

Rolf Geiger, Georg Jäger, Alexander Volk und Walter Siedel

Peptidsynthesen mit *O*-Alkoxy-carbonyl-tyrosin-Derivaten

Aus den Farbwerken Hoechst AG, vormals Meister Lucius & Brüning,
Frankfurt (Main)-Höchst

(Eingegangen am 4. Januar 1968)

O-Alkoxy-carbonyl-Derivate des Tyrosins eignen sich für Peptidsynthesen. Die *O*-Schutzgruppen sind gegen Protonensolvolyse und Hydrogenolyse beständig; sie sind auch unter den Bedingungen der Peptidknüpfung stabil und werden in nucleophiler Reaktion, bevorzugt mit Hydrazin oder durch alkalische Verseifung, entfernt.

Als *O*-Schutzgruppen des Tyrosins werden bei Peptidsynthesen bevorzugt Reste verwendet, die wie der tert.-Butyl-¹⁾ oder der Benzylrest²⁾ durch Protonensolvolyse entfernbar sind. Die *O*-Benzylgruppe wird außerdem durch katalytische Hydrierung abgespalten²⁾. Damit entfällt aber oft eine ausreichende Differenzierung gegenüber den heute gebräuchlichsten *N*^α-Schutzgruppen, dem Benzyloxycarbonyl-³⁾ und dem tert.-Butyloxycarbonylrest⁴⁾. Andererseits konnten sich *O*-Acetyl-⁵⁾ oder -Benzoyl-Schutzgruppen⁶⁾ trotz ihrer Beständigkeit gegenüber Hydrogenolyse und Protonensolvolyse wegen ihrer Empfindlichkeit gegenüber nucleophilen Agentien nicht durchsetzen.

O-Benzyloxycarbonyl-tyrosin⁷⁾ ist als Kohlensäureester beständiger gegen nucleophilen Angriff und wird bei Eintritt einer solchen Reaktion auch in gewünschter Richtung unter bevorzugter Freisetzung der phenolischen OH-Gruppe gespalten, doch besitzt diese Schutzgruppe infolge ihrer Labilität gegen Protonensolvolyse und Hydrogenolyse keinen Vorteil gegenüber dem *O*-Benzylrest. Ersetzt man jedoch in diesem Verbindungstyp den Benzylrest durch Alkylreste wie Methyl, Äthyl, Iso-

1) H. C. Beyerman und J. S. Bontekoe, Proc. chem. Soc. [London] **1961**, 249; Recueil Trav. chim. Pays-Bas **81**, 691 (1962).

2) E. Wünsch, G. Fries und A. Zwick, Chem. Ber. **91**, 542 (1958).

3) M. Bergmann und L. Zervas, Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 1192 (1932).

4) 4a) L. A. Carpino, J. Amer. chem. Soc. **79**, 98, 4427 (1957); 4b) F. C. McKay und N. F. Albertson, ebenda **79**, 4686 (1957); 4c) G. W. Anderson und A. C. McGregor, ebenda **79**, 6180 (1957).

5) M. Bergmann, L. Zervas, L. Salzmann und H. Schleich, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **224**, 17 (1934).

6) C. R. Harington und R. V. Pitt-Rivers, Biochem. J. **38**, 417 (1944).

7) B. G. Overell und V. Petrow, J. chem. Soc. [London] **1955**, 232.

propyl oder Isobutyl, so gelangt man zu *O*-Alkoxy-carbonyl-tyrosin-Derivaten, die einerseits durch nucleophile Reagentien unter Freilegung der Phenolgruppe zerlegt werden, andererseits aber selbst gegen stärkste Säuren wie Bromwasserstoff in Eisessig und gegen katalytische Hydrierung beständig sind. Unter Reaktionsbedingungen, wie sie bei der Herstellung der Peptidbindung herrschen, sind sie ebenfalls stabil; die Nucleophilie der Aminkomponente reicht unter diesen Bedingungen nicht zur Abspaltung aus.

Als Spaltungsreagentien können wäßrige Alkalilauge, Alkalialkoholate, Ammoniak, Amine und besonders vorteilhaft Hydrazin dienen. Vor allem die Verwendung von Hydrazin in etwa 6 molarem Überschuß ermöglicht bei Raumtemperatur eine schonende Abspaltung der Schutzgruppen im Verlauf von einigen Stunden.

Die *O*-Alkoxy-carbonyl-Schutzgruppen lassen sich mit leicht zugänglichen Chlorameisensäure-alkylestern in Gegenwart von Triäthylamin oder wäßrigem Alkali einführen: Durch Umsetzen von *N*-geschütztem Tyrosin mit Chlorameisensäureestern in wäßrig-alkalischem Medium werden die entsprechenden *N*-Acyl-*O*-alkoxy-carbonyl-tyrosine in Ausbeuten von 80–93% erhalten (Tab. 1).

Tab. 1. Dargestellte *O*-Alkoxy-carbonyl-tyrosin-Derivate⁸⁾

| Nr. | Verbindung | Ausgangs-material | Ausb. % | Schmp. | $[\alpha]_D^{25}$ | c | Lösungs-mittel |
|-----|-------------------------------------|---------------------------------------|---------|------------------|-------------------|-----|----------------|
| 1 | Z-Tyr(Ätoc)-OH | Z-Tyr-OH ³⁾ | 93 | 117–119° | –5.3° | 1.5 | a |
| 2 | Z-Tyr(Moc)-OH | Z-Tyr-OH | 80 | 112–130° | –3.0° | 1 | a |
| 3 | Z-Tyr(iProc)-OH | Z-Tyr-OH | 90 | 119–121.5° | +1.0° | 1 | a |
| 4 | Z-Tyr(iBoc)-OH | Z-Tyr-OH | 89 | 103–105° | –3.9° | 1 | a |
| 5 | For-Tyr(Ätoc)-OH | For-Tyr-OH ⁹⁾ | 82 | 172–173° | +49.4° | 1 | a |
| 6 | Boc-Tyr(Ätoc)-OH | Boc-Tyr-OH ^{4c)} | 80 | 166° | +10.0° | 1.8 | a |
| 7 | H-Tyr(Ätoc)-OH · HBr | 1 | 100 | 215° (Zers.) | –4.8° | 1 | a |
| 8 | H-Tyr(Ätoc)-OH · HCl | 6 | 79 | 219–220° (Zers.) | –4.9° | 1.5 | a |
| 9 | Z-Tyr(Ätoc)-ONp | 1 | 62 | 111–112° | –12.7° | 1 | b |
| 10 | Z-Tyr(Ätoc)-OTcp | 1 | 66 | 123° | –38.7° | 1.4 | c |
| 11 | Z-Tyr(Ätoc)-OCH ₃ | 1 | 62 | 95.5–96.5° | –14.1° | 2 | a |
| | | Z-Tyr-OCH ₃ ¹⁰⁾ | 81 | 95–95.5° | | | |
| 12 | H-Tyr-(Ätoc)-OCH ₃ · HCl | 11 | 62 | 162–163° | +7.1° | 1.4 | a |

a = Methanol; b = Dimethylformamid/50proz. Essigsäure (3 : 2); c = Dimethylformamid.

Die *N*-Acyl-*O*-alkoxy-carbonyl-tyrosine werden nach den üblichen Methoden der Peptidchemie¹¹⁾, zum Beispiel über gemischte Anhydride oder aktivierte Ester oder nach der Carbodiimidmethode, mit Aminosäure- bzw. Peptidderivaten zu *O*-geschützten Tyrosinpeptiden umgesetzt.

⁸⁾ Abkürzungen entspr. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **348**, 256 (1967). — Weiterhin verwenden wir in der vorliegenden Arbeit für die Methyl-, Äthyl-, Isopropyl- und Isobutyloxy-carbonyl-Gruppen Moc, Ätoc, iProc und iBoc, für Formyl-Gruppen For, *p*-Nitro-phenylester ONp und für 2.4.5-Trichlor-phenylester OTcp.

⁹⁾ S. G. Waley und J. Watson, Biochem. J. **57**, 529 (1954).

¹⁰⁾ K. Blau und S. G. Waley, Biochem. J. **57**, 538 (1954).

¹¹⁾ E. Schröder und K. Lübke, The Peptides, Vol. I, Academic Press, New York und London 1965.

Tab. 2. Dargestellte *O*-Alkoxy-carbonyl-tyrosin-peptide

| Nr. | Verbindung | Ausgangsmaterialien | Methode | Ausb. % | Schmp. | $[\alpha]_D^{25}$ | c | Lösungs- mittel |
|-----|--|---|---------|---------|--------------|-------------------|-----|--------------------|
| 13 | Z-Tyr(Ätoc)-Phe-OCH ₃ | 9 + H-Phe-OCH ₃ · HCl | A | 88 | 176—176,5° | —14,6° | 1,5 | a |
| | | 10 + H-Phe-OCH ₃ · HCl | A | 75 | 175,5—176,5° | | | |
| | | Z-Tyr-Phe-OCH ₃ (17) | N | 33 | 175—175,5° | | | |
| 14 | Z-Phe-Tyr(Ätoc)-OCH ₃ | Z-Phe-OH ¹²⁾ + 12 | G | 69 | 170—171,5° | —16,4° | 1,3 | b |
| | | Z-Phe-OH + H-Tyr(Ätoc)-OCH ₃ -acetat *) | G | 56 | 170—171° | | | |
| 15 | For-Tyr(Ätoc)-Ser-Met-OCH ₃ | 5 + H-Ser-Met-OCH ₃ · HCl (**) | C | 74 | 164—166° | —8,1° | 1 | c |
| 16 | Z-Tyr(Ätoc)-Gly-NH ₂ | 1 + H-Gly-NH ₂ · HCl | G | 91 | 157—159° | —24,3° | 2 | d |

Abkürzungen: A = Aktivester-Methode; N = nachträgliche Einführung der Ätoc-Gruppe mit Chlorameisensäure-äthylester; G = Methode der gemischten Anhydride; C = Carbodiimid-Methode, a = Methanol; b = Methanol/Dimethylformamid (4:1); c = 90proz. Methanol; d = Dimethylformamid.

*) Als Öl aus H₂(Pd) erhalten.

***) Als Öl aus Boc-Ser-Met-OCH₃¹³⁾ mit HCl/Methanol gewonnen.

12) W. Grassmann und E. Wünsch, Chem. Ber. **91**, 462 (1958).

13) Ciba AG (Erf. R. Schwyzler, H. Kappeler und B. Iselin) D. A. S. 1212891 v. 24. 3. 1966.

N-Benzyloxycarbonyl-*O*-äthoxycarbonyl-*L*-tyrosin-methylester (**11**) wird entweder aus **1** mit Diazomethan oder besser aus *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-tyrosin-methylester¹⁰⁾ durch Einführung der Äthoxycarbonyl-Gruppe mit Chlorameisensäure-äthylester erhalten. Durch katalytische Hydrierung in Gegenwart von Chlorwasserstoff entsteht **12**, aus dem sich durch Kondensation mit Acylaminosäuren oder -peptiden ebenfalls *O*-Alkoxycarbonyl-tyrosin-peptide herstellen lassen. Somit sind Reaktionen an der Amino- und an der Carboxylgruppe des *O*-Alkoxycarbonyl-tyrosins unter Peptidbildung möglich. *O*-Alkoxycarbonyl-tyrosin-peptide sind auch aus den an der OH-Gruppe ungeschützten Tyrosinpeptiden durch Umsetzung mit Chlorameisensäure-alkylestern in Gegenwart von Triäthylamin leicht zugänglich. In Tab. 2 sind einige nach den genannten Methoden hergestellten Peptide aufgeführt.

Die Abspaltung der bevorzugt verwendeten *O*-Äthoxycarbonyl-Gruppe mit *n*NaOH wurde am Beispiel der Verseifung von **14** zu *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-phenylalanyl-*L*-tyrosin¹⁴⁾ gezeigt; sie gelang mit 90proz. Ausbeute. Bei der hydrazinolytischen Entfernung der *O*-Schutzgruppe wurde in 82- bzw. 92proz. Ausb. aus **13** *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-tyrosyl-*L*-phenylalanin-hydrazid und aus **15** *N*-Formyl-*L*-tyrosyl-*L*-seryl-*L*-methionin-hydrazid erhalten. Die Aminolyse von **16** mit 2*n* methanolischem Ammoniak lieferte nach 12stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-tyrosylglycin-amid in 92proz. Ausbeute.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden im Apparat nach Dr. Tottoli ermittelt und sind nicht korrigiert. Die spezif. Drehwerte wurden im Polarimeter 141 von Perkin-Elmer gemessen. Die Reinheitsüberprüfung aller Substanzen erfolgte nach den üblichen Methoden der Dünnschicht- und Papierchromatographie.

A. *O*-Geschützte Tyrosinderivate und -peptide

1. *N*-Benzyloxycarbonyl-*O*-äthoxycarbonyl-*L*-tyrosin (**1**): Zur Lösung von 31.5 g (0.10 Mol) *Z*-Tyr-OH³⁾ in 150 ccm *n* NaOH werden 15 g Natriumcarbonat gegeben und bei höchstens 10° 11 ccm (0.115 Mol) Chlorameisensäure-äthylester unter starkem Rühren zugetropft. Nach kurzer Zeit entsteht ein Niederschlag. Das Reaktionsgemisch wird mit 400 ccm Wasser verdünnt, 1 Stde. bei Raumtemp. gerührt und anschließend mit halbkonz. Salzsäure auf pH 2 gestellt. Der ausgefallene Niederschlag wird in Essigester aufgenommen, die Lösung mit verd. Salzsäure und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Das kristalline Rohprodukt wird aus 150 ccm 60proz. Methanol umkristallisiert. Ausb. 36.1 g (93%). Schmp. 117–119°; $[\alpha]_D^{25}$: -5.3° ($c = 1.5$; in Methanol).

C₂₀H₂₁NO₇ (387.4) Ber. C 62.01 H 5.46 N 3.62 Gef. C 62.2 H 5.5 N 3.8

2. *N*-Benzyloxycarbonyl-*O*-methoxycarbonyl-*L*-tyrosin (**2**): Aus 6.32 g (20 mMol) *Z*-Tyr-OH³⁾, 3.15 g Natriumcarbonat und 2.17 g (23 mMol) Chlorameisensäure-methylester in 30 ccm *n* NaOH wie unter 1. Nach dem Ansäuern wird der Niederschlag abfiltriert und zweimal aus Methanol/Wasser umkristallisiert: Ausb. 6.0 g (80%). Die Substanz schmilzt nicht

¹⁴⁾ H. Zahn und M. Heinz, Liebigs Ann. Chem. **652**, 76 (1962).

scharf; sie sintert bei etwa 100° und schmilzt ungefähr zwischen 112 und 130°. $[\alpha]_D^{25}$: -3.0° ($c = 1$; in Methanol).

$C_{19}H_{19}NO_7$ (373.4) Ber. C 61.12 H 5.13 N 3.75 Gef. C 60.7 H 5.2 N 3.6

3. *N*-Benzyloxy-carbonyl-*O*-isopropyl-oxy-carbonyl-*L*-tyrosin (3): Aus 6.32 g (20 mMol) *Z*-Tyr-*OH*³⁾ mit 2.82 g (23 mMol) Chlorameisensäure-isopropylester wie oben. Es wird aus Isopropylalkohol/Wasser umkristallisiert. Ausb. 7.2 g (90%). Schmp. 119–121.5°; $[\alpha]_D^{25}$: $+1.0^\circ$ ($c = 1$; in Methanol).

$C_{21}H_{23}NO_7$ (401.4) Ber. C 62.83 H 5.78 N 3.49 Gef. C 62.7 H 5.8 N 3.8

4. *N*-Benzyloxy-carbonyl-*O*-isobutyl-oxy-carbonyl-*L*-tyrosin (4): Aus 6.32 g (20 mMol) *Z*-Tyr-*OH*³⁾ mit 2.90 ccm (23 mMol) Chlorameisensäure-isobutylester wie oben. Das Rohprodukt wird aus 70proz. Methanol umkristallisiert: Ausb. 7.4 g (89%). Beim Stehenlassen in Methanol/Wasser kristallisiert die Substanz. Schmp. 103–105°; $[\alpha]_D^{25}$: -3.9° ($c = 1$; in Methanol).

$C_{22}H_{25}NO_7$ (415.5) Ber. C 63.60 H 6.07 N 3.37 Gef. C 63.5 H 6.0 N 3.2

5. *N*-Formyl-*O*-äthoxy-carbonyl-*L*-tyrosin (5): Aus 20.9 g (0.10 Mol) *For*-Tyr-*OH*⁹⁾ unter 2stdg. Rühren bei Raumtemp. wie unter 1. Die kristalline Rohsubstanz wird aus 25proz. Methanol umkristallisiert. Ausb. 23.0 g (82%). Schmp. 172–173°; $[\alpha]_D^{25}$: $+49.4^\circ$ ($c = 1$; in Methanol).

$C_{13}H_{15}NO_6$ (281.3) Ber. C 55.55 H 5.38 N 4.94 Gef. C 55.6 H 5.3 N 5.1

6. *N*-tert.-Butyl-oxy-carbonyl-*O*-äthoxy-carbonyl-*L*-tyrosin (6): Aus 28.1 g (0.10 Mol) *Boc*-Tyr-*OH*^{4c)} wie unter 1. Ansäuern bis pH 2, Extrahieren mit Essigester und Waschen mit *n* HCl bei 0°. Ausb. 29.1 g (80%). Schmp. 166°; $[\alpha]_D^{25}$: $+10.0^\circ$ ($c = 1.8$; in Methanol).

$C_{17}H_{23}NO_7$ (353.4) Ber. C 57.78 H 6.56 N 3.96 Gef. C 57.8 H 6.5 N 4.2

7. *O*-Äthoxy-carbonyl-*L*-tyrosin-hydrobromid (7): 3.87 g (10 mMol) *Z*-Tyr(*Ä*toc)-*OH* (1) werden in 10 ccm 36proz. Bromwasserstoff-Lösung in Eisessig 1 Stde. bei Raumtemp. stehen gelassen. Nach Zugabe von 100 ccm absol. Äther wird die Suspension einige Stdn. im Kühlschrank aufbewahrt, der kristalline Niederschlag abfiltriert und mit absol. Äther gewaschen. Ausb. 3.33 g (fast quantitativ). Schmp. 215° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: -4.8° ($c = 1$; in Methanol).

$C_{12}H_{16}NO_5]Br$ (334.2) Ber. C 43.13 H 4.83 Br 23.91 N 4.19
Gef. C 43.3 H 4.9 Br 24.4 N 4.1

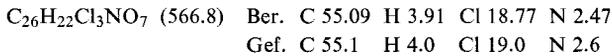
8. *O*-Äthoxy-carbonyl-*L*-tyrosin-hydrochlorid (8): Man läßt 3.53 g (10 mMol) *Boc*-Tyr(*Ä*toc)-*OH* (6) 30 Min. mit 50 ccm einer gesätt. Chlorwasserstoff-Lösung in Essigester bei Raumtemp. reagieren. Die Kristalle werden abfiltriert und mit Essigester sowie absol. Äther gewaschen. Ausb. 2.30 g (79%). Schmp. 219–220° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: -4.9° ($c = 1.5$; in Methanol).

$C_{12}H_{16}NO_5]Cl$ (289.7) Ber. C 49.75 H 5.57 Cl 12.24 Gef. C 49.9 H 5.6 Cl 12.3

9. *N*-Benzyloxy-carbonyl-*O*-äthoxy-carbonyl-*L*-tyrosin-[4-nitro-phenylester] (9): Die Lösung von 7.74 g (20 mMol) *Z*-Tyr(*Ä*toc)-*OH* (1) und 3.34 g (24 mMol) 4-Nitro-phenol in 70 ccm Essigester und 30 ccm Dimethylformamid wird bei 0° mit 4.2 g (20.4 mMol) Dicyclohexyl-carbodiimid versetzt. Die Mischung wird 12 Stdn. bei 5°, dann 1 Stde. bei Raumtemp. stehen gelassen. Nach dem Abkühlen auf 0° wird vom Harnstoff abgesaugt und das Filtrat unterhalb 40° i. Vak. eingedampft. Der ölige Rückstand kristallisiert beim Versetzen mit Isopropylalkohol. Der rohe Ester wird 3 mal aus Isopropylalkohol umkristallisiert. Ausb. 6.28 g (62%). Schmp. 111–112°; $[\alpha]_D^{25}$: -12.7° ($c = 1$; in Dimethylformamid/50proz. Essigsäure 3 : 2).

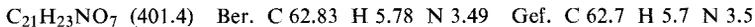
$C_{26}H_{24}N_2O_9$ (508.5) Ber. C 61.41 H 4.76 N 5.51 Gef. C 61.5 H 4.7 N 5.7

10. *N-Benzoyloxycarbonyl-O-äthoxycarbonyl-L-tyrosin-[2.4.5-trichlor-phenylester]* (10): Unter Verwendung von 4.75 g (24 mMol) *2.4.5-Trichlor-phenol* wie unter 9. Ausb. 7.52 g (66%). Schmp. 123°; $[\alpha]_D^{25}$: -38.7° ($c = 1.4$; in Dimethylformamid).



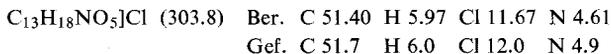
11. *N-Benzoyloxycarbonyl-O-äthoxycarbonyl-L-tyrosin-methylester* (11)

a) 38.7 g (0.10 Mol) *Z-Tyr(Ätoc)-OH* (1) werden in 200 ccm Äther und 80 ccm Dimethylformamid tropfenweise mit einer ätherischen *Diazomethan*-Lösung bis zur schwachen Gelbfärbung versetzt. Nach dem Eindampfen wird der feste Rückstand je dreimal aus Methanol/Wasser und Diisopropyläther umkristallisiert. Ausb. 25.0 g (62%). Schmp. 95.5–96.5°; $[\alpha]_D^{25}$: -14.1° ($c = 2$; in Methanol).



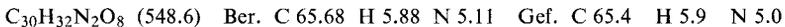
b) Zur Lösung von 6.60 g (20 mMol) *Z-Tyr-OCH₃*¹⁰⁾ und 3.22 ccm (23 mMol) *Triäthylamin* in 50 ccm Chloroform werden bei 0° 2.17 ccm (23 mMol) *Chlorameisensäure-äthylester* getropft. Nach 12stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. wird jeweils zweimal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung, verd. Salzsäure und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Ausb. 7.20 g (90%); Schmp. 94–95°. Aus Diisopropyläther 95–95.5°; Ausb. 6.50 g (81%).

12. *O-Äthoxycarbonyl-L-tyrosin-methylester-hydrochlorid* (12): 4.01 g (10 mMol) *Z-Tyr(Ätoc)-OCH₃* (11) werden in 100 ccm Methanol in Gegenwart von 2.09 ccm 4.93 *n* methanol. HCl-Lösung (10.3 mMol HCl) und Palladiumschwarz hydriert. Das vom Katalysator befreite Filtrat wird eingedampft und der Rückstand zunächst mit Äther, dann mit heißem Essigester verrieben. Ausb. 1.90 g (62%). Schmp. 162–163°; $[\alpha]_D^{25}$: $+7.1^\circ$ ($c = 1.4$; in Methanol).



13. *N-Benzoyloxycarbonyl-O-äthoxycarbonyl-L-tyrosyl-L-phenylalanin-methylester* (13)

a) Die Lösung von 1.08 g (5 mMol) *H-Phe-OCH₃·HCl* und 2.54 g (5 mMol) *Z-Tyr(Ätoc)-ONp* (9) in 15 ccm Dimethylformamid wird unter Kühlung mit 0.69 ccm (5 mMol) *Triäthylamin* versetzt und nach 60stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. i. Vak. zur Trockne gebracht. Der feste Rückstand wird in Essigester gelöst und die Lösung 15 mal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung sowie je einmal mit *n* HCl und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Die zurückbleibenden Kristalle werden in Äther verrieben, 2 Stdn. stehengelassen, abgesaugt und mit Äther gewaschen. Ausb. 2.40 g (88%). Schmp. 176–176.5°; $[\alpha]_D^{25}$: -14.6° ($c = 1.5$; in Methanol).



b) Herstellung mit 2.75 g (5 mMol) *Z-Tyr(Ätoc)-OTcp* (10) wie unter a). Ausb. 2.04 g (75%); Schmp. 175.5–176.5°.

c) Nachträgliche Einführung der Ätoc-Gruppe:

α) *N-Benzoyloxycarbonyl-L-tyrosyl-L-phenylalanin-methylester* (17): Die eiskalte Mischung aus 16.2 g (75 mMol) *H-Phe-OCH₃·HCl*, 10.35 ccm *Triäthylamin* und 340 ccm Methylenchlorid wird nach kräftigem Schütteln zu der kalten Suspension von 21.3 g (67.5 mMol) *Z-Tyr-OH*³⁾ in 340 ccm Methylenchlorid gegeben. Man rührt bis zur Lösung und gibt dann die Lösung von 13.95 g (67.5 mMol) *Dicyclohexylcarbodiimid* in 67 ccm Methylenchlorid zu. Nach 24stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. und 60stdg. Stehenlassen bei 5° wird vom Dicyclohexylharnstoff abfiltriert und das Filtrat mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung, *n*HCl und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. zur Trockne ge-

bracht. Der kristalline Rückstand wird fünfmal aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausb. 10.3 g (32%). Schmp. 165–165.5°; $[\alpha]_D^{25}$: -17.8° ($c = 0.5$; in Methanol).

$C_{27}H_{28}N_2O_6$ (476.5) Ber. C 68.05 H 5.92 N 5.88 Gef. C 68.1 H 5.9 N 6.1

β) Die Lösung von 4.76 g (10 mMol) *Z*-Tyr-*Phe*-*OCH*₃ (17) in 25 ccm Tetrahydrofuran und 60 ccm Chloroform wird nach Zugabe von 1.39 ccm (10 mMol) Triäthylamin bei 0° unter Rühren tropfenweise mit 0.96 ccm (10 mMol) Chlorameisensäure-äthylester versetzt, 24 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen und dann mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung, verd. Salzsäure und Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat und Eindampfen werden die erhaltenen Kristalle einige Stdn. unter Äther aufbewahrt und schließlich zweimal aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausb. 1.8 g (33%). Schmp. 175–175.5°.

14. *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-phenylalanyl-*O*-äthoxycarbonyl-*L*-tyrosin-methylester (14)

a) Zu der auf -10° abgekühlten Lösung von 1.49 g (5 mMol) *Z*-*Phe*-*OH*¹²) und 0.7 ccm (5 mMol) Triäthylamin in 15 ccm Tetrahydrofuran werden tropfenweise 0.48 ccm (5 mMol) Chlorameisensäure-äthylester gegeben und nach 5 min. Rühren bei -5° die auf -5° vorgekühlte Lösung von 1.52 g (5 mMol) *H*-Tyr(*Ä*toc)-*OCH*₃·*HCl* (12) und 0.7 ccm (5 mMol) Triäthylamin in 20 ccm Dimethylacetamid zugesetzt. Der Ansatz wird 2 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Dann werden i. Vak. die Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in Essigester aufgenommen und die Essigesterlösung je dreimal mit gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, *n* HCl und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Das Rohprodukt (2.30 g) vom Schmp. 163–166° wird aus Aceton/Wasser umkristallisiert. Ausb. 1.88 g (69%). Schmp. 170.5–171.5°; $[\alpha]_D^{25}$: -16.4° ($c = 1.3$; in Methanol/Dimethylformamid 4:1).

$C_{30}H_{32}N_2O_8$ (548.6) Ber. C 65.68 H 5.88 N 5.11 Gef. C 65.7 H 5.9 N 5.2

b) 8.02 g (20 mMol) *Z*-Tyr(*Ä*toc)-*OCH*₃ (11) werden in 60 ccm Eisessig in Gegenwart von Palladiumschwarz 2 1/2 Stdn. hydriert. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wird eingedampft, das zurückbleibende Öl i. Vak. über Kaliumhydroxid getrocknet und das ölige Acetat in Gegenwart der äquivalenten Menge Triäthylamin mit 5.98 g (20 mMol) *Z*-*Phe*-*OH*¹²) wie unter a) umgesetzt. Rohausb. 9.40 g (86%); Schmp. 156–160°. Aus Aceton/Wasser 6.20 g (56%), Schmp. 170–171°.

15. *N*-Formyl-*O*-äthoxycarbonyl-*L*-tyrosyl-*L*-seryl-*L*-methionin-methylester (15): 7.0 g (20 mMol) *Boc*-*Ser*-*Met*-*OCH*₃¹²) werden in 54 ccm 0.55 *n* methanolischer *HCl*-Lösung gelöst. Nach 1 stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. wird das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert und der ölige Rückstand mehrmals mit trockenem Äther digeriert. Der überschüssige Äther wird i. Vak. entfernt und der schaumige Rückstand in 40 ccm Dimethylacetamid/Acetonitril (1:1) gelöst. Zur Lösung werden 5.62 g (20 mMol) *For*-Tyr(*Ä*toc)-*OH* (5), 2.8 ccm (20 mMol) Triäthylamin und bei -15° 4.3 g (21 mMol) in wenig Acetonitril gelöstes *Dicyclohexylcarbodiimid* gegeben. Nach 12stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. filtriert man vom ausgefallenen Harnstoff ab und bringt das Filtrat i. Vak. zur Trockne. Der Rückstand wird in Essigester aufgenommen, die Essigesterlösung nach Filtration mit *n* HCl, gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen (wobei die wäbr. Phase stets 10% NaCl enthält) und unter Zusatz von Toluol zur Trockne eingedampft. Das Rohprodukt wird aus Essigester umkristallisiert. Ausb. 7.6 g (74%). Schmp. 164–166°; $[\alpha]_D^{25}$: -8.1° ($c = 1$; in 90proz. Methanol).

$C_{22}H_{31}N_3O_9S$ (513.6) Ber. C 51.45 H 6.09 N 8.18 Gef. C 51.3 H 6.3 N 8.3

16. *N*-Benzyloxycarbonyl-*O*-äthoxycarbonyl-*L*-tyrosyl-glycin-amid (16): 7.7 g (20 mMol) *Z*-Tyr(*Ä*toc)-*OH* (1) und 2.8 ccm (20 mMol) Triäthylamin in 40 ccm Tetrahydrofuran werden bei -5° unter Rühren tropfenweise mit 2.6 ccm Chlorameisensäure-isobutylester versetzt.

Nach weiterem 10 min. Rühren bei -5° wird die auf 0° vorgekühlte Lösung von 3.73 g (30 mMol) *H-Gly-NH₂·HCl* und 4 ccm (28.8 mMol) Triäthylamin in wenig Wasser zugegeben und 1 Stde. bei Raumtemp. nachgerührt. Nach Abdampfen der Lösungsmittel i. Vak. wird der Rückstand in Essigester aufgenommen und die Lösung mit *n* HCl, gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung sowie Wasser gewaschen und nach Abdampfen des Essigesters der Rückstand aus 70proz. Äthanol umkristallisiert. Ausb. 8.08 g (91%). Schmp. $154-157^{\circ}$; $[\alpha]_D^{25}$: -24.3° ($c = 2$; in Dimethylformamid). Zur Analyse wird aus Diäthylketon umkristallisiert; Schmp. $157-159^{\circ}$.

$C_{22}H_{25}N_3O_7$ (443.4) Ber. C 59.59 H 5.68 N 9.48 Gef. C 59.4 H 5.6 N 9.5

B. Abspaltung der *O*-Schutzgruppen

1. *N-Benzoyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-L-tyrosin*: Die Lösung von 2.75 g (5 mMol) *Z-Tyr(Ätoc)-OCH₃* (**14**) in 40 ccm Dioxan wird 2 Stdn. bei Raumtemp. mit 15 ccm *n* NaOH gerührt. Nach Verdünnen mit 250 ccm Wasser und Zugabe von 15 ccm *n* HCl fällt ein halbfester Niederschlag aus, der in Essigester gelöst, aus der Essigester-Lösung mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert und mit *n* HCl in kristalliner Form wieder ausgefällt wird: Ausb. 2.09 g (90%); Schmp. $181.5-183^{\circ}$ (Lit.¹⁴): $184-185^{\circ}$).

2. *N-Benzoyloxycarbonyl-L-tyrosyl-L-phenylalanin-hydrazid*

a) Die Lösung von 1.37 g (2.5 mMol) *Z-Tyr(Ätoc)-Phe-OCH₃* (**13**) in 100 ccm Methanol wird mit 0.95 ccm (15 mMol) 80proz. Hydrazinhydrat 15 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Der kristalline Niederschlag wird abfiltriert und mit Methanol gewaschen: Ausb. 0.97 g (82%); Schmp. 239.5° . Aus 80proz. Äthanol Schmp. 241.5° . Ausb. 0.79 g (67%); $[\alpha]_D^{25}$: -26.4° ($c = 1.4$; in Dimethylformamid).

$C_{26}H_{28}N_4O_5$ (476.5) Ber. C 65.53 H 5.92 N 11.76 Gef. C 65.8 H 6.0 N 11.6

b) Für Vergleichszwecke wurden 1.19 g (2.5 mMol) *Z-Tyr-Phe-OCH₃* (**17**) mit 0.48 ccm (7.5 mMol) 80proz. Hydrazinhydrat in 40 ccm Methanol umgesetzt: Ausb. 0.75 g (64%); Schmp. 241.5° .

3. *N-Formyl-L-tyrosyl-L-seryl-L-methionin-hydrazid*: Man läßt 1.54 g (3 mMol) *For-Tyr(Ätoc)-Ser-Met-OCH₃* (**15**) wie vorstehend mit 1.1 ccm (18 mMol) 80proz. Hydrazinhydrat in 20 ccm Methanol 12 Stdn. reagieren. Das Rohprodukt (1.22 g = 92%) wird aus 60 ccm 80proz. Methanol umkristallisiert; Ausb. 0.98 g (74%). Schmp. $208-210^{\circ}$; $[\alpha]_D^{25}$: -8.1° ($c = 1$; in 90proz. Essigsäure).

$C_{18}H_{27}N_5O_6S$ (441.5) Ber. C 48.95 H 6.16 N 15.82 S 7.26

Gef. C 48.8 H 6.3 N 16.0 S 7.24

4. *N-Benzoyloxycarbonyl-L-tyrosyl-glycin-amid*: 4.43 g (10 mMol) *Z-Tyr(Ätoc)-Gly-NH₂* (**16**) werden in 40 ccm 2*n* methanolischem *NH₃* 12 Stdn. bei Raumtemp. aufbewahrt. Nach Eindampfen zur Trockne wird der Rückstand aus Methanol/Wasser umkristallisiert: Ausb. 3.42 g (92%), Schmp. $114-116^{\circ}$. Die Verbindung ist mit dem aus dem entspr. Äthylester¹⁵) hergestellten Amid identisch.

¹⁵) St. Goldschmidt und G. Rosculet, Chem. Ber. **93**, 2387 (1960).