

Peptidkonformationen, 40¹⁾

Cyclische Hexapeptidanalogue des Thymopoietins Synthese und Konformationsstudien

Horst Kessler* und Bernhard Kutscher ^{†)}

Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt (Main),
Niederurseler Hang, D-6000 Frankfurt (Main) 50

Eingegangen am 18. Oktober 1985

Die Synthesen der vier cyclischen Hexapeptide cyclo[-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Xxx(OBzl)-Val-Tyr-Gly-], **c1**: Xxx = Asp, **c2**: Xxx = Glu, cyclo[-Tyr-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Xxx(OBzl)-D-Val-], **c3**: Xxx = Asp, **c4**: Xxx = Glu mit Thymopoietin-analogen Sequenzen werden beschrieben. Die linearen Vorstufen der Cyclen wurden nach klassischen Methoden der Peptidchemie synthetisiert. Die Cyclisierungen erfolgten mit der neu entwickelten Carbodiimid/DMAP-Methode. Konformationsuntersuchungen an den vier cyclischen Hexapeptiden erbrachten unterschiedliche Ergebnisse. Für die beiden Glycin enthaltenden Cyclohexapeptide **c1** und **c2** muß aufgrund der NMR-spektroskopischen Daten ein Gleichgewicht mehrerer Konformationen angenommen werden. Dagegen sind die D- und L-Valin enthaltenden Cyclohexapeptide **c3** und **c4** konformativ einheitlich. Die Konformationsanalyse zeigt, daß diese Cyclopeptide in einer $\beta\text{II}'\beta\text{I}'$ -Struktur vorliegen.

Peptide Conformations, 40¹⁾. – Cyclic Hexapeptide Analogues of Thymopoietin. – Synthesis and Conformational Analysis

The syntheses of the four cyclic hexapeptides cyclo[-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Xxx(OBzl)-Val-Tyr-Gly-], **c1**: Xxx = Asp, **c2**: Xxx = Glu, cyclo[-Tyr-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Xxx(OBzl)-D-Val-], **c3**: Xxx = Asp, **c4**: Xxx = Glu with thymopoietin-analogous sequences are described. The linear precursors of the cyclopeptides were synthesized by classical methods of peptide chemistry. Cyclization was carried out by the newly developed carbodiimide/DMAP method. The conformational studies of the four cyclohexapeptides gave different results. The NMR data of the glycine-containing cyclopeptides **c1** and **c2** correlate with an equilibrium of different conformations, whereas the D- and L-valine-containing cyclohexapeptides **c3** and **c4** are conformationally homogenous. The conformational analysis proves that these cyclohexapeptides adopt a $\beta\text{II}'\beta\text{I}'$ -structure.

Im Anschluß an unsere Arbeiten über die Synthese von Cyclopentapeptidanalogen des Thymopoietins^{1–3)} sowie der Bestimmung ihrer Konformation^{1,4)} und biologischen Wirkung^{3,4)} berichten wir hier über cyclische Hexapeptide, welche die aktive Sequenz 32–36 des Thymopoietins (TP5⁵⁾/SP5⁶⁾ in reiner oder abgewandelter Form enthalten⁷⁾. Die Schwierigkeiten bei der Synthese cyclischer Pentapeptide mit all-L-Aminosäuren führten zu der Überlegung, die all-L-TP5/SP5-

^{†)} Jetzige Adresse: Homburg Degussa Pharma, Daimlerstraße 25, D-6000 Frankfurt (Main) 1

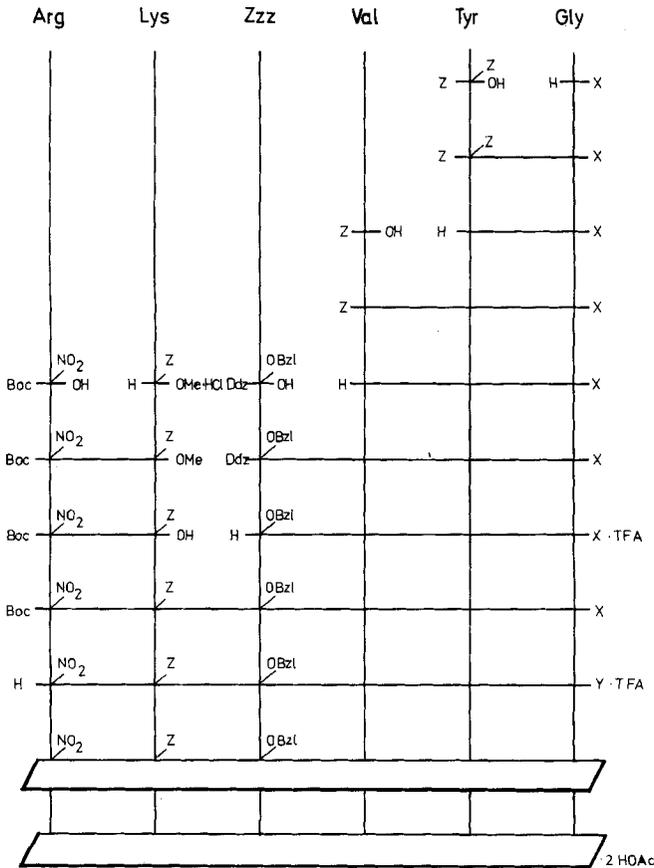
Sequenz durch Glycin zu überbrücken. Außerdem berichten wir noch über zwei weitere Cyclohexapeptide, in denen die sich in den Cyclopentapeptiden bewährte, durch D-Val abgewandelte TP5/SP5-Sequenz durch die in natürlichem Thymopointin folgende Aminosäure Valin (Position 37)⁸⁾ erweitert wurde.

Synthese der Cyclohexapeptide

Die Verwendung von Glycin zur Überbrückung der all-L-TP5/SP5-Sequenzen hat mehrere Vorteile: Als achirale Aminosäure bietet Glycin die Möglichkeit einer

Syntheschema I

	Zzz	X	Y
c1	Asp Asp	N ₂ H ₂ Boc OBu ^t	N ₂ H ₃ OH
c2	Glu	OBu ^t	OH



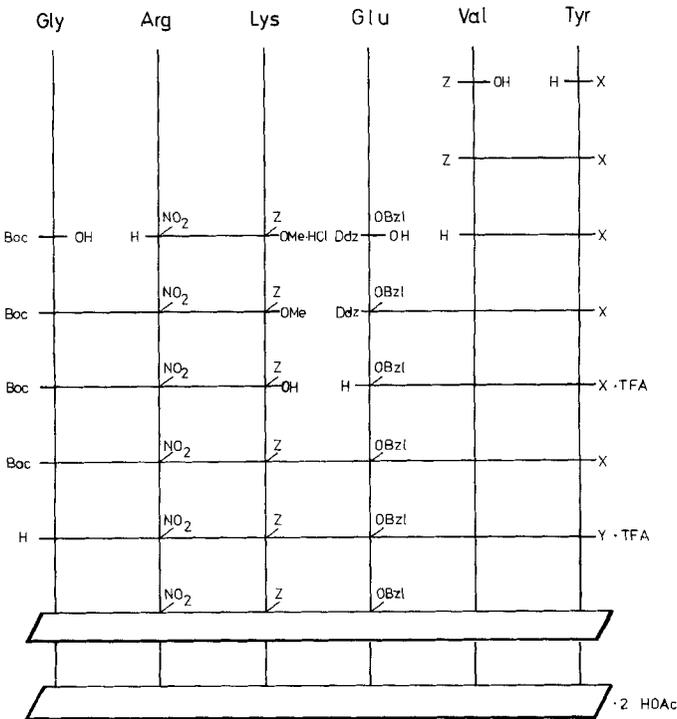
racemisierungsfreien Cyclisierungsstelle bei minimalem sterischem Anspruch. Außerdem zeigten Konformationsuntersuchungen⁹⁾, daß Glycin die Position von D-Aminosäuren übernehmen kann, so daß eine günstigere Konformation des linearen Vorläufers erwartet wurde. Dadurch sollten Cyclohexapeptide dieser Struktur auch durch Azidcyclisierung zugänglich sein.

Die Synthese nach Schema I ($Z_{zz} = \text{Asp}$, $X = \text{N}_2\text{H}_2\text{Boc}$, $Y = \text{N}_2\text{H}_3$) verlief unter Verwendung der bekannten Aminosäurederivate $Z\text{-Tyr}(Z)\text{-OH}$ ¹⁰⁾ und $\text{H-Gly-N}_2\text{H}_2\text{Boc}$ ¹¹⁾ problemlos, so daß das lineare Hexapeptidhydrazid nach Abspaltung der C- und N-terminalen Schutzgruppen leicht herstellbar war. Die Cyclisierung erfolgte wie bereits beschrieben²⁾, und nach Gelchromatographie wurde das Cyclopeptid $\text{cyclo}[-\text{Arg}(\text{NO}_2)\text{-Lys}(Z)\text{-Asp}(\text{OBzl})\text{-Val-Tyr-Gly-}]$ (**c1**) in 15% Ausbeute isoliert¹²⁾. Zu Vergleichszwecken wurde **c1** nach Syntheschema I ($Z_{zz} = \text{Asp}$, $X = \text{OBu}^t$, $Y = \text{OH}$) auch durch EDCI/DMAP-Cyclisierung hergestellt. Die Synthese verlief mit H-Gly-OBu^t ¹³⁾ anstelle von $\text{H-Gly-N}_2\text{H}_2\text{Boc}$ wie bereits beschrieben. Die Cyclisierung ergab nach Gelchromatographie das Cyclopeptid **c1** in 38% Ausbeute¹²⁾.

Zur Synthese des homologen, Glu enthaltenden Cyclohexapeptids **c2** wurden ebenfalls beide Cyclisierungsmethoden erprobt. Nach Syntheschema I ($Z_{zz} = \text{Glu}$, $X = \text{OBu}^t$, $Y = \text{OH}$) wurde $\text{cyclo}[-\text{Arg}(\text{NO}_2)\text{-Lys}(Z)\text{-Glu}(\text{OBzl})\text{-Val-Tyr-}]$

Syntheschema II

c2: $X = \text{N}_2\text{H}_2\text{Boc}$, $Y = \text{N}_2\text{H}_3$

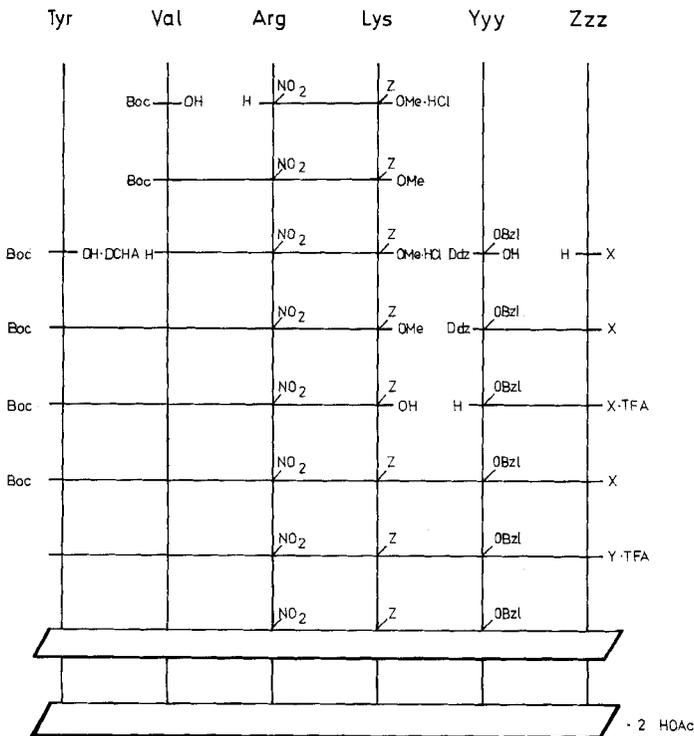


Gly-] (c2) durch EDCI/DMAP-Cyclisierung in 51% Ausbeute erhalten. Für die Synthese von c2 durch Azidcyclisierung wurde eine andere Cyclisierungsstelle mit N-terminalem Glycin ausgewählt. Dabei wurde nach Syntheschema II (X = N₂H₂Boc, Y = N₂H₃) Boc-Gly-OH¹⁴⁾ mit den bekannten Dipeptiden gekuppelt und das C-terminal entschützte Tripeptid verknüpft. Nach Abspaltung der terminalen Schutzgruppen und Cyclisierung wurde c2 in 8% Ausbeute erhalten.

Syntheschema III

	Yyy	Zzz	X	Y
c3	Asp	Val	OBu ^t	OH ^{a)}
c4	Glu	Val	OBu ^t	OH ^{a)}
	Glu	D-Val	OBu ^t	OH

a) C-terminale Inversion bei der Cyclisierung mit EDCI/DMAP.



Die bemerkenswerten Aktivitäten von cyclo[Arg-Lys-Glu-D-Val-Tyr]^{3,4,7)} führten dazu, daß die dort vorhandene Sequenz in einem Cyclohexapeptid durch ein weiteres Val überbrückt werden sollte. Val steht in Thymopoietin in Position 37 und schließt damit direkt an die TP5-Sequenz an. Die Synthese des Asp enthaltenden Cyclopeptids gelang nach Syntheschema III (Yyy = Asp, Zzz =

L-Val, X = OBU^t, Y = OH), wobei vorausgesetzt wurde, daß auch bei diesem linearen all-L-Vorläufer vollständige Racemisierung (Inversion) bei der ED-Cl(DCC)/DMAP-Cyclisierung auftreten sollte^{2,15}. Boc-Val-OH¹⁴ wurde an das bekannte Dipeptid ankondensiert und nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe durch 2 N HCl/Dioxan an Boc-Tyr-OH · DCHA gekuppelt. Nach Verseifung wurde das erhaltene Tetrapeptid mit dem bekannten Dipeptid verknüpft. Nach Abspaltung der terminalen Schutzgruppen und Cyclisierung wurde das gereinigte Produkt **c3** in 32% Ausbeute isoliert. Das entschützte Peptid wurde dann durch chirale Aminosäureanalyse untersucht, was 43.5% D-Val ergab, so daß wie erwartet cyclo[-Tyr-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Asp(OBzl)-D-Val-] (**c3**) entstanden war.

Das homologe, Glu enthaltende Cyclohexapeptid **c4** wurde ebenfalls nach Syntheschema III (Yyy = Glu, Zzz = L-Val, X = OBU^t, Y = OH) synthetisiert. Das Cyclopeptid cyclo[-Tyr-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-D-Val-] (**c4**) konnte

Tab. 1. ¹H-NMR-Daten (δ [ppm]; J [± 0.2 Mz]; $\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]) von **c1** und **c2** in [D₆]DMSO bei 295 K

c1	Arg ^{a)}	Lys ^{b)}	Asp ^{c)}	Val	Tyr ^{d)}	Gly
NH	8.20	7.90	8.13	7.50	7.96	8.32
$\Delta\delta/\Delta T$	2.64	2.52	3.76	-0.74	2.85	4.87
C ^α H	4.30	4.14	4.48	4.05	4.05	A 3.39 B 3.82
C ^β H	1.70	1.68	A 2.82 B 2.96	2.05	A 2.85 B 2.90	
C ^γ H	1.83 1.44	1.22		0.74 0.82		
C ^δ H ₂	3.15	1.40				
C ^ε H ₂		2.95				
N ^ε H		7.22				
³ J _{HNC^αH}	8.09	8.09	7.82	6.99	5.88	A 5.15 B 5.51 15.8
² J _{HC^αH}						
c2	Arg ^{a)}	Lys ^{b)}	Glu ^{c)}	Val	Tyr ^{d)}	Gly
NH	8.23	7.90	7.78	7.56	7.95	8.29
$\Delta\delta/\Delta T$	2.57	2.65	1.49	1.13	3.56	3.70
C ^α H	4.20	4.13	4.18	3.92	4.09	A 3.58 B 3.69
C ^β H	A 1.60 B 1.71	1.70	A 1.95 B 2.08	1.85	A 2.94 B 2.94	
C ^γ H	1.51	1.28	2.40	A 0.73 B 0.79		
C ^δ H ₂	3.15	1.40				
C ^ε H ₂		2.95				
N ^ε H		7.22				
³ J _{HNC^αH}	8.09	8.09	6.98	6.62	6.25	A 4.8 B 6.6 16.55
² J _{HC^αH}						

a) Guanidino-NH, 8.5 (1H), 7.9 (br., 2H). — b) Z-Gruppe, Bzl-CH₂ 5.0; arom. Protonen 7.35. — c) Benzylester, Bzl-CH₂ 5.1; arom. Protonen 7.35. — d) Tyr-OH 9.17; arom. Protonen A 6.95 und B 6.63.

nach der Reinigung in 28% Ausbeute isoliert werden. Das gleiche Cyclopeptid **c4** wurde zum Vergleich auch nach Syntheschema III (Yyy = Glu, Zzz = D-Val, X = OBU¹, Y = OH) über das lineare, C-terminal D-Val enthaltende Hexapeptid hergestellt. Die Cyclisierung mit EDCI/DMAP ergab **c4** in 38% Ausbeute¹⁶⁾.

NMR-Untersuchungen

Die 270-MHz-¹H-NMR-Spektren der Cyclohexapeptide **c1**–**c4** konnten trotz überlagerter Spinsysteme in bewährter Weise durch Aufnahme von COSY-Spektren^{17–20)} und Detektion von NOE-Effekten²¹⁾ zugeordnet werden. Die ¹H-NMR-Daten der Cyclohexapeptide **c1**–**c4** sind zusammen mit den Temperaturgradienten der NH-Signale in Tab. 1 und 2 zusammengefaßt. Eine Übersicht der durch NOE-Differenzspektroskopie gemessenen charakteristischen NOE-Effekte

Tab. 2. ¹H-NMR-Daten δ [ppm]; J [± 0.2 Hz]; $\Delta\delta/\Delta T$ [ppm/K] von **c3** und **c4** in [D₆]DMSO bei 295 K

c3	Arg ^{a)}	Lys ^{b)}	Asp ^{c)}	D-Val	Tyr ^{d)}	Val
NH	8.44	8.32	7.90	8.44	8.67	7.33
$\Delta\delta/\Delta T$	3.09	6.07	2.15	9.30	6.94	1.32
C ^α H	3.63	3.52	4.66	3.70	4.15	4.40
C ^β H	A 1.62 B 1.66	1.86	A 2.59 B 2.61	1.70	A 2.64 B 3.14	2.17
C ^γ H	1.42	1.22		A 0.40 B 0.78		A 0.89 B 0.90
C ^δ H ₂	3.16	1.38				
C ^ε H ₂		2.95				
N ^ε H		7.22				
³ J _{HNC^αH}	5.51	6.99	6.62	7.0	8.28	9.56
² J _{HCPH}					13.6	
³ J _{HC^αCPH}					A 11.5 B 4.78	
c4	Arg ^{a)}	Lys ^{b)}	Glu ^{c)}	D-Val	Tyr ^{d)}	Val
NH	8.37	7.96	7.54	8.28	8.58	7.47
$\Delta\delta/\Delta T$	2.96	2.78	0.38	7.61	4.87	2.67
C ^α H	3.77	3.62	4.32	3.70	4.22	4.40
C ^β H	A 1.71 B 1.75	1.78	A 1.92 B 1.95	1.72	A 2.60 B 3.14	2.20
C ^γ H	1.51	1.22	2.32	A 0.40 B 0.80		A 0.90 B 0.90
C ^δ H ₂	3.15	1.39				
C ^ε H ₂		2.95				
N ^ε H		7.22				
³ J _{HNC^αH}	3.68	6.98	6.25	6.25	8.45	9.93
² J _{HCPH}					13.97	
³ J _{HC^αCPH}					A 11.87 B 4.15	

a) Guanidino-NH, 8.52 (1H), 7.9 (br., 2H). — b) Z-Gruppe, Bzl-CH₂ 5.0; arom. Protonen 7.35. — c) Benzylester, Bzl-CH₂ 5.1; arom. Protonen 7.35. — d) Tyr-OH 9.17; arom. Protonen A 6.95 und B 6.63.

von **c2** und **c3** gibt Tab. 3. Die in **c1** und **c4** beobachteten NOE-Effekte entsprechen völlig den in **c2** bzw. **c3** gefundenen. Die Tabellenwerte konnten durch NOESY-Spektren²²⁻²⁴⁾ bestätigt werden.

Tab. 3. NOE-Effekte in % von **c2** und **c3** in [D₆]DMSO bei 295 K

c2	
Eingestrahlt	Beobachtet ^{a)}
Gly-NH ^{b)}	C ^α H ₂ -Gly 10.7; C ^α H-Tyr 8.6
Arg-NH ^{b)}	C ^α H ₂ -Gly 9.4; C ^α H-Arg 4.8; NH-Lys 4.0
Tyr-NH ^{b)}	C ^α H-Val 6.8; C ^α H-Tyr 6.3
Lys-NH ^{b)}	C ^α H-Lys 6.0; C ^α H-Arg 2.7; NH-Arg 2.7
Glu-NH	C ^α H-Glu + Lys ^{c)} 8.3
Val-NH	C ^α H-Glu 9.0; C ^α H-Val 4.5
Val-C ^α H	NH-Tyr 7.3; C ^β H-Val 5.7
c3	
Eingestrahlt	Beobachtet ^{a)}
Tyr-NH	C ^α H-Val 20.0; C ^β H _A -Tyr 5.1; C ^α H-Tyr 5.0
D-Val-NH ^{b)}	NH-Val 4.1; C ^β H _B -Tyr 2.0
Arg-NH ^{b)}	C ^α H-Asp 7.3; C ^α H-Val 3.6
Lys-NH	C ^α H-Val 6.7; C ^β H-Val 6.0
Asp-NH	C ^α H-Lys 12.8; C ^α H-Arg 11.0
Asp-C ^α H	C ^α H-Asp 3.6; C ^α H-Lys 3.2; C ^β H ₂ -Asp 5.9
Val-C ^α H	NH-D-Val 9.4; C ^β H ₂ -Asp 6.8
D-Val-C ^α H	NH-Arg 16.5
	NH-Tyr 10.3

^{a)} NOE-Werte, nach Größe geordnet. — ^{b)} Durch Überlagerungen kein selektives Einstrahlen möglich. — ^{c)} Durch Überlagerung keine Unterscheidung möglich.

Konformationsdiskussion

1. Diskussion der Konformation von **c1** und **c2**

Beide Cyclopeptide zeigen im ¹H-NMR-Spektrum nur einen Signalsatz, wobei eine deutliche Aufspaltung der C^γH₃-Val-Signale fehlt^{1,7)}. Wendet man zusätzlich die in Lit.²⁵⁾ dargestellten Kriterien für konformative Einheitlichkeit auf die Cyclopeptide **c1** und **c2** an, so muß hier die konformative Homogenität in Frage gestellt werden:

— Während der Temperaturkoeffizient von NH-Val in beiden Peptiden für dessen interne Orientierung spricht und in **c2** NH-Glu ebenfalls einen niedrigen Gradienten zeigt, ist sonst keine starke Differenzierung der NH-Koeffizienten festzustellen.

— Die in Cyclopeptiden häufig gefundene bevorzugte interne Orientierung der Glycin-Amidprotonen²⁶⁾ wird hier nicht beobachtet, da in beiden Peptiden NH-Gly jeweils den höchsten Gradienten zeigt.

— Die diastereotopen C^α-Protonen des Glycinrestes weisen in **c2** nur eine Differenz der chemischen Verschiebung von etwa 0.1 ppm auf, die jedoch bei **c1** mit 0.4 ppm deutlich größer ist.

– Eine starke Differenzierung der vicinalen Kopplungen zu diastereotopen Protonen ist weder bei Gly (NH, C α H $_2$ -Kopplungen) noch bei Asp und Tyr (C α H, C β H $_2$ -Kopplungen) zu beobachten.

– Die geringe Differenzierung der chemischen Verschiebungen der diastereotopen Methylenprotonen der Tyr- und Asp-Reste weisen auf eine flexible Seitenkette hin, die gemeinhin nur bei einem flexiblen Peptidgerüst gefunden wird.

– Alle $^3J_{\text{HNC}\alpha\text{H}}$ -Kopplungskonstanten bewegen sich im Bereich von 6–8 Hz, wobei ein Wert um 7.5 Hz als Mittelwert bei freier Beweglichkeit interpretiert wird²⁵⁾.

Beim Versuch einer Konformationsbestimmung von **c2**, dem Peptid mit zwei niedrigen Koeffizienten, fällt die interne Orientierung zweier unmittelbar aufeinanderfolgender Aminosäuren auf. Dieses für cyclische Hexapeptide ungewöhnliche Verhalten zeigen auch andere Cyclopeptide^{27,28)}, denen trotzdem definierte, aber von den üblichen Normen abweichende Strukturen zugeordnet werden konnten. Im Gegensatz zu **c2** und **c1** zeigen diese Verbindungen stark differenzierte Temperaturgradienten und Kopplungskonstanten, die zusammen mit charakteristischen NOE-Effekten einen plausiblen Konformationsvorschlag mit einer γ - und einer α -Schleife²⁹⁾ ermöglichen. Modellbetrachtungen, die diese Strukturen auf **c2** übertragen, ergaben weder Übereinstimmung mit gemessenen Temperaturgradienten noch mit den NOE-Werten aus Tab. 3 oder den $^3J_{\text{HNC}\alpha\text{H}}$ -Kopplungskonstanten. Bei diesen Betrachtungen müßte z. B. NH-Gly in der durch die Molekülstruktur vorbestimmten quasi- γ -Schleife einen Temperaturgradienten zeigen, der mit interner Orientierung vergleichbar ist. Gegen diese Orientierung spricht die relative Größe des gemessenen Temperaturgradienten ebenso wie der deutliche NOE-Effekt NH-Gly \rightleftharpoons C α H-Tyr. Auch andere am Modell mögliche Schleifenstrukturen zeigten mit den Meßwerten keine befriedigende Übereinstimmung, so daß für **c1** und **c2** ein Gleichgewicht mehrerer Konformationen angenommen wird. Ein Konformationsvorschlag aufgrund von $^1\text{H-NMR}$ -Daten einer „gemittelten Konformation“ erscheint nicht sinnvoll³⁰⁾.

2. Diskussion der Konformation von **c3** und **c4**

Beide Cyclopeptide zeigen in den ^1H - und ^{13}C -Spektren erwartungsgemäß nur einen Signalsatz für eine Konformation, in der alle Peptidbindungen *trans*-konfiguriert sind. Als äußerliche Merkmale fallen in beiden Peptiden unterschiedliche C γ H $_3$ -Val-Aufspaltungen auf: Während D-Val eine Aufspaltung von 0.4 ppm zeigt, unterscheiden sich die Methylgruppen von L-Val in der chemischen Verschiebung kaum. Die Auswertung der NH-Temperaturgradienten ergibt für **c3** und **c4** jeweils eine interne Orientierung von NH-Val und NH-Asp bzw. Glu, obwohl die Koeffizienten der beiden Cyclopeptide sich in den Zahlenwerten deutlich unterscheiden. Mit den zwei als intern ermittelten Amidprotonen kann eine pseudosymmetrische Struktur mit zwei β -Schleifen angenommen werden. Diese bei zahlreichen Untersuchungen an Cyclohexapeptiden ebenfalls aufgefundene Struktur^{27,28,31–35)} benötigt die in beiden Cyclen vorhandene 1,4-Stellung der Aminosäuren mit intern orientierten NH-Gruppen. Auswertung der $^3J_{\text{HCN}\alpha\text{H}}$ -Kopplungskonstanten ergibt

sowohl für **c3** als auch für **c4** eine gute Übereinstimmung mit einer $\beta\text{II}'$, $\beta\text{I}'$ -Struktur (Tab. 4).

Tab. 4. Auswertung der $^3J_{\text{HNC}^\alpha\text{H}}$ -Kopplungskonstanten von **c3** und **c4** in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$

c3 Amino- säure	$^3J_{\text{HNC}^\alpha\text{H}}$ [Hz] ^{a)}	Φ [°]	c4 Amino- säure	$^3J_{\text{HNC}^\alpha\text{H}}$ [Hz] ^{a)}	Φ [°]
D-Val	7.6	-39 ± 8	D-Val	6.8	-31 ± 8
		-80 ± 12			80 ± 6
		85 ± 6			-87 ± 8
		155 ± 6			160 ± 6
Tyr	9.0	45 ± 15	Tyr	9.2	48 ± 15
		73 ± 15			68 ± 15
		-95 ± 6			-96 ± 6
Val	10.4	-147 ± 8	Val	10.8	-144 ± 8
		-108 ± 12			-116 ± 10
		-129 ± 12			-126 ± 12
Arg	6.0	24 ± 6	Arg	4.0	11 ± 6
		-76 ± 6			-65 ± 6
		93 ± 6			105 ± 6
Lys	7.6	-165 ± 6	Lys	7.6	-177 ± 6
		39 ± 8			29 ± 8
		80 ± 12			80 ± 12
Asp	7.2	-85 ± 6	Glu	6.8	-85 ± 6
		-155 ± 6			-155 ± 6
		35 ± 8			31 ± 8
		83 ± 8			80 ± 6
		-83 ± 6			-87 ± 6
		-158 ± 6			-160 ± 6

a) $^3J_{\text{HNC}^\alpha\text{H}} = 1.09 J_{\text{obs}}$.

Die aus empirischen Vergleichen von Röntgenstrukturanalysen geforderten Interplanarwinkel Φ_L ³⁶⁾ weichen dabei lediglich für D-Val und Arg (jeweils Position 1 der β -Schleifen) von den über die Meßwerte bestimmten Winkeln signifikant ab. Mit den aus Molekülmodellen gemessenen Winkeln ist eine bessere Übereinstimmung festzustellen. Dies legt den Schluß nahe, daß die an hochsymmetrischen Cyclopeptiden bestimmten Winkelbereiche für kompliziertere Cyclopeptide besonders in Position 1 (für β -Schleifen üblicherweise $i + 1$ -Position genannt³⁶⁾) nur beschränkte Gültigkeit haben. Die große Kopplungskonstante des Val-Restes schränkt die Zahl der möglichen Konformationen ein und erlaubt nur eine Kombination von $\beta\text{II}'$, $\beta\text{I}'$ -Struktur. Eine gleich große Kopplungskonstante wird für den ebenfalls internen Asp- bzw. Glu-Rest nicht gefunden²⁷⁾, was am Molekülmodell plausibel erscheint. Die Bestätigung der vorgeschlagenen Struktur folgt aus den gemessenen NOE-Effekten. In Analogie zu den Pentapeptiden^{1,4,7)} gibt nur die $\beta\text{II}'$ -Schleife eine Erklärung für den NOE-Effekt zwischen NH-Tyr \rightleftharpoons NH-Val. Die enge räumliche Nachbarschaft von NH-D-Val \rightleftharpoons C $^\alpha$ H-Asp (Glu) und NH-Tyr \rightleftharpoons C $^\alpha$ H-D-Val wird durch die sehr großen NOE-Effekte manifestiert.

Die $\beta I'$ -Schleife kann durch die mit 12 bzw. 11% etwa gleich großen NOE-Effekte zwischen $NH\text{-Lys} \rightleftharpoons C^{\alpha}H\text{-Lys}$ und $NH\text{-Lys} \rightleftharpoons C^{\alpha}H\text{-Arg}$ bestätigt werden. Abb. 1 zeigt die resultierende wahrscheinliche Gerüstkonformation von **c3** und **c4** in DMSO-Lösung.

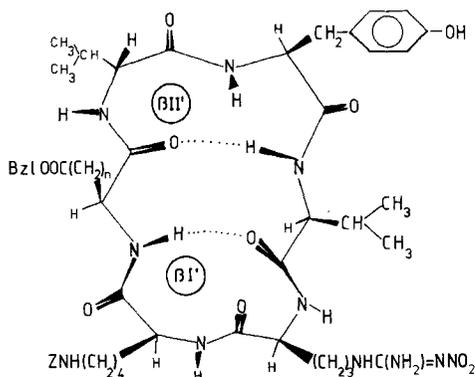


Abb. 1. Wahrscheinliche Gerüstkonformation von **c3** ($n = 1$) und **c4** ($n = 2$) in DMSO

Die $\beta II'$ -Schleife entspricht den Erwartungen bei Anwendung der statistischen Auswertung röntgenographisch untersuchter Proteinschleifen mit den Konfigurationsabfolgen der Aminosäuren ($i + 1 = D\text{-Xxx}$; $i + 2 = L\text{-Xxx}$)³⁶. Die $\beta I'$ -Schleife dagegen würde nur bei einer D,D -Sequenz in ($i + 1$)- bzw. ($i + 2$)-Stellung auftreten. Die in den hier beschriebenen Cyclopeptiden auftretende Konformation stellt daher eine der Ausnahmen³⁷ dieser auf empirischen Daten beruhenden Regeln dar.

Die sich aus den α,β -Kopplungskonstanten zusammen mit dem NOE-Effekt vom NH zum $C^{\beta}H$ ¹³ ergebende Rotamerenverteilung der Tyr-Seitenketten ist in Tab. 5 aufgeführt³⁸. Parallel mit der großen Verschiebungsdifferenz der diastereotopen β -Protonen geht die eindeutige Bevorzugung von P_I im Gleichgewicht der Seitenkettenkonformationen.

Tab. 5. Rotamerenverteilung der Tyr-Seitenketten von **c3** und **c4** in $[D_6]DMSO$ bei 295 K

	c3 Tyr	c4 Tyr
P_I	0.81	0.85
P_{II}	0.19	0.14
P_{III}	0.00	0.01

Die Asp- β -Protonen zeigen die gleiche chemische Verschiebung, so daß eine Bestimmung der Rotamerenverteilung unmöglich wird.

Schlußbemerkung

Alle Cyclohexapeptide zeigten in den Tests auf immunstimulierende Wirkung nur geringe oder keine Aktivität. Während für beide Glycin enthaltenden Cyclo-

peptide **c1** und **c2** aufgrund der NMR-spektroskopischen Daten ein Gleichgewicht mehrerer Konformationen angenommen wird, sind die aus den immunstimulierenden Cyclopentapeptiden^{3,7)} durch Ringerweiterung mit L-Valin hervorgegangenen Cyclohexapeptide **c3** und **c4** konformativ einheitlich. Wie in den entsprechenden Cyclopentapeptiden^{1,2,7)} ergibt die Konformationsanalyse eine β II'-Schleife mit D-Valin in (*i* + 1)-Position.

Für die optimale biologische Wirkung reicht damit offensichtlich die Folge Asp(Glu)-D-Val-Tyr in einer β II'-Schleife als Erkennungsteil nicht aus. Der Einbau einer Aminosäure zwischen Arg und Tyr führt vor allem zu einem wesentlich größeren Abstand dieser beiden Seitenketten, die in den cyclischen Thymopoietin-Pentapeptidanalogen benachbart stehen¹⁾. In den linearen Peptiden wurde beobachtet, daß für die biologische Wirkung die Seitenketten von Arg, Asp (Glu) und Tyr besonders wichtig sind³⁹⁾. Diese Gruppen haben in den Cyclohexapeptiden jedoch wegen der Lage der Aminosäure im Ringgerüst einen großen gegenseitigen Abstand. Die Vermutung, daß die räumliche Nachbarschaft der Guanidinogruppe des Arginins und des aromatischen Rings des Tyrosins für die Wirkung des Peptides essentiell sind, gibt Anlaß zu weiteren Untersuchungen.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* für Sachbeihilfen. Herrn Dr. R. Obermeier und Herrn Dr. K. Müllner, Hoechst AG, danken wir für die Durchführung der biologischen Tests. Herrn K. Eckart und Prof. Dr. H. Schwarz, TU Berlin, danken wir für die Aufnahme der FAB-Massenspektren.

Experimenteller Teil

Die allgemeinen Hinweise aus Lit.²⁾ gelten auch für die vorliegende Arbeit. — HPLC-Trennung: Gerät der Firma Waters (Typ ALC/GPC 204), ausgestattet mit einer halbpräparativen Reversed-Phase-C-18-Säule (μ -Bondapak, 10 × 250 mm). Als Laufmittel wurden Methanol/Wasser-Gemische variabler Zusammensetzung benutzt. — Zur besseren Übersicht der im folgenden beschriebenen Verbindungen werden in Tab. 6 die für die Zielverbindungen **c1**–**c4** benötigten Zwischenstufen aufgeführt.

Tab. 6. Übersicht der für die Zielverbindungen benötigten Zwischenstufen

Zielverbindung	Zwischenstufen ^{a)}
c1	1, 28, 53–65
c2	1, 55, 58, 59, 66–71
c3	1, 2, 7, 14, 15, 72–76
c4	1, 2, 7–9, 16, 21, 22, 72–75, 77, 78

^{a)} Die Synthese der Verbindungen **1**–**52** wird in Lit.²⁾ beschrieben.

Z-Tyr(Z)-Gly-N₂H₂Boc (**53**): Nach Arbeitsvorschrift I²⁾ mit 22.4 g (50 mmol) *Z-Tyr(Z)-OH*¹⁰⁾ und 9.46 g (50 mmol) *H-Gly-N₂H₂Boc*¹¹⁾. Das Produkt fällt als Schaum an; Ausb. 25.1 g (81%); *R_F*(A) 0.36, (B) 0.78, (C) 0.92. — IR (KBr): 3300 (NH), 1730, 1690, 1640 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): δ = 9.6 (s, 1H; Hydrazid), 8.8 (s, 1H; NH, Hydrazid), 8.4 (t, 1H; NH, Gly), 7.0–7.6 (m, 14H; Aromat, Z und Tyr), 4.9–5.3

(2s, 4H; CH₂, Bzl), 4.3 (m, 1H; C^αH, Tyr), 3.8 (d, 2H; C^αH₂, Gly), 2.75–3.1 (m, 2H; C^βH₂, Tyr), 1.4 (s, 9H; Bu^t).

H-Tyr-Gly-N₂H₂Boc (**54**): Nach Arbeitsvorschrift V²) mit 25 g (40 mmol) **53**, jedoch ohne TosOH · H₂O. Das Produkt wird aus EtOH/EE umkristallisiert; Ausb. 13.38 g (95%); Schmp. > 220 °C (Zers.); R_F(A) 0.0, (B) 0.60, (C) 0.61. — IR (KBr): 3300 (NH), 1660–1730 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). — ¹H-NMR (60 MHz; [D₆]DMSO): δ = 8.2–9.2 (br., 3H; NH), 6.6–7.0 (2d, 4H; Aromat, Tyr), 6.0–6.8 (br., 2H; NH₂), 3.4–3.8 (m, 3H; C^αH₂, Gly; C^αH, Tyr), 2.5–3.0 (m, 2H; C^βH₂, Tyr), 1.4 (s, 9H; Bu^t).

H-Tyr-Gly-OBu^t (**55**): Nach Arbeitsvorschrift V²) mit 14 g (25 mmol) *Z*-Tyr(*Z*)-GlyOBu^t⁴⁰ jedoch ohne TosOH · H₂O-Zusatz. Das Produkt wird zum Schaum getrocknet; Ausb. 6.6 g (90%); R_F(A) 0.0, (B) 0.53, (C) 0.66. — IR (KBr): 3280, 1735, 1650 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). — ¹H-NMR (60 MHz; [D₆]DMSO): δ = 7.8 (br., 1H; NH), 6.95 (m, 4H; Aromat, Tyr), 3.4–4.0 (m, 5H; C^αH₂, Gly; C^αH, Tyr; NH₂), 2.4–3.0 (m, 2H; C^βH₂, Tyr), 1.4 (s, 9H; Bu^t).

Z-Val-Tyr-Gly-N₂H₂Boc (**56**): Nach Arbeitsvorschrift I²) mit 8.79 g (35 mmol) *Z*-Val-OH⁴¹ und 12.33 g (35 mmol) **54**. Das Produkt wird aus EE umkristallisiert; Ausb. (93%); Schmp. 135–138 °C; R_F(A) 0.21, (B) 0.78, (C) 0.80. — IR (KBr): 3200–3480 (NH), 1650–1740 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): δ = 9.6 (br., 1H; NH, Hydrazid), 8.8 (br., 1H; NH, Hydrazid), 8.4 (t, 1H; NH, Gly), 7.4–8.0 (2d, 7H; Aromat, *Z* und Tyr), 6.9 (d, 2H; Aromat, Tyr), 5.0 (s, 2H; CH₂, Bzl), 4.1–4.6 (m, 2H; 2 C^αH), 3.8 (m, 2H; C^αH₂, Gly), 2.7–3.1 (m, 2H; C^βH₂, Tyr), 2.1 (m, 1H; C^βH, Val), 1.4 (s, 9H; Bu^t), 0.9 (t, 6H; C^γH₃, Val). — [α]_D²⁰ = -10.8 (c = 0.5, MeOH).

H-Val-Tyr-Gly-N₂H₂Boc (**57**): Nach Arbeitsvorschrift V²) mit 17.6 g (30 mmol) **56**, jedoch ohne TosOH · H₂O. Das Produkt wird aus EE/Diethylether umkristallisiert; Ausb. 13.0 g (95%); Schmp. 155 °C (Zers.); R_F(A) 0.05, (B) 0.58, (C) 0.65. — IR (KBr): 3300 (NH), 1620–1730 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t).

Z-Val-Tyr-Gly-OBu^t (**58**): Nach Arbeitsvorschrift I²) mit 6.08 g (24.2 mmol) *Z*-Val-OH⁴¹ und 6.5 g (22 mmol) **55**. Das Produkt wird aus EE/Diethylether umkristallisiert; Ausb. 11.2 g (96%); Schmp. 116–117 °C; R_F(A) 0.1, (B) 0.85, (C) 0.91. — IR (KBr): 3280 (NH), 1635–1730 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): δ = 8.35 (t, 1H; NH, Gly), 7.9 (d, 1H; NH, Tyr), 7.35 (m, 5H; Aromat), 7.2 (d, 1H; NH, Val), 6.6–7.05 (2d, 4H; Aromat, Tyr), 5.0 (s, 2H; CH₂, Bzl), 4.5 (m, 1H; C^αH, Tyr), 3.7–3.8 (m, 2H; 2 C^αH), 2.7–2.9 (m, 2H; C^βH₂, Tyr), 1.9 (m, 1H; C^βH, Val), 1.4 (s, 9H; Bu^t), 0.8 (m, 6H; C^γH₃, Val). — [α]_D²⁰ = -38.0 (c = 0.5, MeOH).

C₂₈H₃₇N₃O₇ (527.6) Ber. C 63.75 H 7.06 N 7.96 Gef. C 63.47 H 7.07 N 7.94

H-Val-Tyr-Gly-OBu^t (**59**): Nach Arbeitsvorschrift V²) mit 10.2 g (19.3 mmol) **58**, jedoch ohne TosOH · H₂O-Zusatz. Das Produkt wird aus EE/Diethylether umkristallisiert; Ausb. 6 g (80%); Schmp. 108–112 °C; R_F(A) 0.05, (B) 0.49, (C) 0.68. — IR (KBr): 3300 (NH), 1640–1735 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): δ = 8.4 (t, 1H; NH), 8.0 (d, 1H; NH), 6.6–7.0 (2d, 4H; Aromat, Tyr), 4.5 (m, 1H; C^αH), 3.7 (d, 2H; C^αH₂, Gly), 2.8–3.4 (m, 3H; C^αH, Val; NH₂), 2.7–2.9 (m, 2H; C^βH₂, Tyr), 1.9 (m, 1H; C^βH, Val), 1.4 (s, 9H; Bu^t), 0.6–0.8 (dd, 6H; C^γH₃, Val). — [α]_D²⁰ = +5.75 (c = 1, MeOH).

Ddz-Asp(OBzl)-Val-Tyr-Gly-N₂H₂Boc (**60**): Nach Arbeitsvorschrift I²) mit 12.46 g (28 mmol) *Ddz-Asp(OBzl)-OH*⁴²) und 11.28 g (25 mmol) **57**. Das Produkt fällt als Schaum an; Ausb. 19 g (86%); R_F(A) 0.19, (B) 0.58, (C) 0.85. — IR (KBr): 3280–3410 (NH), 1640–1735 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t).

H-Asp(OBzl)-Val-Tyr-Gly-N₂H₂Boc · TFA (61): Nach Arbeitsvorschrift IV/B²⁾ mit 19 g (21.6 mmol) **60**. Das Produkt wird aus Diethylether umkristallisiert; Ausb. 13.3 g (80%); Schmp. 210–212°C; R_F(A) 0.0, (B) 0.68, (C) 0.90. — IR (KBr): 3300 (NH), 1640–1730 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Boc). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): δ = 9.6 (br., 1H; NH, Hydrazid), 8.8 (br., 1H; NH, Hydrazid), 8.0–8.5 (m, 3H; NH), 7.35 (m, 5H; Aromat), 6.6–7.0 (2d, 4H; Aromat, Tyr), 5.1 (s, 2H; CH₂, Bzl), 4.0–4.5 (m, 3H; 3 C^αH), 3.8 (m, 2H; C^αH₂, Gly), 2.6–3.0 (m, 4H; C^βH₂, Tyr; C^βH₂, Asp), 2.0 (m, 1H; C^βH, Val), 1.4 (s, 9H; Bu^t), 0.9 (d, 6H; C^γH₃, Val). — [α]_D²⁰ = -1.0 (c = 0.6, MeOH).

Ddz-Asp(OBzl)-Val-Tyr-Gly-OBu^t (62): Nach Arbeitsvorschrift I²⁾ mit 4.0 g (8.9 mmol) Ddz-Asp(OBzl)-OH⁴²⁾ und 3.9 g (10 mmol) **59**. Das Produkt fällt als Schaum an; Ausb. 6.9 g (84%); R_F(A) 0.51, (B) 0.72, (C) 0.83. — IR (KBr): 3240–3420 (NH), 1635–1740 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): δ = 8.3 (t, 1H; NH, Gly), 7.6–8.0 (m, 2H; 2 NH), 7.35 (m, 5H; Aromat), 7.1 (d, 1H; NH, Asp), 6.6–7.0 (2d, 4H; Aromat, Tyr), 6.5 (d, 2H; Aromat, Ddz), 6.35 (t, 1H; Aromat, Ddz), 5.1 (s, 2H; CH₂, Bzl), 4.0–4.6 (m, 3H; 3 C^αH), 3.7 (m, 8H; OCH₃, Ddz; C^αH₂, Gly), 2.5–3.0 (m, 4H; C^βH₂, Tyr; C^βH₂, Asp), 1.9 (m, 1H; C^βH, Val), 1.6 (d, 6H; Ddz, α,α-Dimethyl), 1.4 (s, 9H; Bu^t), 0.75 (t, 6H; C^γH₃, Val).

H-Asp(OBzl)-Val-Tyr-Gly-OBu^t · TFA (63): Nach Arbeitsvorschrift IV/B²⁾ mit 2.0 g (2.4 mmol) **62**; Ausb. 1.5 g (88%); Schmp. 118–120°C (Zers.); R_F(A) 0.0, (B) 0.70, (C) 0.85. — IR (KBr): 3280 (NH), 1640–1735 (C=O), 1370 cm⁻¹ (Bu^t).

Boc-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Asp(OBzl)-Val-Tyr-Gly-N₂H₂Boc (64): Nach Arbeitsvorschrift I²⁾ mit 6.98 g (12 mmol) **28** und 10.6 g (13.5 mmol) **61**. Nach Gelchromatographie wird das Produkt aus EE/Diethylether umkristallisiert; Ausb. 5.15 g (35%); Schmp. 132–136°C; R_F(A) 0.1, (B) 0.88, (C) 0.90. — IR (KBr): 3300 (NH), 1630–1735 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): δ = 9.6 (br., 1H; NH, Hydrazid), 9.1 (s, 1H; Tyr, OH), 8.8 (br., 1H; NH, Hydrazid), 7.7–8.4 (m, 5H; 5 NH), 7.35 (m, 10H; Aromat), 7.2 (t, 1H; N^εH, Lys), 7.0 (m, 3H; Aromat, Tyr; NH, Arg), 6.6 (d, 2H; Aromat, Tyr), 5.0–5.1 (2s, 4H; CH₂, Bzl), 3.7–4.7 (m, 7H; 7 C^αH), 3.1 (m, 2H; C^δH₂, Arg), 2.6–3.0 (m, 6H; C^αH₂, Lys; C^βH₂, Tyr; C^βH₂, Asp), 1.9 (m, 1H; C^βH, Val), 1.2–1.7 (m, 10H; C^{β,γ,δ}H₂, Lys; C^{β,γ}H₂, Arg), 1.4 (s, 9H; Bu^t), 0.8 (t, 6H; C^γH₃, Val). — [α]_D²⁰ = 20.96 (c = 0.4, DMF).

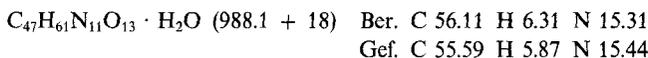
C₅₇H₈₁N₁₃O₁₇ (1220.3) Ber. C 56.11 H 6.68 N 14.92 Gef. C 55.91 H 6.59 N 14.70

Boc-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Asp(OBzl)-Val-Tyr-Gly-OBu^t (65): Nach Arbeitsvorschrift I²⁾ mit 1.74 g (3 mmol) **28** und 1.5 g (2.1 mmol) **63**. Das Produkt wird aus EE umkristallisiert; Ausb. 1.5 g (61%); Schmp. 180–182°C (Zers.); R_F(A) 0.15, (B) 0.87, (C) 0.92. — IR (KBr): 3280 (NH), 1635–1735 (C=O), 1370 cm⁻¹ (Bu^t). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): δ = 9.15 (s, 1H; Tyr, OH), 7.6–8.5 (m, 5H; 5 NH), 7.35 (m, 10H; Aromat), 7.2 (t, 1H; N^εH, Lys), 6.6 und 7.0 (2d, 4H; Aromat, Tyr), 5.0–5.1 (2s, 4H; CH₂, Bzl), 3.9–4.7 (5m, 5H; 5 C^αH), 3.7 (d, 2H; C^αH₂, Gly), 3.1 (m, 2H; C^δH₂, Arg), 2.6–3.0 (m, 6H; C^αH₂, Lys; C^βH₂, Tyr; C^βH₂, Asp), 1.9 (m, 1H; C^βH, Val), 1.2–1.7 (m, 10H; C^{β,γ,δ}H₂, Lys; C^{β,γ}H₂, Arg), 1.3–1.4 (2s, 18 H; Bu^t), 0.7 (t, 6H; C^γH₃, Val). — [α]_D²⁰ = -21.8 (c = 0.3, DMF).

C₅₆H₇₉N₁₁O₁₆ (1162.3) Ber. C 57.87 H 6.85 N 13.26 Gef. C 57.34 H 6.75 N 13.09

cyclo[-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Asp(OBzl)-Val-Tyr-Gly-] (c1). — a) *Durch Cyclisierung nach der Azid-Methode*: Nach Arbeitsvorschrift VII²⁾ mit 1.55 g (1.2 mmol) C- und N-terminal entschütztem **64**; Ausb. 160 mg (13%); Schmp. 208°C (Zers.); R_F A 0.0, B 0.74, C 0.82. — IR (KBr): 3280 (NH), 1620–1725 cm⁻¹ (C=O). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): Da-

ten siehe Tab. 1. — $[\alpha]_D^{20} = -37$ ($c = 0.3$, DMF). — FAB-MS: $m/z = 989$ $[M + H]^+$. — Aminosäureanalyse: Asp 0.91, Gly 1.00, Val 1.00, Tyr 0.26, Lys 1.05, Arg 0.72.



b) *Durch Cyclisierung mit EDCI/DMAP*: Nach Arbeitsvorschrift VI² mit 1.10 g (1.0 mmol) C- und N-terminal entschütztem **65**; Ausb. 380 mg (39%).

cyclo[Arg-Lys-Asp-Val-Tyr-Gly] · 2 HOAc (**c1a**): Nach Arbeitsvorschrift VII² mit 47 mg (0.05 mmol) **c1**; Ausb. 38 mg (90%); Schmp. 158–160°C (Zers.); R_F (A) 0.0, (B) 0.2, (C) 0.0.

Boc-Gly-Arg(NO₂)-Lys(Z)-OMe (**66**): Nach Arbeitsvorschrift I² mit 2.63 g (15 mmol) Boc-Gly-OH¹⁴ und 6 g (11.2 mmol) **2**. Das Produkt fällt als Schaum an; Ausb. 6.8 g (92%); R_F (A) 0.0, (B) 0.83, (C) 0.87. — IR (KBr): 3320 (NH), 1620–1735 (C=O), 1365 cm^{-1} (Bu¹). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): $\delta = 8.5$ (br., 1H; NH), 8.3 (d, 1H; NH), 7.75–8.1 (br., 3H; NH), 7.35 (m, 5H; Aromat), 7.2 (t, 1H; N⁶H, Lys), 7.0 (t, 1H; NH, Gly), 5.0 (s, 2H; CH₂, Bzl), 4.2–4.35 (m, 2H; 2C^αH), 3.6 (s, 3H; OCH₃), 3.55 (d, 2H; C^αH₂, Gly), 3.15 (m, 2H; C^δH₂, Arg), 2.95 (m, 2H; C^εH₂, Lys), 1.2–1.8 (m, 10H; C^{β,γ,δ}H₂, Lys; C^{β,γ}H₂, Arg), 1.35 (s, 9H; Bu¹). — $[\alpha]_D^{20} = -12.6$ ($c = 1$, MeOH).

Boc-Gly-Arg(NO₂)-Lys(Z)-OH (**67**): Nach Arbeitsvorschrift III² mit 6.54 g (10 mmol) **66**. Das Produkt wird aus EE/Diethylether umkristallisiert; Ausb. 5.8 g (91%); Schmp. 78°C; R_F (A) 0.0, (B) 0.78, (C) 0.65. — IR (KBr): 3300 (NH), 1620–1725 (C=O), 1365 cm^{-1} (Bu¹). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): Daten siehe **66**; das Signal bei $\delta = 3.6$ fehlt. — $[\alpha]_D^{20} = -4.9$ ($c = 1$, MeOH).

Ddz-Glu(OBzl)-Val-Tyr-Gly-OBu¹ (**68**): Nach Arbeitsvorschrift I² mit 8.3 g (18 mmol) Ddz-Glu(OBzl)-OH⁴² und 6.29 g (16 mmol) **59**. Das Produkt fällt als fester Schaum an; Ausb. 15 g (95%); R_F (A) 0.35, (B) 0.92, (C) 0.89. — IR (KBr): Daten siehe **62**. — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): $\delta = 8.3$ (t, 1H; NH, Gly), 7.4–8.0 (3d, 3H; 3 NH), 7.35 (m, 5H; Aromat), 6.6 und 7.0 (2d, 4H; Aromat, Tyr), 6.5 (d, 2H; Aromat, Ddz), 6.35 (t, 1H; Aromat-Ddz), 5.1 (s, 2H, CH₂, Bzl), 4.0–4.5 (m, 3H, 3 C^αH), 3.7 (m, 8H; Ddz, OCH₃; C^αH₂, Gly), 2.7–3.0 (m, 2H; C^βH₂, Tyr), 2.3 (t, 2H; C^γH₂, Glu), 1.6–2.0 (m, 9H; Ddz, α,α-Dimethyl; C^βH, Val; C^βH₂, Glu), 1.4 (s, 9H; Bu¹), 0.7 (t, 6H; C^γH₃, Val).

H-Glu(OBzl)-Val-Tyr-Gly-OBu¹ · TFA (**69**): Nach Arbeitsvorschrift IV/B² mit 13.94 g (16.7 mmol) **68**. Das Produkt wird aus EE/Diethylether umkristallisiert; Ausb. 10.3 g (85%); Schmp. >210°C (Zers.); R_F (A) 0.1, (B) 0.81, (C) 0.89. — IR (KBr): 3200–3440 (NH), 1630 bis 1735 (C=O), 1365 cm^{-1} (Bu¹). — $[\alpha]_D^{20} = -5.96$ ($c = 0.7$, MeOH).

Boc-Gly-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Tyr-N₂H₂Boc (**70**): Nach Arbeitsvorschrift I² mit 4.2 g (6.5 mmol) **67** und 5.7 g (7.8 mmol) **44**. Nach Gelchromatographie wird das Produkt aus MeOH/Diethylether umkristallisiert; Ausb. 4.1 g (51%); Schmp. 175°C (Zers.). — IR (KBr): 3200–3450 (NH), 1630–1730 (C=O), 1365 cm^{-1} (Bu¹). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): $\delta = 9.7$ (br., 1H; NH, Hydrazin), 8.8 (br., 1H; NH, Hydrazid), 7.6–8.2 (m, 5H; 5 NH), 7.35 (m, 10H; Aromat, Z, Bzl), 7.2 (t, 1H; N⁶H, Lys), 7.05 (d, 2H; Aromat, Tyr), 6.95 (t, 1H; NH, Gly), 6.6 (d, 2H; Aromat, Tyr), 5.0–5.1 (2s, 4H; CH₂, Bzl), 4.1–4.6 (m, 5H; 5 C^αH), 3.65 (d, 2H; C^αH₂, Gly), 3.15 (br., 2H; C^δH₂, Arg), 2.95 (br., 2H; C^εH₂, Lys), 2.6–2.9 (m, 2H; C^βH₂, Tyr), 2.4 (m, 2H; C^γH₂, Glu), 1.2–1.9 (m, 13H; C^βH, Val; C^δH₂, Glu; C^{β,γ,δ}H₂, Lys; C^{β,γ}H₂, Arg), 1.35 (s, 18H; Bu¹), 0.75 (dd, 6H; C^γH₃, Val). — $[\alpha]_D^{20} = -13.49$ ($c = 0.6$, MeOH).

Boc-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Tyr-Gly-OBu^t (**71**): Nach Arbeitsvorschrift I²⁾ mit 4.65 g (8 mmol) **28** und 7.26 g (10 mmol) **69**. Nach Gelchromatographie wird das Produkt aus MeOH/EE umkristallisiert; Ausb. 4.52 g (48%); Schmp. 180–185°C; R_F(A) 0.15, (B) 0.85, (C) 0.89. — IR (KBr): Daten siehe **65**. — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): δ = 8.25 (t, 1H; NH, Gly), 7.65–8.15 (4d, 4H; NH), 7.35 (m, 10H; Aromat), 7.2 (t, 1H; N^εH, Lys), 7.0 (d, 2H; Aromat, Tyr), 6.95 (d, 1H; NH, Arg), 6.6 (d, 2H; Aromat, Tyr), 5.0–5.1 (2s, 4H; CH₂, Bzl), 4.2–4.5 (m, 3H; 3 C^αH), 3.9–4.15 (m, 2H; 2 C^αH), 3.6 (d, 2H; C^δH₂, Gly), 3.15 (br., 2H; C^δH₂, Arg), 2.85–3.0 (m, 3H; C^βH, Tyr; C^εH₂, Lys), 2.7 (q, 1H; C^βH, Tyr), 2.35 (m, 2H; C^γH₂, Glu), 1.95 (m, 2H; C^βH, Val; C^βH, Glu), 1.2–1.8 (m, 11H; C^βH, Glu; C^{β,γ,δ}H₂, Lys; C^{β,γ}H₂, Arg), 1.3–1.4 (2s, 18H; Bu^t), 0.7 (d, 6H; C^γH₃, Val). — [α]_D²⁰ = –27.5 (c = 1, MeOH).

C₅₇H₈₂N₁₁O₁₆ (1177.3) Ber. C 58.15 H 7.01 N 13.09 Gef. C 57.91 H 6.88 N 12.96

cyclo[-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Tyr-Gly-] (**c2**). — a) *Durch Cyclisierung nach der Azid-Methode*: Nach Arbeitsvorschrift VII²⁾ mit 1.51 g (1.2 mmol) C- und N-terminal geschütztem **70**; Ausb. 97 mg (8%); Schmp. 208°C (Zers.); R_F(A) 0.00, (B) 0.71, (C) 0.86. — IR (KBr): 3280 (NH), 1620–1725 cm⁻¹ (C=O). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): Daten siehe Tab. 1. — [α]_D²⁰ = –33.2 (c = 0.5, DMF). — FAB-MS: m/z = 1003 [M + H]⁺.

C₄₈H₆₃N₁₁O₁₃ · 2 H₂O (1002.0 + 36) Ber. C 55.54 H 6.51 N 14.84

Gef. C 55.51 H 6.36 N 14.81

b) *Durch Cyclisierung mit EDCI/DMAP*: Nach Arbeitsvorschrift VI²⁾ mit 2.14 g (1.9 mmol) C- und N-terminal geschütztem **71**; Ausb. 980 mg (51%).

cyclo[-Arg-Lys-Glu-Val-Tyr-Gly-] · 2 HOAc (**c2a**): Nach Arbeitsvorschrift VIII²⁾ mit 50 mg (0.05 mmol) **c2**; Ausb. 35 mg (82%); Schmp. 162–164°C (Zers.); R_F(A) 0.0, (B) 0.2, (C) 0.0, (D) 0.36. — Aminosäureanalyse: Arg 0.98, Lys 1.0, Glu 1.11, Val 0.94, Tyr 0.82, Gly 1.02.

Boc-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-OMe (**72**): Nach Arbeitsvorschrift I²⁾ mit 2.61 g (12 mmol) Boc-Val-OH¹⁴⁾ und 5.29 g (10 mmol) **2**. Das Produkt wird aus EE/Diethylether umkristallisiert; Ausb. 6.3 g (92%); Schmp. 136–139°C; R_F(A) 0.05, (B) 0.78, (C) 0.88. — IR (KBr): 3320 (NH), 1645–1730 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): δ = 8.6 (br., 1H, N^εH, Arg), 8.4 (d, 1H; NH), 7.7–7.9 (d; br., 3H; 2 N^εH, Arg; NH), 7.3 (m, 5H; Aromat), 7.2 (t, 1H; N^εH, Lys), 6.7 (d, 1H; NH, Val), 5.0 (s, 2H; CH₂, Bzl), 4.25–4.4 (m, 2H; 2 C^αH), 3.75 (m, 1H; C^αH, Val), 3.6 (s, 3H; OCH₃), 2.95–3.2 (m, 4H; C^δH₂, Arg; C^εH₂, Lys), 1.9 (m, 1H; C^βH, Val), 1.4 (s, 9H; Bu^t), 1.25–1.75 (m, 10H; C^{β,γ,δ}H₂, Lys; C^{β,γ}H₂, Arg), 0.8 (t, 6H; C^γH₃, Val). — [α]_D²⁰ = –29.3 (c = 0.5, MeOH).

H-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-OMe · HCl (**73**): Nach Arbeitsvorschrift II²⁾ mit 7.8 g (11.4 mmol) **72**; Ausb. 6.3 g (88%); Schmp. 181–184°C; R_F(A) 0.0, (B) 0.48, (C) 0.44. — IR (KBr): 3240 (NH, NH₃⁺), 1640–1730 cm⁻¹ (C=O). — ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): δ = 8.5–8.7 (2d, 2H; 2 NH), 8.2 (br., 3H; NH₃⁺), 7.35 (m, 5H; Aromat), 7.25 (t, 1H; N^εH, Lys), 5.0 (s, 2H; CH₂, Bzl), 4.2–4.4 (m, 2H; 2 C^αH), 3.7 (br., 1H; C^αH, Val), 3.6 (s, 3H; OCH₃), 3.2 (br., 2H; C^δH₂, Arg), 2.95 (m, 2H; C^εH₂, Lys), 2.05 (m, 1H; C^βH, Val), 1.25–1.8 (m, 10H; C^{β,γ,δ}H₂, Lys; C^{β,γ}H₂, Arg), 0.9 (dd, 6H; C^γH₃, Val). — [α]_D²⁰ = +4.2 (c = 0.5, MeOH).

C₂₆H₄₃ClN₈O₈ (631.1) Ber. C 49.48 H 6.86 N 17.76 Gef. C 49.38 H 6.96 N 17.54

Boc-Tyr-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-OMe (**74**): Nach Arbeitsvorschrift I²⁾ mit 4.62 g (10 mmol) Boc-Tyr-OH · DCHA und 5.6 g (8.8 mmol) **73**. Das Produkt wird aus MeOH/Diethylether umkristallisiert; Ausb. 6.4 g (85%); Schmp. 161–164°C; R_F(A) 0.0, (B) 0.88, (C) 0.90. — IR (KBr): 3300 (NH), 1635–1725 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). — ¹H-NMR (270 MHz;

[D₆]DMSO): $\delta = 8.6$ (br., 1H; N^GH, Arg), 7.7–8.3 (3d, 3H; 3 NH), 7.35 (m, 5H; Aromat), 7.2 (t, 1H; N^HH, Lys), 6.6–7.1 (2d, 4H; Aromat, Tyr), 6.95 (d, 1H; NH, Tyr), 5.0 (s, 2H; CH₂, Bzl), 4.1–4.35 (m, 4H; 4 C ^{α} H), 3.6 (s, 3H; OCH₃), 3.15 (br., 2H; C ^{δ} H₂, Arg), 2.6–3.0 (m, 4H; C ^{ϵ} H₂, Lys; C ^{β} H₂, Tyr), 2.0 (m, 1H; C ^{β} H, Val), 1.2–1.8 (m, 10H; C ^{β,γ,δ} H₂, Lys; C ^{β,γ} H₂, Arg), 1.35 (s, 9H; Bu^t), 0.8 (t, 6H; C ^{γ} H₃, Val).

Boc-Tyr-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-OH (75): Nach Arbeitsvorschrift III²⁾ mit 6.4 g (7.5 mmol) **74** sowie zusätzlich 10.5 ml 1 N NaOH und 10 ml DMF als Lösungsmittel. Das Produkt wird aus MeOH/Diethylether umkristallisiert; Ausb. 90%; Schmp. 128–132°C (Zers.); R_F(A) 0.0, (B) 0.78, (C) 0.55. – IR (KBr) 3200–3460 (NH), 1620–1730 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). – ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): Daten siehe **74**; das Signal bei $\delta = 3.6$ fehlt. – $[\alpha]_D^{20} = -14.8$ ($c = 1$, MeOH).

C₃₉H₅₇N₉O₁₂ (843.9) Ber. C 55.51 H 6.80 N 14.94 Gef. C 55.68 H 7.00 N 14.84

Boc-Tyr-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Asp(OBzl)-Val-OBu^t (76): Nach Arbeitsvorschrift I²⁾ mit 5.9 g (7 mmol) **75**, 4.43 g (9 mmol) **15** und 10 ml DMF als Lösungsmittel. Nach Gelchromatographie wird das Produkt aus MeOH/EE umkristallisiert; Ausb. 3.9 g (47%); Schmp. 164–168°C; R_F(A) 0.05, (B) 0.86, (C) 0.90. – IR (KBr): 3280–3400 (NH), 1630–1730 (C=O), 1365 cm⁻¹ (Bu^t). – ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): $\delta = 9.15$ (s, 1H; OH, Tyr), 8.5 (br., 1H; N^GH, Arg), 7.7–8.3 (5d, 5H; 5 NH), 7.35 (m, 10H; Aromat), 7.2 (t, 1H; N^HH, Lys), 6.6–7.0 (m; d, 5H; Aromat, Tyr; NH, Tyr), 5.0–5.1 (2s, 4H; CH₂, Bzl), 4.7 (m, 1H; C ^{α} H, Asp), 4.3 (m, 3H; 3 C ^{α} H), 4.1 (m, 2H; 2 C ^{α} H), 3.15 (m, 2H; C ^{δ} H₂, Arg), 2.6–3.0 (m, 6H; C ^{ϵ} H₂, Lys; C ^{β} H₂, Tyr; C ^{β} H₂, Asp), 2.0 (m, 2H; C ^{β} H, Val), 1.2–1.8 (m, 10H; C ^{β,γ,δ} H₂, Lys; C ^{β,γ} H₂, Arg), 1.3–1.4 (2s, 18H; Bu^t), 0.85 (d, 12H; C ^{γ} H₃, Val). – $[\alpha]_D^{20} = -17.2$ ($c = 0.5$, DMF).

C₅₉H₈₅N₁₁O₁₆ (1204.4) Ber. C 58.84 H 7.11 N 12.79 Gef. C 58.67 H 6.87 N 12.87

cyclo[-Tyr-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Asp(OBzl)-D-Val-] (c3): Nach Arbeitsvorschrift VI²⁾ mit 1.1 g (0.9 mmol) C- und N-terminal entschütztem **76**; Ausb. 300 mg (32%); Schmp. 195°C; R_F(A) 0.0, (B) 0.79, (C) 0.91. – IR (KBr): 3320 (NH), 1630–1730 cm⁻¹ (C=O). – ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): Daten siehe Tab. 2. – $[\alpha]_D^{20} = -45.6$ ($c = 0.2$, MeOH). – FAB-MS: $m/z = 1031$ [M + H]⁺.

C₅₆H₆₇N₁₁O₁₃ · H₂O (1030.08 + 18) Ber. C 57.29 H 6.64 N 14.70

Gef. C 57.93 H 6.29 N 15.13

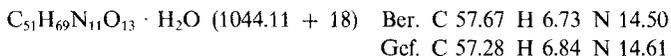
cyclo[-Tyr-Val-Arg-Lys-Asp-D-Val-] · 2 HOAc (c3a): Nach Arbeitsvorschrift VIII²⁾ mit 30 mg (0.029 mmol) **c3**; Ausb. 22 mg (86%); Schmp. 195°C (Zers.); R_F(A) 0.0, (B) 0.16, (C) 0.00, (D) 0.43. – Aminosäureanalyse: Gehalt an D-Val 43.5%⁴³⁾.

Boc-Tyr-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-OBu^t (77): Nach Arbeitsvorschrift I²⁾ mit 5.06 g (6 mmol) **75**, 4.05 g (8 mmol) **9** und zusätzlich 10 ml DMF als Lösungsmittel. Nach Gelchromatographie wird das Produkt aus MeOH/Diethylether umkristallisiert; Ausb. 4.05 g (55%); Schmp. 188–192°C (Zers.); R_F(A) 0.0, (B) 0.88, (C) 0.94. – IR (KBr): Daten siehe **19**. – ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): $\delta = 8.5$ (br., 1H; N^GH, Arg), 7.7–8.15 (d; m, 5H; 5 NH), 7.35 (m, 10H; Aromat), 7.2 (t, 1H; N^HH, Lys), 7.05 (d, 2H; Aromat, Tyr), 6.95 (d, 1H; NH, Tyr), 6.65 (d, 2H; Aromat, Tyr), 5.0–5.1 (2s, 4H; CH₂, Bzl), 4.25–4.4 (m, 4H; 4 C ^{α} H), 4.0–4.2 (m, 2H; 2 C ^{α} H), 3.15 (m, 2H; C ^{δ} H₂, Arg), 2.85–3.0 (m, 3H; C ^{ϵ} H₂, Lys; C ^{β} H, Tyr), 2.6 (m, 1H; C ^{β} H, Tyr), 2.4 (t, 2H; C ^{γ} H₂, Glu), 2.0 (m, 2H; C ^{β} H, Val), 1.2–1.8 (m, 12H; C ^{β} H₂, Glu; C ^{β,γ,δ} H₂, Lys; C ^{β,γ} H₂, Arg), 1.3–1.4 (2s, 18H; Bu^t), 0.85 (m, 12H; C ^{γ} H₃, Val). – $[\alpha]_D^{20} = -11.4$ ($c = 0.5$, DMF).

C₆₀H₈₇N₁₁O₁₆ (1218.3) Ber. C 59.15 H 7.19 N 12.65 Gef. C 59.09 H 7.12 N 12.89

Boc-Tyr-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Glu-D-Val-OBu' (**78**): Nach Arbeitsvorschrift I²⁾ mit 3.8 g (4.5 mmol) **75**, 2.28 g (4.5 mmol) **22** und 15 ml DMF. Das Produkt wird aus EE umkristallisiert; Ausb. 2.0 g (36%); Schmp. 218–220°C (Zers.); R_f(A) 0.15, (B) 0.85, (C) 0.89. – IR- und NMR-Daten siehe **77**. – $[\alpha]_D^{20} = -6.7$ ($c = 0.4$, DMF).

cyclo[-Tyr-Val-Arg(NO₂)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-D-Val-] (**c4**). – a) Durch Cyclisierung mit EDCI/DMAP aus **77**: Nach Arbeitsvorschrift VI²⁾ mit 2.0 g (1.7 mmol) C- und N-terminal entschütztem **77**; Ausb. 495 mg (28%); Schmp. 215°C (Zers.); R_f(A) 0.0, (B) 0.78, (C) 0.90. – IR (KBr): Daten siehe **c3**. – ¹H-NMR (270 MHz; [D₆]DMSO): Daten siehe Tab. 2. – $[\alpha]_D^{20} = -48.4$ ($c = 0.2$, MeOH). – FAB-MS: $m/z = 1045$ [M + H]⁺.



b) Durch Cyclisierung mit EDCI/DMAP aus **78**: Nach Arbeitsvorschrift VI²⁾ mit 1.62 g (1.4 mmol) C- und N-terminal entschütztem **78**; Ausb. 560 mg (38%).

cyclo[-Tyr-Val-Arg-Lys-Glu-D-Val-] · 2 HOAc (**c4a**): Nach Arbeitsvorschrift VIII²⁾ mit 45 mg (0.043 mmol) **c4**; Ausb. 33 mg (86%); Schmp. 195°C (Zers.); R_f(A) 0.00, (B) 0.20, (C) 0.0, (D) 0.44.

CAS-Registry-Nummern

c1: 100350-74-1 / **c1a**: 100350-75-2 / **2**: 68455-63-0 / **c2**: 100350-76-3 / **c2a**: 100350-78-5 / **c3**: 100350-79-6 / **c3a**: 100366-04-9 / **c4**: 100350-80-9 / **c4a**: 100350-82-1 / **9**: 97251-09-7 / **15**: 97251-05-3 / **22**: 96356-55-7 / **28**: 100102-88-3 / **44**: 100103-07-9 / **53**: 100350-48-9 / **54**: 51952-36-4 / **55**: 57697-47-9 / **56**: 100350-49-0 / **57**: 100350-50-3 / **58**: 100350-51-4 / **59**: 100350-52-5 / **60**: 100350-53-6 / **61**: 100350-55-8 / **62**: 100366-02-7 / **63**: 100350-57-0 / **64**: 100350-58-1 / **65**: 100350-59-2 / **66**: 100350-60-5 / **67**: 100350-61-6 / **68**: 100350-62-7 / **69**: 100350-64-9 / **70**: 100350-65-0 / **71**: 100350-66-1 / **72**: 100350-67-2 / **73**: 100350-68-3 / **74**: 100350-69-4 / **75**: 100350-70-7 / **76**: 100350-71-8 / **77**: 100350-72-9 / **78**: 100350-73-0 / Z-Tyr(Z)-OH: 29713-96-0 / H-Gly-N₂H₂Boc: 23776-83-2 / Z-Tyr(Z)-Gly-OBu': 53666-05-0 / Ddz-Asp(OBzl)-OH: 70082-73-4 / Ddz-Glu(OBzl)-OH: 51219-79-5 / Boc-Tyr-OH · DCHA: 16944-14-2 / Z-Val-OH: 1149-26-4 / Boc-Gly-OH: 4530-20-5 / Boc-Val-OH: 13734-41-3 / Thymopoietin: 60529-76-2

¹⁾ 39. Mitteilung: H. Kessler, B. Kutscher und A. Klein, Liebigs Ann. Chem. **1986**, 893; voranstehend.

²⁾ H. Kessler und B. Kutscher, Liebigs Ann. Chem. **1986**, 869.

³⁾ H. Kessler und B. Kutscher, Tetrahedron Lett. **26**, 177 (1985).

⁴⁾ H. Kessler, B. Kutscher, R. Kerssebaum, A. Klein, J. Lautz, R. Obermeier, H. Müllner, W. F. van Gunsteren, R. Boelens und R. Kaptein, Peptides 1985, Proc. 9th Am. Pept. Symp., 23.–28. Juni 1985, (Edit. C. M. Deber, V. J. Hruby, K. D. Kopple), S. 83, Pierce Chem. Comp., Rockford, Ill., 1985.

⁵⁾ T. Audhya, D. H. Schlesinger und G. Goldstein, Biochemistry **20**, 6195 (1981).

⁶⁾ N. R. Krishna, G. A. Heavner und J. B. Vaughn, J. Am. Chem. Soc. **105**, 6930 (1983).

⁷⁾ B. Kutscher, Dissertation, Univ. Frankfurt 1984.

⁸⁾ G. Goldstein, Nature **247**, 11 (1974).

⁹⁾ ^{9a)} E. R. Blout, Biopolymers **20**, 1901 (1981). – ^{9b)} H. Kessler und P. Kondor, Chem. Ber. **112**, 3538 (1979).

¹⁰⁾ E. Katchalski und M. Sela, J. Am. Chem. Soc. **92**, 1385 (1953).

¹¹⁾ A. M. Felix und R. B. Merrifield, J. Am. Chem. Soc. **75**, 1385 (1970).

¹²⁾ Weder die bewährte Umkristallisation aus DMF/MeOH/Diethylether noch HPLC-Chromatographie führte hier zu befriedigenden Reinigungseffekten.

¹³⁾ Analog G. W. Anderson und F. W. Callahan, J. Am. Chem. Soc. **82**, 3359 (1960).

¹⁴⁾ E. Schnabel, Liebigs Ann. Chem. **702**, 188 (1967).

¹⁵⁾ Selektive Inversion der C-terminalen Aminosäure wird auch zur Synthese eines Cyclosporinanalogen benutzt: R. M. Wenger, Helv. Chim. Acta **67**, 502 (1984).

- ¹⁶⁾ Hinreichende Reinheit der Cyclopeptide **c3** und **c4** konnte durch Umkristallisation aus CHCl_3 oder durch HPLC-Chromatographie erreicht werden.
- ¹⁷⁾ W. P. Aue, E. Bartholdi und R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **64**, 2229 (1976).
- ¹⁸⁾ A. Bax und R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **44**, 542 (1981).
- ¹⁹⁾ G. Wider, K. H. Lee und K. Wüthrich, *J. Mol. Biol.* **155**, 367 (1982).
- ²⁰⁾ H. Kessler, W. Bermel, G. Krack, J. W. Bats, H. Fuess und W. E. Hull, *Chem. Ber.* **116**, 3164 (1983).
- ²¹⁾ M. Kuo und W. A. Gibbons, *J. Biol. Chem.* **254**, 6278 (1979).
- ²²⁾ J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachmann und R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **71**, 4546 (1979).
- ²³⁾ W. Braun, C. Bösch, L. R. Brown, N. Go und K. Wüthrich, *Biochem. Biophys. Acta* **1981**, 377.
- ²⁴⁾ H. Kessler und H. Kogler, *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 316.
- ²⁵⁾ H. Kessler, *Angew. Chem.* **94**, 509 (1982); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **21**, 512 (1982).
- ²⁶⁾ ^{26a)} H. Kessler und G. Hölzemann, *Liebigs Ann. Chem.* **1981**, 2028. — ^{26b)} G. Hölzemann, Dissertation, Univ. Frankfurt 1983.
- ²⁷⁾ ^{27a)} M. Bernd, Dissertation, Univ. Frankfurt 1983. — ^{27b)} I. Damm, Dissertation, Univ. Frankfurt 1984.
- ²⁸⁾ H. Kessler, M. Bernd, H. Kogler, J. Zarbock, O. W. Sørensen, G. Bodenhausen und R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 6944 (1983).
- ²⁹⁾ C. Ramakrishna und K. P. Sarathy, *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1**, 63 (1969).
- ³⁰⁾ O. Jardetzky, *Biochem. Biophys. Acta* **621**, 227 (1980).
- ³¹⁾ S. L. Portuova, V. V. Shillin, T. A. Balashova, V. F. Bytsov, V. T. Ivanov und Y. A. Ovchinnikov, *Tetrahedron Lett.* **1971**, 3085.
- ³²⁾ L. G. Pease, D. M. Deber und E. R. Blout, *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 258 (1973).
- ³³⁾ C. Grathwohl, R. Schwyzer, A. Tun-Kyi und K. Wüthrich, *FEBS Lett.* **29**, 271 (1973).
- ³⁴⁾ K. D. Kopple, A. Go und T. J. Schamber, *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 4289 (1978).
- ³⁵⁾ L. M. Gierasch, C. M. Deber, V. Madison, C. H. Nice und E. R. Blout, *Biochemistry* **20**, 4730 (1981).
- ³⁶⁾ J. A. Smith und L. G. Pease, *CRC Crit. Rev. Biochem.* **8**, 512 (1980).
- ³⁷⁾ M. B. Hossain und D. von der Heben, *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 5191 (1978).
- ³⁸⁾ K. Pachler, *Spectrochim. Acta* **20**, 581 (1964).
- ³⁹⁾ G. Goldstein, T. Audhya und G. A. Heavner in *Peptides, Synthesis – Structure – Function* (Edit. D. H. Rich und E. Gross), S. 535, Pierce Chemical Co., Rockford, Ill., 1981.
- ⁴⁰⁾ M. Fujino, S. Kobayashi, M. Obayashi, T. Fukuda, S. Shinagawa und O. Nishimura, *Chem. Pharm. Bull.* **22**, 1897 (1974).
- ⁴¹⁾ W. Grassmann und E. Wünsch, *Chem. Ber.* **91**, 462 (1958).
- ⁴²⁾ C. Birr, *Liebigs Ann. Chem.* **1973**, 1652.
- ⁴³⁾ Bei der Hydrolyse ist eine geringe Racemisierung nicht zu vermeiden. Man erhält daher als Ergebnis niemals konfigurativ zu 100% einheitliche Analysenwerte.

[180/85]