

Über Aminosäuren und Peptide, 50<sup>1)</sup>

## Über aktivierte *N,N*-Dimethylaminosäuren. – Synthese von Enkephalinen mit *N,N*-Dimethyltyrosin

Ulrich Schmidt\* und Karin Schefenacker

Institut für Organische Chemie, Biochemie und Isotopenforschung der Universität Stuttgart,  
Pfaffenwaldring 55, 7000 Stuttgart 80

Eingegangen am 15. Oktober 1984

Zur Aktivierung von *N,N*-Dimethylaminosäuren beim Aufbau von *N,N*-Dimethylpeptiden sind die Ester des 3-Cyan-4,6-dimethyl-2-pyridinthiols allen anderen untersuchten Aminosäurederivaten überlegen. Mit ihrer Hilfe ließen sich *N,N*-Dimethyl-Enkephaline ohne Epimerisierung aufbauen.

### Amino Acids and Peptides, 50<sup>1)</sup>. – Activated *N,N*-Dimethylamino Acids. – Synthesis of Enkephalines Containing *N,N*-Dimethyltyrosine

Peptides of *N,N*-dimethylamino acids which are hard to obtain by conventional methods of peptide synthesis were prepared by using 3-cyano-4,6-dimethylpyridinethiol esters of *N,N*-dimethylamino acids. This method was used to synthesize *N,N*-dimethylenkephalines without epimerisation.

## Synthese von *N,N*-Dimethylpeptiden

Peptide und Depsipeptide mit *N*-Methylaminosäuren sind aus niederen Organismen vielfach isoliert worden. Ihre Synthese kann analog der normalen Peptidsynthese durch Verknüpfung aktivierter *N*-Methyl-*N*-acylaminosäuren mit *N*-Methylaminosäureestern erfolgen. Die Amidbildung ist jedoch (besonders bei Valin und Isoleucin) sterisch gehindert und erfolgt nur langsam und oft nur unter beträchtlicher Racemisierung.

Im Rahmen unserer Synthesen von Peptidalkaloiden<sup>2)</sup> mußten Peptide mit einer endständigen *N,N*-Dimethylaminosäure aufgebaut werden. Dazu haben wir die Verknüpfung von *N,N*-Dimethylaminosäuren mit Aminosäurederivaten systematisch untersucht und schließlich den Einbau endständiger *N,N*-Dimethylaminosäuren zur Modifizierung biologisch aktiver Peptide benutzt, da *N,N*-Dimethyldipeptide weder durch Aminopeptidasen noch durch Carboxypeptidasen gespalten werden.

Infolge der stark basischen Dimethylaminogruppe in den Dimethylaminosäuren scheidet alle protonenkatalysierten Reaktionen – wie die Verwendung von Car-

bodiimiden, Isonitrilen, Woodwards Reagens, EEDQ – zur Bildung aktiver Carboxylderivate aus. Zur Bildung der Succinimidoester, der *p*-Nitrophenylester und der Pentafluorphenylester wurde deshalb die Umsetzung mit den entsprechenden Trifluoressigsäureestern herangezogen<sup>3)</sup>. Thiolester erhielten wir glatt durch Redoxkondensation<sup>4)</sup>.

Es ist bekannt<sup>5)</sup>, daß die Öffnung von *N,N*-Dimethylaminosäure-kohlensäureanhydriden mit Aminen zur Bildung reichlicher Mengen von Carbaminsäureester führt. Wir haben deshalb nur Anhydride mit sterisch gehinderten Säuren in unsere Untersuchungen einbezogen. In Tab. 1 und 2 sind unsere Ergebnisse bei der Bildung der Dipeptide *N,N*-Dimethylphenylalanyl-phenylalanin-isopropylester, *N,N*-Dimethylvalyl-phenylalanin-isopropylester und *N,N*-Dimethylvalyl-valin-methylester zusammengefaßt. Von allen untersuchten aktivierten Estern erwiesen sich nur die Nitrophenylester, die Pentafluorphenylester und die 3-Cyan-4,6-dimethyl-2-pyridinthiolester<sup>6,7)</sup> als brauchbar.

Me <sub>2</sub> -AS-R 1-5	R AS		R AS
	R	AS	
<b>1</b>	OSu	Val	<b>4a</b>  Phè
<b>2</b>	ONp	Val	<b>5a</b>  Phè
<b>3a</b>	OPfp	Val	<b>5b</b>  Val
<b>3b</b>	OPfp	Phe	

In dieser Arbeit verwendete Abkürzungen: AS = Aminosäure, Boc = *tert*-Butyloxycarbonyl, *t*Bu = *tert*-Butyl, DCCD = *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid, EEDQ = Ethyl-2-ethoxy-1,2-dihydro-1-chinolinocarboxylat, ONp = *p*-Nitrophenoxy, OPfp = Pentafluorphenoxy, OSu = Succinimidooxy, Z = Benzyloxycarbonyl

Tab. 1. Ausbeuten und Racemisierung bei der Darstellung von (Me)<sub>2</sub>Val-Phe-OiPr und (Me)<sub>2</sub>Val-Val-OMe (stets L-Aminosäuren)

Aktiv. Ester	Dipeptid	Temp. [°C]	Lösungsmittel	Base	% Ausb.	Diastereomerenverhältnis
<b>1</b>	(Me) <sub>2</sub> Val-Phe-OiPr	20–25	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	a)	30	
		20–25	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	b)	38	
		40	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	b)	41	
<b>2</b>	(Me) <sub>2</sub> Val-Phe-OiPr	20–25	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	b)	84	98:2 <sup>c)</sup>
		<b>3a</b>	(Me) <sub>2</sub> Val-Phe-OiPr	20–25	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	a)
<b>3a</b>	(Me) <sub>2</sub> Val-Phe-OiPr	20–25	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	b)	76	96:4 <sup>c)</sup>
		50	Dioxan	b)	83	
		60	Dioxan	b)	86	<97:3 <sup>d)</sup>
		<b>5b</b>	(Me) <sub>2</sub> Val-Val-OMe	10→20	Dioxan	

a) Triethylamin. – b) Pyrrolidinopyridin. – c) Gaschromatographische Bestimmung (Kapillarsäule, 20 m, stationäre Phase Emulphor-ON 870, 130°C–180°C, Heizrate 0.5°C/min. – d) Gaschromatographische Bestimmung (Kapillarsäule, 20m, stationäre Phase Emulphor-ON 870, 140°C, isotherm).

Die Racemisierung bei der Acylierung mit Nitrophenylestern, Pentafluorphenylestern und 3-Cyan-4,6-dimethyl-2-pyridinthiolestern haben wir an der Bildung der Dipeptide *N,N*-Dimethylvalyl-phenylalanin-isopropylester und *N,N*-Dimethylvalyl-valinmethylester untersucht. Die Diastereomeren beider Dipeptide lassen sich gaschromatographisch sehr genau bestimmen (Tab. 1). Die Pyridinthiolester sind den aktiven Arylestern in der Ausbeute beim Verknüpfungsschritt gleichwertig, aber hinsichtlich der Retention der Konfiguration weit überlegen.

Tab. 2. Bildung von *N,N*-Dimethyl-L-phenylalanyl-L-phenylalanin-isopropylester aus aktiviertem *N,N*-Dimethyl-L-phenylalanin

Aktiviertes <i>N,N</i> -Dimethylphenylalanin	Aktivierungsmittel	% Ausb. bei Dipeptidbildung	Lit. <sup>a)</sup>
Gemischtes Pivalinsäureanhydrid	Pivaloylchlorid	47	8
Symmetrisches Anhydrid	Triethylammonium-Salz + Phosgen	59	9
Azid	Hydrazid + HNO <sub>2</sub>	12	10
	Diphenylphosphorylazid	31	11
<b>3b</b>	Trifluoressigsäure-pentafluorphenylester <sup>3)</sup>	85	
<b>4a</b>	Bis(2-pyridyl)disulfid	22	
<b>5a</b>	2,2'-Dithiobis(4,6-dimethylpyridin)-3,3'-dicarbonitril <sup>6)</sup>	87	

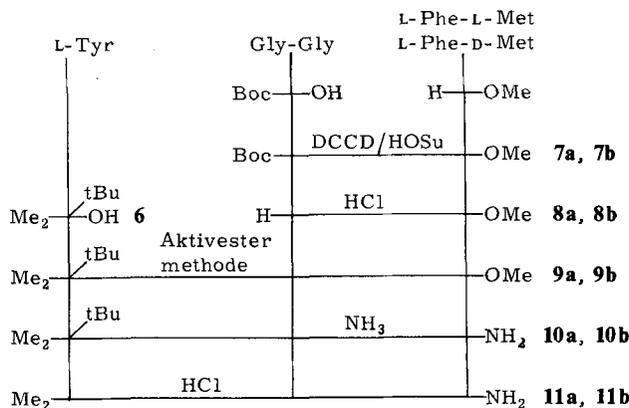
<sup>a)</sup> Die aktivierten Derivate wurden entsprechend den angegebenen Literaturvorschriften hergestellt.

### Synthese von *N,N*-Dimethyl-Enkephalinen

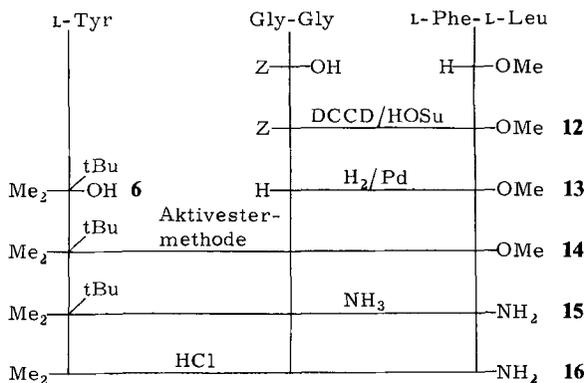
Die Synthesen von Leucin-Enkephalin-amid sowie (*S*)- und (*R*)-Methionin-enkephalin-amid, in denen jeweils der Tyrosinstickstoff dimethyliert ist, sind in Schema 1 und 2 wiedergegeben. Das *N,N*-Dimethyltyrosin, dessen phenolische OH-Gruppe stets als *tert*-Butylether geschützt war, haben wir in der letzten Stufe angeknüpft. Die Tetrapeptidester Gly-Gly-L-Phe-L-Leu-OCH<sub>3</sub>, Gly-Gly-L-Phe-L-Met-OCH<sub>3</sub> und Gly-Gly-L-Phe-D-Met-OCH<sub>3</sub> wurden nach konventionellen Methoden aufgebaut. Die Acylierung der Tetrapeptidester mit *N,N*-Dimethyl-*O-tert*-butyltyrosin-pentafluorphenylester gelang erst in siedendem Dioxan in 15stündiger Reaktion. Der entsprechende Nitrophenylester benötigte noch wesentlich längere Reaktionszeiten. Bei der Reinigung der gebildeten Pentapeptidester durch Mitteldruckchromatographie isolierte man 2 Diastereomere im Verhältnis 3:1, deren NMR-Spektren nahezu übereinstimmen. Lediglich die Signale der Protonen der *tert*-Butylgruppe, des Glycins und der Aromaten sind bei dem

Isomeren mit größerem  $R_F$ -Wert zu höherem Feld verschoben. Auch hier erwiesen sich schließlich die aktiven Thiolester den Arylestern weit überlegen: Die Umsetzung des *N,N*-Dimethyl-*O*-*tert*-butyltyrosin-(2,4-dimethyl-3-cyan-6-pyridinthiol)-esters mit den Tetrapeptiden ist in der *Kälte* schon nach 6 h abgelaufen und liefert die Pentapeptidester in 70–75% Ausbeute *ohne Racemisierung*.

Schema 1. Synthese von *N,N*-Dimethyl-L-tyrosyl-glycyl-glycyl-L-phenylalanyl-L- und -D-methionin-amid



Schema 2. Synthese von *N,N*-Dimethyl-L-tyrosyl-glycyl-glycyl-L-phenylalanyl-L-leucin-amid



Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft*, dem *Fonds der Chemischen Industrie* und der *BASF AG* für die Unterstützung dieser Arbeit und der *Fa. Degussa* für Aminosäuren und Edelmetalkatalysatoren.

## Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden in offenen Kapillaren mit einem Schmelzpunktsapparat (Paraffinölbad) bestimmt und sind nicht korrigiert. — Die Drehwerte wurden mit einem Perkin-

Elmer-Polarimeter 241 in einer 1-dm-Zelle gemessen. — Kieselgelfiltration wurden mit Kieselgel S der Fa. Riedel de Haën (0.063–0.2 mm) durchgeführt. — Für mitteldruckchromatographische Reinigungen wurde Kieselgel der Fa. Merck (LiChroprep Si 60, 0.015–0.025 mm) verwendet. Zur Dünnschichtchromatographie wurden Kieselgelplatten der Fa. Merck (DC-Alufolien, Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) verwendet.

*Darstellung von N,N-Dimethylvalin-succinimidoester (1), -(p-nitrophenyl)ester (2) und -(pentafluorphenyl)ester (3a) und N,N-Dimethylphenylalanin-(pentafluorphenyl)ester (3b).* — *Allgemeine Arbeitsvorschrift:* 2.5 mmol N,N-Dimethylaminosäure<sup>12)</sup> werden in 1.5 ml absol. Pyridin gelöst und mit 3 mmol Succinimido-trifluoracetat, Pentafluorphenyltrifluoracetat oder p-Nitrophenyl-trifluoracetat<sup>3)</sup> versetzt. Der Reaktionsverlauf wird dünn-schichtchromatographisch verfolgt. Nach beendeter Reaktion wird Essigester zugefügt, mit 10proz. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser ausgeschüttelt und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. N,N-Dimethylaminosäure-succinimidoester werden nach Entfernen des Lösungsmittels ohne weitere Reinigung mit einem Aminosäureester umgesetzt, die p-Nitrophenylester und Pentafluorphenylester werden über eine 20 cm lange Kieselgelsäule mit Petrolether/Essigester (9:1) filtriert. Die aktiven Ester der N,N-Dimethylaminosäuren sind instabil und wurden deshalb ohne weitere Reinigung sofort zur Peptidbildung eingesetzt.

*Umsetzung der aktivierten Ester 1, 2, 3a oder 3b mit Aminosäureestern oder Aminosäureesterhydrochloriden.* — *Allgemeine Arbeitsvorschrift:* 2 mmol 1, 2, 3a oder 3b, 1.8 mmol Aminosäureester oder 1.8 mmol Aminosäureesterhydrochlorid und 1.8 mmol Triethylamin werden in Gegenwart von 1.8 mmol Base (Triethylamin, 4-Pyrrolidinopyridin) in 2 ml eines geeigneten absol. Lösungsmittels mehrere Stunden gerührt, bis dünn-schichtchromatographisch kein Amin mehr nachweisbar ist. Nach Verdünnen mit 20 ml Essigester wird mit 10proz. NaHCO<sub>3</sub>- und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und i. Vak. zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird durch Mitteldruckchromatographie mit Essigester gereinigt. Weitere Bedingungen und Ausbeuten sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

*Herstellung der Pyridinthiolester 4a, 5a, 5b.* — *Allgemeine Arbeitsvorschrift:* 2.5 mmol N,N-Dimethylaminosäure<sup>12)</sup> und 2.5 mmol des entsprechenden Dipyridyldisulfids<sup>6)</sup> werden in 5 ml absol. Dioxan suspendiert und bei 10°C langsam mit einer Lösung von 0.65 g (2.5 mmol) Triphenylphosphan in 2.5 ml Dioxan versetzt. Man rührt noch 5–6 h bei Raumtemp., filtriert und entfernt das Lösungsmittel i. Vak. Der Rückstand wird über eine 15 cm lange Kieselgelsäule filtriert und das Produkt mit Petrolether/Essigester (1:9) eluiert; Ausb. 70–90%.

*Umsetzung der Pyridinthiolester 4a, 5a, 5b mit Aminosäureestern oder Aminosäureesterhydrochloriden.* — *Allgemeine Arbeitsvorschrift:* Eine Lösung von 2 mmol 4a, 5a oder 5b in 10 ml absol. Dioxan wird mit 1.8 mmol Aminosäureester und im Falle von 4a mit 514 mg (2 mmol) Silber-trifluormethansulfonat versetzt und bei Raumtemp. gerührt, bis kein Amin mehr nachweisbar ist. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt, der Rückstand in Essigester aufgenommen und filtriert. Das Filtrat wird mit 10proz. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird durch Chromatographie über eine 20 cm lange Kieselgelsäule mit Petrolether/Essigester (2:8) gereinigt.

*O-tert-Butyl-N,N-dimethyl-L-tyrosin (6):* 7.5 g (20 mmol) Z-Tyr(tBu)-OH<sup>13)</sup> und 9 ml 30proz. Formaldehydlösung in 100 ml Methanol werden in Gegenwart von 1 g Pd/C (5% Pd) unter einem Druck von 3 at hydriert, bis keine Druckabnahme mehr erfolgt (5–6 h). Anschließend wird der Katalysator abfiltriert und die Lösung eingedampft. Nach

Umkristallisieren des Rückstandes aus Methanol/Aceton erhält man farblose Nadeln, die bei 200°C unter Zersetzung schmelzen;  $[\alpha]_D^{20} = +26.92$  ( $c = 0.4$ , Methanol), Ausb. 3.8 g (71%).

$C_{15}H_{23}NO_3$  (265.4) Ber. C 67.90 H 8.74 N 5.28 Gef. C 68.10 H 8.77 N 5.56

*N*-tert-Butyloxycarbonyl-glycyl-glycyl-L-phenylalanyl-L-methionin-methylester (**7a**) und *N*-tert-Butyloxycarbonyl-glycyl-glycyl-L-phenylalanyl-D-methionin-methylester (**7b**): 1.55 g (5 mmol) H-Phe-Met-OMe<sup>14)</sup> oder H-Phe-D-Met-OMe, 1.65 g (5 mmol) Boc-Gly-Gly-OSu<sup>15)</sup> und 505 mg (5 mmol) Triethylamin werden 10 h in 75 ml absol. Essigester gerührt. Anschließend wird filtriert, mit 10proz. NaHCO<sub>3</sub>-, 5proz. Citronensäure- und gesättigter NaCl-Lösung ausgeschüttelt, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und i. Vak. eingengt. Zur Reinigung wird die Substanz auf eine 25 cm lange Kieselgelsäule gegeben und mit Essigester eluiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. erhält man 1.8 g (69%) schwach gelbes **7a**, Schmp. 137.5–138.5°C,  $[\alpha]_D^{20} = 1.74$  ( $c = 0.92$ , Chloroform).

$C_{24}H_{36}N_4O_7S$  (524.6) Ber. C 54.95 H 6.92 N 10.68 S 6.11  
Gef. C 54.86 H 6.78 N 10.62 S 6.21

**7b**: Schmp. 85–86°C (Zers.),  $[\alpha]_D^{20} = -15.2$  ( $c = 1.0$ , Chloroform).

$C_{24}H_{36}N_4O_7S$  (524.6) Ber. C 54.95 H 6.92 N 10.68 S 6.11  
Gef. C 54.72 H 6.97 N 10.58 S 6.15

*N*-Benzoyloxycarbonyl-glycyl-glycyl-L-phenylalanyl-L-leucin-methylester (**12**): 1.74 g (6 mmol) H-Phe-Leu-OMe<sup>16)</sup> und 607 mg (6 mmol) Triethylamin in 100 ml absol. Essigester werden mit 1.76 g (5 mmol) Z-Gly-Gly-OSu<sup>17)</sup> versetzt, anschließend 15 h bei Raumtemp. gerührt. Das Reaktionsgemisch wird filtriert, das Filtrat wird mit 10proz. NaHCO<sub>3</sub>-, 5proz. Citronensäure- und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und nach Entfernung des Trockenmittels i. Vak. zur Trockene eingedampft. Man erhält 2.2 g (81%) schwach gelbes **12** vom Schmp. 55–56°C;  $[\alpha]_D^{20} = -5.7$  ( $c = 1.23$ , Chloroform).

$C_{28}H_{36}N_4O_7$  (540.6) Ber. C 62.21 H 6.71 N 10.36 Gef. C 62.06 H 6.85 N 10.17

*O*-tert-Butyl-*N,N*-dimethyl-L-tyrosyl-glycyl-glycyl-L-phenylalanyl-L-methionin-methylester (**9a**) und *O*-tert-Butyl-*N,N*-dimethyl-L-tyrosyl-glycyl-glycyl-L-phenylalanyl-D-methionin-methylester (**9b**): a) 1.8 g (3.5 mmol) Boc-Gly-Gly-Phe-Met-OMe (**7a**) oder Boc-Gly-Gly-Phe-D-Met-OMe (**7b**) werden unter Argon mit 7 ml 3 N HCl in absol. Essigester bei Raumtemp. behandelt. Zunächst entsteht eine klare Lösung, aus der bald darauf ein farbloser Feststoff ausfällt. Nach vollständiger Abspaltung der Schutzgruppe wird die Fällung durch Zugabe von absol. Diethylether und durch kurzes Aufbewahren in der Kälte vervollständigt. Anschließend wird vom Lösungsmittel abgesaugt und gut mit absol. Diethylether gewaschen. Das so erhaltene Hydrochlorid wird in Chloroform suspendiert und mit so viel NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt, bis der pH-Wert 8 erreicht ist. Nun wird mit Chloroform erschöpfend extrahiert, die vereinigten Chloroformphasen werden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels erhält man das Amin **8a** bzw. **8b** in einer Ausb. von 81–87% als farbloses Pulver.

b) 1.08 g (4 mmol) Me<sub>2</sub>Tyr(tBu)-OH (**6**) und 1.30 g (4 mmol) 2,2'-Dithiobis(4,6-dimethylpyridin)-3,3'-dicarbonitril<sup>6)</sup> werden analog der Vorschrift für **5** mit 1.04 g (4 mmol) Triphenylphosphan in 5 ml Dioxan zum *O*-tert-Butyl-*N,N*-dimethyl-L-tyrosin-(3-cyan-4,6-dimethylpyridin)thiolester umgesetzt. Man erhält ein gelbes Öl, das umgehend mit dem Tetrapeptidester H-Gly-Gly-Phe-Met-OMe (**8a**) oder H-Gly-Gly-Phe-D-Met-OMe (**8b**) in

30 ml absol. 1,4-Dioxan bei Raumtemp. gerührt wird, bis dünnschichtchromatographisch kein primäres Amin mehr nachzuweisen ist. Das Lösungsmittel wird i. Vak. abdestilliert und der Rückstand mit 10 ml absol. Essigester versetzt. Das schwerlösliche 1,2-Dihydro-4,6-dimethyl-2-thioxo-3-pyridincarbonitril wird abfiltriert und gut mit Essigester gewaschen. Das Filtrat wird mit 1 N Natronlauge und Wasser geschüttelt, die organische Phase wird eingengt und auf eine 25 cm lange Kieselgelsäule gegeben. Mit Essigester werden zunächst weniger polare Verunreinigungen entfernt, dann wird das Produkt mit Dichlormethan/Methanol (95:5) eluiert. Nach Mitteldruckchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (96:4) erhält man einen farblosen Feststoff in einer Ausb. von 70 %.

Me<sub>2</sub>Tyr(tBu)-Gly-Gly-Phe-L-Met-OMe (**9a**): Schmp. 103–104°C,  $R_F = 0.27$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH, 95:5),  $[\alpha]_D^{20} = +5.52$  ( $c = 0.87$ , Chloroform).

C<sub>34</sub>H<sub>49</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S (671.9) Ber. C 60.78 H 7.35 N 10.42 S 4.77  
Gef. C 60.54 H 7.39 N 10.30 S 4.82

Me<sub>2</sub>Tyr(tBu)-Gyl-Gly-Phe-D-Met-OMe (**9b**): Schmp. 149–150°C,  $R_F = 0.31$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH, 95:5),  $[\alpha]_D^{20} = +4.88$  ( $c = 1.15$ , Chloroform).

C<sub>34</sub>H<sub>49</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S (671.9) Ber. C 60.78 H 7.35 N 10.42 S 4.77  
Gef. C 60.69 H 7.47 N 10.15 S 4.68

*O-tert-Butyl-N,N-dimethyl-L-tyrosyl-glycyl-glycyl-L-phenylalanyl-L-leucin-methylester* (**14**): 1.65 g (3 mmol) Z-Gly-Gly-Phe-Leu-OMe (**12**) werden in 15 ml absol. Methanol in Gegenwart von 300 mg Pd/C (5% Pd) unter einem Druck von 3 at bei 2–3 h hydriert. Anschließend wird vom Katalysator abfiltriert und i. Vak. zur Trockene eingedampft. Der erhaltene Tetrapeptidester H-Gly-Gly-Phe-Leu-OMe (**13**) wird analog der Vorschrift für **9a**, **b** [b]) mit *O-tert-Butyl-N,N-dimethyl-L-tyrosin-(3-cyan-4,6-dimethyl-2-pyridinthio)ester*, dargestellt aus 1.08 g (4 mmol) Me<sub>2</sub>Tyr(tBu)-OH (**6**), umgesetzt; Ausb. 1.47 g (75%) farbloses **14**, Schmp. 95–97°C,  $R_F = 0.35$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH, 95:5),  $[\alpha]_D^{20} = -19.4$  ( $c = 1.05$ , Chloroform).

C<sub>35</sub>H<sub>51</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub> (653.8) Ber. C 64.30 H 7.86 N 10.71 Gef. C 64.06 H 7.95 N 10.45

*O-tert-Butyl-N,N-dimethyl-L-tyrosyl-glycyl-glycyl-L-phenylalanyl-L-methionin-amid* (**10a**), *O-tert-Butyl-N,N-dimethyl-L-tyrosyl-glycyl-glycyl-L-phenylalanyl-D-methionin-amid* (**10b**), *O-tert-Butyl-N,N-dimethyl-L-tyrosyl-glycyl-glycyl-L-phenylalanyl-L-leucin-amid* (**15**): 40 ml absol. Methanol werden bei 0°C mit trockenem Ammoniak gesättigt. Zu dieser Lösung gibt man 1.8 mmol des Pentapeptidesters **9a**, **9b** oder **14** und läßt die entstehende Lösung 3–4 d bei Raumtemp. stehen. Anschließend wird die Lösung zur Trockene eingedampft und der erhaltene farblose Feststoff i. Vak. über Phosphorpentoxid getrocknet.

Me<sub>2</sub>Tyr(tBu)-Gly-Gly-Phe-L-Met-NH<sub>2</sub> (**10a**): Schmp. 192–194°C,  $[\alpha]_D^{20} = +23.4$  ( $c = 1.1$ , Methanol).

C<sub>33</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S (656.9) Ber. C 60.34 H 7.37 N 12.80 S 4.88  
Gef. C 60.15 H 7.44 N 12.65 S 4.85

Me<sub>2</sub>Tyr(tBu)-Gly-Gly-Phe-D-Met-NH<sub>2</sub> (**10b**): Schmp. 190–191°C,  $[\alpha]_D^{20} = +58.7$  ( $c = 1.1$ , Methanol)

C<sub>33</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S (656.9) Ber. C 60.34 H 7.37 N 12.80 S 4.88  
Gef. C 60.32 H 7.35 N 12.54 S 4.89

Me<sub>2</sub>Tyr(tBu)-Gly-Gly-Phe-Leu-NH<sub>2</sub> (**15**): Schmp. 176°C,  $[\alpha]_D^{20} = +17.38$  ( $c = 1.54$ , Methanol).

C<sub>34</sub>H<sub>50</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub> (688.8) Ber. C 63.93 H 7.89 N 13.16 Gef. C 63.72 H 7.93 N 13.36

*N,N*-Dimethyl-*L*-tyrosyl-glycyl-glycyl-*L*-phenylalanyl-*L*-methionin-amid (**11a**), *N,N*-Dimethyl-*L*-tyrosyl-glycyl-glycyl-*L*-phenylalanyl-*D*-methionin-amid (**11b**) *N,N*-Dimethyl-*L*-tyrosyl-glycyl-glycyl-*L*-phenylalanyl-*L*-leucin-amid (**16**): 1.6 mmol geschütztes Pentapeptid-amid **10a**, **10b** oder **15** werden mit 100 ml eiskalter konz. Salzsäure übergossen und bei 0°C unter Argon 10 min gerührt, wobei eine klare Lösung entsteht. Dann wird i. Hochvak. zur Trockene eingedampft (die Badtemp. sollte 10°C nicht überschreiten). Der erhaltene Feststoff wird aus Methanol/Aceton umkristallisiert und gut mit absol. Diethylether gewaschen. Das so erhaltene Hydrochlorid wird in wenig Methanol gelöst und mit Hilfe eines basischen Ionenaustauschers (Merck Lewatit MP 7080) in das freie Amin übergeführt. Das Methanol wird i. Vak. entfernt und das Produkt i. Hochvak. getrocknet. Man erhält ein farbloses Pulver in einer Ausb. von 66–70%.

Me<sub>2</sub>Tyr-Gly-Gly-Phe-*L*-Met-NH<sub>2</sub> (**11a**): Schmp. 185–187°C,  $[\alpha]_D^{20} = +50.17$  ( $c = 0.59$ , Methanol). — <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, [D<sub>6</sub>]DMSO, TMS): δ = 9.11 (s, 1H), 8.14 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 6.20 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 4.50 (m, 1H), 4.20 (dd,  $J_1 = 14.9$  Hz,  $J_2 = 8.3$  Hz, 1H), 3.76–3.55 (m, 4H), 3.21 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 3.04 (dd,  $J_1 = 13.8$  Hz,  $J_2 = 4.3$  Hz, 1H), 2.86–2.75 (m, 2H), 2.65 (dd,  $J_1 = 13.8$  Hz,  $J_2 = 6.2$  Hz, 1H), 2.33 (s, 6H), 1.58 (m, 1H), 1.47 (m, 2H), 0.88 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 0.83 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H).

C<sub>29</sub>H<sub>40</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S (600.7) Ber. C 57.98 H 6.71 N 13.99 S 5.34  
Gef. C 57.79 H 6.69 N 13.77 S 5.56

Me<sub>2</sub>Tyr-Gly-Gly-Phe-*D*-Met-NH<sub>2</sub> (**11b**): Schmp. 155–157°C,  $[\alpha]_D^{20} = +36.40$  ( $c = 0.79$ , Ethanol). — <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, [D<sub>6</sub>]DMSO, TMS): δ = 9.12 (s, 1H), 8.18 (m, 2H), 8.02 (t,  $J = 5.5$  Hz, 1H), 7.94 (t,  $J = 5.4$  Hz, 1H), 7.28–7.16 (m, 6H), 7.08 (s, 1H), 6.98 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 6.62 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 4.46 (dd,  $J_1 = 15.0$  Hz,  $J_2 = 7.4$  Hz, 1H), 4.18 (m, 1H), 3.76–3.59 (m, 4H), 3.22 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 2.95 (dd,  $J_1 = 6.8$  Hz,  $J_2 = 13.4$  Hz, 1H), 2.88–2.78 (m, 2H), 2.65 (dd,  $J_1 = 6.1$  Hz,  $J_2 = 13.7$  Hz, 1H), 2.23 (s, 6H), 2.13 (m, 2H), 1.97 (s, 3H), 1.87 (m, 1H), 1.66 (m, 1H).

C<sub>29</sub>H<sub>40</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S (600.7) Ber. C 57.98 H 6.71 N 13.99 S 5.34  
Gef. C 58.17 H 6.74 N 13.86 S 5.52

Me<sub>2</sub>Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-NH<sub>2</sub> (**16**): Schmp. 183–184°C,  $[\alpha]_D^{20} = +15.69$  ( $c = 0.92$ , Ethanol). — <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, [D<sub>6</sub>]DMSO, TMS): δ = 9.11 (s, 1H), 8.14 (d,  $J = 8$  Hz, 1H), 8.02–7.91 (m, 3H), 7.26–7.14 (m, 5H), 7.09 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.97 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 6.20 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 4.50 (m, 1H), 4.20 (dd,  $J_1 = 14.9$  Hz,  $J_2 = 8.3$  Hz, 1H), 3.76–3.55 (m, 4H), 3.21 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 3.04 (dd,  $J_1 = 13.8$  Hz,  $J_2 = 4.3$  Hz, 1H), 2.86–2.75 (m, 2H), 2.65 (dd,  $J_1 = 13.8$  Hz,  $J_2 = 6.2$  Hz, 1H), 2.33 (s, 6H), 1.58 (m, 1H), 1.47 (m, 2H), 0.88 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 0.83 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H).

C<sub>30</sub>H<sub>42</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub> (582.7) Ber. C 61.84 H 7.27 N 14.42 Gef. C 61.75 H 7.22 N 14.31

<sup>1</sup>) 49. Mitteilung: U. Schmidt und J. Wild, Angew. Chem., **96**, 996 (1984); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **23**, 991 (1984).

<sup>2</sup>) 10. und letzte Mitteilung: Siehe Lit. <sup>1</sup>).

<sup>3</sup>) S. Sakakibara und N. Inukai, Bull. Chem. Soc. Jpn. **38**, 1979 (1965).

<sup>4</sup>) Zusammenfassung: T. Mukaiyama, Angew. Chem. **88**, 111 (1976); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **15**, 94 (1976).

<sup>5</sup>) M. Pais, F.-X. Jarreau, X. Lusinchi und R. Goutarel, Ann. Chim. **1966**, 83.

<sup>6</sup>) U. Schmidt und G. Giesselmann, Chem. Ber. **93**, 1594 (1960).

<sup>7</sup>) U. Schmidt und D. Heermann, Angew. Chem. **91**, 330 (1979); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **18**, 308 (1979).

- <sup>8)</sup> *Y. Wolman, A. Schejter und M. Sokolovski*, J. Am. Chem. Soc. **94**, 1720 (1972).  
<sup>9)</sup> *E. Bayer und M. Mutter*, Chem. Ber. **107**, 1344 (1974); *F. Flor, C. Birr und T. Wieland*, Liebigs Ann. Chem. **1973**, 1601.  
<sup>10)</sup> *B. F. Erlanger und E. Brand*, J. Am. Chem. Soc. **73**, 3508 (1951); *S. Guttman*, Helv. Chim. Acta **44**, 721 (1961).  
<sup>11)</sup> *T. Shioiri, K. Ninomiya und S. Yamada*, J. Am. Chem. Soc. **94**, 6203 (1972).  
<sup>12)</sup> *R. E. Bowmann und H. H. Stroud*, J. Chem. Soc. **1950**, 1342.  
<sup>13)</sup> *E. Schröder*, Liebigs Ann. Chem. **670**, 127 (1963).  
<sup>14)</sup> *C. Schattenkerk, I. Voskuyl-Holtkamp und R. Bokhorst*, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas **92**, 92 (1973).  
<sup>15)</sup> *S. Salvadori, E. Menegatti, G. Sarto und R. Tomatis*, Int. J. Pept. Protein Res. **18**, 393 (1981).  
<sup>16)</sup> *Z. Pravda, K. Poduska und K. Bláha*, Coll. Czech. Chem. Commun. **29**, 2626 (1964).  
<sup>17)</sup> *E. Wünsch, E. Jaeger und G. Schönsteiner-Altmann*, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **352**, 1568 (1971).

[200/84]