

## Synthese von 2-Amino-3-sulfamoylpropionsäure enthaltenden Peptiden nach der Carbodiimid-Methode\*

BORIS ALEKSIEV, PARUNAG NIŠANJAN, STOJČO STOEV und VENETA DOSEVA

*Deutsches Wollforschungsinstitut der Technischen Hochschule Aachen und  
Höheres Chemisch-Technologisches Institut, Sofia\*\**

(Der Schriftleitung zugegangen am 21. Juli 1971)

**Zusammenfassung:** Es wird auf die Eignung der Carbodiimid-Methode für die Synthese von Peptiden hingewiesen, die das Sulfonamid der Cysteinsäure (2-Amino-3-sulfamoylpropionsäure) enthalten. Durch Kondensation von in der Amino- bzw. Carboxylgruppe geschützter 2-Amino-3-sulfamoyl-

propionsäure mit entsprechend blockierten Amino-carbonsäuren und Peptiden wurden mehrere Di-, Tri-, Tetra- und Pentapeptide synthetisiert. Die neusynthetisierten Verbindungen sind optisch aktiv. Die Ausbeuten betragen meist 60 bis 80%.

**Summary:** *The synthesis of peptides containing 2-amino-3-sulfamoylpropionic acid by the carbodiimide method.* The carbodiimide method was shown to be suitable for the synthesis of peptides that contain the sulfonamide of cysteic acid (2-amino-3-sulfamoylpropionic acid). A number of di-, tri-,

tetra- and pentapeptides were synthesized by condensation of 2-amino-3-sulfamoylpropionic acid, protected at the amino or the carboxy group, with the corresponding blocked amino acids and peptides. The new compounds are optically active. The yields were usually 60—80%.

Über die Umsetzung von Disulfidgruppen enthaltenden  $\alpha$ -Aminocarbonsäuren, Peptiden und Eiweißstoffen mit Chlor wurde in unseren früheren Mitteilungen berichtet<sup>1-3</sup>. Infolge der zu schnell

einsetzenden Hydrolyse der dabei entstehenden Sulfochloride war es erforderlich, die Amino- und Carboxylgruppen der zu untersuchenden Verbindungen vorher durch geeignete Mittel zu schützen. So wurden hydrolysefeste Sulfochloride von Cystein<sup>4</sup>, Glutathion<sup>5</sup> und Cysteinylglycin<sup>6</sup> in hohen Ausbeuten erhalten. Über die Kondensation des doppelgeschützten Cysteinsulfochlorids mit Ammoniak<sup>4</sup> und Aminen<sup>7</sup> wurden L-2-Benzyl-oxycarbonylamino-3-sulfamoylpropionsäure-äthylester und eine Reihe seiner in der Sulfonamidgruppe modifizierten Derivate synthetisiert<sup>7,8</sup>.

\* X. Mitteilung der Reihe: Über die Umsetzung von schwefelhaltigen Aminocarbonsäuren, Peptiden und Eiweißkörpern mit Chlor.

IX. Mitteilung: S. STOEV u. B. ALEKSIEV, C. R. Acad. bulg. Sci. **24**, 617 [1971].

\*\* *Ständige Postanschrift:* Doz. Dr. B. ALEKSIEV, Höheres Chemisch-Technologisches Institut, Sofia 56, Bulgarien.

*Abkürzungen:*

Me = CH<sub>3</sub>; Et = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; DCC = *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid; DMF = Dimethylformamid; Z = Ben-

Das Sulfonamid der Cysteinsäure kann als ein Asparaginanalogon angesehen werden, in dem die Säureamidgruppe in  $\omega$ -Stellung durch eine Sulfon-

SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>  
zyloxy-carbonyl; Cys = Sulfonamid der Cysteinsäure = 2-Amino-3-sulfamoylpropionsäure.

<sup>1</sup> B. ALEKSIEV u. S. STOEV, Pharmazie **23**, 641 [1968].

<sup>2</sup> B. ALEKSIEV u. S. STOEV, C. R. Acad. bulg. Sci. **22**, 1265 [1969].

<sup>3</sup> S. STOEV u. B. ALEKSIEV, C. R. Acad. bulg. Sci. **23**, 173 [1970].

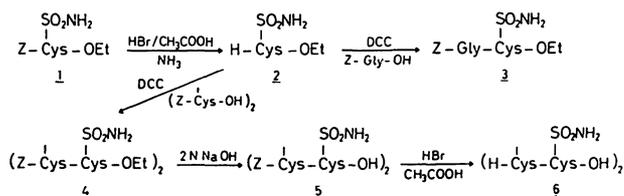
<sup>4</sup> B. ALEKSIEV u. S. STOEV, Pharmazie **24**, 305 [1969].

<sup>5</sup> S. STOEV u. B. ALEKSIEV, Pharmazie **26**, 473 [1971].

<sup>6</sup> S. STOEV u. B. ALEKSIEV, C. R. Acad. bulg. Sci., **24**, 617 [1971].

<sup>7</sup> B. ALEKSIEV u. S. STOEV, Pharmazie **26**, 469 [1971].

<sup>8</sup> B. ALEKSIEV, S. STOEV u. S. BALKANDŽIEVA, C. R. Acad. bulg. Sci. **24**, 479 [1971].



Schema 1.

amidgruppe ersetzt ist. Dies hat zu der Annahme geführt<sup>9</sup>, daß es ein Asparagin-Antagonist sei und bakterizid wirke. 2-Amino-3-sulfamoylpropionsäure wurde synthetisiert und seine biologische Wirkung getestet<sup>10</sup>. Die zitierten Autoren stellten fest, daß es Serum-Asparaginase inhibiert und das Wachstum der Asparagin benötigenden Mutanten von *Neurospora crassa* und *Eremothecium ashbyii* unterdrückt oder gar zum Stillstand bringt. Um das Verhalten des Cysteinsäure-sulfonamids und etwaige Veränderung seiner biologischen Aktivität nach seiner Einfügung in das Molekül einiger Peptide zu erforschen, wurden einige Synthesen nach der Azid-Methode durchgeführt<sup>11</sup>.

Im Hinblick auf die verhältnismäßig geringe Aufwendigkeit und die meist relativ hohen Ausbeuten beim Einsatz des Carbodiimid-Verfahrens setzten wir uns in der vorliegenden Arbeit zum Ziel, die Möglichkeiten zur Synthese Cysteinsäure-sulfonamid-haltiger Peptide nach dieser Methode zu erforschen. Die Ausgangsverbindung L-2-Benzylloxycarbonylamino-3-sulfamoylpropionsäure-äthylester (**1**) erhielten wir nach l. c.<sup>7</sup>. Es bestehen zwei Möglichkeiten für die Synthese von Peptiden, die das Sulfonamid der Cysteinsäure enthalten: einmal die Abspaltung der Benzylloxycarbonylgruppe von **1** mit anschließender Kondensation des erhaltenen 2-Amino-3-sulfamoylpropionsäure-äthylesters (**2**) mit *N*-geschützten Aminosäuren oder Peptiden und zum anderen die Verseifung von **1** mit anschließender Kondensation mit *C*-geschützten Aminosäuren. Wir untersuchten beide Wege. Die Abspaltung des Benzylloxycarbonylrests von **1** wurde durch Umsetzung mit Bromwasserstoff in

Eisessig nach l. c.<sup>12</sup>, die Zerlegung des dabei gebildeten Hydrobromids durch Behandlung mit verdünntem Ammoniak verwirklicht<sup>7</sup>. Die Reinheit der freien Base (**2**) prüften wir chromatographisch<sup>13</sup>. Durch Kondensation von **2** mit *N*-Benzylloxycarbonylglycin<sup>14</sup> in Äthylacetat/Dimethylformamid bei 0°C gelangten wir mit Hilfe von *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid unter ähnlichen Bedingungen, wie in l. c.<sup>12</sup> beschrieben, zum Dipeptid **3** und unter Einsatz von Bis-(*N*-benzylloxycarbonyl)-L-cystin<sup>14</sup> zum Tripeptid **4** (vgl. Schema 1).

Die Zusammensetzung der Peptide **3** und **4** wurde durch Totalhydrolyse mit anschließender Chromatographie<sup>15</sup> nachgewiesen.

Einen Teil des Peptids **4** unterzogen wir der Verseifung durch Behandlung mit 2*N* Natronlauge in wäßrig-alkoholischer Lösung<sup>16</sup>. Die Abspaltung des Benzylloxycarbonylrests des anfallenden Produkts **5** führten wir in einer Lösung von Bromwasserstoff/Eisessig<sup>12</sup>, die Entsalzung von **6** mit Amberlite IRA-410 (l. c.<sup>16</sup>) durch.

Bei Versuchen, die Benzylloxycarbonylgruppe von **5** durch Hydrogenolyse in Gegenwart von Palladiumschwarz<sup>17</sup> abzuspalten, schied sich das Ausgangsprodukt unverändert ab. Diese negativen Ergebnisse stimmen mit der Feststellung mancher Autoren<sup>18</sup> überein, daß *N*-Benzylloxycarbonylgeschützte Peptide mit Disulfidbindungen durch

<sup>12</sup> L. MLADENOVA-ORLINOVA, K. BLAHA u. J. RUDINGER, Collect. czechoslov. chem. Commun. **32**, 4070 [1967].

<sup>13</sup> S. VALEY u. J. WATSON, Biochem. J. **55**, 3286 [1953].

<sup>14</sup> M. BERGMANN u. L. ZERVAS, Ber. dtsh. chem. Ges. **65**, 1192 [1932].

<sup>15</sup> B. KELL, Collect. czechoslov. chem. Commun. **23**, 740 [1958].

<sup>16</sup> R. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, P. JAQUENOUD u. J. WALLER, Helv. chim. Acta **39**, 1421 [1956].

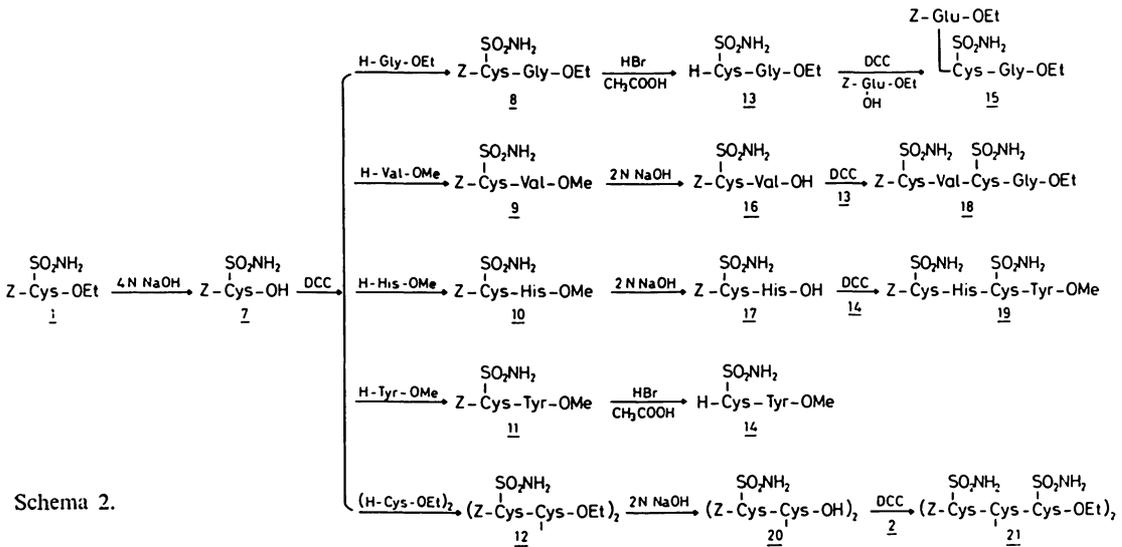
<sup>17</sup> W. QUESNE u. G. YOUNG, J. chem. Soc. [London] **1950** [1954].

<sup>18</sup> J. GREENSTEIN u. M. WINITZ, Chemistry of the Amino Acids, Vol. 2, p. 1238, J. Wiley & Sons, Inc., New York, 1961.

<sup>9</sup> E. PERDIGON, F. BOUQUET, M. MAZAUDIER u. F. GODARD, Ann. Inst. Pasteur **73**, 573 [1946].

<sup>10</sup> H. HEYMANN, T. GINSBERG, Z. GULIK, E. KONOPKA u. R. MAYER, J. Amer. chem. Soc. **81**, 5125 [1959]; B. BHIDE, J. Indian chem. Soc. **36**, 134 [1959]; D. ROSS, C. SKINNER u. W. SHIVE, J. org. Chem. **24**, 1372 [1959].

<sup>11</sup> B. ALEKSIEV, S. STOEV u. M. KOSTOV, Pharmazie **26**, 18 [1971].



katalytische Hydrogenolyse nicht deblockiert werden können. Die Verseifung des Äthylesters **1** nahmen wir<sup>7</sup> in Äthanol durch Versetzen mit 4N NaOH<sup>16</sup> vor. Das erhaltene Sulfonamid **7** wurde mit Glycin-äthylester und mit L-Valin-methylester in Äthylacetat, hingegen mit DL-Histidin-methylester, mit L-Tyrosin-methylester und mit dem Diäthylester von L-Cystin in Dimethylformamid/Äthylacetat kondensiert. Die Synthese der Ester wurde nach l. c.<sup>16,19</sup> und deren Dehydrochlorierung mit Ammoniak in Chloroform nach l. c.<sup>12</sup> verwirklicht. Die Kondensation ergab die Peptide **8**–**12** (vgl. Schema 2).

Die Peptide **8**, **10** und **11** weisen die gleichen  $R_F$ -Werte und Schmelzpunkte wie die jeweiligen, nach der Azid-Methode<sup>11</sup> erhaltenen auf.

Die optische Drehung von **11** ( $[\alpha]_D^{23}$ :  $-14,2^0$ ) liegt der optischen Drehung desselben nach der Azid-Methode erhaltenen Peptids ( $[\alpha]_D^{25}$ :  $-18,8^0$ ) nahe<sup>11</sup>. Die Abspaltung des Benzyloxycarbonylrests bei den Dipeptiden **8** und **11** bewirkten wir durch aufeinanderfolgende Behandlung mit Bromwasserstoff in Eisessig und mit 15proz. Ammoniaklösung in Chloroform.

Die Kondensation des Dipeptids **13** erfolgte in Dimethylformamid/Äthylacetat/Äther mit dem  $\alpha$ -Äthylester der *N*-Benzyloxycarbonyl-L-glutaminsäure<sup>20</sup>. Hierbei erhielten wir das Sulfonamid-

Derivat des veresterten Glutathions (**15**), dessen Schmelzpunkt,  $R_F$ -Wert und qualitative Zusammensetzung des Totalhydrolysats den Werten des nach der Azid-Methode erhaltenen Produkts<sup>11</sup> entsprachen.

Die Dipeptidester **9** und **10** verseiften wir mit 2N NaOH in 96proz. Äthanol bei 0°C, um die Gefahr, Peptidbindungen anzugreifen, nach Möglichkeit zu vermeiden. Das auf diese Weise entstandene Produkt **16** wurde mit dem Dipeptid **13** in Dimethylformamid/Äthylacetat zum Tetrapeptid **18** kondensiert. Ein anderes Tetrapeptid (**19**) entstand analog aus **14** und **17**.

Das Tripeptid **12** verseiften wir mit 2N NaOH in Wasser/Äthanol. In diesem Fall sowie beim Tripeptid **4** liegen die Ausbeuten (35,2 bzw. 35,6%) viel niedriger als für diesen Prozeß üblich. Das dürfte auf die vorliegende Disulfidbindung zurückgehen, denn Peptide des Cysteinsäure-sulfonamids, die keine Disulfidgruppe besitzen, werden meist mit guten Ausbeuten verseift (66–80%)<sup>7</sup>. Nach chromatographischer Überprüfung des Reinheitsgrades des erhaltenen Produktes **20** führt seine Kondensation mit **2** in Dimethylformamid/Äthylacetat zum Pentapeptid **21**, das vier Reste des Cysteinsäure-sulfonamids enthält.

Die Reinheit der Aminosäure-Derivate und Peptide wurde chromatographisch im System<sup>13</sup> n-

<sup>19</sup> R. CHAMBERS u. E. CARPENTER, J. Amer. chem. Soc. **77**, 1522 [1955].

<sup>20</sup> S. GOLDSCHMIDT u. C. JUTZ, Chem. Ber. **86**, 1116 [1953].

Butanol/Pyridin/Eisessig/Wasser 15:10:3:12 (System A) geprüft.

Alle Peptide, die keine freie Aminogruppe enthalten, erwiesen sich als ninhydrin-negativ und chlor-positiv; nach Deblockierung waren sie erwartungsgemäß ninhydrin- und chlor-positiv.

Die neusynthetisierten Peptide wurden durch Elementaranalyse und/oder Totalhydrolyse mit anschließender Chromatographie der hierbei entstandenen Aminosäuren im System<sup>15</sup> n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1 identifiziert.

Die Ergebnisse der optischen Drehung der erhaltenen Produkte zeigen, daß beim Carbodiimid-Verfahren der Synthese von Peptiden, die das Sulfonamid der Cysteinsäure enthalten, keine wesentliche Racemisierung eintritt. Die Peptide 4 und 12, die einen Cystinrest mit entsprechend substituierten Carboxyl- oder Aminogruppen enthalten, weisen eine sehr hohe optische Drehung (über  $-80^\circ$ ) auf. Das Pentapeptid 21 zeigt, ungeachtet seiner vier Sulfonamidreste, eine um etwa  $65^\circ$  herabgesetzte optische Drehung. Der Grund dafür dürfte unseres Erachtens die durch die Substitution sowohl an den Amino- als auch an den Carboxylgruppen bedingte höhere Symmetriestufe der Peptidkette in 21 sein.

Die Ergebnisse zeigen, daß sich Peptide, die das Sulfonamid der Cysteinsäure enthalten, nach dem Carbodiimid-Verfahren durch Anlagerung von Aminosäuren an das N- und C-Ende synthetisieren lassen. Die Ausbeuten schwanken hierbei meist zwischen 60 und 80% und liegen demnach viel höher als bei der Azid-Methode (40–48% nach l. c.<sup>11</sup>). Die geringere Aufwendigkeit der Synthese nach dem Carbodiimid-Verfahren sowie die Nichtbeeinträchtigung der optischen Aktivität lassen dieses viel zweckmäßiger als das Azid-Verfahren erscheinen.

Am Institut für Biochemie der bulgarischen Akademie der Wissenschaften in Sofia ist eine ausführliche physiologische Prüfung der neusynthetisierten Peptide im Gang.

Die Autoren sprechen den Herren Dr. M. WEINERT und Dr. H. LANGE für die Bestimmung der optischen Drehung ihren verbindlichen Dank aus.

## Methodik

### 1. Allgemeines

Schmelzpunktbestimmung mit dem KOFLER-Mikroskop. Messung der spezifischen Drehung  $[\alpha]_D$  der Substanzen

mit dem Polarimeter Perkin Elmer 141 (Bodenseewerk). Die  $R_F$ -Werte sämtlicher Produkte wurden papierchromatographisch (Whatman Nr. 1) im System A bestimmt. Die Sichtbarmachung der Chromatogramme wurde mit Ninhydrin<sup>21</sup> und daraufhin nach REINDEL und HOPPE<sup>22</sup> auf ein und demselben chromatographischen Papierbogen verwirklicht<sup>23</sup>.

## II. Kondensation



### 1. Z-Gly-Cys-OEt (3)

Lösungen von 2,16 g L-2-Amino-3-sulfamoylpropionsäure-äthylester (2) in 75 ml Dimethylformamid, 2,0 g N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid in 10 ml Äthylacetat und 2,2 g N-Benzoyloxycarbonylglycin in 50 ml Äthylacetat werden auf  $0^\circ C$  vorgekühlt und dann miteinander vermischt. Nach 12stdg. Stehenlassen bei  $0^\circ C$  wird der abgeschiedene Dicyclohexylharnstoff abfiltriert, das Filtrat mit 0,5 ml 50proz. Essigsäure versetzt und nach 1stdg. Stehenlassen bei  $0^\circ C$  neuerlich filtriert.

Das Filtrat wird aufeinanderfolgend mit Wasser, 0,5N HCl, 5proz. Natriumhydrogencarbonatlösung und nochmals mit Wasser neutral gewaschen. Die Lösung wird über Natriumsulfat getrocknet und dann im Vak. durch Erhitzen auf  $35-40^\circ C$  zur Trockne eingedampft. Durch Kristallisation des Rückstandes aus Äthanol fallen 3,2 g (82,9%) farblose Kristalle vom Schmp.  $152-153^\circ C$  an.  $R_F = 0,68$ .  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-5,0^0$  ( $c = 2$  in Dimethylformamid).

$C_{15}H_{21}N_3O_7S$  (387,4)      Gef. N 10,83    S 8,10  
Ber. N 10,85    S 8,27



### 2. (Z-Cys-Cys-OEt)<sub>2</sub> (4)

Wie vorstehend beschrieben, erhält man aus 6,48 g 2 in 75 ml Dimethylformamid, 7,7 g N,N'-Bis(benzyloxycarbonyl)-L-cystin in 50 ml Äthylacetat und 6,0 g N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid in 15 ml Äthylacetat 11,5 g (88,7%) eines bei  $143-144^\circ C$  schmelzenden Produktes.  $R_F = 0,74$ .  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-83,2^0$  ( $c = 2$  in Dimethylformamid).

$C_{32}H_{44}N_6O_{14}S_4$  (865,0)      Gef. N 9,92    S 14,85  
Ber. N 9,72    S 14,83

<sup>21</sup> I. HAIS u. K. MACEK, Handbuch der Papierchromatographie, Bd. I, S. 417, G. Fischer-Verlag, Jena 1958.

<sup>22</sup> F. REINDEL u. W. HOPPE, Chem. Ber. 87, 1103 [1954].

<sup>23</sup> B. ALEKSIEV, E. BALABANOVA-RADONOVA u. D. PRASKOV, Ann. Inst. Chim. technol. [Sofia] 13, Nr. 1, 115 [1966].

3. *Z-Cys-Gly-OEt* (8)

Nach dem unter II. 1. beschriebenen Verfahren erhält man aus 6,04 g 7 in 30 ml Äthylacetat sowie 30 ml Äthylacetatlösung von Glycin-äthylester (erhalten aus 3,0 g des jeweiligen Hydrochlorids durch Dehydrochlorieren mit 10 ml 15proz. Ammoniak in Chloroform) und 4,0 g *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid in 60 ml Äthylacetat 3,55 g (45,9%) eines bei 170–171°C schmelzenden Produkts (aus Äthanol/Äthylacetat).  $R_F = 0,64$ .  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-10,2^0$  ( $c = 1$  in Dimethylformamid).

4. *Z-Cys-His-OMe* (10)

Aus 3,02 g 7 in 15 ml Äthylacetat sowie aus dem Rückstand der Behandlung von 2,45 g DL-Histidin-methylester-hydrochlorid mit ammoniakalischer Chloroformlösung, in 15 ml Äthylacetat und 18 ml Dimethylformamid, und aus 2,0 g *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid in 30 ml Äthylacetat erhält man 1,6 g (35,3%) Produkt vom Schmelzpunkt 147–150°C (aus Äthylacetat/Äthanol).  $R_F = 0,70$ .

5. *Z-Cys-Val-OMe* (9)

Nach der unter II. 1. beschriebenen Arbeitsweise erhält man aus 1,75 g L-Valin-methylester-hydrochlorid, 3,02 g 7 und 2,0 g *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid 1,84 g (44,3%) Produkt vom Schmp. 227–228°C (aus Äthylacetat/Äthanol).  $R_F = 0,87$ .  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-12,8^0$  ( $c = 0,5$  in Dimethylformamid).

$C_{17}H_{25}N_3O_7S$  (415,5) Gef. N 10,01 S 7,58  
Ber. N 10,11 S 7,72

6. *Z-Cys-Tyr-OMe* (11)

Aus 2,4 g L-Tyrosin-methylester in 30 ml Dimethylformamid, 3,02 g 7 in 15 ml Äthylacetat und 2,0 g *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid in 30 ml Äthylacetat fallen 2,05 g (42,8%) Produkt vom Schmp. 174–175°C (aus Äthylacetat/Äthanol) an.  $R_F = 0,77$ .  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-14,2^0$  ( $c = 1$  in Dimethylformamid).

7.  $\left( Z-Cys-Cys-Cys-OEt \right)_2$  (12)

3,02 g 7 in 30 ml Äthylacetat, 2,0 g *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid in 60 ml Äthylacetat und der in 15 ml Dimethylformamid und 50 ml Äthylacetat gelöste Rückstand der Dehydrochlorierung von 1,9 g L-Cystindithylester-hydrochlorid liefern nach vorstehend beschriebener Methode 3,67 g (85,0%) Produkt vom

Schmp. 113–116°C (aus Äthylacetat/Äthanol).  $R_F = 0,72$ .  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-82,3^0$  ( $c = 1,5$  in Dimethylformamid).

$C_{32}H_{44}N_6O_{14}S_4$  (865,0) Gef. N 9,45 S 15,06  
Ber. N 9,72 S 14,83

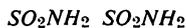
8.  $\left( Z-Cys-Gly-OEt \right)_2$  (15)

Die Lösungen von 0,4 g *N*-Benzyloxycarbonylglutaminsäure- $\alpha$ -äthylester in 12 ml Äther, 0,3 g Dipeptid 13 in 15 ml Äthylacetat/7 ml Dimethylformamid und 0,25 g *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid in 3 ml Äthylacetat liefern 0,3 g (44,1%) Produkt vom Schmp. 118–120°C (aus Äthylacetat/Äthanol).  $R_F = 0,75$ .

9. *Z-Cys-Val-Cys-Gly-OEt* (18)

Die Lösungen von 1,15 g Peptid 16 in 23 ml Äthylacetat, 0,68 g Peptid 13 in 8 ml Dimethylformamid und 0,55 g *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid in 6 ml Äthylacetat liefern 1,15 g (63,0%) Produkt vom Schmp. 194–195°C (aus Äthylacetat/Äthanol).  $R_F = 0,73$ .  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-9,0^0$  ( $c = 2$  in Dimethylformamid).

$C_{23}H_{36}N_6O_{11}S_2$  (636,7) Gef. N 12,98 S 9,66  
Ber. N 13,20 S 10,07

10. *Z-Cys-His-Cys-Tyr-OMe* (19)

Die Lösungen von 0,62 g 14 in 12,4 ml Äthylacetat/3,7 ml Dimethylformamid, 0,8 g 17 in 20 ml Äthylacetat/7 ml Dimethylformamid und 0,4 g *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid in 4 ml Äthylacetat liefern 1,0 g (72,5%) Produkt vom Schmp. 177–179°C (aus Äthylacetat/Äthanol).  $R_F = 0,68$ .  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-15,7^0$  ( $c = 0,7$  in Dimethylformamid).

$C_{30}H_{38}N_8O_{12}S_2$  (766,8) Gef. N 14,74 S 8,23  
Ber. N 14,61 S 8,36

11.  $\left( Z-Cys-Cys-Cys-OEt \right)_2$  (21)

Nach dem unter II. 1. beschriebenen Verfahren liefern Lösungen von 0,8 g 20 in 37 ml Äthylacetat/12 ml Dimethylformamid, 0,4 g 2 in 10 ml Dimethylformamid und 0,4 g *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid in 8 ml Äthylacetat 0,93 g (79,8%) Produkt vom Schmp. 183–184°C (aus Äthylacetat/Äthanol).  $R_F = 0,78$ .  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-16,2^0$  ( $c = 0,7$  in Dimethylformamid).

$C_{38}H_{56}N_{10}O_{20}S_6$  (1165,3) Gef. N 11,90 S 16,34  
Ber. N 12,02 S 16,51

## III. Abspaltung der Benzoyloxycarbonylgruppe

1. (H-Cys-Cys-OH)<sub>2</sub> (6)

2,1 g **5** werden mit 10 ml 37proz. Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig 90 min bei Raumtemperatur behandelt. Die Lösung wird unter Erhitzen auf 40°C im Vak. zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 25 ml Wasser gelöst und mit Äther extrahiert. Die Wasserphase wird mit Wasser auf 50 ml verdünnt. Amberlite IRA-410 (OH<sup>⊖</sup>-Form) bis zum Verschwinden der Bromionen zugesetzt, abfiltriert und das Harz mit Wasser gewaschen. Das Filtrat und die vereinigte Waschlösung werden dann im Vak. auf 50°C erhitzt und zur Trockne verdampft. Es fallen 1,26 g (90,0%) Produkt vom Schmp. 157–158°C (aus Wasser/Äthanol) an.  $R_F = 0,58$ .

C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>S<sub>4</sub> (540,6)    Gef. N 15,32    S 23,60  
Ber. N 15,55    S 23,72



## 2. H-Cys-Gly-OEt (13)

3,1 g **8** werden mit 15 ml einer 37proz. Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig 90 min bei Raumtemperatur behandelt. Die Lösung wird im Vak. unter Erhitzen auf 40°C zur Trockne eingedampft, der Rückstand noch 1 h bei Raumtemperatur mit 10 ml 15proz. ammoniakalischer Chloroformlösung versetzt und abfiltriert. Der feste Rückstand wird mehrmals mit Chloroform extrahiert. Das Filtrat und die vereinigten Auszüge werden im Vak. zur Trockne eingedampft. Es fallen 1,66 g (82,0%) Produkt vom Schmp. 201–203°C (aus Äthylacetat/Äthanol) an.  $R_F = 0,54$ .



## 3. H-Cys-Tyr-OMe (14)

1,7 g **11** werden aufeinanderfolgend mit 8 ml Bromwasserstoff in Eisessig und 8 ml 15proz. ammoniakalischer Chloroformlösung, wie vorstehend beschrieben, behandelt. Man erhält 1,0 g (81,7%) Produkt vom Schmp. 189–190°C (aus Äthylacetat/Äthanol).  $R_F = 0,62$ .

## IV. Verseifung

1. (Z-Cys-Cys-OH)<sub>2</sub> (5)

6,3 g Peptid **4** werden in 70 ml 96proz. Äthanol gelöst, mit 37 ml 2N NaOH versetzt, bei Raumtemperatur 2 h stehen gelassen, mit 5N HCl auf pH 2 eingestellt und dann im Vak. unter Erhitzen auf 35–40°C zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mehrmals mit Äthylacetat extrahiert, die Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vak. zur Trockne eingedampft. Man erhält 2,1 g (35,2%) chromatographisch reines öliges Produkt, das aus den üblichen Lösungsmitteln nicht kristallisiert.  $R_F = 0,70$ .



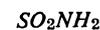
## 2. Z-Cys-His-OH (17)

1,2 g **10** in 26 ml 96proz. Äthanol werden, wie vorstehend beschrieben, mit 7 ml 2N NaOH behandelt. Man erhält 0,8 g (68,8%) chromatographisch reines öliges Produkt, dessen Kristallisation aus unterschiedlichen Lösungsmitteln ausbleibt.  $R_F = 0,64$ .



## 3. Z-Cys-Val-OH (16)

Aus 1,8 g **9** in 10 ml 96proz. Äthanol fallen nach Behandlung mit 9 ml 2N NaOH 1,15 g (66,0%) chromatographisch reines öliges Produkt an, das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.  $R_F = 0,70$ .

4. (Z-Cys-Cys-OH)<sub>2</sub> (20)

In der vorstehend beschriebenen Weise erhält man aus 3,0 g **12** in 120 ml 96proz. Äthanol und 30 ml 2N NaOH 1,0 g (35,6%) chromatographisch reines öliges Produkt, das aus den herkömmlichen Lösungsmitteln nicht kristallisierte.  $R_F = 0,58$ .