

Synthese einer Partialsequenz aus dem aktiven Zentrum der Streptokokken-Proteinase, III^[1]

Eugen Schaich und Friedhelm Schneider

(Der Schriftleitung zugegangen am 11. März 1974)

Zusammenfassung: Die Synthese eines Fragments eines Peptids aus dem aktiven Zentrum der Streptokokken-Proteinase mit der Sequenz H-Gln-Ala-

-Ala-Thr-Gly-OH unter Verwendung verschiedener Glutaminschutzgruppen wird beschrieben.

Synthesis of a fragment of the active center sequence of the streptococcal proteinase, III

Summary: The synthesis of a fragment of an active center peptide of the streptococcal proteinase with

the sequence H-Gln-Ala-Ala-Thr-Gly-OH via two different routes is described.

In der II. Mitteilung^[1] dieser Reihe berichteten wir über die Synthese eines Dekapeptids 1–10 aus einer Sequenz des aktiven Zentrums der Streptokokken-Proteinase (EC 3.4.22.10)^[2]. Wir beschreiben nachstehend die Synthese des sich anschließenden Pentapeptids 11–15 der Sequenz Gln-Ala-Ala-Thr-Gly (Fragment IV) unter Verwendung verschiedener Glutamin-Amidschutzgruppen.

Synthese des Fragments IV: Gln-Ala-Ala-Thr-Gly

Die Synthese dieses Pentapeptid-Derivates bereitete, ausgehend sowohl von Gly-OMe×HCl als auch von Gly-OBzl(NO₂)×HBr^[3] bis zur Tetrapeptidstufe keine Schwierigkeiten. Um für anschließende Kupplungen des Pentapeptids an der Amino- und Carboxylgruppe flexibel zu sein, einer möglichen Bildung des Pyroglutaminsäurederivates begegnen zu können und den Einfluß von Amidschutzgruppen auf die Löslichkeit zu testen, wurde Glutamin als Boc-Gln-ONp^[4], dann als Boc-Gln-

[Bzl(OMe)]-OH^[5] und schließlich als Z-Gln-(DMBH)-ONp^[6] mit den Tetrapeptidestern umgesetzt. Während die beiden Peptidester mit ungeschützter Amidgruppe des Glutamins sowie das an der Amidgruppe durch Bzl(OMe) geschützte Derivat in Dimethylformamid noch löslich sind, ist der Peptidester mit Z-Gln(DMBH) in Dimethylformamid sehr schwer löslich.

Die Weiterverarbeitung der Acyl-Peptidester führte zu folgenden Produkten:

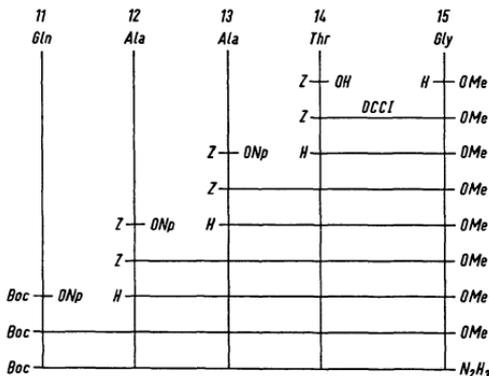
Die Hydrazinolyse des Boc-Pentapeptid-methylesters (Schema I) führte zu einem in Dimethylformamid unlöslichen Hydrazid.

Die Hydrogenolyse des Z-Gln(DMBH)-Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) konnte in Dimethylformamid durchgeführt werden; das an der Amino- und Carboxylgruppe deblockierte Peptidderivat ist in Dimethylformamid/Wasser löslich und für die weitere Synthese als Kupplungskomponente geeignet (Schema II).

Postanschrift: Prof. Dr. Fr. Schneider, Physiologisch-Chemisches Institut der Universität, D-355 Marburg, Lahnberge.

Abkürzungen: Boc = *t*-Butyloxycarbonyl; DC = Dünnschichtchromatogramm; DCCI = Dicyclohexylcarbodiimid; DMBH = 4,4'-Dimethoxybenzylhydril; DCHA = Dicyclohexylamin; HOBT = 1-Hydroxybenzotriazol; OMe = Methyl ester; OBzl(NO₂) = *p*-Nitrobenzylester; ONp = *p*-Nitrophenylester; Bzl(OMe) = *p*-Methoxybenzyl; Z = Benzylloxycarbonyl.

Enzym: Streptokokken-Proteinase (EC 3.4.22.10).



Synthese-Schema I.

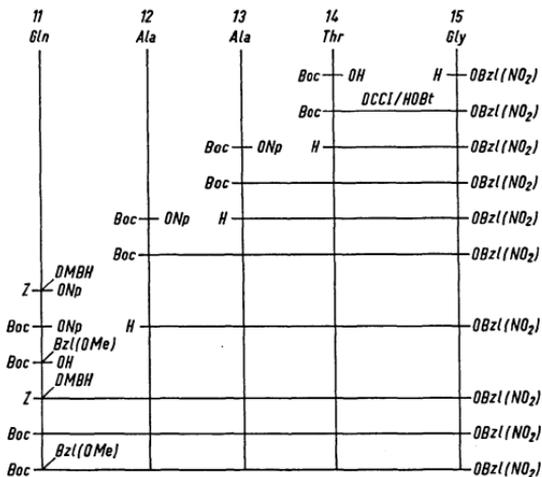
Hydrogenolyse des Boc-Gln[Bzl(OMe)]-Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) führte zu einem gallertigen Acylpeptid, das sich nur schwer von farbigen Nebenprodukten befreien ließ. Dieses Acylpeptid ist eine geeignete Carboxylkomponente für weitere Verlängerungen.

Über die Teilreaktionen der Synthesen geben Synthese-Schema I und II Aufschluß.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die Unterstützung der Arbeit im Rahmen des Schwerpunktsprogramms „Synthese makromolekularer Naturstoffe“.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden in dem Gerät nach Dr. Tottoli bestimmt; sie sind unkorrigiert. Optische Dre-



Synthese-Schema II.

hungen wurden mit dem Polarimeter 141 (Perkin-Elmer) bestimmt. Für die Dünnschichtchromatographie wurden mit Kieselgel SiF beschichtete Aluminiumfolien der Firma Riedel de Haen, Hannover, benutzt. Als Laufmittel dienten:

- I n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1
 II n-Butanol/Pyridin/Eisessig/Wasser 30:20:6:24
 III n-Butanol/Eisessig/Methanol/Pyridin, Methylchlorid/Wasser 4:1:1:1:2:1
 IV Propanol/Ammoniak/Wasser 6:3:1
 V Chloroform/Eisessig 9:1
 VI Chloroform/Cyclohexan/Eisessig 45:45:10
 VII Diisopropyläther/Chloroform/Eisessig 6:3:1

Schwerlösliche Verbindungen wurden zur Chromatographie in Trifluoräthanol gelöst; wegen seiner guten Lösungseigenschaften und seines relativ niedrigen Siedepunktes eignet es sich wesentlich besser als z. B. Dimethylformamid zum Auftragen. Als Sprühreagenzien dienen für freie und Boc-geschützte Peptide Ninhydrin in Butanol/2N Eisessig, außerdem die Chlor-Tolidin-Reaktion¹⁷.

Fragment IV

Z-Thr-Gly-OMe

25.3 g Z-Thr¹⁸ (0.1 mol) und 12.5 g Gly-OMe × HCl (0.1 mol) wurden in 250 ml Methylchlorid suspendiert und bei 0°C mit 14 ml Triäthylamin (0.1 mol) und 20 g Dicyclohexylcarbodiimid (0.1 mol) in 100 ml Methylchlorid versetzt. Man ließ über Nacht auf Zimmertemperatur kommen, filtrierte den Dicyclohexylharnstoff ab, engte ein, nahm den öligen Rückstand in Essigester auf, trennte noch etwas Dicyclohexylharnstoff ab und schüttelte mit NaHCO₃-Lösung (5proz.), Wasser, KHSO₄-Lösung (5proz.) und kalter gesätt. NaCl-Lösung aus, trocknete, engte ein und kristallisierte aus Essigester/Petroläther und Äthanol/Petroläther.

Ausbeute: 23.5 g (72%); Schmp. 105–106°C. [α]_D²⁵: –12.9° (c=1, in Methanol). DC: V, VI, VII einheitlich. C₁₅H₂₀N₂O₈ (324.3) Ber. C 55.55 H 6.48 N 8.64 Gef. C 55.80 H 6.24 N 8.55

Thr-Gly-OMe × CH₃CO₂H

16.2 g Z-Thr-Gly-OMe (0.05 mol) wurden in 250 ml Methanol unter Zusatz von 4 ml Eisessig mit Pd/Aktivkohle hydrogenolytisch gespalten. Dann engte man ein zu einem Öl, das nach Trocknen über KOH/P₂O₅ weiterverarbeitet wurde.

Z-Ala-Thr-Gly-OMe

Das oben erhaltene Öl wurde in 300 ml Dimethylformamid gelöst und mit 17.2 g Z-Ala-ONp¹⁹ (0.05 mol) sowie 7 ml Triäthylamin (0.05 mol) bei 0°C versetzt. Nach 24stdg. Stehenlassen im Eisschrank und 24 h bei Zimmertemperatur goß man in gesätt. NaCl-Lösung ein, wobei das Produkt ausfiel. Es wurde abgesaugt, mit Wasser gut gewaschen, getrocknet und aus Äthanol/Petroläther umkristallisiert.

Ausbeute: 17 g (85%); Schmp. 145–147°C. [α]_D²⁴: –28.4° (c=1, in Methanol). DC: V, VI, VII einheitlich.

C₁₈H₂₉N₃O₇ (395.4) Ber. C 54.68 H 6.33 N 10.63 Gef. C 54.96 H 6.24 N 10.65

Die analoge Boc-Verbindung hat folgende physikalischen Daten: [α]_D²⁴: –38.7° (c=1, in Methanol). Schmp. 156–158°C (Essigester/Petroläther).

Ala-Thr-Gly-OMe × CH₃CO₂H

19.75 g Z-Ala-Thr-Gly-OMe (0.05 mol) wurden in 250 ml Methanol + 5 ml Eisessig mit Pd/Aktivkohle hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde eingengt und aus Äthanol/Petroläther kristallisiert und umkristallisiert.

Ausbeute: 15 g (94%); Schmp. 159–161°C. [α]_D²⁴: +0.9° (c=1, in Methanol). DC: I, II, III einheitlich.

C₁₂H₂₃N₃O₇ (321.3) Ber. N 13.08 Gef. N 12.96

Ala-Thr-Gly-OMe × CF₃CO₂H (aus Boc-Ala-Thr-Gly-OMe) fiel ölig an.

Z-Ala-Ala-Thr-Gly-OMe

16 g Ala-Thr-Gly-OMe × CH₃CO₂H (0.05 mol) und 18.7 g Z-Ala-ONp¹⁹ (0.055 mol) wurden in 300 ml Dimethylformamid von 0°C mit 7 ml Triäthylamin (0.05 mol) gelöst. Man ließ 12 h im Kühlschrank und 24 h bei Zimmertemperatur stehen und goß in Eiswasser ein, wobei das Produkt ausfiel; es wurde abgesaugt, mit 1N NH₄OH und Wasser gewaschen und nach Trocknen aus Essigester/Petroläther umkristallisiert.

Ausbeute: 15 g (75%); Schmp. 214–216°C. [α]_D²⁴: –11.0° (c=1, in Dimethylformamid). DC: I, II, V einheitlich.

C₂₁H₃₀N₄O₈ (466.5) Ber. C 54.07 H 6.48 N 12.01 Gef. C 53.87 H 6.44 N 12.12

Die analoge Boc-Verbindung hat folgende physikalischen Daten: [α]_D²⁴: –54.5° (c=1, in Methanol). Schmp. 190–191°C (Äthanol/Petroläther).

Ala-Ala-Thr-Gly-OMe × CH₃CO₂H

11.7 g Z-Ala-Ala-Thr-Gly-OMe (0.025 mol) wurden in 200 ml Methanol + 20 ml Eisessig mit Pd/Aktivkohle katalytisch hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde eingengt und aus Äthanol/Äther kristallisiert und umkristallisiert.

Ausbeute: 8.2 g (90%); Schmp. 232–234°C (Zers.). [α]_D²⁴: –31.2° (c=1, in Methanol). DC: I, II, III einheitlich.

C₁₅H₂₈N₄O₈ (392.4) Ber. N 14.26 Gef. N 14.54

Aminosäureanalyse:

	Ala	Gly	Thr
Ber.	2	1	1
Gef.	2.00	0.99	0.95

Ala-Ala-Thr-Gly-OME \times CF₃CO₂H (aus Boc-Ala-Ala-Thr-Gly-OME)

[α]_D²⁴: -34.5° (c=1, in Methanol). Schmp. 85–90°C.
C₁₅H₂₅F₃N₄O₈ (446.4) Ber. N 12.55
Gef. N 12.53

Aminosäureanalyse:

	Ala	Gly	Thr
Ber.	2	1	1
Gef.	2.00	0.99	0.98

Boc-Gln-Ala-Ala-Thr-Gly-OME

7.8 g Ala-Ala-Thr-Gly-OME \times CH₃CO₂H (0.02 mol) und 7.2 g Boc-Gln-ONp⁽⁴⁾ (0.02 mol) wurden in 50 ml Dimethylformamid von 0°C und 2.8 ml Triäthylamin (0.02 mol) gelöst. Nach 4 h im Eisschrank war der Kolbeninhalt fest, er wurde mit weiteren 50 ml Dimethylformamid versetzt und die Suspension noch 24 h bei Zimmertemperatur gerührt. Dann wurde mit Äther versetzt, abgesaugt, mit Äther gewaschen und mit Äthanol ausgekocht.

Ausbeute: 8.5 g (76%); Schmp. 221–222°C. [α]_D²⁴: -16.5° (c=1, in Dimethylformamid). DC: I, II, III einheitlich.

C₂₃H₄₀N₆O₁₀ (560.6) Ber. N 14.99
Gef. N 14.91

Aminosäureanalyse:

	Glu	Ala	Thr	Gly
Ber.	1	2	1	1
Gef.	0.99	2.00	0.98	1.00

Boc-Gln-Ala-Ala-Thr-Gly-N₂H₃

5.6 g Boc-Gln-Ala-Ala-Thr-Gly-OME (0.01 mol) wurden in 200 ml warmem Dimethylformamid gelöst. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur gab man 5 ml Hydrazin-hydrat (0.1 mol) hinzu und rührte 2 Tage bei Zimmertemperatur. Nach 5 h begann das Hydrazid auszufallen und nach 1 Tag war der Kolbeninhalt fest. Es wurden noch 50 ml Dimethylformamid hinzugefügt und heftig weitergerührt. Zur Aufarbeitung wurde mit Äther versetzt, abgesaugt und mit Methanol ausgekocht; das Hydrazid ist wasserlöslich.

Ausbeute: 5.3 g (95%); Schmp. 210–212°C. [α]_D²⁴: -16.2°C (c=0.4, in Dimethylformamid). DC: I, II, III Spuren Ester.

C₂₂H₄₀N₈O₉ (560.6) Ber. C 47.13 H 7.19 N 19.98
Gef. C 47.07 H 7.22 N 19.81

Z-Gln(DMBH)-Ala-Ala-Thr-Gly-OME

7.8 g Ala-Ala-Thr-Gly-OME (0.01 mol) wurden wie oben mit 6.3 g Z-Gln(DMBH)-ONp⁽⁶⁾ (0.01 mol) in Dimethylformamid zur Reaktion gebracht. Nach 2 h begann der Ansatz zu gelieren. Durch weitere Dimethylformamid-Zugabe und heftiges Rühren sorgte man für gute Durchmischung des Kolbeninhaltes. Nach 30 h wurde mit etwas Äther versetzt, abgesaugt, mit Äther, Methanol und Wasser gewaschen und schließlich mehr-

mals mit Äthanol ausgekocht. Das Produkt ist schwerlöslich in Dimethylformamid.

Ausbeute: 6.2 g (75.5%); Schmp. 250°C. [α]_D²⁴: -7.6° (c=0.5, in Dimethylformamid). DC: I, II einheitlich.

C₄₁H₅₂N₆O₁₂ (820.9) Ber. C 59.99 H 6.38 N 10.23
Gef. C 60.71 H 6.21 N 10.01

Aminosäureanalyse:

	Glu	Ala	Thr	Gly
Ber.	1	2	1	1
Gef.	1.04	2.00	0.93	0.98

Boc-Thr-Gly-OBzl(NO₂)

40 g Boc-Thr-DCHA⁽¹⁰⁾ (0.1 mol), 29 g Gly-OBzl(NO₂) \times HBr⁽⁸⁾ (0.1 mol) und 15 g 1-Hydroxybenzotriazol (0.11 mol) wurden in 300 ml Dimethylformamid aufgeschlämmt und bei -10°C mit 22 g Dicyclohexylcarbodiimid (0.11 mol) in 100 ml Dimethylformamid versetzt. Man ließ über Nacht unter Rühren auf Zimmertemperatur kommen, der Dicyclohexylharnstoff wurde abgetrennt und die Dimethylformamid-Lösung in 1 l kalte gesätt. NaCl-Lösung eingerührt. Dabei schied sich ein Öl ab, das mit Äthylacetat extrahiert wurde. Nach Waschen der Essigesterlösung mit 5proz. NaHCO₃-Lösung, Wasser und 5proz. KHSO₄-Lösung und mit Wasser wurde getrocknet, eingeebnet und aus Essigester/Petroläther nach 2maligem Abtrennen ausgeschiedener brauner Schmierer kristallisiert.

Ausbeute: 21 g (76%); Schmp. 86–88°C. [α]_D²⁴: -13.0° (c=1, in Methanol). DC: VI, VII einheitlich.

C₁₈H₂₅N₃O₈ (411.4) Ber. C 52.55 H 6.12 N 10.22
Gef. C 52.69 H 6.21 N 10.23

Thr-Gly-OBzl(NO₂) \times HCl

41.1 g Boc-Thr-Gly-OBzl(NO₂) (0.1 mol) wurde mit 120 ml 4N HCl/Dioxan übergossen und unter gelegentlichem Umschütteln 30 min stehengelassen. Dann wurde eingeebnet und das zurückgebliebene Öl mit absol. Äther übergossen und durchgerührt bis alles fest geworden war. Umkristallisiert wurde aus Äthanol/Petroläther.

Ausbeute: 34 g (100%); Schmp. 100–103°C. [α]_D²⁴: +3.6° (c=1, in Methanol). DC: I, II, III, V einheitlich.

C₁₃H₁₈ClN₃O₆ (347.8) Ber. N 12.09
Gef. N 11.98

Boc-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂)

Das oben erhaltene Peptid-hydrochlorid (0.1 mol) wurde in 400 ml Dimethylformamid von 0°C gelöst, mit 14 ml Triäthylamin (0.1 mol) versetzt und mit 31 g Boc-Ala-ONp⁽¹¹⁾ (0.1 mol) 24 h bei 0°C und 24 h bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann goß man in 1 l gesätt. Kochsalzlösung von 0°C ein, extrahierte das anfallende Öl mit Essigester und behandelte die Essigesterlösung wie üblich. Die Kristallisation erfolgte aus Äthanol/Petroläther.

Ausbeute: 36 g (75%); Schmp. 70–72°C. [α]_D²⁴: -11.3° (c=1, in Dimethylformamid). DC: V, VI, VII einheitlich.

C₂₁H₃₀N₄O₉ (482.5) Ber. C 52.27 H 6.26 N 11.62
Gef. C 52.30 H 6.20 N 11.57

Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) × CF₃CO₂H

24.1 g Boc-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) (0.05 mol) wurden mit 100 ml Trifluoressigsäure übergossen und unter gelegentlichem Umschütteln 1/2 h stehengelassen. Dann wurde im Vak. eingeeengt und der ölige Rückstand mit absol. Äther übergossen. Dabei wurde das Produkt fest. Man kristallisierte aus Äthanol/Äther/Petroläther um. Ausbeute: 23.5 g (95%); Schmp. 112–114°C. [α]_D²⁴: –12.4° (c=1, in Methanol). DC: I, II, III einheitlich. C₁₈H₂₃F₃N₄O₉ (496.4) Ber. C 43.55 H 4.67 N 11.28
Gef. C 43.40 H 5.07 N 11.55

Boc-Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂)

25 g Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) × CF₃CO₂H (0.05 mol) und 16.5 g Boc-Ala-ONp^[11] (0.05 mol) wurden in 400 ml Dimethylformamid gelöst und bei 0°C mit 7 ml Triäthylamin (0.05 mol) versetzt. Dann ließ man 24 h bei 0°C und 24 h bei Zimmertemperatur stehen und goß den Ansatz in 1 l eiskalte gesätt. NaCl-Lösung. Dabei fiel das Produkt als Öl an, das rasch durchkristallisierte. Es wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Äthanol umkristallisiert.

Ausbeute: 25 g (90%); Schmp. 186–187°C. [α]_D²⁴: –15.2° (c=1, in Dimethylformamid). DC: I, II, V einheitlich.

C₂₄H₃₅N₅O₁₀ (553.3) Ber. C 52.04 H 6.33 N 12.66
Gef. C 51.98 H 6.41 N 12.56

Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) × CF₃CO₂H

11 g Boc-Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) (0.02 mol) wurden mit 60 ml Trifluoressigsäure übergossen, nach 30 min wurde eingeeengt und aus Methanol/Äther/Petroläther kristallisiert.

Ausbeute: 9.5 g (90%); Schmp. 129–131°C. [α]_D²⁴: –27.7° (c=1, in Methanol).

C₂₁H₂₈F₃N₅O₁₀ (567.5) Ber. C 44.27 H 4.98 N 12.34
Gef. C 43.91 H 5.34 N 11.87

Z-Gln(DMBH)-Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂)

6.3 g Z-Gln(DMBH)-ONp^[6] (0.01 mol) und 5.7 g Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) × CF₃CO₂H (0.01 mol) wurden in 150 ml Dimethylformamid von 0°C gelöst, mit 1.4 ml Triäthylamin (0.01 mol) versetzt und bei 0°C stehengelassen. Nach 1/2 h begann der Ansatz zu gelieren, nach 4 h war der Kolbeninhalt gallertig-fest. Man gab weitere 100 ml Dimethylformamid hinzu und rührte noch 24 h, wobei man langsam auf Zimmertemperatur kommen ließ. Der Filterkuchen wurde mit Äthanol ausgekocht, nach dem Abkühlen wurde abgesaugt, getrocknet und das Produkt in heißem Dimethylformamid gelöst und langsam mit H₂O versetzt. Der sich dabei bildende Niederschlag wurde nach dem Abkühlen ab-

gesaugt, mit Aceton und Äther gewaschen und getrocknet. Man erhielt ein lockeres weißes Pulver.

Ausbeute: 7.9 g (82%); Schmp. 233–234°C. [α]_D²⁴: –7.0° (c=0.5, in Dimethylformamid). DC: I, II, III.

C₄₇H₅₅N₇O₁₄ (942.0) Ber. C 59.93 H 5.89 N 10.41
Gef. C 60.02 H 6.22 N 10.43

Gln(DMBH)-Ala-Ala-Thr-Gly-OH

1.9 g Z-Gln(DMBH)-Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) (0.002 mol) wurden in 200 ml Dimethylformamid mit PdO₂ als Katalysator hydriert. Die Substanz war zunächst ungelöst, im Verlauf der H₂-Aufnahme trat kurzzeitig Lösung ein, dann fiel das Produkt aus. Zu diesem Zeitpunkt war fast die theoretische Menge H₂ aufgenommen worden. Man brachte das Produkt durch Zugabe von Wasser wieder in Lösung und hydrierte zu Ende. Dann wurde im Vak. eingeeengt, wobei das Produkt aus der zurückbleibenden Dimethylformamid-Lösung ausfiel. Es wurde abgetrennt, mit Äthanol und Äther gewaschen und getrocknet.

Ausbeute: 1.1 g (84.5%); Schmp. 216–218°C. [α]_D²⁴: –44.6° (c=0.5, in 0.1N NaOH). DC: I, II, III eine kleine Nebenbande.

C₃₂H₄₄N₆O₁₀ (672.7) Ber. N 12.49
Gef. N 12.47

Boc-Gln-Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂)

15.9 g Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) × CF₃CO₂H (0.03 mol) und 11 g Boc-Gln-ONp^[4] wurden in 250 ml Dimethylformamid von 0°C gelöst. Man gab 4.2 ml Triäthylamin (0.03 mol) hinzu, ließ 12 h im Eisschrank und 12 h bei Zimmertemperatur stehen und goß dann in 1.5 l gesätt. NaCl-Lösung ein. Nach einigen Stunden Stehenlassen im Eisbad wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und der noch feuchte Rückstand aus Äthanol mit Petroläther kristallisiert und aus Äthanol/Petroläther umkristallisiert.

Ausbeute: 15.6 g (76%); Schmp. 193–195°C. [α]_D²⁴: –16.8° (c=1, in Dimethylformamid). DC: I, II, III einheitlich.

C₂₉H₄₃N₇O₁₂ (681.7) Ber. C 51.10 H 6.35 N 14.39
Gef. C 51.22 H 6.26 N 14.22

Aminosäureanalyse:

	Glu	Ala	Thr	Gly
Ber.	1	2	1	1
Gef.	0.96	2.00	0.94	1.00

Boc-Gln[Bzl(OMe)]-Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂)

13.3 g (0.025 mol) Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) × CF₃CO₂H, 9.2 g (0.025 mol) Boc-Gln[Bzl(OMe)]^[5] und 5.5 g 1-Hydroxybenzotriazol (0.04 mol) wurden bei –10°C in 200 ml Dimethylformamid gelöst, mit 3 ml N-Methylmorpholin (0.025 mol) und anschließend mit 5.5 g (0.026 mol) Dicyclohexylcarbodiimid in 50 ml Dimethylformamid versetzt. Man rührte im Eisbad und ließ über Nacht auf Zimmertemperatur kommen,

trennte den Dicyclohexylharnstoff ab und goß in 1 l Eiswasser ein. Dabei fiel das Produkt aus, es wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und der noch feuchte Filterkuchen zweimal aus Äthanol umkristallisiert.

Ausbeute: 17.5 g (87.5%); Schmp. 169–172°C. $[\alpha]_D^{24}$: -30.5° ($c=1$, in Methanol). DC: I, II, III, V einheitlich.

$C_{37}H_{51}N_7O_{13}$ (801.9) Ber. C 55.42 H 6.41 N 12.22
Gef. C 54.60 H 6.58 N 12.03

Boc-Gln[Bzl(OMe)]-Ala-Ala-Thr-Gly-OH

8 g Boc-Gln[Bzl(OMe)]-Ala-Ala-Thr-Gly-OBzl(NO₂) (0.01 mol) wurden in 300 ml heißem Methanol gelöst mit 2 ml Eisessig versetzt und mit Pd/Aktivkohle hydriert. Nach Beendigung der Wasserstoffaufnahme und Filtrieren wurde eingengt, die gelbbraune Lösung in 100 ml 5proz. NaHCO₃-Lösung aufgenommen, 3mal mit Äthylacetat extrahiert und die wäßrige Lösung anschließend vorsichtig mit KHSO₄-Lösung auf pH 4 gebracht. Dabei fiel das Acylpeptid als käsiger voluminöser Niederschlag aus. Er wurde abgesaugt und mit Eiswasser gewaschen.

Ausbeute: 4.2 g (61%); Schmp. 184–185°C. $[\alpha]_D^{24}$: -36.5° ($c=1$, in Methanol). DC: I, II, V eine kleine Nebenbande.

$C_{30}H_{46}N_6O_{11}$ (666.8) Ber. C 54.04 H 6.95 N 12.60
Gef. C 53.98 H 6.56 N 12.37.

Literatur

- ¹ II. Mitteil.: Schaich, E. & Schneider, Fr. (1974) *diese Z.* **355**, 945–951, vorstehend.
- ² Liu, T. Y., Stein, W. H., Moore, S. & Elliot, S. D. (1965) *J. Biol. Chem.* **240**, 1143–1149.
- ³ Wünsch, E. & Zwick, A. (1964) *Chem. Ber.* **97**, 2497–2503.
- ⁴ Zahn, H., Danho, W. & Gutte, B. (1966) *Z. Naturforsch.* **21b**, 763–773.
- ⁵ Pietta, P. G. & Marshall, G. R. (1970) *Chem. Commun.* 650–651.
- ⁶ König, W. & Geiger, R. (1970) *Chem. Ber.* **103**, 2041–2051.
- ⁷ Reindel, F. & Hoppe, W. (1954) *Chem. Ber.* **87**, 1103–1107.
- ⁸ Zahn, H. & Schüssler, H. (1961) *Liebigs Ann. Chem.* **641**, 176–183.
- ⁹ Goodmann, M. & Stueben, K. C. (1959) *J. Amer. Chem. Soc.* **81**, 3980–3983.
- ¹⁰ Schnabel, E. (1967) *Liebigs Ann. Chem.* **702**, 188–196.
- ¹¹ Hofmann, K., Schmiechen, R., Wells, R. D., Wohman, Y. & Yanaihara, N. (1965) *J. Amer. Chem. Soc.* **87**, 611–619.