

Über Peptidsynthesen, XLII<sup>1)</sup>

## Die Synthese der Melittin-Teilsequenz 1–20 und 7–20

von Eberhard Schröder

Aus dem Hauptlaboratorium der Schering AG, Berlin-West

Eingegangen am 23. Juli 1966\*)

---

Aus den Teilsequenzen 7–14 und 15–20 wurde nach der Azidmethode und durch nachfolgende Abspaltung der Schutzgruppen die Melittinsequenz 7–20 synthetisiert. Kupplung der partiell geschützten Sequenz 7–20 mit der *N*-terminalen Sequenz 1–6 und Schutzgruppenabspaltung lieferte das Eicosapeptid, das nach präparativer Elektrophorese als Acetat isoliert wurde.

---

Im Verlauf unserer Arbeiten zur Totalsynthese der im Bienengift enthaltenen Peptide Melittin I und II<sup>2)</sup> wurden die mittelständige Sequenz 7–20 und die *N*-terminale Sequenz 1–20 nach dem angegebenen Schema synthetisiert und in freier Form als Acetate isoliert. Zur Synthese des Eicosapeptids 1–20 wurde zunächst aus den (15–17)- und (18–20)-Tripeptiden \*\*) **6** und **3** nach der Azidmethode das (15–20)-Hexapeptidderivat **7** synthetisiert. Es konnte mit 85-proz. Ausbeute kristallin erhalten werden. Nach katalytischer Hydrierung zum ebenfalls kristallinen **8** wurde mit dem substituierten (7–14)-Octapeptidhydrazid **9** (durch Hydrazinolyse des entsprechenden Methylesters<sup>1)</sup> und Kristallisation) zum substituierten (7–20)-Tetradecapeptidderivat **10** kondensiert. Katalytische Hydrierung und Umsetzung mit der doppelten molaren Menge des *N*-terminalen Boc-(1–6)-hexapeptid-hydrazids **15** lieferte das vollgeschützte Eicosapeptid, von dem ohne weitere Reinigung sämtliche Schutzgruppen mit Trifluoressigsäure entfernt wurden. Durch Chromatographie an Sephadex G 25 im System Methanol/Eisessig/Wasser (1:1:1) konnte ein Produkt erhalten werden, das elektrophoretisch nur eine äußerst schwache Nebenbande enthält. Präparative trägerfreie Elektrophorese (Pheroplan)<sup>3,4)</sup> bei pH 2 führte schließlich zu einer elektrophoretisch einheitlichen Verbindung.

---

\*) Auf Wunsch des Autors erst jetzt veröffentlicht.

\*\*) Die Bezeichnung der Teilsequenzen folgt den Empfehlungen der IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, IUPAC Information Bulletin Nr. 27, 16 (1966).

1) Zugleich II. Mitteilung über Melittin. XLI. Mitteilung: K. Lübke, Liebigs Ann. Chem. 702, 180 (1967).

2) E. Habermann und J. Jentsch, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 253, 40 (1966).

3) J. Barrollier, E. Watzke und H. Gibian, Z. Naturforsch. 13b, 754 (1958).

4) E. Schröder und S. Matthes, J. Chromatogr. [Amsterdam] 17, 189 (1965).



Die Sequenz 7—20 wurde auf zwei Wegen erhalten: Durch Behandlung von **11** mit Trifluoressigsäure und aus dem der Verbindung **10** entsprechenden Di-Boc-Derivat. Letzteres konnte aus Boc-Lys(Boc)-Val-Leu-NHNH<sub>2</sub> und H-Thr-Thr-Gly-Leu-Pro-OMe<sup>1)</sup>, Hydrazinolyse des Octapeptidmethylesters und Kupplung mit **8** gewonnen werden. Eine Reinigung der freien Peptide 7—20 gelang wiederum durch präparative Elektrophorese.

Für die sorgfältige Durchführung der präparativen Arbeiten danke ich Herrn *M. Lehmann* und Fräulein *D. Thielicke*, für die quantitativen Aminosäureanalysen Herrn *G. Kloß*.

## Beschreibung der Versuche

Die *Schmelzpunkte* wurden mit dem Apparat nach Tottoli (Fa. W. Büchi, Schweiz) bestimmt und sind nicht korrigiert. — Die *Drehwerte* wurden mit dem lichtelektrischen Präzisionspolarimeter 0.005 (Fa. Zeiss) gemessen, Fehlergrenze  $\pm 1^\circ$ . — Die *Analysen* wurden in unserem analytischen Laboratorium (Dipl.-Ing. J. Huber) ausgeführt. — Zur Reinheitskontrolle wurden alle Verbindungen *dünnschichtchromatographisch* in Butanol/Eisessig/Wasser (75:13:12), Methanol/Chloroform (1:1) und Methylenchlorid/Aceton (1:1) und die Verbindungen mit freier Aminogruppe *elektrophoretisch* bei pH 2 (Essigsäure/Ameisensäure) und pH 5 (Pyridiniumacetat), jeweils mit Propylenglykol als Lösungsvermittler, untersucht. Die Anfärbungen erfolgten nach der Chlormethode und mit Ninhydrin-Cd. — Literatur zu den verwendeten Aminosäurederivaten s. Lit.<sup>1)</sup>.

### Melittin-Sequenz 1—20 über Benzyloxycarbonyl-geschützte Bausteine

*Z-L-Ser-L-Try-OMe*. — 7.5 g (30 mMol) *Z-L-Ser-NHNH<sub>2</sub>* in 15 ccm DMF werden bei  $-20^\circ$  5 Min. mit 30 ccm *HCl-haltigem THF* + 3.7 ccm *tert.-Butylnitrit* stark gerührt, mit 30 ccm kaltem Essigester versetzt, mit Triäthylamin neutralisiert und mit 33 mMol *H-L-Try-OMe* (aus 8.6 g Hydrochlorid mit Triäthylamin freigesetzt) 1 Tag bei  $0^\circ$  stehengelassen. Es wird eingengt, in Essigester aufgenommen, mit gesätt. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, 10-proz. Citronensäure und Wasser ausgeschüttelt (übliche Reinigung), über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Der ölige Rückstand wird mit Wasser verrieben und aus Äthanol/Wasser umkristallisiert. Ausbeute 12.3 g (93%) Nadeln vom Schmp. 101.5–103.5°;  $[\alpha]_D^{23} = +7.1^\circ$  ( $c = 1$ , Methanol).

C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (439.5) Ber. C 62.86 H 5.73 N 9.56 Gef. C 62.87 H 6.09 N 9.24

*Z-L-Ser-L-Try-NHNH<sub>2</sub>* (1). — 8.8 g des voranstehenden *Methylesters* in 100 ccm Methanol werden 2 Tage bei Raumtemperatur mit 7 ccm *Hydrazinhydrat* stehengelassen, abgesaugt und mit Äther verrieben. Aus DMF/Äthanol/Wasser kristallisieren 7.0 g (80%) vom Schmp. 234–234.5°;  $[\alpha]_D^{23} = -14.9^\circ$  ( $c = 1$ , Eisessig),  $+2.2^\circ$  ( $c = 1$ , DMF).

C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> (439.5) Ber. C 60.13 H 5.73 N 15.94 Gef. C 59.89 H 5.95 N 15.62

*Z-L-Ser-L-Try-L-Ile-OBu<sup>t</sup>* (2). — 880 mg (2 mMol) **1** in 4 ccm DMF + 2 ccm *HCl-haltigem THF* (2.2*n*) werden 5 Min. bei  $-20^\circ$  mit 0.24 ccm *tert.-Butylnitrit* gerührt. Nach Verdünnen mit 10 ccm kaltem Essigester wird mit Triäthylamin neutralisiert und mit 410 mg (2.2 mMol) *H-L-Ile-OBu<sup>t</sup>* in 3 ccm Essigester 2 Tage bei  $0^\circ$  stehengelassen. Nach üblicher Reinigung

kristallisiert aus Essigester/Hexan 1.0 g (84%) vom Schmp. 152–153°;  $[\alpha]_D^{23} = -33.8^\circ$  ( $c = 1$ , Methanol).

$C_{32}H_{42}N_4O_7$  (594.7) Ber. C 64.63 H 7.12 N 9.42 Gef. C 64.83 H 7.27 N 9.18

*H-L-Ser-L-Try-L-Ile-OBu<sup>t</sup>* (3). — 3.0 g **2** in 50 ccm Methanol werden mit 1 g *Pd-Mohr* hydriert, filtriert und eingengt. Ausbeute 2.35 g (100%) erstarrter Schaum.  $[\alpha]_D^{23} = -21.4^\circ$  ( $c = 1$ , Methanol).

$C_{24}H_{36}N_4O_5 \cdot \frac{1}{2}H_2O$  (469.6) Ber. C 61.39 H 7.94 N 11.93 Gef. C 61.46 H 8.02 N 11.87

*Aminosäureanalyse* (Hydrolyse 24 Stdn., 105°): Ser<sub>0.90</sub>, Ile<sub>1.00</sub>.

*Boc-L-Leu-L-Ile-OEt* (4). — 5.0 g (20 mMol) *Boc-L-Leu-OH* werden mit 2.8 ccm (20 mMol) *Triäthylamin* und 2.0 ccm *Chlorameisensäureäthylester* in THF bei  $-15^\circ$  in das gemischte Anhydrid übergeführt und mit einer Mischung von 4.8 g (24 mMol) *H-L-Ile-OEt-HCl* und 3.4 ccm (24 mMol) *Triäthylamin* in DMF umgesetzt. Nach 12 Stdn. wird i. Vak. eingengt, in Essigester aufgenommen und in üblicher Weise ausgeschüttelt und aufgearbeitet. Ausbeute 6.1 g (80%). Aus Methanol/Wasser Schmp. 108–110°;  $[\alpha]_D^{23} = -34.4^\circ$  ( $c = 0.8$ , Methanol).

$C_{19}H_{36}N_2O_5$  (372.5) Ber. C 61.26 H 9.74 N 7.52 Gef. C 60.92 H 9.74 N 7.64

*Z-L-Ala-L-Leu-L-Ile-OEt* (5). — 5.6 g (15 mMol) **4** werden in 15 ccm Essigester gelöst und 30 Min. bei 0° mit *HCl-Gas* behandelt. Nach 30 Min. bei Raumtemperatur wird i. Vak. eingengt. Das elektrophoretisch einheitliche Öl wird sofort in DMF gelöst, mit 2.1 ccm (15 mMol) *Triäthylamin* versetzt und mit dem gemischten Anhydrid aus 2.9 g (13 mMol) *Z-L-Ala-OH*, 1.8 ccm (13 mMol) *Triäthylamin* und 1.3 ccm (13 mMol) *Chlorameisensäureäthylester* umgesetzt. Nach üblicher Aufarbeitung und Umkristallisation aus Essigester/Petroläther werden 4.4 g (71%) erhalten. Schmp. 132–134°;  $[\alpha]_D^{23} = -53.6^\circ$  ( $c = 0.7$ , Äthanol).

$C_{25}H_{39}N_3O_6$  (477.7) Ber. C 62.86 H 8.24 N 8.80 Gef. C 62.80 H 7.93 N 9.08

*Z-L-Ala-L-Leu-L-Ile-NHNH<sub>2</sub>* (6). — 48 g **5** in 300 ccm Methanol + 35 ccm  $N_2H_4 \cdot H_2O$  werden 4 Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt, abgesaugt und aus DMF kristallisiert. Ausbeute 36 g (78%) vom Schmp. 243–244°;  $[\alpha]_D^{23} = -55.1^\circ$  ( $c = 1$ , Eisessig).

$C_{23}H_{37}N_5O_5$  (463.6) Ber. C 59.59 H 8.04 N 15.11 Gef. C 59.87 H 8.27 N 15.09

*Aminosäureanalyse* (Hydrolyse 120 Stdn., 105°): Ala<sub>1.00</sub>, Leu<sub>1.05</sub>, Ile<sub>1.00</sub>.

*Z-L-Ala-L-Leu-L-Ile-L-Ser-L-Try-L-Ile-OBu<sup>t</sup>* (7). — 1.85 g (4 mMol) **6** werden in 8 ccm DMF suspendiert und mit 5 ccm *HCl-haltigem THF* (2n) + 0.5 ccm *tert.-Butylnitrit* 7 Min. bei  $-15^\circ$  gerührt. Die klare Lösung wird mit 10 ccm Essigester versetzt, mit *Triäthylamin* neutralisiert und mit 2.05 g (4.4 mMol) **3** in 5 ccm Essigester + 1 ccm DMF vereinigt. Nach 24 Stdn. Stehenlassen bei 0° wird eingengt und der Rückstand aus Methanol kristallisiert. 3.0 g (84%) Nadeln vom Schmp. 231–232°;  $[\alpha]_D^{23} = -26.4^\circ$  ( $c = 0.5$ , DMF).

$C_{47}H_{69}N_7O_{10}$  (892.1) Ber. C 63.28 H 7.80 N 10.99 Gef. C 63.38 H 7.90 N 11.26

*H-L-Ala-L-Leu-L-Ile-L-Ser-L-Try-L-Ile-OBu<sup>t</sup>* (8). — 2.86 g **7** in 50 ccm DMF werden mit 0.64 g *Pd-Mohr* hydriert. Es wird filtriert und i. Vak. eingengt. Aus Äthanol kristallisieren 2.1 g (87%) Nadeln vom Schmp. 253–254°;  $[\alpha]_D^{23} = -24.9^\circ$  ( $c = 0.5$ , DMF).

$C_{39}H_{63}N_7O_8$  (758.0) Ber. C 61.80 H 8.38 N 12.94 Gef. C 61.66 H 8.52 N 12.82

*Z-L-Lys(Boc)-L-Val-L-Leu-L-Thr-L-Thr-Gly-L-Leu-L-Pro-NHNH<sub>2</sub>* (9). — 3.8 g *Z-L-Lys(Boc)-L-Val-L-Leu-L-Thr-L-Thr-Gly-L-Leu-L-Pro-OMe*<sup>1)</sup> in 25 ccm Methanol werden mit 2.6 ccm  $N_2H_4 \cdot H_2O$  2 Tage auf 35° erwärmt. Es wird i. Vak. eingedampft, das verbleibende Öl über  $H_2SO_4$  getrocknet und 2mal aus Äthanol kristallisiert. Ausbeute 3.3 g (87%) vom Schmp. 185–187°;  $[\alpha]_D^{25} = -29.7^\circ$  ( $c = 0.5$ , DMF).

$C_{51}H_{85}N_{11}O_{14}$  (1076.3) Ber. C 56.91 H 7.96 N 14.32 Gef. C 56.68 H 8.10 N 14.37

*Z-L-Lys(Boc)-L-Val-L-Leu-L-Thr-L-Thr-Gly-L-Leu-L-Pro-L-Ala-L-Leu-L-Ile-L-Ser-L-Try-L-Ile-OBu<sup>t</sup>* (10). — 1.74 g (1.65 mMol) 9 in 8 ccm DMF werden 5 Min. bei –15° mit 1.7 ccm *HCl-haltigem THF* (2.2*n*) + 0.203 ccm *tert.-Butylnitrit* gerührt. Nach Verdünnung mit 10 ccm kaltem DMF wird mit Triäthylamin neutralisiert, mit 1.27 g (1.7 mMol) 8 in 10 ccm DMF vereinigt und 2 Tage bei 0° belassen. Es wird eingeengt und 2mal aus Äthanol kristallisiert. Ausbeute 1.95 g (66%) vom Schmp. 193–195°;  $[\alpha]_D^{25} = -37.2^\circ$  ( $c = 0.5$ , DMF).

$C_{90}H_{144}N_{16}O_{22}$  (1802.2) Ber. C 59.99 H 8.06 N 12.44 Gef. C 59.48 H 8.00 N 12.58

*H-L-Lys(Boc)-L-Val-L-Leu-L-Thr-L-Thr-Gly-L-Leu-L-Pro-L-Ala-L-Leu-L-Ile-L-Ser-L-Try-L-Ile-OBu<sup>t</sup>* (11). — 1.26 g 10 in 80 ccm Methanol, 10 ccm Eisessig + 10 ccm Wasser werden mit 600 mg *Pd-Mohr* hydriert, filtriert und eingeengt. Nach Umfällen aus Äthanol/Äther und 24stdg. Trocknen bei 30°/0.01 Torr werden 1.1 g (82%) vom Schmp. 170–174° erhalten;  $[\alpha]_D^{25} = -34.3^\circ$  ( $c = 0.5$ , DMF).

$C_{82}H_{138}N_{16}O_{20} \cdot 3.5 CH_3CO_2H \cdot 2H_2O$  (1914.3)

Ber. C 55.84 H 8.21 N 11.71  $H_2O$  1.88  $COCH_3$  7.87

Gef. 55.61 8.20 11.93 1.81 7.29

*Aminosäureanalyse* (Hydrolyse 72 Std., 105°): Lys<sub>1.10</sub>, Val<sub>1.04</sub>, Leu<sub>3.16</sub>, Thr<sub>1.98</sub>, Gly<sub>1.00</sub>, Pro<sub>0.98</sub>, Ala<sub>1.00</sub>, Ile<sub>2.07</sub>, Ser<sub>0.75</sub>.

*H-L-Ala-L-Val-L-Leu-OMe · HCl* (12 · HCl). — 9 g *Z-L-Ala-L-Val-L-Leu-OMe*<sup>1)</sup> in 180 ccm Methanol + 20 ccm *In HCl* werden mit 4 g *Pd-Mohr* hydriert, filtriert und eingeengt. Aus Äthanol/Äther werden 7 g (97%) vom Schmp. 191–192° erhalten.  $[\alpha]_D^{25} = -16.2^\circ$  ( $c = 1$ , DMF).

$C_{15}H_{29}N_3O_4 \cdot HCl \cdot 1/2 H_2O$  (360.9) Ber. C 49.92 H 8.66 Cl 9.82 N 11.64  $H_2O$  2.50

Gef. 49.73 9.00 9.46 11.56 3.09

*Boc-Gly-L-Ile-Gly-NHNH<sub>2</sub>* (13). — 1.8 g *Boc-Gly-L-Ile-Gly-OMe*<sup>1)</sup> werden in 10 ccm Methanol gelöst und mit 1 ccm  $N_2H_4 \cdot H_2O$  2 Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nach Animpfen kristallisieren 1.7 g (95%) vom Schmp. 149–150°;  $[\alpha]_D^{25} = +4.3^\circ$  ( $c = 1$ , DMF).

$C_{15}H_{29}N_5O_5$  (359.4) Ber. C 50.13 H 8.13 N 19.49 Gef. C 50.16 H 8.19 N 19.22

*Boc-Gly-L-Ile-Gly-L-Ala-L-Val-L-Leu-OMe* (14). — 720 mg (2 mMol) 13 + 3 ccm DMF werden bei –15° 5 Min. mit 2 ccm *HCl-haltigem THF* (2.2*n*) + 0.24 ccm *tert.-Butylnitrit* gerührt. Die klare Lösung wird mit 10 ccm kaltem DMF verdünnt, bei –25° mit Triäthylamin neutralisiert und mit 2.2 mMol 12 (aus 780 mg Hydrochlorid + 0.31 ccm Triäthylamin) in 5 ccm DMF vereinigt. Nach 1 Tag bei 0° wird mit Essigester das Hexapeptid ausgefällt. Ausbeute 1.1 g (86%), aus Äthanol/Essigester umgefällt, vom Schmp. 222–223°;  $[\alpha]_D^{25} = -22.6^\circ$  ( $c = 1$ , DMF).

$C_{30}H_{54}N_6O_9$  (642.8) Ber. C 56.06 H 8.47 N 13.07 Gef. C 56.35 H 8.40 N 12.89

*Aminosäureanalyse* (Hydrolyse 120 Std., 105°): Gly<sub>2.00</sub>, Ile<sub>1.00</sub>, Ala<sub>1.01</sub>, Val<sub>1.04</sub>, Leu<sub>1.00</sub>.

*Boc-Gly-L-Ile-Gly-L-Ala-L-Val-L-Leu-NHNH<sub>2</sub>* (15). — 1.4 g 14 in 10 ccm DMF + 0.77 ccm  $N_2H_4 \cdot H_2O$  werden 1 Tag bei Raumtemperatur belassen. Die ausgefallene Verbindung wird abgesaugt und gut mit Äthanol + Äther gewaschen. Ausbeute 1.25 g (80%) vom Schmp. 259–260°;  $[\alpha]_D^{25} = -42.0^\circ$  ( $c = 0.5$ , Dimethylsulfoxid).

$C_{29}H_{54}N_8O_8$  (642.8) Ber. C 54.19 H 8.47 N 17.43 Gef. C 53.98 H 8.54 N 17.58

*H-Gly-L-Ile-Gly-L-Ala-L-Val-L-Leu-L-Lys-L-Val-L-Leu-L-Thr-L-Thr-Gly-L-Leu-L-Pro-L-Ala-L-Leu-L-Ile-L-Ser-L-Try-L-Ile-OH*. — 640 mg (1 mMol) 15 werden in 10 ccm DMF suspendiert und bei  $-15^\circ$  mit 1 ccm *HCl*-haltigem THF (2.2*n*) + 0.15 ccm *tert.*-Butylnitrit versetzt. Nach 5 Min. wird die klare Azidlösung mit 10 ccm DMF vereinigt, mit Triäthylamin neutralisiert und mit 950 mg (0.5 mMol) 11 + 0.24 ccm Triäthylamin 2 Tage bei  $0^\circ$  aufbewahrt. Es wird eingeeignet und der Rückstand mit 20 ccm Trifluoressigsäure 15 Min. bei Raumtemperatur stehengelassen. Das freie Eicosapeptid wird mit Äther ausgefällt und auf einer Sephadex-G-25-Säule (800 g, System: Methanol/Eisessig/Wasser = 1 : 1 : 1) gereinigt; Ausbeute 1.0 g. Die Endreinigung zur elektrophoretisch einheitlichen Verbindung erfolgt durch präparative Elektrophorese (Pheroplan) bei pH 2. Ausbeute: 40% lyophilisiertes Pulver.  $[\alpha]_D^{25} = -95.0^\circ$  ( $c = 0.5$ , 2*n* Essigsäure).

$C_{97}H_{164}N_{22}O_{24} \cdot 2 \text{Acetat} \cdot 8 H_2O$  (2286.7)

Ber. C 53.05 H 8.29 N 13.48  $COCH_3$  3.76  $H_2O$  6.30

Gef. 53.19 8.15 12.89 3.81 5.86

*Aminosäureanalyse* (Hydrolyse 120 Stdn.,  $105^\circ$ ):

Ber. Gly<sub>3.00</sub>, Ile<sub>3.00</sub>, Ala<sub>2.00</sub>, Leu<sub>4.00</sub>, Lys<sub>1.00</sub>, Val<sub>2.00</sub>, Thr<sub>2.00</sub>, Pro<sub>1.00</sub>, Ser<sub>1.00</sub>

Gef. Gly<sub>2.80</sub>, Ile<sub>2.94</sub>, Ala<sub>1.95</sub>, Leu<sub>3.98</sub>, Lys<sub>1.00</sub>, Val<sub>1.98</sub>, Thr<sub>1.80</sub>, Pro<sub>0.95</sub>, Ser<sub>0.65</sub>

### Melittin-Sequenz 7—20 über *tert.*-Butyloxycarbonyl-geschützte Bausteine

*Boc-L-Lys(Boc)-L-Val-L-Leu-OMe*. — 3.46 g (10 mMol) *Boc-L-Lys(Boc)-OH* in 20 ccm THF + 1.38 ccm Triäthylamin werden bei  $-10^\circ$  15 Min. mit 0.95 ccm *Chlorkohlensäure-äthylester* gerührt und anschließend mit *H-L-Val-L-Leu-OMe*<sup>1)</sup> (aus 3.26 g  $\triangleq$  12 mMol Hydrochlorid mit Triäthylamin) in 20 ccm THF + 2 ccm DMF versetzt. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur und Stehenlassen über Nacht wird wie üblich aufgearbeitet. Aus Essigester/Petroläther kristallisieren 3.0 g (53%) von unscharfem Schmelzpunkt,  $[\alpha]_D^{25} = -56.0^\circ$  ( $c = 0.5$ , Eisessig).

$C_{28}H_{52}N_4O_8$  (572.7) Ber. C 58.72 H 9.15 N 9.78 Gef. C 58.35 H 9.40 N 9.94

*Boc-L-Lys(Boc)-L-Val-L-Leu-NHNH<sub>2</sub>*. — 2.5 g *Boc-L-Lys(Boc)-L-Val-L-Leu-OMe* in 20 ccm Äthanol + 1.1 ccm  $N_2H_4 \cdot H_2O$  werden 4 Stdn. auf  $50^\circ$  erhitzt und 20 Stdn. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nach Eindampfen i. Vak. und Trocknen über  $H_2SO_4$  wird aus Äthanol/Äther umgefällt: 2.2 g (88%) amorphes Produkt vom Schmp. 188–190°;  $[\alpha]_D^{25} = -54.6^\circ$  ( $c = 0.5$ , Eisessig).

$C_{27}H_{52}N_6O_7$  (572.7) Ber. C 56.62 H 9.15 N 14.67 Gef. C 56.11 H 9.19 N 14.94

*Boc-L-Lys(Boc)-L-Val-L-Leu-L-Thr-L-Thr-Gly-L-Leu-L-Pro-OMe*. — 2.87 g (5 mMol) *Boc-L-Lys(Boc)-L-Val-L-Leu-NHNH<sub>2</sub>* in 7 ccm DMF + 5 ccm *HCl*-haltigem THF (2.2*n*) werden 5 Min. bei  $-15^\circ$  mit 0.61 ccm *tert.*-Butylnitrit gerührt. Nach Verdünnen mit 7 ccm DMF wird mit Triäthylamin neutralisiert und 2 Tage bei  $0^\circ$  mit *H-L-Thr-L-Thr-Gly-L-Leu-L-Pro-OMe*

(aus 5.5 mMol Hydrochlorid<sup>1)</sup> mit Triäthylamin) in 15 ccm THF + 2 ccm DMF stehengelassen. Es wird i. Vak. eingedampft, der Rückstand in Butanol/Essigester-Gemisch gelöst und mit 1*n* HCl und gesätt. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung ausgeschüttelt. Aus Butanol/Petroläther wurden 4.0 g (77%) amorphes Pulver vom Schmp. 193–195° erhalten.  $[\alpha]_D^{25} = -67.0^\circ$  (*c* = 0.5, Eisessig).

C<sub>49</sub>H<sub>87</sub>N<sub>9</sub>O<sub>15</sub> (1042.3) Ber. C 56.48 H 8.41 N 12.10 Gef. C 56.23 H 8.42 N 12.00

*Boc-L-Lys(Boc)-L-Val-L-Leu-L-Thr-L-Thr-Gly-L-Leu-L-Pro-NHNH<sub>2</sub>*. — 0.5 g des voranstehenden *Methylesters* in 10 ccm Methanol werden mit 0.48 ccm N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 5 Stdn. bei 80° und über Nacht bei Raumtemperatur aufbewahrt. Mit Äther werden 0.4 g (80%) weißes Pulver ausgefällt. Schmelzpunkt unscharf;  $[\alpha]_D^{25} = -64.8^\circ$  (*c* = 0.5, Eisessig).

C<sub>48</sub>H<sub>87</sub>N<sub>11</sub>O<sub>14</sub>·2H<sub>2</sub>O (1078.3) Ber. C 53.48 H 8.51 N 14.29 H<sub>2</sub>O 3.34  
Gef. 53.70 8.28 14.72 3.09

*Boc-L-Lys(Boc)-L-Val-L-Leu-L-Thr-L-Thr-Gly-L-Leu-L-Pro-L-Ala-L-Leu-L-Ile-L-Ser-L-Try-L-Ile-OBu<sup>t</sup>*. — 374 mg (0.36 mMol) des voranstehenden *Hydrazids* in 3 ccm DMF + 0.35 ccm HCl-haltigem THF (2.2*n*) werden bei –15° mit 0.036 ccm *tert*-Butylnitrit versetzt. Nach 5 Min. wird mit 3 ccm DMF verdünnt, mit Triäthylamin neutralisiert und nach Abfiltrieren des Triäthylamin·HCl mit einer kalten Lösung von 228 mg (0.3 mMol) **7** in 3 ccm DMF versetzt. Nach 24 Stdn. bei 0° wird i. Vak. eingengt, der Rückstand mit Essigester verrieben, abgesaugt und durch 1stdg. Rühren in 15 ccm 10-proz. wäbr. Methanol mit Dowex-50 (H<sup>+</sup>-Form) weitgehend gereinigt. Ausbeute 410 mg; diese wurden, da dünnschichtchromatographisch nicht einheitlich, ohne Identifizierung zur Schutzgruppenabspaltung eingesetzt.

*H-L-Lys-L-Val-L-Leu-L-Thr-L-Thr-Gly-L-Leu-L-Pro-L-Ala-L-Leu-L-Ile-L-Ser-L-Try-L-Ile-OH·2Acetat·2H<sub>2</sub>O*. — a) 410 mg der voranstehend beschriebenen Verbindung werden mit 4 ccm *Trifluoressigsäure* 1 Stde. aufbewahrt. Nach dem Füllen mit Äther wird abgesaugt und mit Äther gewaschen. Ausbeute 410 mg. Das Rohprodukt wird durch präparative Elektrophorese in Essigsäure/Ameisensäure-Puffer (pH 2) gereinigt: 186 mg (45%) einheitliches Produkt.  $[\alpha]_D^{25} = -94.0^\circ$  (*c* = 0.5, Wasser).

C<sub>73</sub>H<sub>122</sub>N<sub>16</sub>O<sub>18</sub>·2Acetat·2H<sub>2</sub>O (1668.0) Ber. C 55.45 H 8.10 COCH<sub>3</sub> 5.16  
Gef. 55.69 8.34 4.54

*Aminosäureanalyse* (Hydrolyse 18 Stdn., 105°):

Ber. Thr<sub>2.00</sub>, Ser<sub>1.00</sub>, Pro<sub>1.00</sub>, Gly<sub>1.00</sub>, Ala<sub>1.00</sub>, Val<sub>1.00</sub>, Ile<sub>2.00</sub>, Leu<sub>3.00</sub>, Lys<sub>1.00</sub>  
Gef. Thr<sub>1.92</sub>, Ser<sub>0.83</sub>, Pro<sub>0.93</sub>, Gly<sub>0.97</sub>, Ala<sub>1.00</sub>, Val<sub>0.96</sub>, Ile<sub>1.96</sub>, Leu<sub>2.92</sub>, Lys<sub>0.98</sub>

b) 191 mg (0.1 mMol) **11** werden 1/2 Stde. mit 4 ccm *Trifluoressigsäure* stehengelassen, mit Äther versetzt und bei pH2 im Pheroplan gereinigt. Ausbeute 115 mg (69%),  $[\alpha]_D^{25} = -97.6^\circ$  (*c* = 0.5, Wasser).

[124/66]