplungsstufe bot die Entschützungsstufe in dieser Reihe keine spezifischen Probleme. Der Weiteraufbau zum Trimeren **22b** und Tetrameren **24b** erfolgte unter Verwendung grösserer Überschüsse an Imidthioester-Komponenten, um einen möglichst vollständigen Umsatz zu erzielen. Dies erschwerte naturgemäss die Isolierung der Boc-Kupplungsprodukte **21b** und **23b**; nach Fällung des Naphthalin-2,7-disulfonats, Chromatographie¹⁶) an Kieselgel (AcOMe/CH₃OH/H₂O/AcOH) und Filtration durch Ionenaustauscher (Cl⁻-Form) wurden deshalb diese Kupplungsprodukte direkt mit HCl/CH₃OH behandelt und als die entschützten Chloride **22b** bzw. **24b** charakterisiert. Diese waren nicht-kristallin und im Vergleich zur (Ala-Gly)-Reihe nunmehr deutlich lipophiler; von ihnen wurden ¹H-NMR-Spektren, FAB-MS, die chiroptischen Eigenschaften sowie – auch hier wiederum erst nachträglich – das Verhalten im DC und DE bestimmt.

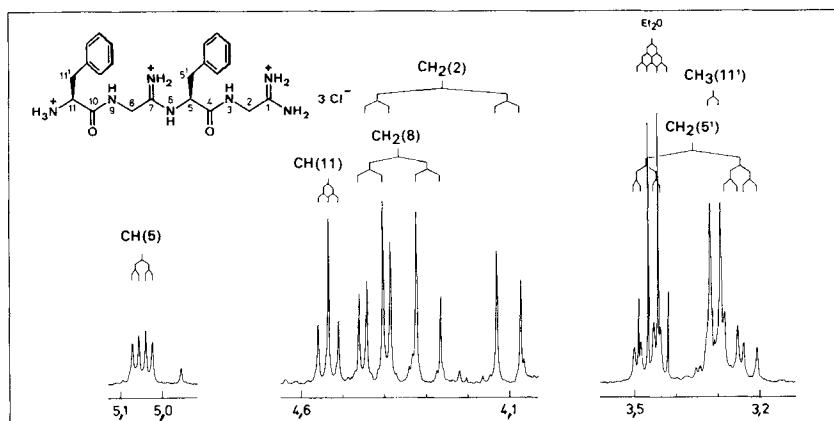


Fig. 3. Gespreiztes 300-MHz-¹H-NMR-Spektrum von L-Phenylalanyl-glycinimidoyl-L-phenylalanyl-glycin-amidin-trihydrochlorid **17b** in (D₆) Aceton/0,01 M CF₃COOD in D₂O 5:1

In der Serie der ¹H-NMR-Spektren von **6b**, **17b**, **22b** und **24b** in (D₆) Aceton/D₂O 5:1 (abgebildet im *Exper. Teil*; vgl. auch Fig. 3) erkennt man das Wachstum der Kette an den AB-Signalen der diastereotopen Glycyl-CH₂-Protonen (4,1→4,5 ppm) und vor allem am Doppeldublett des Phenylalanyl-CH-Protons in α-Stellung zu den Amidinium-Gruppen (5,0–5,2 ppm). Es fällt auf (und ist aus Gründen der Raumbeanspruchung der Ph-Gruppe nicht unverständlich), dass die Signale der endständigen Phenylalanyl-CH-Protonen (4,5–4,6 ppm) wie auch der diastereotopen Protonen der Phenylalanyl-CH₂-Gruppen (3,3 ppm) wesentlich einfachere Kopplungsmuster aufweisen als die Signale der entsprechenden Protonen der nicht-endständigen Phenylalanyl-Gruppen (5,0–5,2 bzw. 3,2–3,5 ppm).

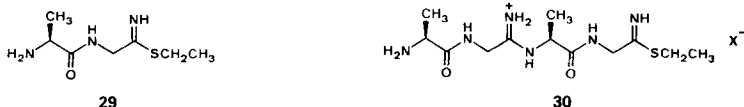
Die FAB-Massenspektren der Oligomeren **17b**, **22b** und **24b** zeigten als intensivste Signale ausserhalb des Matrixbereichs die um jeweils die entsprechende Anzahl Protonen verminderten Massen der einfach geladenen Molekülkationen (*m/z* bei 424, 627 bzw. 830). In dieser Reihe zeigten sich regelmässig auch Signale der um 17 verminderten Massenzahl, was die Elimination von NH₃ an der endständigen Amidin-Gruppe reflektieren kann; hingegen traten hier die in der (Ala-Gly)-Reihe beobachteten Fragmentierungen in die niedrigeren Oligomeren kaum auf.

¹⁵) Anlass zur Verwendung dieser speziellen Disulfonsäure war deren konstitutionelle Komplementarität zu **16b** bezüglich der Ladungsanordnungen. Systematische Versuche wurden keine angestellt.

¹⁶) Im Unterschied zur (Ala-Gly)-Reihe erwiesen sich die Boc-geschützten (jedoch nicht die entschützten) Oligomeren der (Phe-Gly)-Reihe als an Kieselgel chromatographierbar.

Die molekularen Drehwerte der vier Oligomeren der (Phe-Gly)-Reihe zeigen im Unterschied zur (Ala-Gly)-Reihe keine lineare Korrelation mit der Kettenlänge.

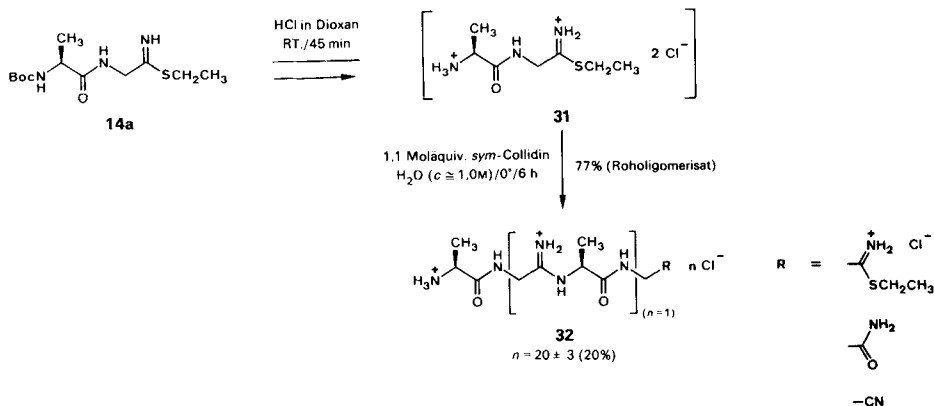
C. Poly(dipeptamidinium)-Salze der (L-Alanyl-glycin)-Reihe durch Polykondensation von (L-Alanyl-glycin)imidthiosäure-äthylester. – Die im vorstehenden Kapitel enthaltenen Erfahrungen über Entstehung und Verhalten von oligomeren Dipteamidinium-Salzen haben die Richtung gewiesen, wie unsere ursprüngliche Absicht, Poly(dipeptamidinium)-Salze durch einen Polymerisationsprozess zu erhalten, am ehesten verwirklicht werden könnte, nämlich durch Polykondensation eines Dipteamid-Imidthioesters. Um die Gefahr einer Ausweichreaktion des dipteamidischen Monomer-Bausteins **29** durch Ringschluss zum cyclischen Amidin zu umgehen, hatten wir zunächst Polykondensationsversuche ausgehend vom Dimer-Baustein **30** in Betracht gezogen; in diesem stehen im Gegensatz zu **29** Amino- und Imidthioester-Gruppe nicht in einem Abstand, der einen Ringschluss zu einem 6-Ring möglich macht. Zwar gehen die den Imidthioestern **29** und **30** entsprechenden Amidine in Gegenwart von Base den Ringschluss ein (vgl. **6a**→**7**,



Schema 1 und **17a**→**18**, Schema 5), doch geschieht dies beim Monomer rascher als bei höheren Oligomeren (nukleophiler Angriff auf primäre *vs.* sekundäre Amidinium-Gruppe). Es waren präparative Schwierigkeiten bei den Versuchen zur Herstellung des Dimer-Bausteins **30** und dann vor allem die in dieser Untersuchungsphase gemachte Beobachtung, dass die intermolekulare Polykondensation des Monomer-Bausteins **29** mit dem intramolekularen Ringschluss erfolgreich konkurrieren kann, was unsere Bemühungen schliesslich auf die Untersuchung der Polykondensation des Monomer-Bausteins **29** ausrichtete.

Das Prinzip des Vorgehens bei der Polykondensation des Monomer-Bausteins besteht darin, dass man das in kristalliner Form zur Verfügung stehende *N*-Boc-Derivat **14a** (Schema 3) zum entsprechenden (Ammonium-iminium)-Dikation (**31**, Schema 7) spaltet, dieses in möglichst konzentrierter Lösung mit etwas mehr als 1 Äquiv. einer

Schema 7. Polykondensation zu L-Alanyl-poly(glycinimidoyl-L-alanyl)-glycinamid-Salzen



schwachen Base monodeprotoniert, worauf die Polykondensation einsetzt. Als Base bewährte sich auf Anhieb das *sym*-Collidin (= 2,4,6-Trimethylpyridin), dessen Basizität (pK_a 7,4) ungefähr jener einer Imidthiosäure-äthylester-Gruppierung ($pK_a \sim 7$, vgl. *Exper. Teil*) entspricht. In orientierenden Vorversuchen in DMF als Polykondensationslösungsmittel bewirkte die Zugabe von 1,1 Äquiv. dieser Base zur (homogenen) Lösung von **31** bei Raumtemperatur bereits nach Sekunden eine partielle Produktfällung; Hauptkomponenten des Produktgemisches unter solchen Bedingungen waren allerdings nicht (ausgefallene) Polykondensate, sondern das in der Reaktionslösung verbliebene Cycloamidin **7** (als Chloridsalz, vgl. *Schema 1*; DC-Nachweis). Führte man die Reaktion analog, aber bei 0° durch, so verschob sich das Produktverhältnis drastisch zugunsten der Polykondensate. Ausgehend von der Annahme, dass in DMF das rasche Ausfallen polykondensierten Materials das Kettenwachstum unterbricht, wurden mehrere Lösungsmittel und Lösungsmittelgemische getestet. Als günstig erwiesen sich DMF/CH₃OH und DMF/H₂O: aus diesen Gemischen erfolgte keine spontane Produktfällung und die ¹H-NMR-spektroskopische Abschätzung des Polykondensationsgrades (vgl. unten und *Exper. Teil*) deutete auf das Entstehen grösserer Ketten hin im Vergleich zu reinem DMF. Diese Beobachtungen führten schliesslich – entgegen ursprünglichen Befürchtungen hinsichtlich akuter Hydrolysegefahr – zur erfolgreichen Verwendung von reinem H₂O als Reaktionsmedium und zu folgendem präparativem Vorgehen: *In situ* mit HCl in Dioxan aus Edukt **14a** bereitetes, am Amino-Ende entschütztes Salz **31** wurde in 1M wässriger Lösung in Gegenwart von 1,1 Moläquiv. *sym*-Collidin bei 0° 6 h reagieren gelassen, worauf man die Reaktion durch Zugabe von HCl stoppte und das Lösungsmittel abdampfte. Das Produktgemisch unterwarf man einer Vorreinigung durch zweimaliges Fälln aus CH₃OH-Lösung mit AcOEt (77% Rohkondensat, nach DC frei von cyclischem Amidinium-Salz **7**) und gewann dann durch fraktionierendes Fälln aus CH₃OH/*i*-PrOH 3:2 als unlöslichste Spitzenfraktion ein Isolat in ca. 20% Gew.-Ausbeute, das nach seinen spektroskopischen Daten Komponenten des Strukturtyps eines

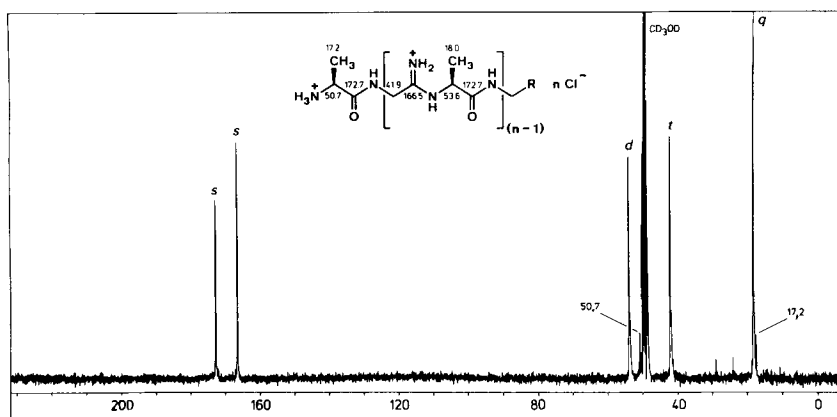


Fig. 4. 75-MHz-¹³C-NMR-Spektrum eines durch Polykondensation von **34** gewonnenen Gemisches von homologen L-Alanyl-poly(glycinimidoyl-L-alanyl)-glycinamid-hydrochloriden **32** mit mittlerem Polykondensationsgrad von ca. 20 (erstes Präzipitat) in CD₃OD (vgl. auch Fig. 5)

Alanyl-poly(glycinimidoyl-alanyl)-glycin-amidin-hydrochlorids **32** mit einem durchschnittlichen Polykondensationsgrad von $n=20 \pm ca. 3$ enthält¹⁷⁾.

Der Reinheitsgrad dieses Polykondensats bezüglich seines Konstitutionstyps wird eindrücklich demonstriert durch sein in Fig. 4 abgebildetes 75-MHz-¹³C-NMR-Spektrum in CD₃OD. Dieses weist im wesentlichen die fünf Signale des sich innerhalb der Kette repetitierenden (Ala-Gly-amidinium)-Bausteins auf; diese Signale (18,0 (q), 41,9 (r), 53,6 (d), 166,5 (s) und 172,7 (s)) finden sich auch im Spektrum des im Zuge des schrittweisen Aufbaus charakterisierten Hexameren **28a** (Schema 4, vgl. Fig. 13 im Exper. Teil). Zusätzlich finden sich (in geringer Relativintensität) die Signale der Alanyl-Endgruppe (17,2 ppm für CH₃ und 50,7 ppm für CH).

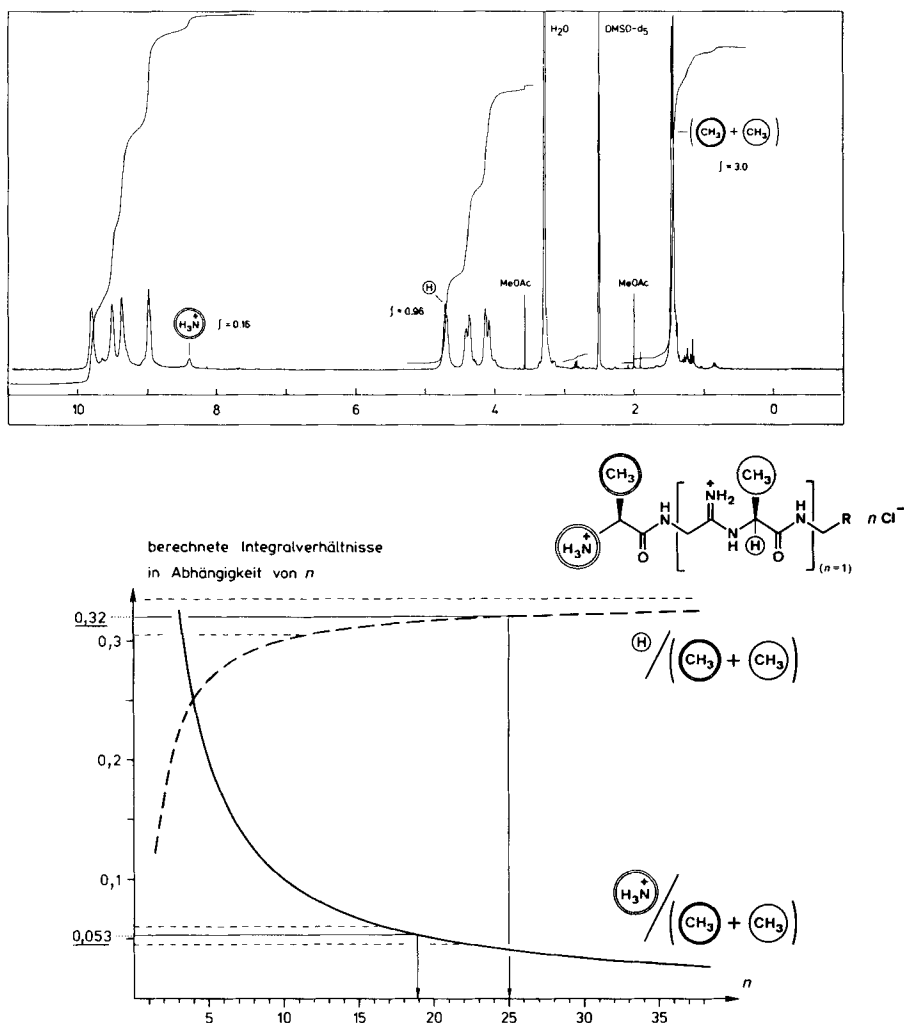


Fig. 5. 300-MHz-¹H-NMR-Spektrum von **32** (erstes Präzipitat) in (D₆)DMSO (oben) und ¹H-NMR-spektroskopische Abschätzung des Polykondensationsgrades von **32** (unten)

¹⁷⁾ Zwei weitere aus der Mutterlauge des ersten Präzipitats durch fraktionierende Fällung in Gewichtsabbeuten von 16 bzw. 34% gewonnene, besser lösliche Polykondensationsfraktionen (vgl. Exper. Teil) dürften Komponenten niedrigeren Polykondensationsgrades enthalten und wurden nicht weiter untersucht.

Das 300-MHz- ^1H -NMR-Spektrum des Polykondensations-Isolats **32** (vgl. Fig. 5) zeigt fünf getrennte NH-Signale im Bereich 8–10 ppm, vier davon mit ungefähr gleicher, eines (8,40 ppm) mit deutlich geringerer Intensität. Letzteres ist der NH_3^+ -Gruppe am Amino-Ende der Kette zuzuordnen; seine chemische Verschiebung relativ zu den übrigen NH-Signalen entspricht jener des Signals der endständigen NH_3^+ -Gruppe im ^1H -NMR-Spektrum des Pentamers **26a** in DMSO (s. *Exper. Teil*). Die Intensität dieses Endgruppen-Signals relativ zur Intensität der Summe der CH_3 -Gruppen-Signale bei 1,45 ppm entspricht dem durchschnittlichen Polykondensationsgrad n von $20 \pm \text{ca. } 3$ (Fig. 5, unterer Teil). Ein analoger Intensitätsvergleich zwischen dem Signal der ketteninternen CH-Gruppen bei 4,70 ppm und der Summe der CH_3 -Gruppen-Signale weist auf einen eher höheren n -Wert hin, ist aber, wie die Fig. 5 andeutet, weniger zuverlässig. Das Signalpaar um 4,11 und 4,39 ppm vertritt die ausgeprägt diastereotopen CH_2 -Protonen des Glycyl-Bausteins, wobei der bei höherem Feld liegende Signal-Ast noch das Signal des CH-Protons der endständigen Alanyl-Gruppe enthält (vgl. ^1H -NMR des Pentamers **26a**). Die Zuordnung der Signale von CH_3 , CH_2 und CH sowie der Amid-NH-Protonen ist durch ^1H -NMR-NOE-Differenzspektroskopie bestätigt; indessen misslang in diesen Experimenten eine detaillierte Zuordnung der Amidinium-NH-Signale (vermutlich infolge Spindiffusion *via* H-Austausch mit H_2O des Lösungsmittels¹⁸⁾).

Ungewissheit besteht über die Natur der Kopfgruppe im Polykondensat. In den NMR-Spektren sind die Signale dieser Endgruppe nicht auszumachen, und es ist möglich, dass die Konstitution dieser Kopfgruppe nicht einheitlich ist. Nach Literaturdaten [24] könnte die Imidthioester-Gruppe zwar die durch die Bedingungen der Polykondensation (gepufferte wässrige Lösung pH 6–7/0°) gegebene Hydrolyse-Gefahr überstehen, doch besteht letztere vor allem auch während der Aufarbeitung, da dieselbe saure Phasen durchläuft. Es ist wahrscheinlich, dass die Kopfgruppe zumindest zum Teil als primäre Amid-Gruppe vorliegt. Auch die CN-Gruppe (Elimination von Ethanthiol aus der Imidthioester-Gruppe während der Polykondensation) kommt in Betracht¹⁹⁾.

Extrapoliert man die in der (Ala-Gly)-Reihe der schrittweise aufgebauten Dipeptamidinium-Salze gefundene lineare Beziehung der molekularen Drehung $[\alpha]_{436}$ in CH_3OH auf

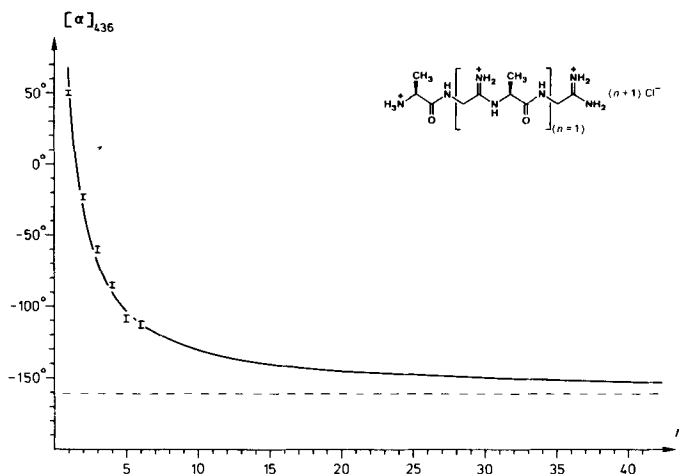


Fig. 6. Durch Extrapolation der linear korrelierenden molekularen Drehungen errechnete spezifische Drehungen $[\alpha]_{436}$ in CH_3OH von L-Alanyl-oligo(glycinimidoyl-L-alanyl-glycin-amidin)-hydrochloriden in Abhängigkeit des Polykondensationsgrades n

¹⁸⁾ Wir danken Herrn Dr. B. Jaun (org.-chem. Laboratorium der ETH) für seine Mithilfe bei der Aufnahme und Interpretation der ^1H -NMR-NOE-Spektren.

¹⁹⁾ ^{13}C -NMR-Signale von Nitril-C-Atomen weisen generell nur geringe Intensität auf; eine End-CN-Gruppe ist demzufolge NMR-spektroskopisch nicht unbedingt zu erkennen.

grössere Kettenlängen, so nähert sich die entsprechende *spezifische Drehung* $[\alpha]_{436}$ mit zunehmendem Polykondensationsgrad asymptotisch dem Wert von -161° (Fig. 6). Für das Poly(dipeptamidinium)-Isolat ($n=20 \pm 3$) wurde ein Drehwert $[\alpha]_{436}$ von -165° (CH_3OH) gemessen. Dieser dürfte innerhalb der Fehlergrenze der obigen Extrapolation liegen; er dokumentiert von sich aus einen (relativ) hohen Polykondensationsgrad und steht für eine durchgehende Homochiralität der Alanyl-Bausteine bzw. Isotaktik der Molekülkette.

Zur Zeit, da diese Versuche durchgeführt wurden, waren im Zusammenhang mit hier nicht beschriebenen Arbeiten über Oligo(tripeptamidinium)-Salze (vgl. [1]) sowohl ein DE-, wie auch ein DC-Verfahren (vgl. *Exper. Teil*) zur analytischen Charakterisierung von Oligo(peptamidinium)-Salzen unterschiedlichen Oligomerisationsgrades ausgearbeitet worden. Mit keinem der beiden Verfahren war es indessen möglich, die Bandbreite des Polykondensationsgrades der in Isolat **32** ($n=20 \pm 3$, durchschnittliche Molmasse ca. 2000) vorhandenen Oligomeren zu bestimmen. Indessen konnte ausgeschlossen werden, dass Oligomere mit $n < \text{ca. } 10$ vorkommen: im DC (Kieselgel, $i\text{-PrOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH } 5:2:1$, mit NaCl gesättigt) bleibt das Isolat als einheitlicher Startfleck ($R_f 0$), während unter gleichen Chromatographiebedingungen die definierten L-Alanyl-oligo(glycinimidoyl-L-alanyl)-glycin-amidinium-Salze mit $n = 1$ bis 6 (vgl. *Kap. B* und *Schema 4*) R_f -Werte im Bereiche von 0,41 (Monomer **6a**) bis 0,17 (Hexamer **28a**) aufweisen (vgl. Fig. 14 im *Exper. Teil*). In der DE (HPTLC-Cellulose (Merck), $\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH}/\text{BuOH}/\text{Pyridin } 89:10:5:1$; ca. 44 V/cm; ca. 10°) waren zwar die niederen Oligomeren mit $n = 1$ bis 6 (*Schema 4*) befriedigend differenzierbar (vgl. Fig. 15 im *Exper. Teil*), doch zeigte es sich, dass bei der verwendeten Technik die Differenzierungsgrenze bei einem Polykondensationsgrad von < 10 liegt.

D. Ausblick. – Unsere Ergebnisse stützten die Erwartung, dass Vertreter der Stoffklasse der homo- und hetero-dipeptidischen Poly(dipeptamidinium)-Salze generell zugängliche und isolierbare Verbindungen sind, und dass es Reaktionsbedingungen gibt, unter welchen Poly(dipeptamidinium)-Salze zu entsprechenden Polypeptiden bzw. zugehörigen Polypeptid-Bruchstücken hydrolysieren. Da die bislang untersuchten Vertreter durchwegs solche sind, die als Amidin-Kettenglied den Baustein Glycin benutzen, verbleiben die Eigenschaften von Vertretern, welche beliebige α -Aminosäure-Bausteine als Amidin-Kettenglieder aufweisen, vorab noch ungewiss. Die Ungewissheit bezieht sich einerseits auf eine mögliche konstitutionelle Labilität der Amidin-Form der Kettenverknüpfung relativ zu ihrer dissoziierten Form (CN- und NH_2 -Gruppe; vgl. die in *Fussnoten 10* und *13* erwähnten Beobachtungen) und anderseits auf die konfigurate Labilität von Chiralitätszentren in α -Stellung zur Amidinium- bzw. Amidin-Form der Kettenverknüpfung.

In orientierenden Untersuchungen zur Frage der Wechselwirkung von Poly(dipeptamidinium)-Salzen mit DNA sind in Zusammenarbeit mit Prof. E.-L. Winnacker²⁰⁾ sowie unter Mithilfe von R. Furter²¹⁾ Versuche über eine Hemmung der Verdauung von Plasmid-DNA (pBR 322) mit Restriktions-Endonukleasen (BpRI und HinFI) durch oligomere Dipeptamidinium-Salze durchgeführt worden²²⁾. Die dabei beobachteten Hemm-

²⁰⁾ Institut für Biochemie, Universität München.

²¹⁾ Mikrobiologisches Institut der ETH, Leitung Prof. R. Hütter.

²²⁾ Vgl. die detaillierte Beschreibung dieser Versuche in der Dissertation von H. Moser [1], S. 82–89 und 276–286.

wirkungen sind, wie insbesondere Versuche mit eigens zum Vergleich hergestellten Oligo-(tripeptamidinium)-Salzen [1] zeigten, nicht konstitutionsspezifisch für Poly(dipeptamidinium)-Salze.

Künftige Untersuchungen werden vor allem das Problem der Konformation von Poly(dipeptamidinium)-Ketten anzugehen haben, womit die zentrale Frage zusammenhängt, ob und unter welchen Bedingungen die formale Tatsache der konstitutionellen und elektrostatischen Komplementarität von Poly(dipeptamidinium)-Salzen und Polynukleotiden auch eine konformationelle Entsprechung besitzt. Die mit Amid-CO-Gruppen alternierenden Amidinium-Gruppen dürften konformationsmitbestimmende Faktoren bedingen, welche in Peptid-Ketten nicht auftreten, womit sich scheinbar naheliegende Analogieschlüsse zu bevorzugten Polypeptid-Konformationen verbieten. Dies erhellt schon aus der einfachen Tatsache, dass in Polypeptiden die Zahl der komplementären H-Brückenköpfe entlang der peptidischen Amidkette identisch ist, während in Dipeptamidinium-Ketten vier H-Donorzentren ein einziges H-Acceptorzentrum gegenübersteht. Hiermit dürfte u. a. die bislang erfahrene Schwierigkeit zusammenhängen, Oligo(dipeptamidinium)-Salze (zwecks Durchführung von Röntgenstrukturanalysen) in kristalliner Form zu erhalten; es ist zu vermuten, dass dem Lösungsmittel in diesem Zusammenhang eine besonders massgebende Rolle zukommt.

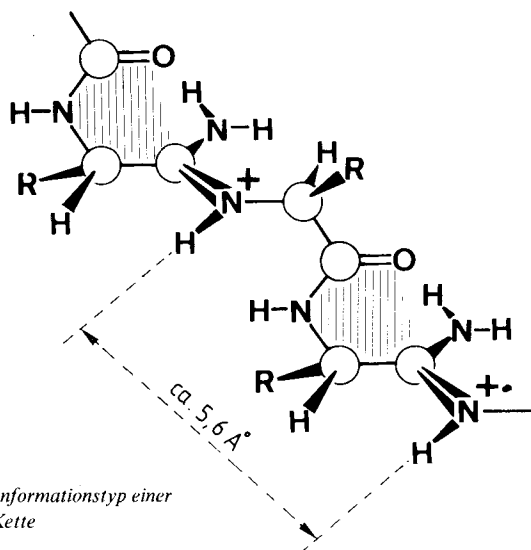


Fig. 7. Hypothetischer Konformationstyp einer Poly(dipeptamidinium)-Kette

Fig. 7 deutet in stilisierter Form auf einen potentiell konformationsmitbestimmenden Faktor hin, von dem uns scheint, dass er für die Konformation von Poly(dipeptamidinium)-Ketten eine wesentliche und zugleich konstitutionsspezifische Rolle spielen könnte. Es ist dies eine Relativanordnung des kationischen Amidinium-Zentrums und des Amid-Carbonyl-O-Atoms dergestalt, dass die räumlichen Voraussetzungen für eine stabilisierende ($n \rightarrow \pi^*$)-Wechselwirkung zwischen einem der nichtbindenden Elektronenpaare der nukleophil agierenden Amid-CO-Gruppe und dem π^* -C-Zentrum der Amidinium-Gruppe gegeben sind. Eine solche Wechselwirkung hätte die Einbeziehung der Amid-Gruppe in den intramolekularen Delokalisationsbereich der positiven Ladung der

Amidinium-Gruppe zur Folge. Bei arbeitshypothetischer Vorgabe dieses Strukturelements verbleiben der Kette das Ensemble der durch die Torsionswinkel um die beiden zur CO-Gruppe α,β - und β,γ -ständigen Bindungen bestimmten Konformationen. Darunter erheischt ein Konformationstyp, nämlich der in Fig. 7 stilisiert aufgezeichnete, besonderes Interesse; in ihm würde die Poly(dipeptamidinium)-Kette als linearer regulärer Strang mit einer Periodizität der Bausteine von ca. 5,6 Å bestehen. Ein solches Modell eines Strangs mit konformationell repetitiver Anordnung der Dipeptid-Bausteine würde dem in der Reihe der Oligo(Ala-Gly-amidinium)-Salze beobachteten, linearen Zusammenhang zwischen molekularer Drehung und Zahl der Dipeptid-Bausteine gut entsprechen. Versuche zu einer experimentellen Fundierung unserer Anschauungen über die Konformation von Poly(dipeptamidinium)-Ketten werden vorab über Routineverfahren hinausgehende, NMR-spektroskopische Analysen geeigneter Dipeptamidinium-Substrate in verschiedenen Lösungsmitteln verlangen. Über das am Ausgangspunkt unserer Untersuchungen über Polydipeptamidinium-Salze gestandene Konzept, wonach die Glieder dieser Verbindungsklasse als Polymere von Dipeptid-nitrilen (in ihrer Ammonium-Form) auffassbar sind, liegen in der Zwischenzeit experimentelle Erfahrungen vor, über welche wir in einer Folgearbeit zu berichten beabsichtigen.

Unterstützung für diese Arbeit verdanken wir dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, der Ciba-Geigy AG, Basel, sowie der Firma Firmenich & Co., Genf. Herrn Dr. E. Zass danken wir für seine Mithilfe bei der Fertigstellung des Manuskripts, Dr. J. Meili (MS-Gruppe des organ.-chem. Laboratoriums der ETH, Leitung Prof. J. Seibl) für die Aufnahme der FAB-Massenspektren und Fr. B. Brandenberger für die Aufnahme der 300-MHz- ^1H -NMR-Spektren.

Experimenteller Teil

1. Allgemeines. – Falls nicht speziell erwähnt, wurden Chemikalien der Firma Fluka (*puriss., p. a.*) verwendet. DMF: Über Molekularsieb vorgetrocknet und nach Zugabe von 10% Benzol im Wasserstrahlvakuum dest. (Benzol im Vorlauf abdest.). MeOH: über Mg 2 h unter Rückfluss erhitzt und destilliert. NH_3/MeOH -Lösung: ca. 16M, jeweils frisch durch Sättigung von MeOH mit NH_3 bei 0° hergestellt. Polymerbase: Aus Chlormethylpolystyrol und Piperidin hergestellt, je 3mal mit $\text{MeOH}/\text{Et}_3\text{N}$ 9:1 gefolgt von CH_2Cl_2 , dann je 3mal mit MeOH gefolgt von CH_2Cl_2 , schliesslich 2mal mit CH_2Cl_2 gewaschen und i. HV. getrocknet. Gehalt 3,0 mmol-Äquiv./g, durch Titration in Dioxan bestimmt. Umfällungen: Die amorphe, umzufällende Verbindung wurde unter einem leichten Ar-Strom im Zentrifugenglas in einer Mindestmenge des polareren Lsgm. aufgelöst, durch die Zugabe des apolareren Lsgm. ausgefällt und abzentrifugiert. HV-Trocknen: falls nicht speziell vermerkt, jeweils bei RT. über Nacht (ca. $2 \cdot 10^{-3}$ Torr). Ausbeuten sowie mol-Angaben von amorphen Verbindungen sind, falls nicht speziell erwähnt, für die ^1H -NMR-spektroskopisch bestimmten Lsgm.-Gehalte korrigiert. DC: DC-Fertigplatten (Kieselgel 60, Merck), Schichtdicke 0,25 mm; System 1: $\text{EtOAc}/\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH}$ 7:5:4:1, System 2: $i\text{-PrOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH}$ 5:2:1, ges. mit NaCl. Zur Anfärbung der Substanzen wurden die Platten in eine 0,2% Ninhydrin-Lsg. in $\text{BuOH}/2\text{M}$ wässr. AcOH 19:1 getaucht und mit einer Heizplatte kurz auf 120° erhitzt. Dünnschicht-Elektrophorese (DE): Wassergekühlter Flat Bed Apparatus FBE-3000 (Pharmacia) mit einem Bio Rad Power Supply Model 3000/300. Trägermaterial HPTLC-Fertigplatten (10 × 20 cm, Cellulose, Merck). Nach dem Auftragen der Substanzen in MeOH wurden die Platten mit einem puffer-getränkten Filterpapier gleichmässig benetzt ($\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH}/\text{Pyridin}$ 5:89:10:1; BuOH zur Verminderung der Diffusion auf der DC-Platte), nach Herstellung des Kontaktes mit dem Filterpapier 25 min mit 1500 V (ca. 44 V/cm, Wanderungsstrecken 5–15 cm) entwickelt und anschliessend mit dem Fön getrocknet. Zur Anfärbung der Substanzen wurden die Platten in eine Lsg. von 0,4 g Ninhydrin, 0,2 g CoCl_2 und 100 ml $i\text{-PrOH}$ [26] getaucht und mit einer Heizplatte 5 min auf 120° erhitzt. Das charakteristische Wanderungsverhalten ist normiert als Ionenbeweglichkeit (elektrophoretische Beweglichkeit) u in $10^4 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}$ [26] angegeben, welche der Wanderungsstrecke in μm entspricht, die ein geladenes Teilchen pro s

in einem elektrischen Feld der Feldstärke 1 V/cm zurücklegt. Als Referenzverbindung wurde Chloro-cyanocobyrinsäure-*a,b,c,d,e,f,g*-heptamethylester ('Chloro-cyano-cobester') verwendet: $u = 0,75$. Säulenchromatographie: Kieselgel 60, Korngrösse 40–63 μm (Merck), 'flash'-Verfahren [27]. Ionentauscher: *a*) stark basisch: Amberlite 60 und CG-400 (Cl^- -Form, 80–150 μm , Fluka). Vor der Verwendung wurde das Harz in einer Glasfilternutsche gut mit *ca.* 1N HCl gespült und mit H_2O neutralgewaschen; nach dem Spülen mit MeOH und Trocknen i. HV. über Nacht wurde das Harz in dieser Form bis zur Verwendung aufbewahrt. Zur Überführung in die OH^- -Form wurde das Harz in H_2O aufgeschlämmt, in eine Säule mit Glasfritte gefüllt, mit *ca.* 1N NaOH gespült, mit entgastem H_2O (10 min unter Rückfluss erhitzt und im Wasserstrahlvakuum abgekühlt) neutralgewaschen, dann das H_2O mit *ca.* dem 4fachen Säulenvolumen MeOH eluiert und die Säule sofort benützt. *b*) Schwach basisch: Amberlyst-A-21 (freie Base, 300–840 μm , Fluka). Das Harz wurde zur Überführung in die TsO^- -Form mit MeOH/ Et_3N 9:1 gespült, mit MeOH neutralgewaschen und mit einer Lsg. von $\text{TsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Fluka, puriss) in MeOH eluiert, bis das Eluat stark sauer war. Nach dem Neutralwaschen mit MeOH wurde das Harz meist direkt verwendet, liess sich aber auch in getrocknetem Zustand aufbewahren. DEAE-Cellulose: Diäthylaminoäthyl-Cellulose 23-SH (50–200 μm , Fluka). Die Cl^- - und TsO^- -Form wurde hergestellt, indem man die DEAE-Cellulose in 1N NaOH aufschlammte (Glasfilternutsche) und mit viel H_2O neutralwusch. Dann wurde das Harz 10 min in einer wässr. Lsg. der entsprechenden Säure stehengelassen und nochmals mit H_2O neutralgewaschen. Je 3mal Waschen mit MeOH und AcOEt und Trocknen i. HV. ergaben die in dieser Form aufbewahrte DEAE-Cellulose (Cl^- - bzw. TsO^- -Form) als feines weisses Pulver. Zur Säulenchromatographie wurde die in MeOH aufgeschlammte DEAE-Cellulose in eine Säule (Glasfritte mit angespresstem Celite) gefüllt, bis zur konstanten Säulenhöhe mit MeOH eluiert, dann auf das entsprechende Lsgm.-Gemisch gewechselt und wie angegeben mit einem leichten Überdruck von 0,05 bar chromatographiert. Spezifische Drehungen: Polarimeter Perkin Elmer PE-241, Messtemp. *ca.* 20°; bei allen amorphen Verbindungen sind die angegebenen $[\alpha]$ -Werte für den ^1H -NMR-spektroskopisch bestimmten Lsgm.-Gehalt korrigiert. pK_a -Werte: Scheinbare Dissoziationskonstanten in Methylcellosolve/ H_2O 4:1 [25], durch Titration der Ammonium- bzw. Amidinium-Salze mit einer 0,1M Lsg. von Me_4NOH ermittelt. ^1H - und ^{13}C -NMR: δ -Werte in ppm bezogen auf TMS. FAB-MS: Kratos MS-50 mit 'M-scan' FAB-System, 8–10 keV; Glycerin-Matrix; Matrix-Peaks bei m/z 93 + ($n \times 92$) und 74 + ($n \times 92$) ($n \leq 5$) nicht aufgeführt; rel. Intensitäten in Klammern.

2. Exper. zu Schema 1. – (–)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-glycin-amid (**3**). Eine gerührte Mischung von 14,5 g (144 mmol) Et_3N und 21,5 g (285 mmol) Chloroacetonitril (Fluka, purum, dest. über P_2O_5) wurde unter Ar bei 0° mit 13,8 g (56 mmol) **1** (nach [28] aus L-Alanyl-glycin hergestellt; Schmp. 128–130°, $[\alpha]_D = -26,9 \pm 0,6^\circ$ ($c = 0,98$, MeOH)) versetzt und 3 h bei 40° gehalten. Nach Abkühlen auf RT. wurde das Gemisch in 100 ml ges. NaCl-Lsg. aufgenommen, mit 200 bzw. 2×100 ml AcOEt ausgeschüttelt, die drei org. Phasen wurden nacheinander mit je 100 ml verd. wässr. Zitronensäure, 1N NaHCO_3 -Lsg. und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, vereinigt und getrocknet (Na_2SO_4). Eindampfen ergab ein gelbliches Öl **2**, welches direkt in 200 ml bei RT. mit NH_3 ges. *t*-BuOH aufgenommen wurde. Nach 20 h bei RT. filtrierte man den gebildeten Festkörper ab; vorsichtiges Eindampfen des Filtrats ergab ein leicht grünlches Öl, welches in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1 durch basisches Aluminiumoxid filtriert wurde. Abdampfen lieferte einen farblosen Festkörper, der mit dem aus der Reaktionslsg. ausgefallenen Material vereinigt und aus Aceton/AcOEt mit wenig MeOH umkristallisiert wurde: 11,3 g (82%) **3**. Schmp. 133–135°. DC (AcOEt): R_f 0.1. $[\alpha]_D = -12,2 \pm 0,4^\circ$ ($c = 1,85$, MeOH). IR (KBr): 3365vs, 3325s, 3295 (sh), 1713s, 1688vs, 1630vs. ^1H -NMR (CD_3OD , 100 MHz): 1,31 (*d*, $J = 7$, $\text{CH}_3(5')$); 1,41 (*s*, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 3,82 (*s*, $\text{CH}_2(2)$); 4,02 (*q*, $J = 7$, $\text{H}-\text{C}(5)$). ^{13}C -NMR (CD_3OD , 25 MHz): 17,6 (*q*, $\text{C}(5')$); 28,7 (*q*, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 43,2 (*t*, $\text{C}(2)$); 52,2 (*d*, $\text{C}(5)$); 80,8 (*s*, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 158,1 (*s*, $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}$); 174,5 (*s*, $\text{C}(4)$); 176,5 (*s*, $\text{C}(1)$). MS: 245 (0,7, M^+), 190 (3,3, $M^+ - \text{C}_4\text{H}_8$), 144 (59), 57 (100). Anal. ber. für $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$: C 48,96, H 7,81, N 17,13; gef.: C 48,84, H 7,83, N 16,99.

(–)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-glycin-nitril (**4a**). Zu einer gerührten Lsg. von 9,7 g (39,5 mmol) **3** in 25 ml abs. Pyridin (dest. über CaH_2) wurden bei –10° unter Ar 4,19 g (27,3 mmol) POCl_3 (Fluka, purum, dest.) in 15 ml abs. Pyridin getropft. Man rührte 1 h bei –10° weiter und sog. anschliessend i. RV. das Pyridin so rasch als möglich ab. Der Rückstand wurde in 50 ml verd. NaHSO_4 -Lsg. aufgenommen und mit 150 ml AcOEt ausgeschüttelt. Nach 4 weiteren Extraktionen der wässr. Phase mit je 50 ml AcOEt wurden die fünf org. Phasen nacheinander mit 50 ml ges. NaCl-Lsg. gewaschen und zusammen getrocknet (Na_2SO_4). Nach dem Einengen i. RV. wurde der Rückstand an Kieselgel (AcOEt/Hexan 4:1, gefolgt von AcOEt/MeOH 8:1) chromatographiert. Eine erste Fraktion ergab nach Umkristallisation aus AcOEt/Hexan 5,28 g (59%) **4a**; aus der zweiten (polareren) Fraktion wurden nach Umkristallisation 1,86 g (19%) unumgesetztes **3** zurückgewonnen.

Daten von **4a**: Schmp. 93–95°. DC: (AcOEt): R_f 0,44. $[\alpha]_D = -45,1 \pm 0,7^\circ$ ($c = 2,11$, CHCl_3). IR (CHCl_3): 3435m, 3310 (br.), 2980s, 2935m, 2870w, 2250w, 1690 (br.), 1500 (br.), 1454s, 1412w, 1394m, 1369s, 1345 (sh), 1314m, 1160s, 1075m, 1060m, 1042m, 1025m, 904 (br.), 860 (br.). ^1H -NMR (CDCl_3 , 100 MHz): 1,37 (*d*, $J = 7$, $\text{CH}_3(5')$); 1,42 (*s*, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 4,16 (*d*, $J = 5,5$, $\text{CH}_2(2)$); 4,24 (br. *dq*, mit vorstehendem Signal überlagert, $\text{CH}(5)$);

5,54 (br. d , $J = 8,5$, $\text{NH}(6)$); 7,63 (br. t , $J = 5,5$, $\text{NH}(3)$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 25 MHz): 18,1 (q , $\text{C}(5^1)$); 27,5 (t , $\text{C}(2)$); 28,4 (q , $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 50,0 (d , $\text{C}(5)$); 80,7 (s , $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 116,2 (s , $\text{C}(1)$); 155,9 (s , $(\text{CH}_3\text{COCO})_3$); 173,7 (s , $\text{C}(4)$). MS: 154 (12), 144 (24), 88 (23), 59 (19), 57 (100). Anal. ber. für $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$: C 52,85, H 7,54, N 18,49; gef.: C 52,72, H 7,56, N 18,33.

(–)-*L-Alanyl-glycin-nitril* (5). Eine Lsg. von 663 mg (2,92 mmol) **4a** in 5 ml HCOOH liess man 3 h bei RT. stehen und dampfte i. RV. anschliessend ein. Der gummiartige Rückstand wurde in MeOH mit wenigen Tropfen konz. NH_3 aufgelöst und erneut i. RV. abgesogen. Das verbleibende Rohprodukt chromatographierte man an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 80:20:1) und erhielt nach Kugelordestillation ($90\text{--}100^\circ/10^{-3}$ Torr) des öligen Rückstandes 330 mg (89%) **5** als leicht grünliches Öl. DC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 80:20:1): R_f 0,33. $[\alpha]_D = -2,2 \pm 0,6^\circ$ ($c = 0,95$, CHCl_3). IR (CHCl_3): 3670w, 3405 (sh), 3365s, 3350 (sh), 2970m, 2935m, 2900w, 2870w, 2255w, 1683 (br.), 1500vs, 1453m, 1413m, 1373m, 1343m, 1123m, 1008w, 918m, 903m. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): 1,33 (d , $J = 7$, $\text{CH}_3(5^1)$); 1,62 (br. s , $\text{NH}_2(6)$); 3,53 (q , $J = 7$, $\text{CH}(5)$); 4,17 (br. s , $\text{CH}_2(2)$); 7,95 (br. s , $\text{NH}(3)$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 25 MHz): 21,4 (q , $\text{C}(5^1)$); 27,4 (t , $\text{C}(2)$); 50,6 (d , $\text{C}(5)$); 116,7 (s , $\text{C}(1)$); 176,7 (s , $\text{C}(4)$).

Dinitrobenzoat-Salz von **5**. Der nach Umsetzen von **5** mit 1 Moläquiv. 3,5-Dinitrobenzoesäure (*Fluka, purum*) in MeOH und Absaugen des Lsgm. erhaltene kristalline Rückstand wurde aus EtOH umkristallisiert: Nadeln des Dinitrobenzoats, Schmp. $160\text{--}163^\circ$ (Zers.). $[\alpha]_D = +9,8 \pm 0,4^\circ$ ($c = 1,65$, MeOH). Anal. ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_7$: C 42,48, H 3,86, N 20,64; gef.: C 42,32, H 3,80, N 19,84.

(+)-*L-Alanyl-glycin-amidin-bis-(p-toluolsulfonat)* (**6a**). a) *Ausgehend von 4a*. Eine Lsg. von 230 mg (1,01 mmol) **4a** in 10 ml NH_3/MeOH wurde 4 Tage verschlossen bei RT. stehengelassen. Nach dem Eindampfen wurde der ölige Rückstand in 5 ml EtOH aufgenommen und mit 402 mg (2,11 mmol) $\text{TsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ versetzt. Absaugen des EtOH i. RV. ergab ein leicht rötliches Harz, welches aus EtOH/AcOEt kristallisiert wurde. Die durch Einengen der Mutterlauge erhaltenen zwei weiteren Kristall-Fractionen wurden mit dem Erst-Kristallisat aus EtOH/AcOEt umkristallisiert: 387 mg (78%) **6a** als farblose Nadelchen, Schmp. $202\text{--}205^\circ$ (Zers.). DC (System 2): R_f 0,41. DE: $u = 2,18$ (vgl. Fig. 15). $[\alpha]_D = +9,9 \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,67$, MeOH). pK_a^* (Ammonium-Gruppe, Amidinium-Gruppe nicht erfasst): 6,7. IR (KBr): vgl. [1]. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz): 1,52 (d , $J = 7$, $\text{CH}_3(5^1)$); 2,32 (s , 2 $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3$); 4,10, 4,33 (AB , $J_{AB} = 17$, $\text{CH}_2(2)$); 4,13 (q , $J = 7$, $\text{CH}(5)$); 7,20, 7,69 ($AA'BB'$, 8 arom. H); 8,7 (br. s , 0,5 H, unvollständig ausgetauschtes NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz): 17,1 (q , $\text{C}(5^1)$); 21,3 (q , $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3$); 40,8 (t , $\text{C}(2)$); 50,5 (d , $\text{C}(5)$); 127,0, 130,0 (2d, arom. CH); 141,9, 143,4 (2s, arom. C); 169,7 (s , $\text{C}(1)$); 172,5 (s , $\text{C}(4)$). FAB-MS (nachträgliche Messung von analog hergestelltem Material): 805 (def. 1, $2M^{2+} + 3\text{TsO}^-$), 777 (1, $3M^{2+} - 3\text{H}^+ + 2\text{TsO}^-$), 633 (2, $2M^{2+} - \text{H}^+ + 2\text{TsO}^-$), 489 (2, $M^{2+} + \text{TsO}^- + \text{TsOH}$), 461 (9, $2M^{2+} - 2\text{H}^+ + \text{TsO}^-$), 317 (14, $M^{2+} + \text{TsO}^-$), 289 (4, $2M^{2+} - 3\text{H}^+$), 145 (> 64 , $M^{2+} - \text{H}^+$), 130 (> 64), 128 (55, $M^{2+} - \text{NH}_4^+$); $m^* 113,0$ (145 $\rightarrow$ 128). Anal. ber. für $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}_2$: C 46,70, H 5,78, N 11,47, S 13,13; gef.: C 46,59, H 5,79, N 11,28, S 13,36.

b) *Ausgehend von 5*. Eine Lsg. von 25 mg (0,20 mmol) **5** in 1 ml NH_3/MeOH wurde 5 Tage bei RT. stehengelassen. Absaugen der Lsg. i. RV. ergab ein bräunliches Öl, welches man in 1 ml EtOH aufnahm und mit 87 mg (0,46 mmol) $\text{TsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ in 1 ml EtOH versetzte. Eindampfen und 2malige Kristallisation des Rückstandes aus EtOH/AcOEt ergaben 65 mg (68%) **6a**, Schmp. $201\text{--}205^\circ$ (Zers.).

Dihydrochlorid aus **6a**. Eine MeOH-Lsg. von 1,01 g (2,07 mmol) **6a** wurde mit MeOH durch 9 g *Amberlite CG-400* (Cl^- -Form) filtriert. Nach dem Eindampfen des Filtrats und Umkristallisation aus MeOH/AcOEt erhielt man 0,22 g (49%) **6a** (2Cl^- statt 2TsO^-). Zur Charakterisierung wurde eine Probe erneut aus MeOH/AcOEt umkristallisiert. Schmp. $182\text{--}183^\circ$ (Zers.). $[\alpha]_D = +23,1 \pm 1,4^\circ$ $[\alpha]_{436} = +50,1 \pm 1,5^\circ$ ($c = 0,41$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz; vgl. Fig. 12): 1,56 (d , $J = 7,1$, $\text{CH}_3(5^1)$); 4,12 (q , $J = 7,1$, $\text{CH}(5)$); 4,16, 4,33 (AB , $J_{AB} = 17,1$, $\text{CH}_2(2)$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz; vgl. Fig. 13): 17,2 (q , $\text{C}(5^1)$); 40,8 (t , $\text{C}(2)$); 50,6 (d , $\text{C}(5)$); 169,7 (s , $\text{C}(1)$); 172,5 (s , $\text{C}(4)$). FAB-MS: 289 (def. 1, $2M^{2+} - 3\text{H}^+$), 146 (11), 145 (43, $M^{2+} - \text{H}^+$), 130 (37), 128 (15, $M^{2+} - \text{NH}_4^+$); $m^* 113,0$ (145 $\rightarrow$ 128). Anal. ber. für $\text{C}_5\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$: C 27,66, H 6,50, N 25,81, Cl 32,66; gef.: C 27,68, H 6,53, N 25,79, Cl 32,92.

(–)-*Cyclo(L-alanyl-glycin-amidin)-(p-toluolsulfonat)* (**6**) (= 6-Amino-2,3,4,5-tetrahydro-2-methyl-3-oxopyrazin-1-ium-(p-toluolsulfonat) **7**). a) *Ausgehend von 6a*. In 2 ml NH_3/MeOH wurden bei RT. 200 mg (0,41 mmol) **6a** gelöst und 30 min bei RT. stehengelassen (laut DC vollständige Umsetzung). Nach Eindampfen und Kristallisation aus EtOH/AcOEt wurden 71 mg (92%) NH_4TsO als farblose Prismen vom Schmp. $> 250^\circ$ isoliert. Der durch Eindampfen der Mutterlauge erhaltene Rückstand ergab nach Umkristallisation aus EtOH/AcOEt 110 mg (90%) **7** als farblose, lange Nadeln, Schmp. $169\text{--}171^\circ$. DC (System 1): R_f 0,44 (mit Ninhydrin grüne Färbung). DE: $u = 1,59$. $[\alpha]_D = -20,3 \pm 0,7^\circ$ ($c = 1,19$, MeOH). IR (KBr): vgl. [1]. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz): 1,45 (d , $J = 7$, $\text{CH}_3(5^1)$); 2,32 (s , $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3$); 4,10 (dq , $J = 1,5$, 7, $\text{CH}(5)$); 4,33 (scheinbares d , $J = 1,5$, $\text{CH}_2(2)$); 7,21, 7,68 ($AA'BB'$, 4 arom. H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 25 MHz): 17,6 (q , $\text{C}(5^1)$); 21,3 (q , $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3$); 42,0 (t , $\text{C}(2)$); 51,7 (d , $\text{C}(5)$); 126,9, 129,9 (2d, arom. CH); 141,9, 143,3 (2s, arom. C); 163,7 (s , $\text{C}(1)$); 170,0 (s , $\text{C}(4)$). FAB-MS: 726 (def. 1,

$3M^+ + 2TsO^-$), 427 (5,5, $2M^+ + TsO^-$), 300 (9, $M^+ + TsOH$), 255 (3,5, $2M^+ - H^+$), 220 (25, $M^+ + Glycerin$), 128 (50, M^+). Anal. ber. für $C_{12}H_{17}N_3O_4S$: C 48,16, H 5,73, N 14,04, S 10,71; gef.: C 47,99, H 5,76, N 13,77, S 10,90.

b) *Ausgehend von 5*. 1. *Durch MeONa-Katalyse*. Eine Lsg. von 11 mg (0,20 mmol) MeONa (*Fluka, pract.*) in MeOH wurde unter Ar mit 56 mg (0,44 mmol) **5** versetzt. Nach 15 h bei RT. (DC: vollständige Umsetzung) wurde eingedampft, der Rückstand mit *PrOH* durch eine kurze Säule mit Cellulose filtriert, das i. RV. vom Lsgm. befreite Rohprodukt in EtOH aufgenommen und mit 98 mg (0,52 mmol) $TsOH \cdot H_2O$ versetzt. Einengen und Kristallisation aus EtOH/AcOEt ergaben 80 mg (61%) **7** vom Schmp. 170–173°. Ein DC-Vergleich mit der unter *a* beschriebenen und charakterisierten Probe (*PrOH*/AcOEt/ H_2O 7:2:2, Cellulose-Platten) zeigte identische R_F -Werte und gleiche Anfärbung mit Ninhydrin.

2. *Durch Cystein-Katalyse*. Eine Mischung von 204 mg (1,60 mmol) **5** und 18,8 mg (0,16 mmol) L-Cystein in 0,8 ml abs. EtOH (dest. über Mg) wurde unter Ar und Lichtausschluss bei RT. gerührt. Die nach 2 h homogene Lsg. zeigte im DC nur noch Spuren von **5** (CH_2Cl_2 /MeOH/(NH_3 /MeOH) 4:1:1, R_F 0,9) und nebst dem vorwiegend gebildeten **7** (R_F 0,4) auch ein nicht identifiziertes Nebenprodukt (R_F 0,8). Man rührte weitere 14 h bei RT., filtrierte anschliessend die Lsg. mit MeOH durch *Amberlite 60* (OH^- -Form) und erhielt nach Einengen 175,2 mg (86%) nahezu DC-einheitliches cyclisches Amidin, welches in **7** übergeführt und aus EtOH umkristallisiert wurde: Schmp. 170–173°. $[\alpha]_D = -21,5 \pm 0,7^\circ$ ($c = 1,22$, MeOH).

In einer analogen Umsetzung ohne Cystein liessen sich nach 14 Tagen bei DC-Kontrolle nebst unverändertem Ausgangsmaterial nur Spuren von **7** nachweisen.

3. *Exper. zu Schema 2. – Zum Nachweis der Cystein-Katalyse* wurden in drei parallel durchgeführten Ansätzen jeweils 25,0 mg (0,110 mmol) **4a** mit und ohne L-Cystein (0,00, 0,16 und 0,32 Moläquiv.) unter O_2 -Ausschluss in 0,5 ml NH_3 /MeOH gelöst und 1 h im thermostatisierten Wasserbad bei 19° stehengelassen. Anschliessend dampfte man ein, chromatographierte den Rückstand auf einer DC-Platte (AcOEt/Benzol 4:1) und eluierte die apolarste Zone (**4a**) mit CH_2Cl_2 . Die filtrierten Eluate wurden getrennt eingedampft und zur Gewichtsbestimmung über Nacht i. HV. getrocknet. Zurückgewonnenes **4a**: 22,4 mg (90%), 3,3 mg (13%) bzw. 0,7 mg (3%).

In einem analogen Versuch mit 1 Moläquiv.-*S*-Methyl-L-cystein statt L-Cystein wurde nach 2 h bei RT. > 83% unumgesetztes **4a** isoliert. Während bei einer Umsetzung von **4a** mit 1 Moläquiv. L-Cystein in MeOH (ohne NH_3) nach 3 Tagen Rühren bei RT. durch DC-Kontrolle keine Reaktion festgestellt wurde, liessen sich bei Behandlung äquimolarer Mengen von L-Cystein und **4a** in NH_3 -ges. MeOH bereits nach 5 min mittels DC (AcOEt) nur noch Spuren von **4a** nachweisen. Nach 16 h Rühren bei RT. schied sich beim Einengen der Lsg. ein teilweise kristalliner Niederschlag ab (Schmp. 225–230°), vermutlich **9b** (vgl. *Fussnote 9* und [1], S. 128).

(–)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-glycin-amidin-(p-toluolsulfonat) (**8a**). Eine Mischung von 3,03 g (13,3 mmol) **4a** und 102 mg (0,84 mmol) L-Cystein wurde unter Ar mit 90 ml NH_3 /MeOH versetzt. Nach 2 Tagen wurde aus der unter Lichtausschluss bei RT. aufbewahrten, homogenen Lsg. im kräftigen N_2 -Strom das überschüssige NH_3 abgeblasen und dann die Lsg. eingedampft. Das leicht gelbliche Rohprodukt wurde in wenig MeOH aufgenommen, durch eine Säule mit ca. 5 g *Amberlite CG-400* (OH^- -Form) filtriert, das Filtrat eingengt, mit 2,0 g (10,5 mmol) $TsOH \cdot H_2O$ in MeOH versetzt, auf eine Säule mit 10 g *Amberlyst A-21* (TsO^- -Form) aufgetragen und mit MeOH eluiert. Das Eluat dampfte man ein, nahm das dickflüssige Öl in 20 ml abs. EtOH auf und versetzte es langsam mit 30 ml AcOEt. Nach Kristallisation bei 0° isolierte man insgesamt 4,91 g (89%) **8a**, Schmp. 167–168° (Zers.). DC (System 1): R_F 0,64. DE: $\mu = 1,19$. $[\alpha]_D = -3,9 \pm 0,3^\circ$ ($c = 1,73$, MeOH). IR (KBr): vgl. [1]. 1H -NMR (CD_3OD , 300 MHz): 1,32 (d, $J = 7,2$, $CH_3(5^1)$); 1,44 (s, $(CH_3)_3C$); 2,37 (s, $CH_3C_6H_4SO_3$); 3,99 (br. q, $J = 7,1$, CH(5)); 4,14, 4,22 (AB, $J_{AB} = 17,5$, $CH_2(2)$); 7,23, 7,71 (AA'BB', 4 arom. H). ^{13}C -NMR (CD_3OD , 25 MHz): 17,3 (q, $C(5^1)$); 21,4 (q, $CH_3C_6H_4SO_3$); 28,7 (q, $(CH_3)_3C$); 40,2 (t, $C(2)$); 52,3 (d, $C(5)$); 81,1 (s, $(CH_3)_3C$); 126,8, 129,9 (2d, arom. CH), 141,9, 143,2 (2s, arom. C); 158,4 (s, $(CH_3)_3COCO$); 169,9 (s, $C(1)$); 177,1 (s, $C(4)$). FAB-MS: 246 (10), 245 (100, M^+), 189 (15, $M^+ - C_4H_8$), 57 (56); $m^* 145,8$ (245 → 189). Anal. ber. für $C_{17}H_{28}N_4O_6S$: C 49,03, H 6,78, N 13,45, S 7,70; gef.: C 48,97, H 6,71, N 13,40, S 7,61.

Hydrochlorid aus 8a. Eine MeOH-Lsg. von 0,50 g (1,20 mmol) **8a** wurde auf eine 3 g *Amberlite CG-400* (Cl^- -Form) enthaltende Säule aufgetragen, mit MeOH eluiert, das Eluat eingedampft und der Rückstand 2mal aus AcOEt/MeOH (ca. 20:1) kristallisiert: 279 mg (83%) **8a** (Cl^- statt TsO^-), Zers. ab 179°. $[\alpha]_D = -4,4 \pm 2,0^\circ$, $[\alpha]_{436} = -6,7 \pm 1,9^\circ$ ($c = 0,29$, MeOH). IR (KBr): vgl. [1]. 1H -NMR (CD_3OD , 300 MHz; vgl. *Fig. 11*): 1,33 (d, $J = 7,1$, $CH_3(5^1)$); 1,45 (s, $(CH_3)_3C$); 4,00 (br. q, $J = 7,1$, CH(5)); 4,15, 4,23 (AB, $J_{AB} = 17,5$, $CH_2(2)$). FAB-MS: 527 (0,3, $2M^+ + ^{37}Cl^-$), 525 (0,9, $2M^+ + ^{35}Cl^-$), 489 (1,9, $2M^+ - H^+$), 246 (11), 245 (100, M^+), 189 (41, $M^+ - C_4H_8$), 57 (34); $m^* 145,8$ (245 → 189). Anal. ber. für $C_{10}H_{21}ClN_4O_3$: C 42,77, H 7,54, N 19,96; gef.: C 42,65, H 7,58, N 19,91.

4. Exper. zu Schema 3. – a) *Glycin-thioamid-hydrochlorid (12)*. N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-glycin-nitril. Eine Mischung von 15 g (162 mmol) Glycin-nitril-hydrochlorid (**10**), 20 g Eis und 160 ml Dioxan wurde mit 162 ml 1N NaOH versetzt. Unter Rühren gab man bei 0° in 5 Portionen insgesamt 30 g (137 mmol) Di(*tert*-butyl)-dicarbonat (Boc_2O , Fluka, purum) zu und rührte anschliessend 2 h bei RT. weiter. Die homogene Lsg. wurde eingedampft und der wässr. Rückstand 4mal mit ca. 30 ml AcOEt ausgeschüttelt. Die org. Phasen wurden 3mal mit ca. 20 ml 1N Zitronensäure, je 1mal mit ges. NaHCO_3 - und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, vereinigt und getrocknet (Na_2SO_4). Das nach Eindampfen erhaltene Rohprodukt wurde mit AcOEt durch 80 g Kieselgel filtriert, worauf man nach dem Eindampfen ein farbloses Öl erhielt, welches nach Zugabe von Pentan spontan kristallisierte: 19,4 g (90%) farbloses Boc-Glycin-nitril. Zur Charakterisierung wurde eine Probe aus Benzin (100–110°) umkristallisiert. Schmp. 51,5–52°. DC (Benzol/AcOEt 17:3): R_f 0,27. IR (CHCl_3): 3455m, 3365 (br.), 2983m, 2935m, 2255w, 1720vs, 1500s, 1456m, 1414w, 1395m, 1380 (sh), 1371s, 1353m, 1327m, 1283s, 1158s, 1054m, 1045 (sh), 1030w, 940m, 920w, 896w, 855m. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): 1,44 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 4,02 (d, $J = 6,5$, CH_2); 5,15 (br. s, mit D_2O austauschbar, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 25 MHz): 28,2 (q, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 29,3 (t, C(2)); 81,1 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 117,0 (s, C(1)); 155,6 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}$). Anal. ber. für $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$: C 53,83, H 7,74, N 17,94; gef.: C 53,66, H 7,77, N 17,90.

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-glycin-thioamid. In einem trockenen 250-ml-Kolben wurden unter Ar 370 mg (53,3 mmol) Li in 100 ml abs. EtOH (dest. über Mg) gelöst und diese Lsg. bei 0° unter Feuchtigkeitsausschluss mit H_2S gesättigt. Nach Zugabe von 5,0 g (26,3 mmol) Boc-Glycin-nitril sättigte man die Lsg. abermals bei 0° mit H_2S , liess bei RT. über Nacht stehen und entfernte dann Lsgm. und überschüssiges H_2S im kräftigen N_2 -Strom bei RT. Der leicht gelbliche Rückstand wurde an Kieselgel (Benzol/AcOEt 8:2) chromatographiert; beim Einengen der vereinigten Produkt-Fractionen begannen sich farblose Kristalle abzuscheiden: 4,8 g (79%) DC-einheitliches Boc-Glycin-thioamid, Schmp. 120–124°. Eine Probe wurde aus AcOEt umkristallisiert. Schmp. 123,5–124°. DC (Benzol/AcOEt 1:1): R_f 0,5. UV (EtOH): 266 (11 100). IR (KBr): vgl. [1]. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 80 MHz): 1,45 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 4,00 (s, CH_2). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz): 28,7 (q, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 51,6 (t, C(2)); 80,9 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 158,2 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}$); 206,6 (s, C(1)). MS: 190 (34, M^+), 134 (60, $M^+ - \text{C}_4\text{H}_8$), 117 (40), 75 (55), 57 (100). Anal. ber. für $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$: C 44,20, H 7,42, N 14,73, S 16,85; gef.: C 44,23, H 7,40, N 14,64, S 16,67.

Glycin-thioamid-hydrochlorid (12). Zu einer Lsg. von 40,0 g (316 mmol) Boc-Glycin-thioamid in 130 ml MeOH wurden im Wasserbad bei RT. innert 3 min 180 ml HCl/MeOH-Lsg. ($\text{MeOH}/(\text{CH}_3)_2\text{SiCl}_2$ 2:1) zugefügt. Nach ca. 20 s setzte starke Gas-Entwicklung ein und es begann sich ein kristallines Produkt abzuscheiden. Man rührte 15 min bei RT., gab 520 ml AcOEt zu und liess 1 h im Eisbad stehen: 23,0 g (86%) DC-einheitliches **12**. Eine Probe wurde aus MeOH/AcOEt/Hexan umkristallisiert. Zers. ab 130°. DC (System 1): R_f 0,55 (färbt intensiv gelb an). UV (EtOH): 264 (11 600). IR (KBr): vgl. [1]. $^1\text{H-NMR}$ ($(\text{D}_6)\text{DMSO}$, 80 MHz): 3,73 (s, CH_2); 8,35 (br. s, $\text{NH}_3^+ - \text{C}(2)$); 9,92 (br. s, $\text{NH}_2 - \text{C}(1)$). $^{13}\text{C-NMR}$ ($(\text{D}_6)\text{DMSO}$, 25 MHz): 44,4 (t, C(2)); 196,9 (s, C(1)). FAB-MS: 275 (2,7, $M^+ + 2$ Glycerin), 273 (1,5, $2M^+ - \text{H}^+ + \text{Glycerin}$), 202 (5,0), 183 (24, $M^+ + \text{Glycerin}$), 110 (57), 91 (100, M^+), 57 (54, $M^+ - \text{H}_2\text{S}$). Anal. ber. für $\text{C}_2\text{H}_7\text{ClN}_2\text{S}$: C 18,97, H 5,57, Cl 28,00, N 22,13, S 25,33; gef.: C 19,11, H 5,66, Cl 28,30, N 22,05, S 25,24.

Boc-Glycin-thioamid liess sich ebenfalls mit $\text{TsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ in heissem EtOH entschützen. Das in 78% Ausbeute erhaltene, plättchenförmig kristallisierende Glycin-thioamid-(*p*-toluolsulfonat) erwies sich laut $^1\text{H-NMR}$ und DC als einheitlich und liess sich mit Amberlite CG-400 (Cl^- -Form) quantitativ in **12** ($\text{X} = \text{Cl}$) überführen.

b) (L-Alanyl-glycin)-Reihe. Nitril **4a** ausgehend von **11a** (vgl. auch Exper. zu Schema 1). Eine Lsg. von 29,6 g (320 mmol) Glycin-nitril-hydrochlorid (**10**) in 100 ml H_2O wurde im Eisbad mit 320 ml 1N NaOH versetzt. Nach Zugabe von 22,9 g (80 mmol) **11a** in 200 ml Dioxan liess man 4 h bei RT. stehen und engte bei 40° ein. Der wässr. Rückstand wurde mit 10%- NaHSO_4 -Lsg. auf pH 3 angesäuert und 4mal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden 2mal mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet (MgSO_4) und eingedampft. Kristallisation des Rückstandes aus AcOEt/Pentan ergab 15,5 g (85%) **4a**. Aus AcOEt umkristallisierte Probe: Schmp. 90–92°. $[\alpha]_D = -44,6 \pm 0,7^\circ$ ($c = 2,11$, CHCl_3).

p-Toluolsulfonat **8a**. Vgl. Exper. zu Schema 2.

p-Toluolsulfonat **6a** ausgehend von **8a**. Eine Lsg. von 4,22 g (10,1 mmol) **8a** und 3,85 g (20,3 mmol) $\text{TsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ in 70 ml abs. EtOH wurde zuerst 5 min und dann nach Zusatz von 45 ml AcOEt nochmals 10 min unter Rückfluss erhitzt. Der beim Abkühlen auf RT. auskristallisierende Festkörper wurde abfiltriert und aus MeOH/AcOEt umkristallisiert: insgesamt 4,75 g (96%) **6a**, Schmp. 195–204° (Zers.). $[\alpha]_D = +9,7 \pm 0,3^\circ$ ($c = 2,80$, MeOH). Daten, vgl. Exper. zu Schema 1.

(–)-N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-glycin-thioamid (**13a**). a) Ausgehend von **4a**. Eine Lsg. von 152 mg (21,9 mmol) Li in 160 ml abs. EtOH (dest. über Na/Diäthylphthalat) wurde unter Ar bei –10° mit H_2S gesättigt, mit 5,00 g (22,0 mmol) **4a** versetzt und mit einem Serumstopfen verschlossen bei RT. stehengelassen. Nach zwei Tagen (DC: unvollständige Reaktion) wurde zu der homogenen Lsg. eine mit H_2S ges. Lsg. von 27,8 mmol EtOLi in 30 ml abs. EtOH gegeben und erneut bei 0° mit H_2S gesättigt. Nach 6 Tagen unter Verschluss bei RT. wurde der

gelben Lsg. mit kräftigem N_2 -Strom das restliche H_2S ausgeblasen und die Lsg. eingedampft. Man löste den Rückstand in 35 ml AcOEt und chromatographierte an einer Kieselgel-Säule (AcOEt/Benzol 3:2). Noch leicht verunreinigte Produkt-Fractionen wurden i. R.V. eingengt und erneut chromatographiert. Die DC-einheitlichen Fractionen beider Chromatographien wurden zusammen eingedampft und aus AcOEt umkristallisiert: insgesamt 2,91 g (51%) **13a** in Form feiner, farbloser Kristalle. Zur Charakterisierung wurde nochmal aus AcOEt umkristallisiert und 2 Tage i. HV. getrocknet. Schmp. 148–150° (Zers.). DC (AcOEt): R_f 0,43. $[\alpha]_D = -6,0 \pm 0,6^\circ$ ($c = 0,96$, MeOH). UV (EtOH): 267 (11 500). IR (KBr): u. a. 1703s, 1683vs, 1538s, vgl. [1]. 1H -NMR (CD_3OD , 100 MHz): 1,31 (d , $J = 7$, $CH_3(5^1)$); 1,41 (s , $(CH_3)_3C$); 3,97 (q , $J = 7$, $CH(5)$); 4,15 (s , $CH_2(2)$). ^{13}C -NMR (CD_3OD , 25 MHz): 17,5 (q , $C(5^1)$); 28,7 (q , $(CH_3)_3C$); 50,3 (t , $C(2)$); 52,3 (d , $C(5)$); 80,9 (s , $(CH_3)_3C$); 158,1 (s , $(CH_3)_3COCO$); 176,2 (s , $C(4)$); 204,9 (s , $C(1)$). MS: 261 (14, M^+), 205 (32, $M^+ - C_4H_8$), 57 (100); $m^* 172,4$ (261 $\rightarrow$ 205), 161,0 (205 $\rightarrow$ 188). Anal. ber. für $C_{10}H_{19}N_3O_3S$: C 45,97, H 7,33, N 16,08, S 12,27; gef.: C 46,04, H 7,32, N 15,93, S 12,12.

b) *Ausgehend von 12.* Eine Lsg. von 295 mg (1,03 mmol) **11a** und 298 mg (1,14 mmol) **12** ($X = TsO$) in 9 ml Dioxan/*i*-PrOH/ H_2O 5:3:1 wurde langsam mit 0,158 ml (1,13 mmol) Et_3N versetzt und 3 h unter Lichtausschluss bei RT. gerührt. Nach Absaugen der Lsgm. chromatographierte man den leicht gelben Rückstand an Kieselgel (AcOEt/Hexan 1:1). Die einheitlichen Produkt-Fractionen wurden konzentriert, worauf sie sich über Nacht bei -20° verfestigten; dieser Kristallbrei wurde nach Zugabe von wenig AcOEt abfiltriert: 247,5 mg (92%) DC-einheitliches **13a**, welches zur Charakterisierung nochmals aus AcOEt/Hexan umkristallisiert wurde. Zers. ab 149° . $[\alpha]_D = -4,4 \pm 0,4^\circ$ ($c = 1,50$, MeOH).

(-)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-glycin-imidthiosäure-S-ethylester (**14a**). Eine Lsg. von 531 mg (2,14 mmol) $Et_3O^+PF_6^-$ in 6 ml abs. CH_2Cl_2 wurde bei RT. unter Ar mit 550 mg (2,11 mmol) **13a** versetzt. Die kräftig gerührte Suspension wurde nach ca. 5 min homogen, und man filtrierte die klare, farblose Lsg. nach 30 min mit abs. CH_2Cl_2 durch eine 8 g Polymerbase (vgl. *Allgemeines*) enthaltende Säule. Das Filtrat wurde zusammen mit 5 ml Benzol eingedampft, das verbleibende Öl in wenig abs. CH_2Cl_2 aufgenommen und rasch mit Pentan versetzt, so dass keine bleibende Trübung auftrat. Nach der spontanen Kristallisation wurde abfiltriert (Glasfritte/ N_2 -Überdruck) und nochmals analog aus CH_2Cl_2 /Pentan umkristallisiert: insgesamt 540 mg (89%) 2mal kristallisiertes **14a** (typischer knoblauch-artiger Geruch nach EtSH), Schmp. 108–109° (Zers.). DC (die verwendeten Kieselgel-Platten wurden kurz in MeOH/ Et_3N 9:1 getaucht und offen über Nacht trocknen gelassen): CH_2Cl_2 /MeOH 19:1, R_f 0,46. pK_a -Abschätzung: Durch Protonierung von **14a** in (D_6)DMSO werden im 1H -NMR-Spektrum die Signale von $CH_2(2)$ bzw. von SCH_2CH_3 um 0,52 bzw. 0,35 ppm nach tieferem Feld hin verschoben. Äquimolare Mengen Pyridin-hydrochlorid ($pK_a = 5,3$, [29]) werden nahezu vollständig und *sym*-Collidin-hydrochlorid ($pK_a = 7,4$, [29]) zu ca. 30% durch **14a** in (D_6)DMSO deprotoniert; der pK -Wert der Imidthioester-Gruppe von **14a** dürfte demnach um 7 liegen. $[\alpha]_D = -24,6 \pm 0,4^\circ$ ($c = 1,64$, $CHCl_3$). UV (CH_3CN , Fluka für HPLC; 1-mm Messzelle): 215 (sh, 4200), 227 (4600). IR ($CHCl_3$): 3440m, 3320 (br.), 2985s, 2935m, 2875w, 1692 (br.), 1612s, 1510 (sh), 1496vs, 1454m, 1412w, 1394m, 1369s, 1323m, 1163s, 1062 (sh), 1052m, 1025m, 970w, 918w. 1H -NMR ($CDCl_3$, 80 MHz): 1,31 (t , $J = 7,5$, SCH_2CH_3); 1,38 (mit Boc-Signal überlagertes d , $J = 7$, $CH_3(5^1)$); 1,46 (s , $(CH_3)_3C$); 2,91 (q , $J = 7,5$, SCH_2CH_3); 4,08 (d , $J = 5,5$, $CH_2(2)$); 4,25 (scheinbares quint., $J = 7$, $CH(5)$); 5,39 (br. d , $J = 7$, $NH(6)$); 7,28 (t -artiges m , $NH(3)$). ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 25 MHz): 13,7 (q , SCH_2CH_3); 18,6 (q , $C(5^1)$); 23,4 (t , SCH_2CH_3); 28,4 (q , $(CH_3)_3C$); 46,0 (t , $C(2)$); 50,3 (d , $C(5)$); 80,0 (s , $(CH_3)_3C$); 155,7 (s , $(CH_3)_3COCO$); 173,6 (s , $C(4)$). Das ^{13}C -NMR (75 MHz) von **14a** bei 0° zeigte nicht nur eine Aufspaltung der meisten Signale, sondern auch 4 Signale (171,7, 173,3, 174,4 und 175,1) im Amid-Bereich. Erneute Messung derselben Probe bei RT. ergab wiederum oben beschriebenes, einheitliches Spektrum. MS: 299 (5, $M^+ - SCH_2CH_3$), 172 (41, $M^+ - SCH_2CH_3 - C_4H_8$), 57 (100). Anal. ber. für $C_{12}H_{23}N_3O_3S$: C 49,81, H 8,01, N 14,52; gef.: C 50,00, H 7,99, N 14,48.

(-)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-N-cyanmethyl-glycin-amidin-(*p*-toluolsulfonat) (**15**). Eine Lsg. von 351,2 mg (1,54 mmol) Glycin-nitril-(*p*-toluolsulfonat) (Schmp. 191–193°, Zers.) in 1 ml DMF wurde bei 0° im Ar-Gegenstrom mit 527,4 mg (1,82 mmol) **14a** versetzt. Nach 2 h Rühren bei 0° gab man je 10 ml Toluol und Hexan zu und stellte über Nacht in den Kühlschrank. Der kristalline Festkörper wurde in wenig MeOH gelöst, mit dem 10fachen Volumen AcOEt versetzt, das erhaltene Produkt zusammen mit weiterem, aus der eingengten Mutterlauge isoliertem Material in 7 ml heissem AcOMe aufgeschlämmt und unter Rühren bis zur klaren Lsg. mit MeOH versetzt. Nach Zugabe von 3 ml AcOMe und anschliessender Kristallisation im Kühlschrank isolierte man insgesamt 566,4 mg (81%) **15** vom Schmp. 130–132° (Zers.). DC (System I): R_f 0,6 (aufgespaltenere, intensiv mit Ninhydrin anfärbender Fleck). DE: $u = 1,14$. pK_a^* -Wert: 6,9. $[\alpha]_D = -18,3 \pm 0,6^\circ$ ($c = 1,06$, MeOH). IR (KBr): u. a. 1700 (sh), 1675vs, 1637s, 1600 (sh), vgl. [1]. 1H -NMR ((D_6) DMSO, 300 MHz): 1,20 (d , $J = 7,1$, $CH_3(5^1)$); 1,40 (s , $(CH_3)_3C$); 2,29 (s , $CH_3C_6H_4SO_3$); 3,93–4,18 (Signalhaufen, $CH(5)$, $CH_2(2)$); 4,52 (s , CH_2CN); 7,11, 7,48 (*AA'**BB'*, 4 arom. H); 7,17 (br. m , $NH(6)$); 8,46 (br. m , $NH(3)$); 9,0–10,0 (br. Signal, 3 Amidin-H). ^{13}C -NMR (CD_3OD , 25 MHz): 17,4 (q , $C(5^1)$); 21,4 (q , $CH_3C_6H_4SO_3$); 28,8 (q , $(CH_3)_3C$); 31,2 (t , CH_2CN); 40,9 (t , $C(2)$); 52,2 (d , $C(5)$); 81,3 (s , $(CH_3)_3C$); 114,8 (s , CH_2CN); 126,9, 130,0 (2d, arom. CH); 141,9, 143,4 (2s, arom. C); 158,6 (s ,

(CH₃)₃COCO); 168,4 (s, C(1)); 177,2 (s, C(4)). FAB-MS: 739 (1,4, 2M⁺ + TsO⁻), 700 (1,6, 2M⁺ + TsO⁻ - CHCN), 661 (2,6, 2M⁺ + TsO⁻ - 2CHCN), 567 (2,9, 2M⁺ - H⁺), 528 (2,7, 2M⁺ - H⁺ - CHCN), 489 (0,6, 2M⁺ - H⁺ - 2CHCN), 285 (15), 284 (94, M⁺), 245 (100, M⁺ - CHCN), 228 (88, M⁺ - C₄H₈), 189 (40, M⁺ - CHCN - C₄H₈). Anal. ber. für C₁₉H₂₉N₅O₆S: C 50,10, H 6,42, N 15,37, S 7,04; gef.: C 50,32, H 6,38, N 15,67, S 6,99.

c) (*L*-Phenylalanyl-glycin)-Reihe. Falls nicht speziell vermerkt, wurden die Verbindungen analog zu den vorstehend beschriebenen Verbindungen der (*L*-Alanyl-glycin)-Reihe hergestellt. Für eine detaillierte Beschreibung der Exper. vgl. [1].

(-)-N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*L*-phenylalanyl-glycin-nitril (**4b**). Schmp. 136,5–137,5°. DC (AcOEt): R_f 0,73. [α]_D = -8,1 ± 0,3° (c = 1,97, Dioxan). IR (KBr): vgl. [1]. ¹H-NMR (CDCl₃, 100 MHz): 1,35 (s, (CH₃)₃C); 2,89–3,20 (Signalhaufen, CH₂(5¹)); 4,03 (d, J = 6, CH₂(2)); 4,42 (q-artiges m, CH(5)); 5,50 (br. d, J = 8, NH(6)); 7,04–7,56 (Signalhaufen, 5 arom. H, NH(3)). ¹³C-NMR (CDCl₃, 25 MHz): 27,5 (t, C(2)); 28,4 (q, (CH₃)₃C); 38,6 (t, C(5¹)); 56,2 (d, C(5)); 80,8 (s, (CH₃)₃C); 115,9 (s, C(1)); 127,2, 128,9, 129,4 (3d, arom. CH); 136,4 (s, arom. C); 155,9 (s, (CH₃)₃COCO); 172,3 (s, C(4)). MS: 247 (4,3, M⁺ - C₄H₈), 57 (100). Anal. ber. für C₁₆H₂₁N₃O₃: C 63,35, H 6,98, N 13,85; gef.: C 63,21, H 6,90, N 13,79.

(+)-N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*L*-phenylalanyl-glycin-amidin-(*p*-toluolsulfonat) (**8b**). a) *Ausgehend von 4b*. Schmp. 178–179° (Zers.). DC (System 1): R_f 0,71. DE: u = 1,08 (Fig. 18). [α]_D = +13,1 ± 0,5° (c = 1,08, MeOH). IR (KBr): vgl. [1]. ¹H-NMR ((D₆)Aceton/0,01M CF₃COOD in D₂O 5:1, 300 MHz): 1,29 (s, (CH₃)₃C); 2,28 (s, CH₃C₆H₄SO₃); 2,90, 3,15, 4,32 (ABM, J_{AB} = 13,8, J_{AM} = 9,9, J_{BM} = 5,6, CH₂(5¹), CH(5)); 4,19, 4,31 (AB, J_{AB} = 17,4, CH₂(2)); 7,15, 7,65 (AA'BB' CH₃C₆H₄SO₃); 7,23 (m, 5 arom. H). ¹³C-NMR (CD₃OD, 25 MHz): 21,3 (q, CH₃C₆H₄SO₃); 28,6 (q, (CH₃)₃C); 38,0 (t, C(5¹)); 40,2 (t, C(2)); 58,0 (d, C(5)); 81,1 (s, (CH₃)₃C); 126,8, 129,9 (2d, arom. CH von TsO⁻); 127,8, 129,4, 130,2 (3d, arom. CH von Ph); 138,2 (s, arom. C von Ph); 141,7, 143,2 (2s, arom. C von TsO⁻); 158,7 (s, (CH₃)₃COCO); 169,7 (s, C(1)); 175,6 (s, C(4)). FAB-MS: 813 (1,6, 2M⁺ + TsO⁻), 641 (def. 1, 2M⁺ - H⁺), 585 (0,8, 2M⁺ - H⁺ - C₄H₈), 493 (1,5, M⁺ + TsOH), 321 (> 60, M⁺), 265 (> 60, M⁺ - C₄H₈); m* 218,8 (321 → 265). Anal. ber. für C₂₃H₃₂N₄O₆S: C 56,08, H 6,55, N 11,37, S 6,51; gef.: C 56,19, H 6,55, N 11,24, S 6,50.

b) *Ausgehend von 14b*. Eine Lsg. von 181,0 mg (0,495 mmol) amorphem **14b** in 1 ml DMF wurde unter Ar bei 0° mit 79,0 mg (0,418 mmol) NH₄TsO (aus MeOH umkristallisiert und 10 Tage i. HV. getrocknet) versetzt und 4 Tage bei 0° unter Verschluss gerührt. Man sog das gebildete EtSH und den grössten Teil des DMF i. HV. ab, nahm den hochviskosen Rückstand in AcOEt auf und gab ebensoviel Et₂O zu. Die angeimpfte Lsg. wurde in den Kühlschrank gestellt: 87,0 mg (77%) kristallines **8b**, welches aus MeOH/AcOMe umkristallisiert wurde. Schmp. 178–179° (Zers.). [α]_D = +13,0 ± 0,5° (c = 1,07, MeOH).

(+)-*L*-Phenylalanyl-glycin-amidin-bis(*p*-toluolsulfonat) (**6b**). Zers. ab 186°. DC (System 2): R_f 0,56. DE: u = 1,89 (vgl. Fig. 18). pK_a* (NH₃⁺-Gruppe, NH₂⁺-Gruppe nicht erfasst) = 6,3. [α]_D = +21,2 ± 0,7° (c = 0,92, MeOH). IR (KBr): vgl. [1]. ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz): 2,36 (s, 2 CH₃C₆H₄SO₃); 3,08, 3,25, 4,27 (ABM, J_{AB} = 14,0, J_{AM} = 8,2, J_{BM} = 6,5, CH₂(5¹), CH(5)); 4,04, 4,26 (AB, J_{AB} = 17,1, CH₂(2)); 7,18–7,72 (Signalhaufen, 13 arom. H von Ph und TsO⁻). ¹³C-NMR (CD₃OD, 25 MHz): 21,2 (q, CH₃C₆H₄SO₃); 38,0 (t, C(5¹)); 40,4 (t, C(2)); 55,7 (d, C(5)); 126,8, 129,9 (2d, arom. CH des TsO⁻); 128,7, 130,0, 130,4 (3d, arom. CH des Ph); 135,3 (s, arom. C des Ph); 141,9, 143,0 (2s, arom. C des TsO⁻); 169,2 (s, C(1)); 171,0 (s, C(4)). FAB-MS: 1005 (0,1, 3M²⁺ - 3H⁺ + 2TsO⁻), 957 (0,2, 2M²⁺ + 3TsO⁻), 785 (0,5, 2M²⁺ - H⁺ + 2TsO⁻), 613 (2,7, 2M²⁺ - 2H⁺ + TsO⁻), 565 (1,0, M²⁺ + TsO⁻ + TsOH), 393 (6,1, M²⁺ + TsO⁻), 222 (15), 221 (100, M²⁺ - H⁺); m* 188,3 (221 → 204). Anal. ber. für C₂₅H₃₂N₄O₇: C 53,18, H 5,71, N 9,92, S 11,36; gef.: C 53,19, H 5,68, N 9,84, S 11,30.

Dihydrochlorid aus 6b. Im 25-ml-Zentrifugenglas wurde eine Lsg. von 300,0 mg (0,531 mmol) **6b** in 4 ml MeOH mit 6 ml HCl/MeOH-Lsg.²³⁾ und 10 ml Et₂O versetzt, anschliessend mit kristallinem Produkt angeimpft und nach 5 min abzentrifugiert. Die Kristalle wurden 1mal mit AcOEt gewaschen und aus MeOH/AcOEt 1:2 umkristallisiert: 145,1 mg (93%) **6b** (2Cl⁻ statt 2TsO⁻), Zers. ab 195°. DC (System 2): R_f 0,56. DE: u = 1,89. [α]_D = +48,1 ± 2,4° (c = 0,24, MeOH). IR (KBr): vgl. [1]. ¹H-NMR ((D₆)Aceton/0,01M CF₃COOD in D₂O 5:1, 300 MHz; vgl. Fig. 17): 3,34 (d, J = 7,4, CH₂(5¹)); 4,18, 4,39 (AB, J_{AB} = 17,3, CH₂(2)); 4,55 (t, J = 7,4, CH(5)); 7,27–7,44 (Signalhaufen, 5 arom. H). ¹³C-NMR ((D₆)DMSO, 25 MHz): 36,2 (t, C(5¹)); 53,9 (d, C(5)); 127,2, 128,6, 129,4 (3d, arom. CH); 135,0 (s, arom. C); 167,2, 169,3 (2s, C(1), C(4)). FAB-MS: 477 (0,7, 2M²⁺ - 2H⁺ + ³⁵Cl⁻), 441 (1,8, 2M²⁺ - 3H⁺), 233 (13), 222 (17), 221 (100, M²⁺ - H⁺), 206 (48), 205 (12), 204 (27, M²⁺ - NH₄⁺). Anal. ber. für C₁₁H₁₈Cl₂N₄O: C 45,06, H 6,19, Cl 24,18, N 19,11; gef.: C 44,98, H 6,20, Cl 24,00, N 19,08.

²³⁾ HCl/MeOH-Lsg.: MeOH und Me₂SiCl₂ wurden im Verhältnis 2:1 bei RT. vorsichtig gemischt und ca. 1 h verschlossen stehengelassen; laut Titration 5,7M Lsg.

(+)-N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-phenylalanyl-glycin-thioamid (**13b**) (ausgehend von **11b**, vgl. auch [21]). Schmp. ab 85–90° Veränderung, ab ca. 125° Zers. ohne zu schmelzen. DC (AcOEt): R_f 0,67. $[\alpha]_D^{25} = +22,6 \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,97$, MeOH) ([21]: $[\alpha]_D^{25} = +21,5^\circ$, $c = 1,0$, MeOH). UV (EtOH): 265 (12000). IR (KBr): u. a. 1685vs, 1672vs, 1584w, 1515s, 1500s, vgl. [1]. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz): 1,35 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 2,70–3,33 (m, $\text{CH}_2(5^1)$); 3,86–4,36 (Signalhaufen, $\text{CH}_2(2)$, $\text{CH}(5)$); 7,20 (s, 5 arom. H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 25 MHz): 28,8 (q, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 38,4 (t, $\text{C}(5^1)$); 50,4 (t, $\text{C}(2)$); 58,1 (d, $\text{C}(5)$); 81,0 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 127,8, 129,5, 130,3 (3d, arom. CH); 138,3 (s, arom. C); 158,0 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}$); 174,7 (s, $\text{C}(4)$); 204,8 (s, $\text{C}(1)$). MS: 337 (0,9, M^+), 333 (2,0), 281 (10, $M^+ - \text{C}_4\text{H}_8$), 264 (4,6), 247 (10, $M^+ - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{H}_2\text{S}$), 57 (100). Anal. ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: C 56,95, H 6,87, N 12,55, S 9,50; gef.: C 56,77, H 6,73, N 12,41, S 9,33.

Ausgehend von **4b** liess sich analog zur (Ala-gly)-Reihe (1 Äquiv. EtOLi in $\text{H}_2\text{S}/\text{EtOH}$ [20]) in 83% Ausbeute DC-einheitliches **13b** herstellen: $[\alpha]_D^{25} = +23,0 \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,71$, MeOH).

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-phenylalanyl-glycin-imidthiosäure-S-ethylster (**14b**). Diese Verbindung konnte nur amorph isoliert werden und wurde jeweils vor Gebrauch frisch hergestellt. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 80 MHz): 1,29 (t, $J = 7,5$, SCH_2CH_3); 1,40 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 2,86 (q, $J = 7,5$, SCH_2CH_3); 3,09 (d, $J = 6,5$, $\text{CH}_2(5^1)$); 4,03 (d, $J = 5,5$, $\text{CH}_2(2)$); 4,43 (br. q, $J = 7$, $\text{CH}(5)$); 5,18 (br. d, $J = 7,5$, $\text{NH}(6)$); 6,85 (t-artiges m, $\text{NH}(3)$); 7,26 (s, 5 arom. H).

d) (Glycyl-glycin)-Reihe. Für eine detaillierte Beschreibung der Exper. vgl. [1].

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-glycyl-glycin-nitril (**4c**). Schmp. 108–110°. DC (AcOEt): R_f 0,5. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): 1,43 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 3,83 (d, $J = 6,5$, $\text{CH}_2(5)$); 4,16 (d, $J = 5,5$, $\text{CH}_2(2)$); 4,48 (t-artiges m, $\text{NH}(6)$); 7,34 (t-artiges m, $\text{NH}(3)$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 25 MHz): 27,4 (t, $\text{C}(2)$); 28,3 (q, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 44,4 (t, $\text{C}(5)$); 81,0 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 116,0 (s, $\text{C}(1)$); 156,4 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}$); 170,2 (s, $\text{C}(4)$). MS: 213 (0,6, M^+), 57 (100). Anal. ber. für $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3$: C 50,69, H 7,09, N 19,71; gef.: C 50,79, H 7,10, N 19,63.

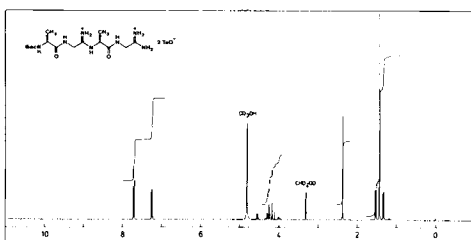
N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-glycyl-glycin-amidin-(p-toluolsulfonat) (**8c**). Schmp. 157–158° (Zers.). DE: $u = 1,20$. $^1\text{H-NMR}$ ($(\text{D}_6)\text{DMSO}$, 100 MHz): 1,37 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 2,28 (s, $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3$); 3,61 (d, $J = 6$, $\text{CH}_2(5)$); 4,02 (d, $J = 6$, $\text{CH}_2(2)$); 6,97 (t-artiges m, $\text{NH}(6)$); 7,11, 7,50 ($AA'BB'$, 4 arom. H); 8,37 (t-artiges m, $\text{NH}(3)$); 8,73 (br. s, 4 Amidin-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 25 MHz): 21,3 (q, $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3$); 28,6 (q, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 40,2 (t, $\text{C}(2)$); 44,9 (t, $\text{C}(5)$); 81,0 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 126,8, 129,8 (2d, arom. CH); 141,7, 143,2 (2s, arom. C); 158,8 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}$); 169,9 (s, $\text{C}(1)$); 173,9 (s, $\text{C}(4)$). FAB-MS: 1035 (0,6, $3M^+ + 2\text{TsO}^-$), 633 (1,0, $2M^+ + \text{TsO}^-$), 461 (1,0, $2M^+ - \text{H}^+$), 232 (11), 231 (100, M^+), 175 (67, $M^+ - \text{C}_4\text{H}_8$), 114 (10). Anal. ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$: C 47,75, H 6,51, N 13,92, S 7,97; gef.: C 47,60, H 6,49, N 13,82, S 7,86.

Glycyl-glycin-amidin-bis(p-toluolsulfonat) (**6c**). Zers. ab 161°. DC (i-PrOH/ $\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH}$ 7:2:1 mit NaCl ges.): R_f 0,36. DE: $u = 2,34$. $\text{p}K_a^*$ (NH_3^+ -Gruppe, NH_2^+ -Gruppe nicht erfasst) = 6,8. IR (KBr): u. a. 1721s, 1692m, 1656m, 1600w, 1569m, vgl. [1]. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 80 MHz): 2,37 (s, 2 $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3$); 3,86 (s, $\text{CH}_2(5)$); 4,24 (s, $\text{CH}_2(2)$); 7,26, 7,63 ($AA'BB'$, 8 arom. H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 25 MHz): 21,3 (q, $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3$); 40,3 (t, $\text{C}(2)$); 41,9 (t, $\text{C}(5)$); 126,8, 130,0 (2d, arom. CH); 142,0, 142,9 (2s, arom. C); 169,1, 169,6 (2s, $\text{C}(1)$, $\text{C}(4)$). FAB-MS: 777 (0,2, $2M^{2+} + 3\text{TsO}^-$), 605 (0,4, $2M^{2+} - \text{H}^+ + 2\text{TsO}^-$), 475 (0,6, $M^{2+} + \text{TsO}^- + \text{TsOH}$), 433 (2,5, $2M^{2+} - 2\text{H}^+ + \text{TsO}^-$), 303 (4,1, $M^{2+} + \text{TsO}^-$), 261 (1,4, $2M^{2+} - 3\text{H}^+$), 131 (100, $M^{2+} - \text{H}^+$). Anal. ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}_2$: C 45,56, H 5,52, N 11,81, S 13,51; gef.: C 45,63, H 5,48, N 11,83, S 13,90.

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-glycyl-glycin-thioamid (**13c**) (ausgehend von **4c**). Schmp. 130–131°. DC (AcOEt/Benzol 1:1): R_f 0,3. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz): 1,43 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 3,70 (s, $\text{CH}_2(5)$); 4,16 (s, $\text{CH}_2(2)$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 25 MHz): 28,7 (q, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 45,1 (t, $\text{C}(5)$); 50,1 (t, $\text{C}(2)$); 81,1 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 158,8 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}$); 172,9 (s, $\text{C}(4)$); 205,0 (s, $\text{C}(1)$). MS: 247 (13, M^+), 191 (48, $M^+ - \text{C}_4\text{H}_8$), 57 (100). Anal. ber. für $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: C 43,71, H 6,93, N 16,99, S 12,96; gef.: C 43,67, H 6,97, N 16,93, S 12,73.

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-glycyl-glycin-imidthiosäure-S-ethylster (**14c**). Schmp. 70–71°. IR (CHCl_3): 3435m, 3390 (sh), 3320 (br.), 2980s, 2935m, 2873w, 1707 (sh), 1682 (br.), 1561s, 1497 (br.), 1462m, 1411w, 1393m, 1369s, 1320w, 1164s, 1047m, 1026w, 941w, 860w, 825w. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 3 Gew.-% Benzol): 1,29 (t, $J = 7,5$, SCH_2CH_3); 1,42 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 2,84 (q, $J = 7,5$, SCH_2CH_3); 3,82 (d, $J = 6$, $\text{CH}_2(5)$); 4,08 (d, $J = 5,5$, $\text{CH}_2(2)$); 5,34 (t-artiges m, $\text{NH}(6)$); 7,08 (br. s, $\text{NH}(3)$); 7,33 (s, 0,6 H, C_6H_6). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 25 MHz): 13,7 (q, SCH_2CH_3); 23,4 (t, SCH_2CH_3); 28,4 (q, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 44,3 (t, $\text{C}(5)$); 46,0 (t, $\text{C}(2)$); 80,0 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 128,3 (d, C_6H_6); 156,3 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}$); 170,5 (s, $\text{C}(4)$); 173,4 (br. s, $\text{C}(1)$). MS: 276 (0,1, $M^+ + 1$), 57 (100). Anal. ber. für $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3\text{S} \cdot 0,10 \text{ C}_6\text{H}_6$: C 49,20, H 7,69, N 14,84, S 11,32; gef.: C 49,33, H 7,62, N 14,96, S 11,52.

5. Exper. zu Schema 4. – (–)-N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-glycinimidoyl-L-alanyl-glycin-amidin-bis(p-toluolsulfonat) (**16a**). Eine Lsg. von 3,13 g (6,40 mmol) **6a** in 18 ml DMF wurde unter Ar bei 0° mit 2,05 g (7,07 mmol) **14a** versetzt und unter Feuchtigkeitsschluss 2 Tage bei 0° gerührt. Der homogenen, farblosen Lsg. wurden 20 ml Toluol und 100 ml Hexan zugegeben, worauf sich zwei Phasen bildeten. Nach Zentrifugation wurde die obere Phase abdekantiert und verworfen. Aus der verbleibenden Phase schied sich nach Zugabe von 50 ml

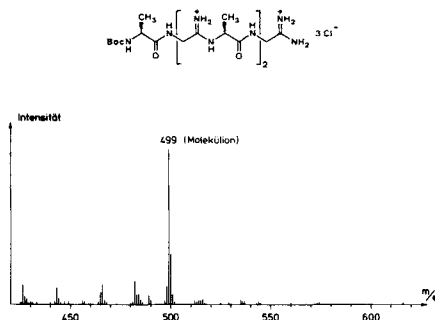
Fig. 8. 300-MHz-¹H-NMR-Spektren von **16a** in CD₃OD

Toluol eine honig-artige Masse ab, die man nach Zentrifugation und Abdekantieren der überstehenden Lsg. nochmals mit 50 ml Toluol wusch. Der verbleibende Rückstand wurde in 15 ml abs. EtOH aufgelöst, mit 25 ml AcOEt verdünnt, angeimpft und zur Kristallisation über Nacht in den Kühlschrank gestellt; 3,95 g (86%) farbloses **16a**, von welchem eine Probe zur Charakterisierung nochmals aus EtOH umkristallisiert wurde. Schmp. 181–182° (Zers.). DC (System 2): R_f 0,54. DE: $u = 1,43$. $[\alpha]_D = -25,6 \pm 3,2^\circ$ ($c = 0,26$, MeOH). IR (KBr): u. a. 1708s, 1680vs, 1660s, 1626s, 1600m, 1543s, 1515s vgl. [1]. ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz; vgl. Fig. 1 und 8): 1,33 (*d*, $J = 7,2$, CH₃(11¹)); 1,43 (*s*, (CH₃)₃C); 1,53 (*d*, $J = 7,0$, CH₃(5¹)); 2,37 (*s*, CH₃C₆H₄SO₃); 4,00 (*br. q*, $J = 7,2$, CH(11)); 4,14, 4,26 (*AB*, $J_{AB} = 17,1$, CH₂(2)); 4,21, 4,30 (*AB*, $J_{AB} = 17,1$, CH₂(8)); 4,54 (*q*, $J = 7,0$, CH(5)); 7,24, 7,71 (*AA'BB'*, 8 arom. H); vgl. Fig. 8 (unten) und Fig. 1. ¹³C-NMR ((D₆)DMSO, 75 MHz): 17,1 (*q*, C(5¹), C(11¹)); 20,8 (*q*, CH₃C₆H₄SO₃); 28,1 (*q*, (CH₃)₃C); 50,1, 51,1 (*2d*, C(5), C(11)); 78,5 (*s*, (CH₃)₃C); 125,4, 128,2 (*2d*, arom. CH); 138,2, 144,6 (*2s*, arom. C); 155,6 (*s*, (CH₃)₃COCO); 165,0 (*s*, C(1)); 167,9 (*s*, C(7)); 170,2, 173,9 (*2s*, C(4), C(10)). FAB-MS: 960 (*def. 1*), 915 (0,2), 661 (0,7), 545 (6,7), 544 (20, $M^{2+} + \text{TsO}^-$), 373 (11), 372 (> 30 , $M^{2+} - \text{H}^+$), 355 (21, $M^{2+} - \text{NH}_4^+$), 316 (27, $M^{2+} - \text{H}^+ - \text{C}_4\text{H}_8$); m^* 254,4 (544→372), 338,8 (372→355). Anal. ber. für C₂₉H₄₅N₇O₁₀S₂: C 48,66, H 6,34, N 13,70, S 8,96; gef.: C 48,50, H 6,24, N 13,47, S 8,78.

Dihydrochlorid aus 16a. Eine Probe von **16a** wurde in MeOH durch Amberlite CG-400 (Cl⁻-Form) filtriert, das Filtrat eingedampft, der Rückstand aus MeOH mit AcOEt umgefällt und nach Trocknen i. HV. über Nacht quantitativ **16a** (2Cl⁻ statt 2TsO⁻) mit folgenden Daten isoliert: $[\alpha]_D = -24,5 \pm 1,9^\circ$, $[\alpha]_{436} = -53,2 \pm 2,1^\circ$ ($c = 0,28$, MeOH). ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz; vgl. Fig. 11): 1,35 (*d*, $J = 7,2$, CH₃(11¹)); 1,45 (*s*, (CH₃)₃C); 1,55 (*d*, $J = 7,0$, CH₃(5¹)); 4,02 (*br. q*, $J = 7,1$, CH(11)); 4,16, 4,30 (*AB*, $J_{AB} = 17,1$, CH₂(2)); 4,22, 4,32 (*AB*, $J_{AB} = 17,1$, CH₂(8)); 4,61 (*q*, $J = 7,0$, CH(5)). Während der Aufnahme eines ¹³C-NMR-Spektrums (*ca.* 15 h, RT.) von **16a** (2Cl⁻ statt 2TsO⁻) in CD₃OD hatten sich unidentifizierte Zersetzungsprodukte (Auftreten neuer Signale, DC-Nachweis) gebildet. Später wurde gefunden, dass sich solche Mess-Lsg. durch Zusatz einer Spur von CF₃COOH soweit stabilisieren lassen, dass gemäss DC keine Zersetzungsprodukte mehr auftreten.

(–)-L-Alanyl-glycinimidoyl-L-alanyl-glycin-trihydrochlorid (**17a**). In einem 25-ml-Kolben wurden 367,4 mg (0,513 mmol) **16a** unter N₂ bei RT. mit 2,5 ml HCl/MeOH-Lsg.²³) versetzt, wonach sich die Lsg. nach *ca.* 15 s langsam trübte. Nach 7 min fügte man 10 ml abs. AcOEt (dest. über P₂O₅) zu und liess weitere 7 min bei RT. stehen. Der gebildete Niederschlag wurde mit einer Glasfritte im N₂-Überdruck abfiltriert, je 3mal mit abs. AcOEt und Pentan gewaschen und i. HV. über Nacht getrocknet. Man erhielt 201,8 mg (98%) amorphes **17a**. DC (System 2): R_f 0,32 (vgl. Fig. 14). DE: $u = 1,98$ (vgl. Fig. 15). $[\alpha]_D = -9,9 \pm 2,1^\circ$, $[\alpha]_D = -23,4 \pm 2,2^\circ$ ($c = 0,25$, MeOH). ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz, Probe enthält laut Integral insgesamt *ca.* 5 Gew.-% MeOH, TsOH, AcOEt und EtOH; vgl. Fig. 12): 1,567 (*d*, $J = 7,0$, CH₃(5¹)); 1,572 (*d*, $J = 7,1$, CH₃(11¹)); 4,14 (teilweise überlagertes *q*, $J = 7,1$, CH(11)); 4,17, 4,32 (*AB*, $J_{AB} = 17,2$, CH₂(2)); 4,25, 4,41 (*AB*, $J_{AB} = 16,8$, CH₂(8)); 4,63 (*q*, $J = 7,0$, CH(5)). ¹³C-NMR (CD₃OD, 75 MHz; vgl. Fig. 13): 17,2 (*q*, C(11¹)); 17,7 (*q*, C(5¹)); 40,9 (*t*, C(2)); 41,6 (*t*, C(8)); 50,6 (*d*, C(11)); 53,3 (*d*, C(5)); 166,2 (*s*, C(7)); 169,7 (*s*, C(1)); 172,4, 172,6 (*2s*, C(4), C(10)). FAB-MS: 543 (0,4, $2M^{3+} - 5\text{H}^+$), 310 (1,0, $M^{3+} - \text{H}^+ + {}^{37}\text{Cl}^-$), 308 (1,6, $M^{3+} - \text{H}^+ + {}^{35}\text{Cl}^-$), 272 (26, $M^{3+} - 2\text{H}^+$), 145 (38), 130 (100).

(–)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-bis(glycinimidoyl-L-alanyl)-glycin-amidin-trihydrochlorid (**21a**). Eine Suspension von 294,0 mg (*ca.* 0,77 mmol, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) **17a** (aus Nachschubansatz) in 2 ml DMF wurde unter Ar bei 0° mit 269,6 mg (0,932 mmol) **14a** versetzt. Nach zweitägigem Rühren unter Verschluss bei 0° transferierte man die homogene Lsg. ins 25-ml-Zentrifugenglas, fällte das Produkt mit 20 ml Toluol aus und zentrifugierte ab. Der harzige Rückstand wurde 1mal mit Toluol gewaschen, in 2 ml MeOH aufgelöst und mit 15 ml abs. Et₂O (filtriert durch bas. Alox, Akt. I) erneut ausgefällt. Nach wiederholter Umfällung mit MeOH/AcOEt suspendierte man den abzentrifugierten Festkörper in AcOEt und filtrierte durch eine Glasfritte im N₂-Überdruck ab. Waschen mit AcOEt und Pentan und Trocknen i. HV. (6 Tage) ergaben 434,8 mg (87%) amorphes, farbloses

Fig. 9. FAB-MS (Ausschnitt) von **21a**

21a. DC (System 2): R_f 0,46. DE: $u = 1,52$ (DC und DE zeigten Spuren von **17a**). $[\alpha]_D = -33,7 \pm 2,0^\circ$, $[\alpha]_{436} = -78,1 \pm 2,3^\circ$ ($c = 0,28$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 6 Gew.-% AcOEt; vgl. Fig. 11): 1,35 (d , $J = 7,2$, $\text{CH}_3(17^1)$); 1,45 (s , $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 1,565, 1,572 ($2d$, $J = 7,0$, $\text{CH}_3(5^1)$, $\text{CH}_3(11^1)$); 4,02 (br. q , $J = 7,1$, $\text{CH}(17)$); 4,16, 4,32 (AB , $J_{AB} = 17,2$, $\text{CH}_2(2)$); 4,19–4,42 (2 überlagerte AB , $J_{AB} = 17$, $\text{CH}_2(8)$, $\text{CH}_2(14)$); 4,61, 4,65 ($2q$, $J = 7$, $\text{CH}(5)$, $\text{CH}(11)$). FAB-MS (vgl. Fig. 9): 997 ($0,1$, $2M^{3+} - 5H^+$), 671 ($0,6$), 500 ($4,8$), 499 (14 , $M^{3+} - 2H^+$), 372 ($8,3$), 350 ($4,7$), 316 ($9,5$), 299 ($6,1$), 272 ($3,2$), 245 (100), 189 (70), 128 (38).

(–)-*L*-Alanyl-bis(glycinimidoyl-*L*-alanyl)-glycin-amidin-tetrahydrochlorid (**22a**). Eine Lsg. von 160,5 mg (*ca.* 0,264 mmol, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) **21a** (aus Nachschubansatz) in 0,5 ml MeOH wurde unter Ar bei RT. im 25-ml-Zentrifugenglas mit 2 ml HCl/MeOH-Lsg.²³) versetzt, worauf sich nach *ca.* 15 s die homogene Lsg. zu trüben begann. Nach 7 min fügte man 10 ml abs. AcOEt (dest über P_2O_5) zu und liess weitere 7 min bei RT. stehen. Der abzentrifugierte Festkörper wurde in abs. AcOEt suspendiert, durch eine Glasfritte im N_2 -Überdruck abfiltriert, 3mal mit abs. AcOEt gewaschen und getrocknet (HV., 3 Tage): 140,6 mg (92%) amorphes **22a**. DC (System 2): R_f 0,24. DE: $u = 1,85$ (vgl. Fig. 15; DC und DE zeigten Spuren von **17a**). $[\alpha]_D = -26,7 \pm 1,9^\circ$, $[\alpha]_{436} = -60,1 \pm 2,1^\circ$ ($c = 0,29$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz, Probe enthält laut Integral insgesamt ca. 6 Gew.-% AcOEt und EtOH; vgl. Fig. 12): 1,574 (d , $J = 7,1$, $\text{CH}_3(17^1)$); 1,569, 1,582 ($2d$, $J = 7,0$, $\text{CH}_3(5^1)$, $\text{CH}_3(11^1)$); 4,15 (teilweise überlagertes q , $J = 7$, $\text{CH}(17)$); 4,16, 4,32 (AB , $J_{AB} = 17,2$, $\text{CH}_2(2)$); 4,21–4,46 (2 überlagerte AB , $J_{AB} = 17$, $\text{CH}_2(8)$, $\text{CH}_2(14)$); 4,61, 4,66 ($2q$, $J = 7,0$, $\text{CH}(5)$, $\text{CH}(11)$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz; vgl. Fig. 13): 17,2 (q , $\text{C}(17^1)$); 17,7 (q , $\text{C}(5^1)$, $\text{C}(11^1)$); 41,0 (t , $\text{C}(2)$); 41,7 (t , $\text{C}(14)$); 41,8 (t , $\text{C}(8)$); 50,6 (d , $\text{C}(17)$); 53,38 53,44 ($2d$, $\text{C}(5)$, $\text{C}(11)$); 166,3, 166,4 ($2s$, $\text{C}(7)$, $\text{C}(13)$); 169,7 (s , $\text{C}(1)$); 172,4, 172,6 ($2s$, $\text{C}(4)$, $\text{C}(10)$, $\text{C}(16)$). FAB-MS: 499 ($2,2$), 459 ($1,5$), 399 ($2,7$, $M^{4+} - 3H^+$), 372 ($2,9$), 316 ($3,7$), 272 ($4,7$), 245 (49), 189 (17), 180 (12), 160 (17), 145 (21), 133 (14), 131 (13), 130 (100), 129 (19), 128 (16), 115 (14), 110 (65).

(–)-*N*-(tert-Butoxycarbonyl)-*L*-alanyl-tris(glycinimidoyl-*L*-alanyl)-glycin-amidin-tetrahydrochlorid (**23a**). Eine Suspension von 317,5 mg (*ca.* 0,58 mmol, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) **22a** (aus Nachschubansatz) in 2 ml DMF wurde unter Ar bei 0° mit 260,0 mg (0,898 mmol) **14a** versetzt. Nach 2 Tagen Rühren unter Verschluss bei 0° transferierte man die homogene Lsg. ins 25-ml-Zentrifugenglas, fällte das Produkt mit *ca.* 20 ml Toluol aus und zentrifugierte ab. Der harzige Rückstand wurde 1mal mit Toluol gewaschen, in wenig MeOH aufgelöst und mit Et_2O erneut ausgefällt. Nach wiederholter Umfällung mit MeOH/AcOEt suspendierte man den abzentrifugierten Festkörper in AcOEt und filtrierte mit einer Glasfritte im N_2 -Überdruck ab. Waschen mit AcOEt und Pentan und Trocknen i. HV. über Nacht ergaben 373,4 mg (78%) amorphes **23a**. DC (System 2): R_f 0,40. DE: $u = 1,49$ (DC und DE zeigten Spuren von **22a**). $[\alpha]_D = -43,8 \pm 2,3^\circ$, $[\alpha]_{436} = -96,3 \pm 2,7^\circ$ ($c = 0,24$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 6 Gew.-% AcOEt; vgl. Fig. 11): 1,35 (d , $J = 7,2$, $\text{CH}_3(23^1)$); 1,45 (s , $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 1,572, 1,578 ($2d$ unterschiedlicher Intensität, $J = 7,0$), 4,02 (br. q , $J = 7,1$, $\text{CH}(23)$); 4,17, 4,32 (AB , $J_{AB} = 17,2$, $\text{CH}_2(2)$); 4,20–4,49 (3 überlagerte AB , $J_{AB} = 17$, $\text{CH}_2(8)$, $\text{CH}_2(14)$, $\text{CH}_2(20)$); 4,62, 4,65, 4,67 ($3q$, $\text{CH}(5)$, $\text{CH}(11)$, $\text{CH}(17)$). FAB-MS: 626 (def. 1, $M^{4+} - 3H^+$), 525 ($0,6$), 499 ($1,6$), 489 ($2,4$), 372 ($6,2$), 355 ($2,3$), 316 ($8,6$), 246 (25), 245 (> 30), 189 (> 30), 145 (11), 133 (17), 130 (27), 129 (14), 128 (24); m^* 465,6 ($499 \rightarrow 482$), 338,8 ($372 \rightarrow 355$).

(–)-*L*-Alanyl-tris(glycinimidoyl-*L*-alanyl)-glycin-amidin-pentahydrochlorid (**24a**). Eine Lsg. von 67,3 mg ($82,1 \mu\text{mol}$) **23a** in 1,5 ml MeOH wurde unter Ar bei RT. im 10-ml-Zentrifugenglas mit 2 ml HCl/MeOH-Lsg.²³) versetzt, worauf sich nach *ca.* 1 min die homogene Lsg. zu trüben begann. Nach 5 min fügte man 6 ml AcOEt zu, zentrifugierte ab und versetzte den in 2 ml MeOH gelösten Rückstand nochmals mit 1 ml HCl/MeOH-Lsg.

Anschließend wurde weitere 5 min bei RT. stehen gelassen und nach Zugabe von 6 ml AcOEt abzentrifugiert. Man fällte den Rückstand 1mal mit MeOH/AcOEt um und suspendierte ihn dann in AcOEt. Nach Abzentrifugieren und Trocknen i. HV. über Nacht wurden 49,2 mg (79%) amorphes **24a** erhalten. DC (System 2): R_f 0,19 (vgl. Fig. 14). DE: $u = 1,75$ (leichte Schwanzbildung, vgl. Fig. 15; DC und DE zeigten Spuren von **22a**). $[\alpha]_D = -37,8 \pm 1,7^\circ$, $[\alpha]_{436} = -85,1 \pm 2,1^\circ$ ($c = 0,33$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 7 Gew.-% AcOEt; vgl. Fig. 12): 1,579 (d , $J = 7,1$, $\text{CH}_3(23^1)$); 1,571, 1,582, 1,588 ($3d$, $J = 7,0$, $\text{CH}_3(5^1)$, $\text{CH}_3(11^1)$, $\text{CH}_3(17^1)$); 4,16 (teilweise überlagertes q , $J = 7,1$, $\text{CH}(23)$); 4,17, 4,32 (AB , $J_{AB} = 17,2$, $\text{CH}_2(2)$); 4,20–4,48 (3 überlagerte AB , $J_{AB} = 17$, $\text{CH}_2(8)$, $\text{CH}_2(14)$, $\text{CH}_2(20)$); 4,638, 4,646, 4,670 (3 durch Einstrahlung bei 1,58 identifizierte q , $\text{CH}(5)$, $\text{CH}(11)$, $\text{CH}(17)$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz; vgl. Fig. 13): 17,2 (q , $\text{C}(23^1)$); 17,7 (q , $\text{C}(5^1)$, $\text{C}(11^1)$, $\text{C}(17^1)$); 40,9 (t , $\text{C}(2)$); 41,6 (t , $\text{C}(20)$); 41,8 (t , $\text{C}(8)$, $\text{C}(14)$); 50,6 (d , $\text{C}(23)$); 53,4 (d , $\text{C}(5)$, $\text{C}(11)$, $\text{C}(17)$); 166,3–166,5 (3s, $\text{C}(7)$, $\text{C}(13)$, $\text{C}(19)$); 169,7 (s , $\text{C}(1)$); 172,5, 172,6 (2s, $\text{C}(4)$, $\text{C}(10)$, $\text{C}(16)$, $\text{C}(22)$). FAB-MS (von analog hergestelltem, laut $^1\text{H-NMR}$ identischem **24a**): 626 (def. 1), 526 (2,7 $M^{5+} - 4\text{H}^+$), 499 (1,4), 399 (3,7), 384 (4,8), 372 (4,3), 316 (5,2), 272 (11), 257 (22), 245 (61), 145 (74), 130 (> 130), 129 (83), 128 (70), 110 (> 130). (–)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-tetrakis(glycinimidoyl-L-alanyl)-glycin-amidin-pentahydrochlorid (**25a**). Eine Suspension von 353,0 mg (ca. 0,50 mmol, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) **24a** (aus Nachschub-Ansatz) in 2,5 ml DMF wurde unter Ar bei 0° mit 220,5 mg (0,762 mmol) **14a** versetzt, 2 Tage verschlossen bei 0° gerührt, die homogene Lsg. ins 25-ml-Zentrifugenglas überführt, das Produkt mit 20 ml Toluol ausgefällt und abzentrifugiert. Der harzige Rückstand wurde 1mal mit Toluol gewaschen, in 2 ml MeOH aufgelöst und mit 15 ml Et₂O erneut ausgefällt. Nach wiederholter Umfällung mit MeOH/AcOEt suspendierte man den abzentrifugierten Festkörper in AcOEt und filtrierte ab (Glasfritte, N₂-Überdruck). Waschen mit AcOEt und Pentan und 2 Tage Trocknen i. HV. ergaben 401,6 mg (84%) amorphes **25a**. DC (System 2): R_f 0,35 (Spuren von **23a** und **24a** erkennbar). DE: $u = 1,46$ (leichte Schwanzbildung). $[\alpha]_D = -47,9 \pm 2,0^\circ$, $[\alpha]_{436} = -105,8 \pm 2,4^\circ$ ($c = 0,29$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 2 Gew.-% AcOEt; vgl. Fig. 11): 1,35 (d , $J = 7,1$, $\text{CH}_3(29^1)$); 1,45 (s , $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 1,54–1,62 (Signalhaufen von überlagerten d , $\text{CH}_3(5^1)$, $\text{CH}_3(11^1)$, $\text{CH}_3(17^1)$, $\text{CH}_3(23^1)$); 4,02 (br. q , $J = 7,1$, $\text{CH}(29)$); 4,17, 4,33 (AB , $J_{AB} = 17,2$, $\text{CH}_2(2)$); 4,18–4,48 (Signalhaufen, $\text{CH}_2(8)$, $\text{CH}_2(14)$, $\text{CH}_2(20)$, $\text{CH}_2(26)$); 4,636, 4,650, 4,661, 4,669 (4 durch Einstrahlung bei 1,58 identifizierte q , $\text{CH}(5)$, $\text{CH}(11)$, $\text{CH}(17)$, $\text{CH}(23)$). FAB-MS (von analog hergestelltem, laut $^1\text{H-NMR}$ identischem **25a**): 753 (0,7, $M^{5+} - 4\text{H}^+$), 626 (0,6), 499 (1,0), 372 (3,5), 316 (6,5), 246 (14), 245 (100), 189 (42), 157 (12), 133 (14), 130 (11), 128 (8,9); m^+ 338,8 (372→355), 145,8 (245→189).

(–)-L-Alanyl-tetrakis(glycinimidoyl-L-alanyl)-glycin-amidin-hexahydrochlorid (**26a**). Eine Lsg. von 102,2 mg (0,107 mmol) **25a** in 2 ml MeOH wurde unter Ar bei RT. im 25-ml-Zentrifugenglas mit 2 ml HCl/MeOH-Lsg.²³⁾ versetzt, worauf sich nach ca. 30 s die homogene Lsg. zu trüben begann. Nach 15 min fügte man 8 ml AcOEt zu und liess weitere 5 min bei RT. stehen. Der gebildete Festkörper wurde abzentrifugiert und 2mal mit MeOH/AcOEt umgefällt. Nach Waschen mit AcOEt (1mal) und Trocknen i. HV. über Nacht erhielt man 88,0 mg (89%) amorphes, leicht gelbliches **26a**. DC (System 2): $R_f = 0,19$ (langgezogener Fleck; Spuren von **24a** als Verunreinigung erkennbar). DE: $u = 1,70$ (Schwanzbildung, vgl. Fig. 15). $[\alpha]_D = -49,9 \pm 2,1^\circ$, $[\alpha]_{436} = -108,8 \pm 2,6^\circ$ ($c = 0,27$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 6 Gew.-% AcOEt; vgl. Fig. 12): 1,53–1,63 (Signalhaufen überlagertes d , $J = 7$, $\text{CH}_3(5^1)$, $\text{CH}_3(11^1)$, $\text{CH}_3(17^1)$, $\text{CH}_3(23^1)$, $\text{CH}_3(29^1)$); 4,17 (teilweise überlagertes q , $J = 7,1$, $\text{CH}(29)$); 4,17, 4,33 (überlagertes AB , $J = 17,2$, $\text{CH}_2(2)$); 4,21–4,48 (4 überlagerte AB , $J = 17$, $\text{CH}_2(8)$, $\text{CH}_2(14)$, $\text{CH}_2(20)$, $\text{CH}_2(26)$); 4,60–4,71 (Signalhaufen, $\text{CH}(5)$, $\text{CH}(11)$, $\text{CH}(17)$, $\text{CH}(23)$). $^1\text{H-NMR}$ ($(\text{D}_6)\text{DMSO}$, 300 MHz; vgl. Fig. 10): 1,38–1,50 (Signalhaufen, $\text{CH}_3(5^1)$, $\text{CH}_3(11^1)$, $\text{CH}_3(17^1)$, $\text{CH}_3(23^1)$, $\text{CH}_3(29^1)$); 3,95–4,46 (Signalhaufen, $\text{CH}(29)$, $\text{CH}_2(2)$, $\text{CH}_2(8)$, $\text{CH}_2(14)$, $\text{CH}_2(20)$, $\text{CH}_2(26)$); 4,64–4,80 (Signalhaufen, $\text{CH}(5)$, $\text{CH}(11)$, $\text{CH}(17)$, $\text{CH}(23)$); 8,42 (br. s , 2,5 H, $\text{N}^+\text{H}_3\text{C}(29)$); 8,8–9,9 (Signalhaufen, 21 H, übrige NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz; vgl. Fig. 13): 17,2 (q , $\text{C}(29^1)$); 17,7 (q , $\text{C}(5^1)$, $\text{C}(11^1)$, $\text{C}(17^1)$, $\text{C}(23^1)$); 41,0 (t ,

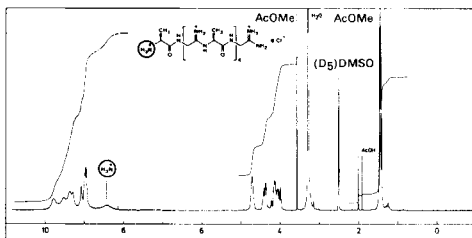


Fig. 10. 300-MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **26a** in $(\text{D}_6)\text{DMSO}$

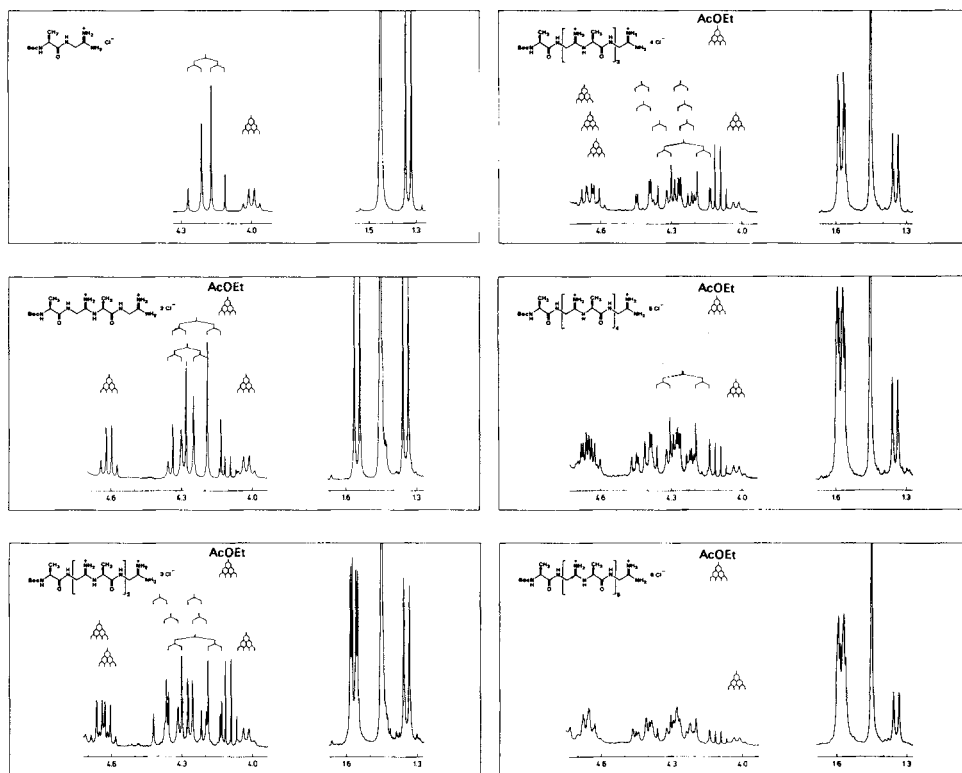


Fig. 11. Gespreizte 300-MHz- ^1H -NMR-Spektren der Boc-Derivate **8a** und **16a** (Cl^- statt TSO^-), **21a**, **23a**, **25a** und **27a** in CD_3OD

$\text{C}(2)$); 41,7 (*t*, $\text{C}(26)$); 41,8 (*t*, $\text{C}(8)$, $\text{C}(14)$, $\text{C}(20)$); 50,6 (*d*, $\text{C}(29)$); 53,5 (*d*, $\text{C}(5)$, $\text{C}(11)$, $\text{C}(17)$, $\text{C}(23)$); 166,3, 166,5 (2s, $\text{C}(7)$, $\text{C}(13)$, $\text{C}(19)$, $\text{C}(25)$); 169,7 (*s*, $\text{C}(1)$); 172,6 (*s*, $\text{C}(4)$, $\text{C}(10)$, $\text{C}(16)$, $\text{C}(22)$, $\text{C}(28)$). FAB-MS (von analog hergestelltem **26a**): 653 (0,9, $M^{6+} - 5\text{H}^+$), 638 (0,7), 526 (1,5), 511 (1,0), 399 (2,3), 384 (2,4), 272 (4,5), 257 (8), 202 (15), 145 (28), 130 (100), 128 (25), 110 (64).

(-)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-pentakis(glycinimidoyl-L-alanyl)-glycin-amidin-hexahydrochlorid (**27a**). Eine Suspension von 125,4 mg (ca. 0,144 mmol, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) **26a** (aus Nachschubansatz) in 1 ml DMF wurde unter Ar bei 0° mit 77,9 mg (0,269 mmol) **14a** versetzt. Nach 2 Tagen Rühren unter Verschluss bei 0° transferierte man die homogene Lsg. ins 10-ml-Zentrifugenglas, fällte das Produkt mit Toluol aus und zentrifugierte ab. Der harzige Rückstand wurde 1mal mit Toluol gewaschen, in wenig MeOH aufgelöst und mit Et_2O erneut ausgefällt. Nach wiederholter Umfällung mit MeOH/AcOEt suspendierte man den abzentrifugierten Festkörper in AcOEt und filtrierte mit einer Glasfritte im N_2 -Überdruck ab. Waschen mit AcOEt und Pentan und Trocknen (3 Tage) i.HV. ergaben 131,8 mg (82%) amorphes, leicht gelbliches **27a**. DC (System 2): R_f 0,31 (zusätzlich sind **25a** und **26a** erkennbar). DE: $u = 1,42$ (Schwanzbildung). $[\alpha]_D^{20} = -53,2 \pm 1,9^\circ$, $[\alpha]_{436}^{20} = -116,8 \pm 2,4^\circ$ ($c = 0,32$, MeOH). ^1H -NMR (CD_3OD , 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 2 Gew.-% AcOEt und DMF; vgl. Fig. 11): 1,35 (*d*, $J = 7,2$, $\text{CH}_3(35^1)$); 1,45 (*s*, $(\text{CH}_3)_2\text{C}$); 1,54–1,62 (Signalhaufen von überlagerten *d*, $\text{CH}_3(5^1)$, $\text{CH}_3(11^1)$, $\text{CH}_3(17^1)$, $\text{CH}_3(23^1)$, $\text{CH}_3(29^1)$); 4,03 (br. *q*, $J = 6,8$, $\text{CH}(35)$); 4,12–4,48 (Signalhaufen, $\text{CH}_2(2)$, $\text{CH}_2(8)$, $\text{CH}_2(14)$, $\text{CH}_2(20)$, $\text{CH}_2(26)$, $\text{CH}_2(32)$); 4,60–4,71 (Signalhaufen, $\text{CH}(5)$, $\text{CH}(11)$, $\text{CH}(17)$, $\text{CH}(23)$, $\text{CH}(29)$). FAB-MS: 880 (def. 1, $M^{6+} - 5\text{H}^+$), 753 (1,5), 626 (4,1), 525 (2,2), 499 (10), 489 (5,1), 443 (4,4), 372 (51), 355 (15), 316 (67), 299 (15), 272 (18), 246 (110), 245 (> 200), 190 (87), 189 (> 200), 130 (120), 128 (130), 100 (100); $m^* 338,8$ (372→355), 145,8 (245→189).

(-)-L-Alanyl-pentakis(glycinimidoyl-L-alanyl)-glycin-amidin-heptahydrochlorid (**28a**). Eine Lsg. von 55,6 mg (49,5 μmol) **27a** in 2 ml MeOH wurde unter Ar bei RT. im 10-ml-Zentrifugenglas mit 2 ml HCl/MeOH-Lsg.²³⁾

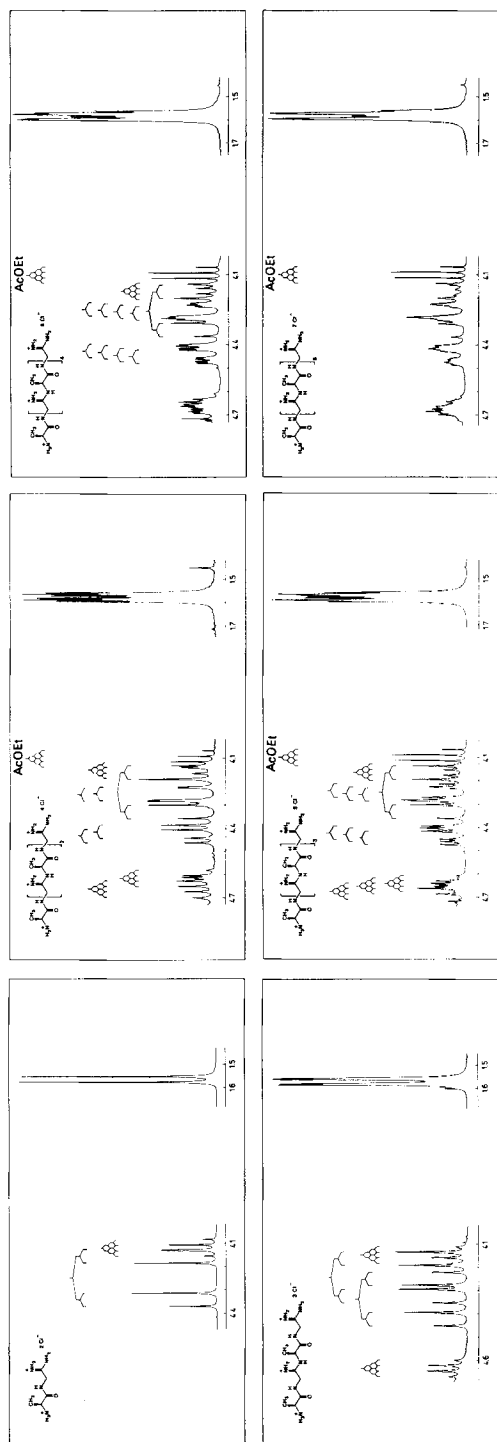


Fig. 12. Gespitzte 300-MHz- ^1H -NMR-Spektren von **6a** (2 Cl^- statt 2 TSO^-), **17a**, **22a**, **24a**, **26a** und **28a** in CD_3OD

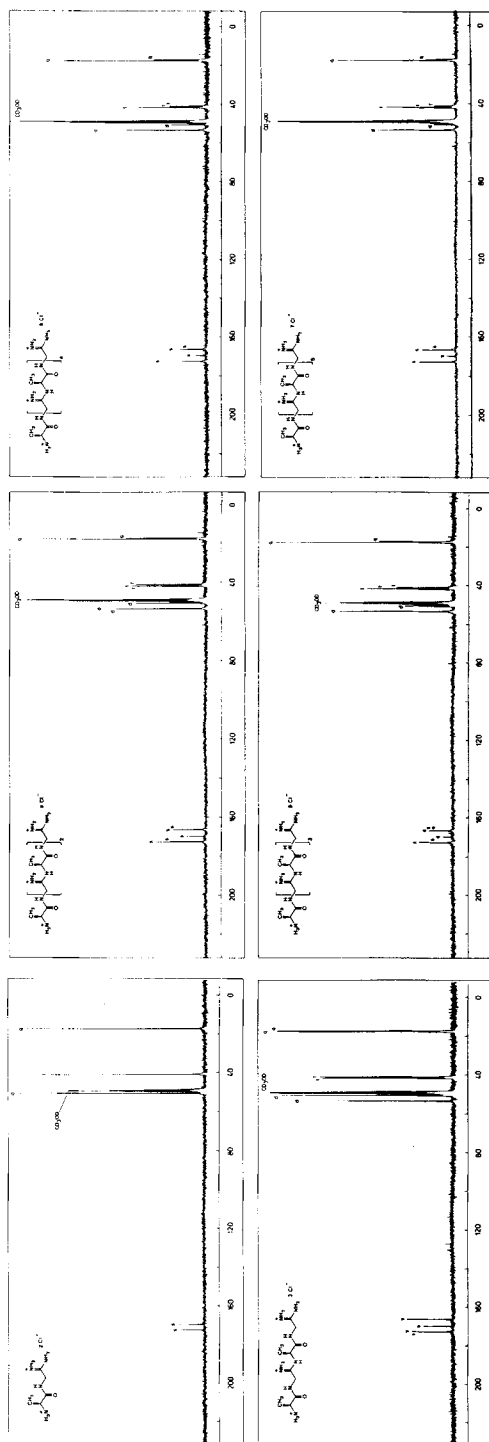


Fig. 13. 75-MHz- ^{13}C -NMR-Spektren von **6a** (2 Cl^- statt 2 TSO^-), **17a**, **22a**, **24a**, **26a** und **28a** in CD_3OD

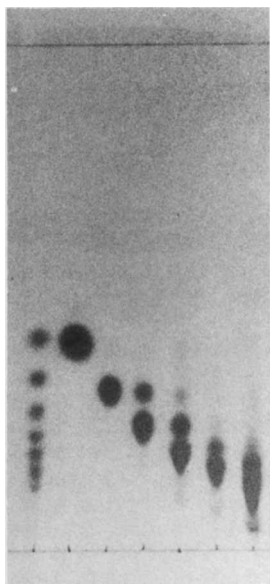


Fig. 14. DC-Verhalten (System 2) der Oligomeren **6a**, **17a**, **22a**, **24a**, **26a** und **28a** aus Vorversuchen (d. h. z. T. Nebenkomponenten enthaltend). Gesamtgemisch (inkl. Heptamer) links aussen. Einzelne Oligomeren (mit Nebenkomponenten) **6a** → **28a** von links nach rechts.

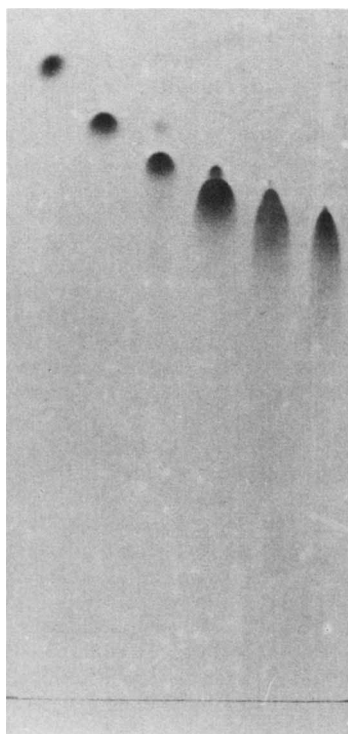


Fig. 15. Verhalten im DE (Bedingungen vgl. Allgemeines) der Oligomeren **6a**, **17a**, **22a**, **24a**, **26a** und **28a** aus Hauptversuchen (von links nach rechts)

versetzt, worauf sich nach ca. 20 s die homogene Lsg. zu trüben begann. Nach 10 min fügte man 6 ml AcOEt zu und liess weitere 5 min bei RT. stehen. Der abzentrifugierte Festkörper wurde in 2 ml MeOH aufgelöst und nochmals mit 2 ml der HCl/MeOH-Lsg. versetzt. Nach 10 min bei RT. und Zugabe von 6 ml AcOEt zentrifugierte man das Rohprodukt ab, welches zur Reinigung je 2mal mit MeOH/Et₂O und MeOH/AcOEt umgefällt und i. HV. über Nacht getrocknet wurde: 46,3 mg (85%) amorphes, leicht gelbliches **28a**. DC (System 2): R_f 0,06–0,17 (langgezogener Fleck; vgl. Fig. 14). DE: $u = 1,66$ (Schwanzbildung, vgl. Fig. 15). $[\alpha]_D = -49,8 \pm 2,0^\circ$, $[\alpha]_{436} = -112,3 \pm 2,4^\circ$ ($c = 0,31$, MeOH). ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 6 Gew.-% AcOEt; vgl. Fig. 12): 1,573, 1,585 (2d unterschiedlicher Intensität, $J = 7$, CH₃(5¹), CH₃(11¹), CH₃(17¹), CH₃(23¹), CH₃(29¹), CH₃(35¹)); 4,13–4,49 (Signalhaufen, CH(35), CH₂(2), CH₂(8), CH₂(14), CH₂(20), CH₂(26), CH₂(32)); 4,57–4,73 (Signalhaufen, CH(5), CH(11), CH(17), CH(23), CH(29)). ¹³C-NMR (CD₃OD, 75 MHz; vgl. Fig. 13): 17,2 (*q*, C(35¹)); 17,8 (*q*, C(5¹), C(11¹), C(17¹), C(23¹), C(29¹)); 41,0 (*t*, C(2)); 41,7 (*t*, C(32)); 41,8 (*t*, C(8), C(14), C(20), C(26)); 50,6 (*d*, C(35)); 53,5 (*d*, C(5), C(11), C(17), C(23), C(29)); 166,3, 166,5 (2*s*, C(7), C(13), C(19), C(25), C(31)); 169,7 (*s*, C(2)); 172,6 (*s*, C(4), C(10), C(16), C(22), C(28), C(34)). FAB-MS: 653 (1,3, $M^{7+} - 6H^+ - 127$; Abspaltung von Alanyl-glycin-nitril?), 526 (1,7), 511 (1,4), 399 (5,0), 384 (4,9), 272 (9,0), 257 (15), 245 (16), 222 (14), 215 (18), 207 (16), 202 (23), 199 (17), 145 (46), 130 (100), 128 (39), 110 (73).

6. Exper. zu Schema 5. – '(–)-Cyclo(1-alanyl-glycin-amidinyl)-1-alanyl-glycin-amidin-dihydrochlorid' (= *N*-(3,4,5,6-Tetrahydro-6-methyl-5-oxopyrazin-2-yl)-L-alanyl-glycin-amidin-dihydrochlorid; **18**). Eine Aufschlammung von 160 mg (ca. 0,42 mmol, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) **17a** (aus Nachschubansatz) in 2,5 ml DMF wurde unter Ar im Eisbad abgekühlt und mittels Spritze rasch mit 95,5 µl (0,40 mmol) Bu₃N versetzt. Nach 4 Tagen

Rühren unter Verschluss bei 0° wurde das leicht trübe Gemisch auf RT. aufgewärmt, ins 25-ml-Zentrifugenglas transferiert und mit Hexan/Toluol 1:1 ausgefällt. Das Rohprodukt wurde aus MeOH/Et₂O umgefällt, in wenig MeOH gelöst, mit 0,5 ml einer HCl/MeOH-Lsg.²³⁾ versetzt und mit Et₂O erneut ausgefällt. Nochmalige Fällung aus MeOH mit Et₂O und anschliessendes Waschen mit Et₂O ergaben nach ½ h HV.-Trocknen 140,6 mg leicht gelbliches, amorphes Pulver, welches an 7 g DEAE-Cellulose (Cl⁻-Form) aufgetrennt wurde (jeweils ca. 50 ml AcOEt/MeOH von 3:1 über 2:1, 3:2, 1:1, 2:3, 1:2 und 1:3 bis auf reines MeOH wechselnd). Nach DC (System 1) wurden entsprechende Fraktionen vereinigt und eingedampft, die jeweiligen Rückstände in MeOH aufgenommen, mit Et₂O ausgefällt und über Nacht i. HV. getrocknet. Das reine **18** (63 mg, 46%) aus mittleren Fraktionen wurde zusätzlich 2mal mit MeOH/AcOme umgefällt und getrocknet. DC (System 1): *R_f* 0,06. DC (System 2): *R_f* 0,38. DE: *u* = 1,62. $[\alpha]_D = -23,8 \pm 1,7^\circ$ (*c* = 0,33, MeOH). ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 5 Gew.-% AcOme; vgl. Abb. in [1] S. 166): 1,53 (*d*, *J* = 7,1, CH₃(5¹)); 1,56 (*d*, *J* = 7,1, CH₃(11¹)); 4,14 (br. *q*, *J* = 7,1, CH(11)); 4,15, 4,31 (*AB*, *J_{AB}* = 17,2, CH₂(2)); 4,34, 4,45 (br. *AB*, *J_{AB}* = 17,2, CH₂(8)); 4,69 (teilweise verdecktes *q*, CH(5)). ¹³C-NMR (CD₃OD, 75 MHz): 18,1, 18,2 (2*q*, C(5¹), C(11¹)); 41,0 (*t*, C(2)); 42,7 (*t*, C(8)); 53,1, 53,6 (2*d*, C(5), C(11)); 160,4 (*s*, C(7)); 169,9 (*s*, C(1)); 171,0 (*s*, C(10)); 173,1 (*s*, C(4)). FAB-MS: 835 (0,2, 3*M*²⁺ – 3H⁺ + ³⁵Cl⁻), 581 (0,2, 2*M*²⁺ – H⁺ + ³⁵Cl⁻), 545 (1,5, 2*M*²⁺ – 2H⁺ + ³⁵Cl⁻), 509 (2,6, 2*M*²⁺ – 3H⁺), 347 (9,7, *M*²⁺ – H⁺ + Glycerin), 291 (1,9, *M*²⁺ + ³⁵Cl⁻), 255 (100, *M*²⁺ – H⁺).

(–)-N-Acetyl-L-alanyl-glycinimidoyl-L-alanyl-glycin-amidin-bis-(p-toluolsulfonat) (**19**). In einem 10-ml-Kolben wurden 160,1 mg (ca. 0,42 mmol, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) **17a** (aus Nachschub-Ansatz) unter Ar in 2 ml DMF gelöst. Man spritzte bei 0° 44 µl (0,44 mmol) Ac₂O (Merck, zur Analyse), gefolgt von 85 µl (1,05 mmol) abs. Pyridin zu und rührte über Nacht bei 0°, wonach das DC fast völliges Verschwinden von **17a** zeigte. Die homogene Lsg. wurde ins 25-ml-Zentrifugenglas pipettiert und das Rohprodukt mit 20 ml Et₂O ausgefällt. Nach Zentrifugieren, 2mal Umfällen des Rückstandes aus MeOH mit Et₂O/AcOEt 2:1 und 2 h Trocknen i. HV. wurden 170,8 mg amorphes, laut DC leicht verunreinigtes **19** erhalten. Dieses Rohprodukt wurde in MeOH mit 176 mg (0,93 mmol) TsOH·H₂O versetzt, nach der Zugabe von Toluol (azeotrope H₂O-Entfernung) eingedampft und erneut kurz i. HV. getrocknet. Man löste den Rückstand in wenig AcOEt/MeOH 2:1 und chromatographierte an 7 g DEAE-Cellulose (TsO⁻-Form, jeweils ca. 50 ml EtOAc/MeOH 2:1 über 3:2, 1:1 und 2:3 auf 1:2 wechselnd). Die laut DC reinen Produkt-Fractionen wurden vereinigt, eingedampft, der Rückstand aus einer Minimalmenge MeOH mit AcOme ausgefällt und i. HV. über Nacht getrocknet: 175,2 mg (63%) amorphes **19**. DC (*i*-PrOH/H₂O/AcOH 7:2:1, mit NaCl gesättigt): *R_f* 0,38. $[\alpha]_D = -13,1 \pm 1,3^\circ$ (*c* = 0,41, MeOH). ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 1 Gew.-% AcOme; vgl. Abb. in [1] S. 168): 1,37 (*d*, *J* = 7,2, CH₃(11)); 1,50 (*d*, *J* = 7,0, CH₃(5¹)); 1,98 (*s*, CH₃CO); 2,37 (*s*, 2 CH₃C₆H₄SO₃); 4,12, 4,28 (*AB*, *J_{AB}* = 17,1, CH₂(2)); 4,16 (teilweise überlagertes *q*, *J* = 7,1, CH(11)); 4,18, 4,32 (*AB*, *J_{AB}* = 17,0, CH₂(8)); 4,52 (*q*, *J* = 7,0, CH(5)); 7,24, 7,70 (*AA'**BB'*, 8 arom. H). ¹³C-NMR (CD₃OD, 75 MHz): 16,9, 17,5 (2*q*, C(5¹), C(11¹)); 21,5 (*q*, CH₃C₆H₄SO₃); 22,6 (*q*, CH₃CO); 40,9, 41,3 (2*t*, C(2), C(8)); 51,8, 53,1 (2*d*, C(5), C(11)); 127,0, 130,2 (2*d*, arom. CH); 142,1, 143,3 (2*s*, arom. C); 166,8 (*s*, C(7)); 169,7 (*s*, C(1)); 172,4, 174,6, 176,8 (3*s*, C(4), C(10), CH₃CO). FAB-MS: 1143 (0,3, 2*M*²⁺ + 3TsO⁻), 971 (1,0, 2*M*²⁺ – H⁺ + 2TsO⁻), 486 (26, *M*²⁺ + TsO⁻), 315 (11), 314 (74, *M*²⁺ – H⁺), 297 (99), 187 (98), 130 (88), 129 (41), 128 (79), 114 (100).

Hydrolyse von **17a** zu L-Alanyl-glycyl-DL-alanyl-glycin-amid-(p-toluolsulfonat) (**20**). Eine Lsg. von 183,7 mg (ca. 0,48 mmol, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) **17a** (aus Nachschub-Ansatz) in 18 ml Phosphat-Puffer (0,1M, pH 6) wurde unter Rückfluss erhitzt, bis das Edukt im DC verschwunden war (20 h). Nach Zugabe von 35 ml BuOH dampfte man bei 30° ein und nahm den Rückstand in 50 ml MeOH auf. Das zu einem feinen Pulver zerriebene, unlösliche Material wurde abfiltriert, die Lsg. i. RV. auf 10 ml eingengt, mit MeOH durch 10 g Amberlite CG-400 (TsO⁻-Form) filtriert und eingedampft. Man chromatographierte den leicht bräunlichen Rückstand an 6 g DEAE-Cellulose (TsO⁻-Form, jeweils 50 ml AcOme/MeOH von 5:1 über 4:1, 3:1, 2:1, 3:2 und 1:1 auf 2:3 wechselnd). Nach DC-Analyse (System 1) wurden die Produkt-Fractionen vereinigt, i. RV. eingedampft und nochmals an 3 g DEAE-Cellulose (TsO⁻-Form, jeweils ca. 35 ml AcOme/MeOH von 2:1 über 3:2 und 1:1 auf 2:3 wechselnd). Die laut DC (System 1) einheitlichen Produkt-Fractionen wurden vereinigt und i. RV. eingedampft, der Rückstand wurde in wenig MeOH aufgenommen und mit AcOEt ausgefällt. Nach einer weiteren Umfällung aus MeOH/AcOEt wurde der Festkörper mit AcOEt gewaschen und 3 Tage i. HV. getrocknet: 150,1 mg (70%) amorphes **20** ((1:1)-Diastereoisomerenmischung). DC (System 1): *R_f* 0,42. DE: *u* = 1,18. $[\alpha]_D = +9,0 \pm 0,7^\circ$, $[\alpha]_{436} = +18,9 \pm 0,8^\circ$ (*c* = 0,77, MeOH). ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 3 Gew.-% AcOEt): 1,38 (*d*, *J* = 7,1, CH₃(5¹)); 1,519, 1,524 (2*d*, *J* = 7,1, CH₃(11¹)); entsprechende Signale beider Diastereoisomeren nicht isochron); 2,37 (*s*, CH₃C₆H₄SO₃); 3,798, 3,867 und 3,800, 3,871 (2 *AB*, *J_{AB}* = 17,0, CH₂(2)); 3,922, 3,964 und 3,925, 3,982 (2 *AB*, *J_{AB}* = 16,4, 16,5, CH₂(8)); 4,01, 4,02 (2 teilweise überlagerte *q*, *J* = 7,1, CH(11)); 4,32, 4,33 (2*q*, *J* = 7,2, CH(5)); 7,23, 7,71 (*AA'**BB'* CH₃C₆H₄SO₃). ¹³C-NMR (CD₃OD, 75 MHz): 17,6 (*q*, C(5¹), C(11¹)); 21,4 (*q*, CH₃C₆H₄SO₃); 43,4, 43,6, 43,7 (3*t*, C(2), C(8)); 50,5, 51,1 (2*d*, C(5), C(11)); 127,0, 130,0 (2*d*, CH

des TsO^-); 141,9, 143,5 (2s, C des TsO^-); 171,5, 171,9, 172,1, 174,5, 175,5 (5s, C(1), C(4), C(7), C(10)). FAB-MS: 547 (1,4, $2M^+ - H^+$), 274 (45, M^+), 200 (21), 146 (48), 129 (86), 103 (27), 101 (43), 85 (36), 75 (89), 57 (100).

Eine zum Vergleich durch Kopplung von Boc-L-Ala-Gly-(pentachlorphenyl)ester mit DL-Ala-Gly-amid hergestelltes (1:1)-Diastereoisomerengemisch von L-Ala-Gly-DL-Ala-Gly-amid **20** wies neben einer spezifischen Drehung von $[\alpha] = +9,2 \pm 0,8^\circ$, $[\alpha]_{436} = +19,4 \pm 0,8^\circ$ ($c = 0,72$, MeOH) identische $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ und FAB-MS auf (Details hierzu vgl. [30]).

7. Exper. zu Schema 6. – (+)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-phenylalanyl-glycinimidoyl-L-phenylalanyl-glycinamidin-dihydrochlorid (**16b**). Eine Lsg. von 2,12 g (ca. 5,80 mmol, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) frisch hergestelltem, amorphem **14b** in 10 ml DMF wurde unter Ar bei 0° mit 2,562 g (4,54 mmol) **6b** versetzt und 4 Tage verschlossen bei 0° gerührt. Aus der homogenen Lsg. sog man während 1 h i. HV. das entstandene EtSH und einen Teil des DMF ab, nahm den viskosen Rückstand in 15 ml Toluol auf und fällte das Rohprodukt im 100-ml-Zentrifugenglas mit 70 ml Pentan aus. Das abzentrifugierte, gelbliche Öl wurde 2mal aus AcOMe/Et₂O 1:15 umgefällt, 1mal mit Et₂O gewaschen und i. HV. getrocknet. Der gelbliche Festkörper wurde in AcOMe aufgenommen und durch Zentrifugation von einem unlöslichen Nebenprodukt (138 mg; NH_4TsO laut DC, $^1\text{H-NMR}$ und Entwicklung von NH_3 in basischer Lsg.) befreit. Das in AcOMe gelöste Rohprodukt wurde mit 1,72 g (4,54 mmol) Bis(dimethylammonium)-naphthalin-2,7-disulfonat (mittels stark saurem Ionentauscher aus dem Dinatrium-Salz hergestellt; farblose Rhomben aus MeOH, Schmp. 204–205°) in 10 ml MeOH versetzt und mit AcOMe/Et₂O ausgefällt. Durch 4mal Umfällen mit MeOH/AcOMe 1:5 liessen sich apolarere Verunreinigungen (DC-System 1, R_f 0,75 und 0,81) grösstenteils entfernen und man erhielt 2,76 g nahezu farbloses Produkt, welches an Kieselgel (6-cm-Säule, AcOMe/MeOH/H₂O/AcOH 25:2:4:1, nach 1 l Lsgm.-Gemisch auf 25:4:1 wechselnd) chromatographiert wurde. Die vereinigten Produkt-Fractionen dampfte man ein, löste den Rückstand in MeOH, fügte Toluol zu (azeotrope Entfernung des H₂O) und sog i. RV. i. HV. die Lsgm. ab. Dieses Einengen aus MeOH/Toluol wurde so oft wiederholt, bis nicht mehr ein Harz, sondern ein amorphes Pulver anfiel, welches anschliessend in MeOH durch 15 g Amberlite CG-400 (Cl^- -Form) filtriert wurde. Einengen des Filtrats und Ausfällen des Rückstandes mit Et₂O ergaben nach dem Trocknen i. HV. über Nacht 929 mg (32%) farbloses, amorphes **16b**. DC (System 1): R_f 0,65. DE: $u = 1,32$ (vgl. Fig. 18). $[\alpha]_D = +8,0 \pm 1,7^\circ$ ($c = 0,32$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ ((D₆)Aceton/0,01M CF_3COOD in D₂O 5:1, 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 6 Gew.-% AcOH und Et₂O): 1,34 (s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 2,8–3,5 (Signalhaufen, $\text{CH}_2(5^1)$, $\text{CH}_2(11^1)$); 4,1–4,5 (Signalhaufen, ca. 5 H, $\text{CH}_2(2)$, $\text{CH}_2(8)$, $\text{CH}(11)$); 5,01 (dd, 0,7 H, $J_1 = 9,5$, $J_2 = 4,6$, $\text{CH}(5)$); 7,17–7,44 (Signalhaufen, 10 arom. H): FAB-MS: 524 (0,2, $M^{2+} - H^+$), 507 (0,2), 468 (0,2, $M^{2+} - H^+ - \text{C}_4\text{H}_8$), 321 (9,0), 265 (6,9), 120 (100).

(+)-L-Phenylalanyl-glycinimidoyl-L-phenylalanyl-glycinamidin-trihydrochlorid (**17b**). Eine Lsg. von 512,0 mg (0,809 mmol) **16b** in 3 ml MeOH wurde bei RT. im Zentrifugenglas mit 5 ml HCl/MeOH-Lsg.²³⁾ versetzt und 10 min bei RT. stehengelassen. Nach der Zugabe von 5 ml AcOMe liess man weitere 5 min bei RT. stehen, fügte ca. 25 ml Et₂O hinzu und zentrifugierte das ausgefällte Rohprodukt ab. Umfällen mit MeOH/Et₂O, Nachwaschen mit Et₂O und Trocknen des Rückstandes i. HV. über Nacht ergaben 429,7 mg (95%) amorphes **17b**. DC (System 2): R_f 0,58. DE: $u = 1,64$; vgl. Fig. 18. $[\alpha]_D = +22,6 \pm 2,4^\circ$ ($c = 0,23$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ ((D₆)Aceton/0,01M CF_3COOD in D₂O 5:1, 300 MHz, vgl. Fig. 3 und 17; Probe enthält insgesamt ca. 5 Gew.-% Et₂O und AcOMe): 3,25, 3,47, 5,04 (ABM, $J_{AB} = 13,9$, $J_{AM} = 9,7$, $J_{BM} = 4,7$, $\text{CH}_2(5^1)$, $\text{CH}(5)$); 3,31 (d, $J = 7,5$, $\text{CH}_2(11)$); 4,10, 4,41 (AB, $J_{AB} = 17,0$,

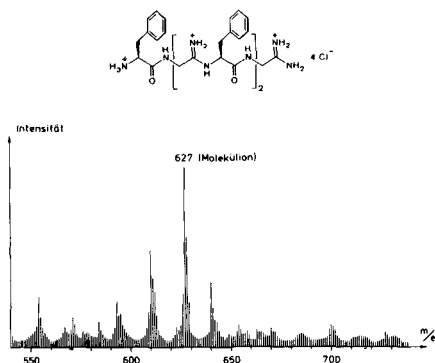


Fig. 16. FAB-MS (Ausschnitt) von **22b**

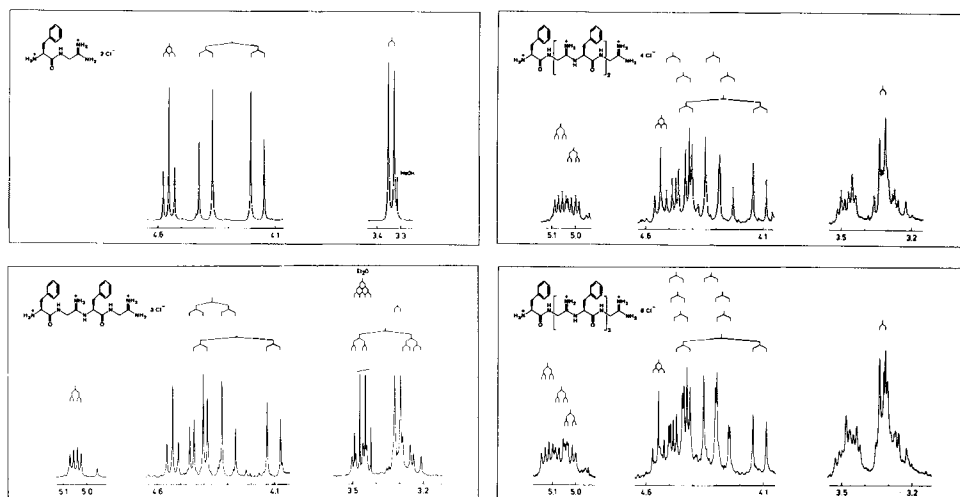


Fig. 17. Gespreizte 300-MHz- ^1H -NMR-Spektren von **6b** (2 Cl^- statt 2 TSO^-), **17b**, **22b** und **24b** in (D_6) Aceton/ $0.01\text{ M CF}_3\text{COOD}$ in $D_2\text{O}$ (5:1)

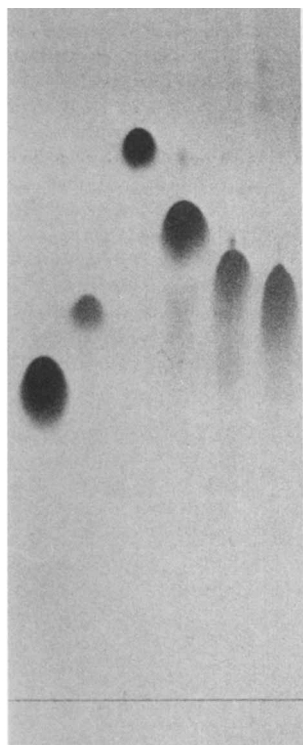


Fig. 18. Verhalten im DE (Bedingungen vgl. Allgemeines) der Boc-Derivate **8b** und **16b** sowie der Oligomeren **6b**, **17b**, **22b** und **24b** (von links nach rechts)

$\text{CH}_2(2)$; 4,30, 4,42 ($AB, J_{AB} = 17,3, \text{CH}_2(8)$); 4,53 ($t, J = 7,4, \text{CH}(11)$); 7,11–7,47 (Signalhaufen, 10 arom. H). FAB-MS: 424 (def. 1,0, $M^{3+} - 2\text{H}^+$), 407 (0,8, $M^{3+} - \text{H}^+ - \text{NH}_4^+$), 368 (0,6), 221 (3,9), 206 (10), 131 (13), 120 (> 70).

Das Trimere **22b** und Tetramere **24b** wurden analog zum Dimeren **17b** hergestellt, ohne jedoch die entsprechenden, Boc-geschützten Homologen zu isolieren.

(+)-L-Phenylalanyl-bis(glycinimidoyl-L-phenylalanyl)-glycin-amidin-tetrahydrochlorid (**22b**). DC (System 2): R_f 0,59. DE: $u = 1,48$ (leichte Schwanzbildung; vgl. Fig. 18). $[\alpha]_D = +9,1 \pm 2,4^\circ$ ($c = 0,23$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ ((D_6)Aceton/0,01M CF_3COOD in D_2O 5:1, 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 4 Gew.-% AcOMe; vgl. Fig. 17): 3,20–3,53 (Signalhaufen, $\text{CH}_2(5^1)$, $\text{CH}_2(11^1)$, $\text{CH}_2(17^1)$); 4,11, 4,43 (AB, $J_{AB} = 17,0$, $\text{CH}_2(2)$); 4,26, 4,45 und 4,32, 4,43 (2 AB, $J_{AB} = 17$, $\text{CH}_2(8)$, $\text{CH}_2(14)$); 4,53 (t, $J = 7,4$, $\text{CH}(17)$); 5,01, 5,06 (2dd, $J_1 = 10,1$, 4,5 bzw. $J_1 = 9,7$, 4,8, $\text{CH}(5)$, $\text{CH}(11)$); 7,2–7,5 (Signalhaufen, 18 arom. H). FAB-MS (vgl. Fig. 16): 640 (def. 1,0), 627 (2,8, $\text{M}^{4+} - 3\text{H}^+$), 610 (1,5, $\text{M}^{4+} - 2\text{H}^+ - \text{NH}_4^+$).

(+)-L-Phenylalanyl-tris(glycinimidoyl-L-phenylalanyl)-glycin-amidin-pentahydrochlorid (**24b**). DC (System 2): R_f 0,59. DE: $u = 1,44$ (leichte Schwanzbildung, vgl. Fig. 18). $[\alpha]_D = +9,1 \pm 2,2^\circ$ ($c = 0,25$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ ((D_6)Aceton/0,01M CF_3COOD in D_2O 5:1, 300 MHz, Probe enthält laut Integral ca. 1 Gew.-% AcOMe; vgl. Fig. 17): 3,20–3,55 (Signalhaufen, $\text{CH}_2(5^1)$, $\text{CH}_2(11^1)$, $\text{CH}_2(17^1)$, $\text{CH}_2(23^1)$); 4,11, 4,44 (teilweise überlagertes AB, $J_{AB} = 17,1$, $\text{CH}_2(2)$); 4,26–4,50 (Signalhaufen 3 überlagerter AB, $J_{AB} = 17$, $\text{CH}_2(8)$, $\text{CH}_2(14)$, $\text{CH}_2(20)$); 4,54 (t, $J = 7,3$, $\text{CH}(23)$); 5,02, 5,06, 5,12 (3 überlagerte dd, $J_1 = 10,0$, 4,5 bzw. $J_1 = 9,8$, 4,7 bzw. $J_1 = 9,5$, 4,8, $\text{CH}(5)$, $\text{CH}(11)$; $\text{CH}(17)$); 7,2–7,5 (Signalhaufen, 23 arom. H). FAB-MS: 852 (def. 1,0), 830 (1,4, $\text{M}^{5+} - 4\text{H}^+$), 813 (0,5, $\text{M}^{5+} - 3\text{H}^+ - \text{NH}_4^+$), 610 (1,3), 429 (2,1), 407 (2,2), 390 (1,9), 351 (5,4), 243 (6,4), 204 (21), 161 (11), 131 (25), 120 (> 43).

8. Exper. zu Schema 7. – (–)-L-Alanyl-oligo(glycinimidoyl-L-alanyl)-glycin-amidin-hydrochlorid (**32**). Eine gut gerührte Lsg. von 406,7 mg (1,41 mmol) **14a** in 2 ml abs. Dioxan (dest. über Na) wurde bei RT. unter Ar mit 4 ml ca. 4M Lsg. von HCl in abs. Dioxan versetzt, worauf sich nach ca. 15 s die homogene Lsg. zu trüben begann. Nach 45 min dampfte man vorsichtig ein und trocknete das verbleibende, farblose Salz **31** 15 min i. HV. Anschliessend wurde bei 0° in 1,2 ml H_2O gelöst, rasch unter Rühren 0,204 ml (1,54 mmol) sym-Collidin (dest. über CaH_2) zugegeben und 6 h bei 0° weitergerührt. Nach der Zugabe von 3 Tropfen konz. HCl (Abstoppen der Reaktion) und 4 ml BuOH (azeotrope H_2O -Entfernung) dampfte man bei 30° ein und trocknete ca. 30 min i. HV. Das feuchte Rohprodukt wurde in 8 ml MeOH aufgenommen, ins Zentrifugenglas pipettiert, durch Zugabe von 16 ml AcOEt ausgefällt und abzentrifugiert. Erneute Umfällung mit MeOH/AcOEt und Trocknen i. HV. (2 h) ergaben 177,3 mg (ca. 77%, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) amorphes, nach DC von cyclischem Amidin 7 freies **32**, das wie folgt durch fraktionierende Fällungen aufgetrennt wurde.

1. Präzipitat: Das Rohprodukt wurde bei RT. unter Ar in 6 ml MeOH aufgenommen, unter Rühren langsam mit 4 ml abs. i-PrOH (mit Molekularsieb vorgetrocknet und über CaH_2 dest.) versetzt und 5 min weitergerührt. Der dabei ausgefallene Festkörper wurde abzentrifugiert, von der fl. Phase abgetrennt, in AcOMe aufgeschlämmt, erneut abzentrifugiert und über Nacht i. HV. getrocknet: 43,5 mg (ca. 19%, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) **32** als 1. (polarstes) Präzipitat, Daten s. unten.

2. Präzipitat: Zur fl. Phase des 1. Präzipitats gab man 10 ml abs. i-PrOH und 20 ml Et_2O und zentrifugierte ab. Der feuchte Rückstand wurde unter Ar in 6 ml MeOH gelöst, unter Rühren langsam mit 4 ml AcOMe versetzt und 5 min weitergerührt. Nach der Zentrifugation trennte man die fl. Phase vom Festkörper und suspendierte diesen in AcOMe. Erneute Zentrifugation und Trocknen des Rückstandes i. HV. über Nacht ergaben 36,8 mg (ca. 16%, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) **32** als 2. Präzipitat, dessen DC-Verhalten (System 2) im wesentlichen mit demjenigen des 1. Präzipitats übereinstimmte.

3. Präzipitat: Die fl. Phase des 2. Präzipitats wurde mit 24 ml AcOMe versetzt, der ausgefallene Festkörper abzentrifugiert und i. HV. über Nacht getrocknet: 77,5 mg (ca. 34%, Lsgm.-Gehalt unbestimmt) **32** als 3. Präzipitat, das nebst polarerem Material eine unidentifizierte Komponente (DC-System 2, R_f 0,25) enthielt. Das Material des 2. und 3. Präzipitats wurde spektroskopisch nicht weiter untersucht.

Daten von **32** (1. Präzipitat). Das Material des 1. Präzipitats wurde in 3 ml MeOH aufgenommen, mit 2 ml HCl/MeOH-Lsg.²³ versetzt und 10 min bei RT. stehengelassen (vollständige Abspaltung von möglicherweise vorhandenen Boc-Gruppen). Anschliessend fällte man mit AcOMe vollständig aus, zentrifugierte ab und fällte den Festkörper mit MeOH/AcOMe um. Einmal Waschen mit AcOMe und 2 Tage Trocknen i. HV. lieferten das praktisch quantitativ zurückgewonnene, amorphe und farblose **32**. DC (System 2): R_f 0. $[\alpha]_D = -73,2 \pm 2,1^\circ$, $[\alpha]_{436} = -164,5 \pm 3,0^\circ$ ($c = 0,30$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ ((D_6)DMSO, 300 MHz, vgl. Fig. 5; Probe enthält ca. 1 Gew.-% AcOMe): 1,45 (br. d, $J = 6,6$, 3,0 H, (CH_3)CH); 4,11, 4,39 (AB, $J = 14$, 2,1 H, CH_2 , $\text{H}_3\text{N}^+\text{CH}(\text{CH}_3)$); 4,75 (br. m, 0,96 H, $\text{C}(\text{NH}_2^+)\text{NHCH}(\text{CH}_3)$); 8,40 (br. s, 0,16 H, NH_3^+); 8,98 (s, 1,0 H, CO–NH); 9,36, 9,50, 9,80 (3 br. s, 3,0 H, Amidinium–NH). Abschätzung des durchschnittlichen Polykondensationsgrades durch Integralvergleich (Fig. 5): CH_3 -Bereich 1,34–1,55 ppm, Integral gleichgesetzt 3,00; $0,16 \pm 0,02$ (NH_3^+)/3,00 (CH_3) = $0,053 \pm 0,006 \rightarrow n = 19 \pm \text{ca. } 3$. $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz; vgl. Fig. 4): 18,0 (q, $\text{C}(\text{NH}_2^+)\text{NHCH}(\text{CH}_3)$); 41,9 (t, $\text{CH}_2\text{C}(\text{NH}_2^+)\text{NH}$); 53,6 (d, $\text{C}(\text{NH}_2^+)\text{NHCH}(\text{CH}_3)$); 166,5 (s, Amidinium–C); 172,7 (s, Amid–C); zusätzlich 2 Signale geringerer Intensität: 17,2 ($\text{NH}_3^+\text{CH}(\text{CH}_3)$); 50,7 ($\text{NH}_3^+\text{CH}(\text{CH}_3)$).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. Moser, 'Synthese und Eigenschaften von oligomeren Di- und Tri-Peptamidinium-Salzen', Diss. ETH Zürich Nr. 7925, ADAG Druck AG, Zürich, 1985.
- [2] A. Eschenmoser, 'Über organische Naturstoffsynthese: Von der Synthese des Vitamins B₁₂ zur Frage nach dem Ursprung der Corrinstruktur', *Nova Acta Leopold.* **1982**, Band 55, Nr. 247; A. Eschenmoser, 'Vitamin B₁₂ und präbiotische Naturstoffchemie', Jahresbericht 1984 des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Bern, 1985, S. 198; G. Ksander, G. Bold, C. Lehmann, T. Früh, R. Lattmann, Yi-Bin Xiang, H. P. Buser, W. Bender, W. Rüger, E. Zass, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta*, in Vorbereitung.
- [3] G. M. Church, J. L. Sussmann, S.-H. Kim, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, 74, 1458.
- [4] C. W. Carter, Jr., K. Kraut, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1974**, 71, 283.
- [5] R. P. Wharton, M. Ptashne, *Trends Biochem. Sci.* **1986**, 11, 71; Wang Jia-Huai, *Nature (London)* **1986**, 319, 183.
- [6] D. W. Woolley, J. W. B. Hershey, H. A. Jodlowski, *J. Org. Chem.* **1963**, 28, 2012.
- [7] a) K. Kawashiro, H. Yoshida, S. Morimoto, *Chem. Lett.* **1974**, 1; b) K. Kawashiro, H. Yoshida, S. Morimoto, *ibid.* **1975**, 323; c) S. Morimoto, K. Kawashiro, H. Yoshida, *Origins Life* **1977**, 8, 341; d) K. Kawashiro, S. Morimoto, H. Yoshida, K. Sugiura, *ibid.* **1977**, 8, 347; e) S. Morimoto, K. Kawashiro, H. Yoshida, *ibid.* **1977**, 8, 355; *ibid.* **1984**, 14, 259.
- [8] S. Akabori, *Kagaku (Science, Japan)* **1955**, 25, 54 (*Chem. Abstr.* **1955**, 49, 5538f); S. Akabori, K. Okawa, M. Sato, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1956**, 29, 608; H. Hanafusa, S. Akabori, *ibid.* **1959**, 32, 626; S. Akabori, in 'The Origin of Life on the Earth', 'I. U. B. Symp. Ser.', Eds. F. Clark and R. L. M. Synge, Pergamon Press, London, 1959, Vol. 1, S. 189.
- [9] K. Ree, K. Minoura, *Makrom. Chem.* **1976**, 177, 2897; *ibid.* **1978**, 179, 1145; *ibid.* **1979**, 180, 1901.
- [10] G. Losse, K. Anders, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1961**, 323, 111; G. Losse, R. Böhm, *J. Prakt. Chem.* **1968**, 38, 69.
- [11] R. Schwyzler, B. Iselin, M. Feurer, *Helv. Chim. Acta* **1955**, 38, 69.
- [12] S. Mojsov, A. R. Mitchell, R. B. Merrifield, *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 556.
- [13] B. Halpern, D. E. Nitecki, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 3031.
- [14] A. Pinner, F. Klein, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1877**, 10, 1889; A. Pinner, 'Die Imidoäther und ihre Derivate', Robert Oppenheim Verlag, Berlin, 1892.
- [15] J. H. Nef, *Liebigs Ann. Chem.* **1895**, 287, 265; N. S. Bayliss, R. L. Heppollette, L. H. Little, J. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 1978.
- [16] J. T. Edsall, J. Wyman, 'Biophysical Chemistry', Academic Press, New York, 1958.
- [17] H. P. Buser, Diplomarbeit ETH, 1980.
- [18] P. L. Barker, P. L. Gendler, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 2455.
- [19] G. Ohla, J. A. Ohla, J. J. Svoboda, *Synthesis* **1973**, 490.
- [20] K. Kindler, *Liebigs Ann. Chem.* **1923**, 431, 187.
- [21] S. Salvadori, M. Marastoni, G. Balboni, R. Tomatis, *Farmaco, Ed. Sci.* **1984**, 39, 316.
- [22] S. Patai, Ed., 'The Chemistry of Amidines and Imidates', Wiley, New York, 1975.
- [23] M. J. Hunter, M. L. Ludwig, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, 84, 3491.
- [24] R. K. Chaturvedi, A. E. McMahon, G. L. Schmir, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 6984.
- [25] W. Simon, *Helv. Chim. Acta* **1958**, 41, 1835.
- [26] G. Ohlenschläger, I. Berger, W. Depner, 'Synopsis der Elektrophorese-Techniken', G-I-T Verlag Ernst Gibeler, Darmstadt, 1980.
- [27] W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 2923.
- [28] L. Moroder, A. Hallett, E. Wünsch, O. Keller, G. Wersin, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1976**, 357, 1651.
- [29] Ed. R. C. Weast, 'Handbook of Chemistry and Physics', 58th edn., CRC Press, Cleveland, 1977-78.
- [30] A. Steiger, Diss. ETH Zürich (in Vorbereitung).