

Spaltung mit Piperidin: 1.61 g 2.2-Diphenyl-1.3-dithiolan-1.1.3.3-tetroxyd wurden in 25 cm³ Piperidin 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt. Es wurde mit Chloroform und Wasser aufgetrennt. Wir erhielten aus Äthanol 0.9 g Benzhydryl- $[\beta$ -piperidino-äthyl]-sulfon, Schmp. 121°. Die Aufarbeitung der Mutterlauge erbrachte 556 mg vom Schmp. 121°; Ausb. 1.46 g (85% d. Th.).

$C_{20}H_{25}NO_2S$ (343.5) Ber. C 69.93 H 7.34 N 4.08 S 9.33

Gef. C 69.63 H 7.32 N 4.15 S 9.94

Spaltung mit äthanol. Natronlauge: 100 mg 2.2-Diphenyl-1.3-dithiolan-1.1-dioxyd in 50 cm³ 1*n* äthanol. NaOH erhitzten wir 1 Stde. unter Rückfluß. Dann wurde mit Chloroform und Wasser aufgetrennt. Der $CHCl_3$ -Rückstand wurde aus Dipropyläther umkristallisiert. Wir erhielten 17 mg (15% d. Th.) Substanz vom Schmp. 100–101°. Der Misch-Schmp. mit Benzhydryl- $[\beta$ -äthoxy-äthyl]-sulfon ergab keine Depression; die IR-Spektren waren identisch.

ALEXANDROS COSMATOS, IPHIGENIA PHOTAKI und LEONIDAS ZERVAS

Peptidsynthesen über *N*-Phosphorylamino-säure-phosphorsäure-anhydride^{1,2)}

Aus dem Laboratorium für Organische Chemie der Universität Athen

(Eingegangen am 27. März 1961)

N-Dibenzylphosphoryl(DBP)-amino-säuren (II) werden unter der Einwirkung von Diphenylphosphoryl(DPP)-chlorid in gemischte Anhydride III übergeführt und diese mit Aminosäure-benzylestern gekuppelt. Die erhaltenen *N*-DBP-Dipeptid-ester IV werden durch katalytische Hydrierung oder durch Bromwasserstoff sämtlicher Benzylgruppen entledigt und unmittelbar in die freien Peptide VI übergeführt, da die intermediär sich bildenden *N*-Phosphoryl-peptide V infolge der herrschenden sauren Reaktion sofort entphosphoryliert werden. — Carbo-benzoxy- bzw. Trityl-amino-säuren lassen sich ebenfalls mit DPP-Chlorid in gemischte Anhydride überführen und somit auch auf diese Weise mit anderen Aminosäuren verbinden.

Bekanntlich hängen die Fortschritte in der Synthese von Peptiden einerseits von der Auffindung passender Schutzgruppen für die Aminogruppe der Aminosäuren, andererseits von der Auffindung leistungsfähiger Methoden zur Verknüpfung des Carboxyls mit der Aminogruppe³⁾ ab. Im folgenden berichten wir über neuere Versuche unseres Laboratoriums in diesen beiden Richtungen. Zuerst werden wir uns mit dem Problem der vorübergehenden Blockierung der Aminogruppe befassen.

¹⁾ Auszugsweise vorgetragen am 2. Europ. Peptid-Symposium, in München, 1959.

²⁾ Teil der Dissertat. A. COSMATOS, Univ. Athen, 1959.

³⁾ J. P. GREENSTEIN und M. WINITZ, *Chemistry of the Amino Acids*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1961; J. S. FRUTON, *Advances in Protein Chemistry*, Bd. V, S. 1, Academic Press Inc., New York 1949; M. GOODMAN und G. W. KENNER, ebenda Bd. XII, S. 465, 1957; TH. WIELAND, *Angew. Chem.* 63, 7 [1951]; ebenda 71, 417 [1959]; R. SCHWYZER, *Annu. Rev. Biochem.*, Bd. XXIX, Annual Reviews Inc., Stanford, Cal., 1960.

Drei Jahrzehnte nach seiner Einführung stellt das Carbobenzoxyverfahren⁴⁾ immer noch die Hauptmethode für die synthetische Bereitung von Peptiden dar, insbesondere seitdem es auf die meisten Aminosäuren ausgedehnt⁵⁾ und an die Eigenart mancher von ihnen, z. B. des Lysins^{6,7)}, des Cysteins-Cystins⁸⁾ und des Arginins⁹⁾ angepaßt wurde. Inzwischen sind mehrere neuere Methoden³⁾ vorgeschlagen worden, von denen manche, z. B. die Toluol-sulfo-^{3,10)}, die Phthaloyl-^{3,11)}, die Trifluoracetyl-^{3,12)}, besonders aber die Trityl-Methode^{7,13-15)}, in speziellen Fällen gute Dienste leisten.

Den neuen Methoden fügen wir nunmehr eine weitere hinzu, die sozusagen ein „Nebenprodukt“ unserer Arbeit über *N*-phosphorylierte Aminosäuren¹⁶⁾ ist. Bei dieser Methode wird die Aminogruppe vorübergehend mit einem Dibenzylphosphoryl-(DBP)-Rest blockiert.

Dibenzyl- bzw. *p*-substituierte Dibenzyl-phosphorsäure-ester, die bekanntlich sehr leicht durch Einwirkung von Natriumjodid auf die entsprechenden Triester erhältlich sind¹⁷⁾, haben sich als sehr wertvolle Ausgangsmaterialien für die Bereitung von Phosphorsäure-monoestern und Phosphamidsäuren erwiesen¹⁶⁻²¹⁾. Durch Kupplung

4) M. BERGMANN und L. ZERVAS, Ber. dtsh. chem. Ges. **65**, 1192 [1932].

5) Über die diesbezüglichen Arbeiten von M. BERGMANN und L. ZERVAS, vgl. zusammenfassende Literatur i. c. 3).

6) M. BERGMANN, L. ZERVAS und W. F. ROSS, J. biol. Chemistry **111**, 245 [1935].

7) B. BEZAS und L. ZERVAS, J. Amer. chem. Soc. **83**, 719 [1961].

8) R. H. SIFFERT und V. DU VIGNEAUD, J. biol. Chemistry **108**, 753 [1935]; C. R. HARRINGTON und T. H. MEAD, Biochem. J. **29**, 1602 [1935]; L. ZERVAS und I. PHOTAKI, Chimia [Zürich] **14**, 375 [1960].

9) M. BERGMANN, L. ZERVAS und H. RINKE, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **224**, 40 [1934]; D. T. GISH und F. H. CARPENTER, J. Amer. chem. Soc. **75**, 5872 [1953]; G. W. ANDERSON, ebenda **75**, 6082 [1953]; K. HOFMANN, A. RHEINER und W. D. PECKHAM, ebenda **75**, 6084 [1953]; H. O. VAN ORDEN und E. L. SMITH, J. biol. Chemistry **208**, 751 [1941]; L. ZERVAS, M. WINITZ und J. P. GREENSTEIN, J. org. Chemistry **22**, 1515 [1957]; L. ZERVAS, T. T. OTANI, M. WINITZ und J. P. GREENSTEIN, J. Amer. chem. Soc. **81**, 2878 [1959]; L. ZERVAS, M. WINITZ und J. P. GREENSTEIN, ebenda **83**, 3300 [1961].

10) R. SCHÖNHHEIMER, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **154**, 203 [1926]; V. DU VIGNEAUD und O. K. BEHRENS, J. biol. Chemistry **117**, 27 [1937]; J. HONZL und J. RUDINGER, Collect. czechoslov. chem. Commun. **20**, 1190 [1955].

11) J. G. SHEEHAN und V. S. FRANK, J. Amer. chem. Soc. **71**, 1856 [1949]; D. A. KIDD und F. E. KING, Nature [London] **162**, 776 [1948].

12) F. WEYGAND und E. CSENDES, Angew. Chem. **64**, 136 [1952]; Chem. Ber. **87**, 248 [1954]; F. WEYGAND und G. ADERMAN, ebenda **93**, 2334 [1960].

13) A. HILLMANN-ELIES, G. HILLMANN und H. JATZKEWITZ, Z. Naturforsch. **8b**, 445 [1953].

14) L. VELLUZ, G. AMIARD und R. HEYMÈS, Bull. Soc. chim. France **1955**, 1283; G. AMIARD, R. HEYMÈS und L. VELLUZ, ebenda **1955**, 191; ebenda **1956**, 97, 698; L. VELLUZ, G. AMIARD, J. BARTOS, B. GOFINET und R. HEYMÈS, ebenda **1956**, 1464.

15) a) L. ZERVAS, Communications du XIV Congrès International de Chimie Pure et Appliquée, Zürich 1955, S. 224; D. THEODOROPOULOS, Dissertat., Univ. Athen 1953; G. C. STELAKATOS, Dissertat., Univ. Athen 1954; b) L. ZERVAS und D. M. THEODOROPOULOS, J. Amer. chem. Soc. **78**, 1359 [1956]; G. C. STELAKATOS, D. M. THEODOROPOULOS und L. ZERVAS, ebenda **81**, 2884 [1959].

16) L. ZERVAS und P. KATSOYANNIS, J. Amer. chem. Soc. **77**, 5351 [1955].

17) L. ZERVAS und I. DILARIS, J. Amer. chem. Soc. **77**, 5354 [1955]; Chem. Ber. **89**, 925 [1956].

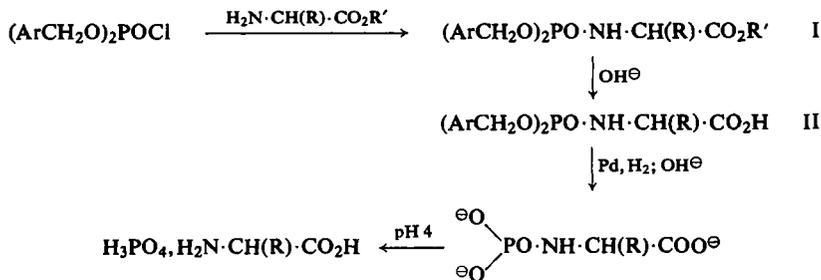
18) L. ZERVAS, Naturwissenschaften **27**, 317 [1939].

19) F. R. ATHERTON, H. T. OPENSHAW und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] **1945**, 382, 660.

20) S. O. LI, J. Amer. chem. Soc. **74**, 5959 [1952]; S. O. LI und R. E. EAKIN, ebenda **77**, 1867 [1955].

21) L. ZERVAS und S. KONSTAS, Chem. Ber. **93**, 435 [1960].

der Chloride der obigen Diester mit Aminosäureestern und Verseifung der sich bildenden Produkte I erhält man *N*-DBP-Aminosäuren II, die bei der Entfernung der Benzylgruppen durch katalytische Hydrierung¹⁶⁻¹⁹ in alkalischem Medium zu *N*-Phosphoryl-aminosäure-Salzen umgewandelt werden¹⁶. In diesen letzten Verbindungen und im Gegensatz zu ihren Dibenzylderivaten II ist die P-N-Bindung gegen Säuren besonders empfindlich; schon bei pH 4 und bei Raumtemperatur wird sie in wenigen Minuten quantitativ hydrolytisch gespalten¹⁶.



Ia, IIa: Ar = (*p*)NO₂C₆H₄, R = CH₃

Ib, IIb: Ar = (*p*)NO₂C₆H₄, R = C₆H₅CH₂

Ic, IIc: Ar = (*p*)NO₂C₆H₄, R = (CH₃)₂CHCH₂

Id, II d: Ar = (*p*)BrC₆H₄, R = (CH₃)₂CHCH₂

Ie: Ar = (*p*)JC₆H₄, R = (CH₃)₂CHCH₂

Ia, Ib, Ic, Id, Ie: R' = CH₃

Für die Zwecke vorliegender Arbeit mußte man zunächst die oben erwähnten DBP-Aminosäuren II mit Aminosäureestern kuppeln. Mit Hilfe der Methode der gemischten Anhydride²², speziell solcher, die durch Wechselwirkung zwischen DBP-Aminosäuren und Chlorameisensäureestern entstehen^{23,24}, ließ sich eine Peptidbildung nur beim DBP-Glycin und zwar mit nur geringer Ausbeute erzielen; alle anderen DBP-Aminosäuren ließen sich auf diese Weise nicht in Peptide überführen. Andererseits konnte nur der DBP-Glycinester mit Hydrazin in das entsprechende Hydrazid umgewandelt werden, nicht aber die übrigen DBP-Aminosäureester. Alles dies erinnert an das analoge Verhalten der Trityl-aminosäuren^{15b}.

Diese Kupplungsschwierigkeit läßt sich, wie festgestellt wurde, durch Verwendung gemischter Anhydride aus DBP-Aminosäuren und Phosphorsäurediestern (Dialkyl- oder Diphenyl-estern) III leicht überwinden. Bei der praktischen Ausführung der Reaktion werden in einem indifferenten Lösungsmittel nacheinander äquimolekulare Mengen von DBP-Aminosäure, Triäthylamin und DPP-Chlorid²⁵ zugegeben und anschließend die Lösung nach wenigen Minuten mit Aminosäureestern, vorzugsweise Benzylestern, versetzt; in sehr guter Ausbeute bilden sich hierbei die entsprechenden Dipeptidderivate IV und Diphenylphosphorsäure, die sich sehr leicht aus dem Re-

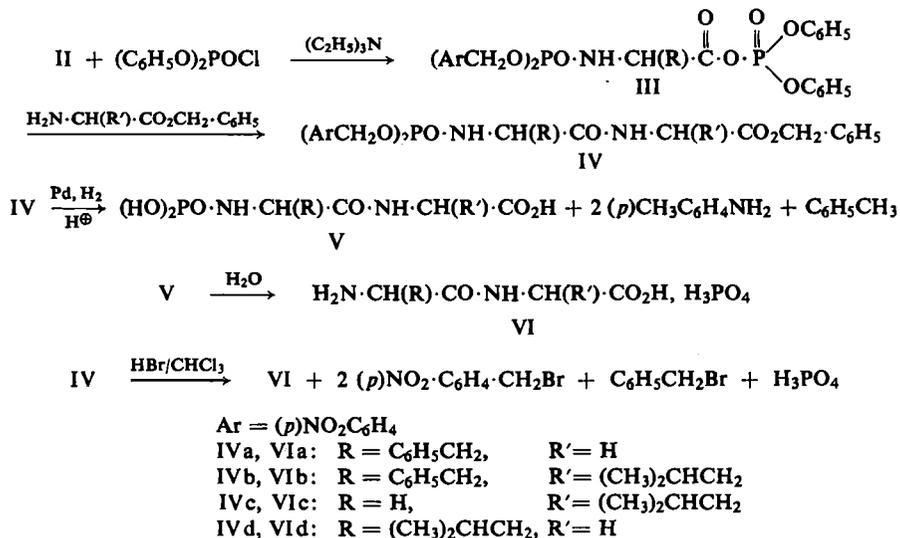
²²) TH. WIELAND und R. SEHRING, Liebigs Ann. Chem. 569, 122 [1950]; G. W. KENNER und R. J. STEDMAN, J. chem. Soc. [London] 1952, 2069.

²³) R. A. BOISSONNAS, Helv. chim. Acta 34, 874 [1951].

²⁴) J. R. VAUGHAN und R. L. OSATO, J. Amer. chem. Soc. 73, 5553 [1951].

²⁵) P. BRIGL und H. MÜLLER, Ber. dtsch. chem. Ges. 72, 2121 [1939].

aktionsgemisch entfernen läßt *). Es ist interessant festzustellen, daß bei diesen Peptidsynthesen Phosphorsäurederivate beide Rollen übernehmen, sowohl den Schutz der Aminogruppe als auch die Aktivierung des Carboxyls. Diese Aktivierungsmethode ist eine Variation analoger Methoden, die sich statt Diphenyl- oder Dialkylphosphorylchloriden anderer Phosphorsäurederivate²⁶⁾ bedienen. Auch Carbobenzoxy-aminosäuren, sogar Trityl-aminosäuren, lassen sich ebenfalls sehr leicht und in sehr guter Ausbeute auf die oben geschilderte Weise mit Aminosäureestern umsetzen. Eine Verknüpfung von DBP-Aminosäuren mit Aminosäureestern kann ferner auch durch Carbodiimide²⁷⁾ bewirkt werden.



Werden nunmehr die solcherweise bereiteten DBP-Dipeptid-benzylester IV katalytisch hydriert, so erhält man unmittelbar die freien Dipeptide VI, da die intermediär sich bildenden *N*-Phosphoryl-dipeptide V infolge des sauren Reaktionsmediums sofort entphosphoryliert werden. Die Isolierung der freien Peptide erfolgt am besten durch Verwendung von geeigneten Ionenaustauschern. Einfacherweise kann die Entfernung sämtlicher Schutzgruppen auch durch Einwirkung von Bromwasserstoff in Chloroformlösung bewerkstelligt werden. Nach Beendigung der Reaktion wird die Chloroformlösung mit Wasser extrahiert, wobei das Dipeptid in die wäßrige Phase übergeht; im Chloroform verbleiben Benzylbromid und *p*-substituiertes Benzylbromid.

*) *N*-Diphenylphosphoryl-aminosäure-ester bilden sich hierbei nur in sehr untergeordnetem Maße; ihr Betrag schwankt zwischen 0.5 und 2%. Verhältnismäßig größere Mengen (bis zu etwa 20%) entstehen jedoch immer als Nebenprodukte bei Kupplung mit Glycinestern.

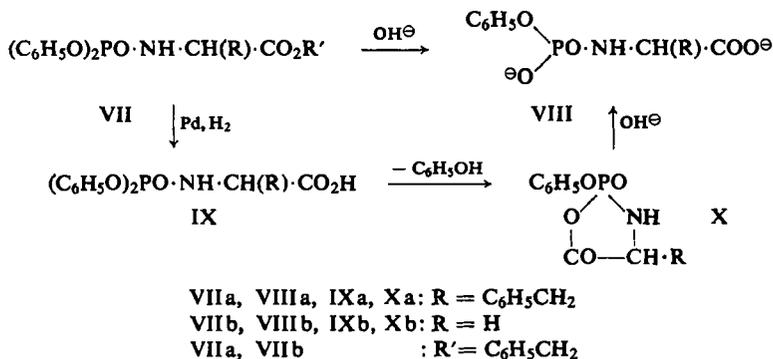
²⁶⁾ TH. WIELAND und H. BERNHARD, *Liebigs Ann. Chem.* **572**, 190 [1951]; A. KATSCHALSKI und M. PAECHT, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 6042 [1954]; TH. WIELAND und B. HEINKE, *Liebigs Ann. Chem.* **599**, 70 [1956]; R. W. YOUNG, K. H. WOOD, R. J. JOYCE und G. W. ANDERSON, *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 2126 [1956]; F. CRAMER und K. G. GÄRTNER, *Chem. Ber.* **91**, 1562 [1958]; P. C. CROFTS, J. H. A. MARKES und H. N. RYDON, *J. chem. Soc. [London]* **1959**, 3610.

²⁷⁾ J. C. SHEEHAN und G. P. HESS, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 1068 [1955].

Der Hauptwert der neuen Methode dürfte im allgemeinen in der Tatsache liegen, daß die *p*-Nitro(Brom oder Jod)-DBP-aminosäuren und -peptide in der Regel sehr gut kristallisieren. Eine Racemisierung bei Dipeptidsynthesen mit DPP-Chlorid haben wir bis jetzt nicht beobachtet.

Im Gegensatz zu den DBP-Aminosäureestern bilden die DBP-Peptidester sehr leicht Hydrazide, die in die entsprechenden Azide umgewandelt und für eine Verlängerung der Peptidkette verwendet werden können, zumal, wie es scheint, bei der Azidkupplungsmethode gewöhnlich keine Racemisierung eintritt. Eine solche Kettenverlängerung eines N-geschützten Di- oder Polypeptidderivates mit Hilfe von gemischten Anhydriden wird gewöhnlich von geringer oder weitgehender Racemisierung begleitet²⁸⁾. Auch DPP-Chlorid bewirkt, wie wir festgestellt haben, erhebliche Racemisierung beim Versuch, mit seiner Hilfe Carbobenzyloxyglycyl-L-phenylalanin mit Glykokoll zu kuppeln.

Im Verlauf unserer Arbeit haben wir ferner an die Möglichkeit gedacht, auch DPP-Aminosäuren für Peptidsynthesen zu verwenden und nach erfolgter Peptidbildung die Phenylgruppen durch katalytische Hydrierung in Gegenwart von Platinoxid zu entfernen. Solche DPP-Aminosäuren können aber nicht durch Verseifung der entsprechenden Ester VII bereitet werden, da hierbei neben der Verseifung gleichzeitig Abspaltung von einer Phenylgruppe und Bildung von *N*-Monophenylphosphorylaminosäure-Salzen (VIII) stattfindet¹⁶⁾.



Um überhaupt Alkalien zu vermeiden, haben wir versucht, DPP-Aminosäuren durch Pd-katalysierte Hydrierung ihrer Benzylester (VIIa, VIIb) zu bereiten. Zu unserer Überraschung stellten wir fest, daß die Abspaltung der Benzylgruppe auch in wasserfreien, indifferenten Lösungsmitteln stets mit der Bildung von genau einem Mol. Phenol einherging. Anscheinend sind die intermediär sich bildenden *N*-DPP-Aminosäuren IX, im Gegensatz zu den DBP-Aminosäuren II, unbeständig und gehen unter Abspaltung von Phenol in intramolekulare „gemischte Anhydride“ X über. Allerdings ist es nicht gelungen, diese Anhydride in reiner, kristallisierter Form

²⁸⁾ a) G. W. ANDERSON, J. BLODINGER und A. D. WELCHER, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 5307 [1952]; G. W. ANDERSON und F. M. CALLAHAN, ebenda **80**, 2902 [1958]; b) H. SCHWARZ und F. M. BUMPUS, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 890 [1959]; N. A. SMART, G. T. YOUNG und M. W. WILLIAMS, *J. chem. Soc. [London]* **1960**, 3902.

zu erfassen; es wurde nur festgestellt, daß sie, wie es zu erwarten war, durch Alkalien besonders leicht hydrolysiert und in die oben erwähnten *N*-Monophenylphosphorylaminosäure-Salze (VIII) übergehen. Umgekehrt können solche Salze, nach Angaben der Literatur²⁹⁾, unter der Einwirkung von Schwefeltrioxyd in „gemischte Anhydride“ X zurückverwandelt werden.

Vorliegende Arbeit wurde mit Hilfsmitteln ausgeführt, welche die KÖNIGLICH GRIECHISCHE FORSCHUNGSSTIFTUNG in dankenswerter Weise meinem Laboratorium zur Verfügung stellte.

L. Zervas.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die bei der Bereitung der gemischten Anhydride und die bei der Durchführung der Kuppelungen verwendeten Lösungsmittel wie Tetrahydrofuran (THF), Dioxan oder Chloroform waren wasserfrei. Das Verdampfen der Lösungsmittel erfolgte stets i. Vak. bei 30–40°.

Zur Analyse wurden die Substanzen i. Hochvak. über Diphosphorpentoxyd bei 56° getrocknet; die freien Peptide wurden bei 78° getrocknet. Der Phosphorgehalt wurde elektrophotometrisch nach O. H. LOWRY und J. A. LOPEZ³⁰⁾ ermittelt, nachdem die Substanz vorher nach der Methode von R. J. L. ALLEN³¹⁾ mit 60-proz. HClO₄ unter wiederholtem Zusatz von Perhydrol aufgeschlossen worden war.

Die Analysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium der KÖNIGLICH GRIECHISCHEN FORSCHUNGSSTIFTUNG (Leiter: CH. MANTZOS) ausgeführt, wofür wir bestens danken.

Bis-[p-brom-benzyl]-phosphorylchlorid: Eine Suspension von 4.3 g (10 mMol) *Bis-[p-brom-benzyl]-phosphorsäure*¹⁷⁾ und 2.4 g fein gepulvertem *Phosphorpentachlorid* in 50 ccm Chloroform wird unter mäßiger Kühlung bis zur Lösung geschüttelt. Das bei Zugabe von Petroläther zu der filtrierten Lösung sich abscheidende sirupöse Chlorid kristallisiert bald durch Reiben und Kühlung. Ausb. 4.3 g (95% d. Th.); Schmp. 57° (aus Chloroform/Petroläther).

C₁₄H₁₂Br₂ClO₃P (454.5) Ber. Cl 7.80 P 6.82 Gef. Cl 7.90 P 6.95

N-[Bis-(p-nitro-benzyl)-phosphoryl]-L-alanin-methylester (Ia): Die eisgekühlte Lösung von 1.4 g (10 mMol) *L-Alanin-methylester-hydrochlorid* in 30 ccm Chloroform und 2.8 ccm Triäthylamin wird mit 3.8 g (10 mMol) *Bis-[p-nitro-benzyl]-phosphorylchlorid*¹⁷⁾ versetzt und nach 12stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur mit Wasser, verd. Salzsäure, Kaliumhydrogencarbonat und schließlich mit Wasser gewaschen. Der nach Trocknen und Abdampfen des Chloroforms verbleibende Rückstand wird aus wenig Äthanol umkristallisiert. Ausb. 4.1 g (90% d. Th.), Schmp. 88–89°.

C₁₈H₂₀N₃O₉P (453.3) Ber. N 9.27 P 6.83 Gef. N 9.20 P 6.79

Nach dieser Vorschrift werden in analoger Weise sämtliche weiter unten angeführten *N*-[Bis-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-, *N*-[Bis-(*p*-brom-benzyl)-phosphoryl]- und *N*-[Bis-(*p*-jod-benzyl)-phosphoryl]-aminosäureester durch Einwirkung von Bis-[*p*-nitro-benzyl]-¹⁷⁾, Bis-[*p*-jod-benzyl]-¹⁷⁾ und Bis-[*p*-brom-benzyl]-phosphorylchlorid auf die betreffenden Aminosäureester bereitet.

N-[Bis-(p-nitro-benzyl)-phosphoryl]-L-phenylalanin-methylester (Ib): Ausb. 80% d. Th.; Schmp. 111° (aus wenig Äthanol).

C₂₄H₂₄N₃O₉P (529.4) Ber. N 7.96 P 5.85 Gef. N 7.72 P 5.80

²⁹⁾ H. KELLER, H. NETTER und B. NIEMANN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **313**, 244 [1958].

³⁰⁾ J. biol. Chemistry **162**, 421 [1946].

³¹⁾ Biochem. J. **34**, 858 [1940].

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-leucin-methylester (*Ic*): Ausb. 80% d. Th., Schmp. 75–76° (aus Äther/Petroläther).

$C_{21}H_{26}N_3O_9P$ (495.4) Ber. N 8.48 P 6.25 Gef. N 8.47 P 6.18

N-[*Bis*-(*p*-brom-benzyl)-phosphoryl]-*L*-leucin-methylester (*Id*): Ausb. 89% d. Th.; Sirup

$C_{21}H_{26}Br_2NO_5P$ (563.2) Ber. N 2.49 P 5.50 Gef. N 2.65 P 5.62

N-[*Bis*-(*p*-jod-benzyl)-phosphoryl]-*L*-leucin-methylester (*Ie*): Ausb. 80% d. Th.; Schmp. 48° (aus Cyclohexan/Petroläther).

$C_{21}H_{26}J_2NO_5P$ (657.2) Ber. J 38.62 N 2.13 Gef. J 38.82 N 2.23

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-asparaginsäure-dibenzylester: Ausb. 90% d. Th.; Schmp. 101° (aus Methanol).

$C_{32}H_{30}N_3O_{11}P$ (663.6) Ber. N 6.33 P 4.67 Gef. N 6.46 P 4.61

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-glutaminsäure-dibenzylester: Ausb. 88% d. Th.; Schmp. 84° (aus Äthanol).

$C_{33}H_{32}N_3O_{11}P$ (677.6) Ber. N 6.20 P 4.57 Gef. N 6.32 P 4.52

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-glutaminsäure-diäthylester: Ausb. 72% d. Th.; Schmp. 94° (aus Äthanol).

$C_{23}H_{28}N_3O_{11}P$ (553.6) Ber. N 7.59 P 5.60 Gef. N 7.75 P 5.52

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-alanin (*Ila*): Die Lösung von 2.3 g (5 mMol) *Ia* in 10 ccm Methanol und 5 ccm Dioxan wird mit 7.5 ccm *n* methanol. KOH versetzt und nach 1 stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur mit 200 ccm dest. Wasser verdünnt und anschließend zwecks Entfernung von unverseiftem Ester mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Ansäuern mit Salzsäure wird die wäßr. Lösung wiederholt mit Äther ausgeschüttelt, der Ätherextrakt mit Wasser gewaschen, getrocknet und stark eingeeengt, wobei sich *Ila* in Nadeln abscheidet. Ausb. 1.6 g (70% d. Th.), Schmp. 60–62°.

$C_{17}H_{18}N_3O_9P$ (439.3) Ber. N 9.57 P 7.05 Gef. N 9.30 P 7.02

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-phenylalanin (*Ilb*) wird durch Verseifung des entspr. Esters *Ib* in analoger Weise wie *Ila* aus *Ia* erhalten. Ausb. 87% d. Th.; Schmp. 127–128° (aus wenig Äthanol).

$C_{23}H_{22}N_3O_9P$ (515.4) Ber. N 8.15 P 6.01 Gef. N 8.05 P 6.01

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-leucin (*Ilc*) wird durch Verseifung des entspr. Esters *Ic* in analoger Weise wie *Ila* aus *Ia* erhalten. Ausb. 90% d. Th.; Sirup.

$C_{20}H_{24}N_3O_9P$ (481.4) Ber. N 8.73 P 6.43 Gef. N 8.50 P 6.58

N-[*Bis*-(*p*-brom-benzyl)-phosphoryl]-*L*-leucin (*Ild*) wird durch Verseifung des entspr. Esters *Id* in analoger Weise wie *Ila* aus *Ia* erhalten. Ausb. 90% d. Th.; Schmp. 81° (aus Äthanol/Wasser).

$C_{20}H_{24}Br_2NO_5P$ (549.2) Ber. N 2.55 P 5.64 Gef. N 2.48 P 5.50

Carbobenzoxyglycin-anilid: Einer auf 0° gekühlten Lösung von 2.1 g (10 mMol) *Carbobenzoxyglycin*⁴⁾ und 1 g (1.4 ccm, 10 mMol) Triäthylamin in 15 ccm THF werden 2.7 g (10 mMol) DPP-Chlorid²⁵⁾ zugegeben. Die auf diese Weise bereitete Lösung des entsprechenden gemischten Anhydrids, die mit Triäthylamin-hydrochlorid-Kristallen durchsetzt ist, wird nach 10 Min. Aufbewahren bei 0° mit einer Lösung von 1 ccm *Anilin* und 1.4 ccm Triäthylamin in 15 ccm THF vermischt. Nach weiterem 3 stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wird die Mischung zur Trockne verdampft und der Rückstand mit 20 ccm gesätt. Kalium-

hydrogencarbonatlösung versetzt. Das Anilid wird filtriert und aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausb. 2.15 g (75% d. Th.); Schmp. 145–147° (Lit.²⁴⁾: 146–147°.

Verwendet man statt DPP-Chlorid das Diäthyl-³²⁾ oder Diisopropyl-phosphoryl-chlorid³²⁾, so ist die Ausb. an Anilid 52% bzw. 62% d. Th.

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-phenylalanyl-glycin-benzylester (*IVa*). Weg a): Der Lösung von 1 g (5 mMol) *Glycin-benzylester-hydrochlorid* oder 1.7 g *Glycin-benzylester-tosylat*³³⁾ in 30 ccm Chloroform und 0.7 ccm Triäthylamin werden 2.6 g *Ib* (5 mMol) und anschließend 1.1 g *Dicyclohexylcarbodiimid*²⁷⁾ zugesetzt. Nach 6stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wird wenig wäßrige Essigsäure (0.2 ccm) zugesetzt und nach weiterem 1stdg. Stehenlassen der abgeschiedene Dicyclohexylharnstoff (1 g) abfiltriert. Das Filtrat wird mit verd. Salzsäure, Wasser, Kaliumhydrogencarbonat und wieder mit Wasser gewaschen, getrocknet, zur Trockne verdampft und der Rückstand aus Äthanol umkristallisiert. Ausb. 2.2 g (83% d. Th.), Schmp. 135°; $[\alpha]_D^{20}$: -8° ($c = 1.5$, in Chlf.).

C₃₂H₃₁N₄O₁₀P (662.5) Ber. N 8.46 P 4.67 Gef. N 8.28 P 4.60

Weg b): Einer auf 0° gekühlten Lösung von 2.6 g (5 mMol) *Ib* in 15 ccm THF und 0.7 ccm Triäthylamin werden 1.35 g (5 mMol) *DPP-Chlorid* zugesetzt. Nach 10 Min. Stehenlassen bei 0° wird die Mischung einer Lösung von 1.7 g (5 mMol) *Glycin-benzylester-tosylat*³³⁾ in 15 ccm THF und 1.4 ccm Triäthylamin zugefügt und nach mehrstündigem Stehenlassen bei Raumtemperatur zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird mit 150 ccm Essigester und mit Wasser behandelt, der Essigesterauszug mit verd. Salzsäure, Wasser, Kaliumhydrogencarbonat und wieder mit Wasser gewaschen und zur Trockne verdampft. Beim Umkristallisieren des Rückstandes aus Äthanol erhält man 2.3 g (70% d. Th.) *IVa*, Schmp. und Misch-Schmp. 135–136°; $[\alpha]_D^{20}$: -8.2° ($c = 1.5$, in Chlf.).

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-phenylalanyl-*L*-leucin-benzylester (*IVb*) wird analog *IVa* aus *Ib* und *L*-Leucin-benzylester³³⁾ auf einem der beiden Wege (vgl. oben), a (Ausb. 80% d. Th.) oder b (Ausb. 75% d. Th.), erhalten; Schmp. 108° (aus Äthanol).

C₃₆H₃₉N₄O₁₀P (718.7) Ber. N 7.80 P 4.31 Gef. N 7.53 P 4.28

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-glycyl-*L*-leucin-benzylester (*IVc*) wird analog *IVa* aus *N*-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-glycin und *L*-Leucin-benzylester³³⁾ nach der Carbodiimid-Methode in einer Ausb. von 80% d. Th. bereitet; Schmp. 87–88° (aus Äthanol/Iso-propyläther).

C₂₉H₃₃N₄O₁₀P (628.6) Ber. N 8.91 P 4.93 Gef. N 8.80 P 4.86

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-leucyl-glycin-benzylester (*IVd*) wird analog *IVa* aus *Ic* und *Glycin-benzylester*³³⁾ nach der Carbodiimid-Methode bereitet. Das Kupplungsprodukt wird mit Äther zur Kristallisation gebracht und aus wenig Äthanol umkristallisiert. Ausb. 50% d. Th.; Schmp. 134–136°.

C₂₉H₃₃N₄O₁₀P (628.6) Ber. N 8.91 P 4.93 Gef. N 9.11 P 4.80

N-[*Bis*-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-alanyl-*L*-leucin-methylester wird analog *IVa* aus *IIa* und *L*-Leucin-methylester nach der Carbodiimid-Methode (Weg a) bereitet. Ausb. 77% d. Th.; Schmp. 134°.

C₂₄H₃₁N₄O₁₀P (566.5) Ber. N 9.89 P 5.47 Gef. N 9.97 P 5.38

Hydrazid: Die Lösung von 0.57 g (1 mMol) der obigen Substanz in 10 ccm Methanol und 0.5 ccm Hydrazinhydrat wird 2 Min. auf etwa 40° erwärmt und anschließend einige

³²⁾ H. GOLDWHITE und B. C. SAUNDERS, J. chem. Soc. [London] 1955, 2040.

³³⁾ L. ZERVAS, M. WINTZ und J. P. GREENSTEIN, J. org. Chemistry 22, 1515 [1957].

Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen, wobei sich das Hydrazid kristallinisch abscheidet. Ausb. 0.55 g (97% d. Th.); Schmp. 202°.

$C_{23}H_{31}N_6O_9P$ (566.5) Ber. N 14.82 P 5.46 Gef. N 14.62 P 5.40

N-[Bis-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-alanyl-*L*-leucin-anilid: 1.1 g (2 mMol) des obigen Hydrazids werden unter Erwärmen auf 60° in 25 ccm 60-proz. Essigsäure gelöst. Die Lösung wird rasch auf 0° gekühlt und mit 0.18 g Natriumnitrit versetzt. Das gebildete Azid wird mit viel alkoholfreiem Äther extrahiert, der Ätherauszug dreimal mit viel eiskaltem Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und mit 5 ccm Anilin versetzt. Das im Laufe von einigen Stunden sich abscheidende Anilid wird aus Methanol umkristallisiert. Ausb. 1 g (71% d. Th.); Schmp. 185°.

$C_{29}H_{34}N_5O_9P$ (627.6) Ber. N 11.16 P 4.94 Gef. N 10.95 P 4.85

N-[Bis-(*p*-nitro-benzyl)-phosphoryl]-*L*-alanyl-*L*-phenylalanin-methylester wird analog IVa aus Ila und *L*-Phenylalanin-methylester auf Weg a (vgl. oben) bereitet. Ausb. 73% d. Th.; Schmp. 152° (aus Methanol).

$C_{27}H_{29}N_4O_{10}P$ (600.5) Ber. N 9.33 P 5.16 Gef. N 9.37 P 5.10

N-[Bis-(*p*-brom-benzyl)-phosphoryl]-*L*-leucyl-*L*-phenylalanin-methylester wird analog IVa aus IId und *L*-Phenylalanin-methylester auf einem der beiden Wege, a (Ausb. 90% d. Th.) oder b (Ausb. 80% d. Th.), bereitet. Schmp. 118°.

$C_{30}H_{35}Br_2N_2O_6P$ (710.4) Ber. N 3.94 P 4.50 Gef. N 3.80 P 4.42

Hydrazid: Es wird analog dem oben beschriebenen bereitet. Ausb. 85% d. Th.; Schmp. 196° (aus Methanol).

$C_{29}H_{35}Br_2N_4O_5P$ (710.4) Ber. N 7.88 P 4.36 Gef. N 7.67 P 4.43

N-Trityl-*L*-phenylalanyl-glycin-äthylester: Die Lösung von 2.05 g (5 mMol) Trityl-*L*-phenylalanin^{15b)} in 15 ccm THF und 0.7 ccm Triäthylamin wird bei 0° mit 1.35 g (5 mMol) DPP-Chlorid²⁵⁾ versetzt und nach 10 Min. Stehenlassen bei dieser Temperatur einer THF-Lösung von 1 g freiem Glycin-äthylester und 0.7 ccm Triäthylamin zugefügt. Nach mehrstündigem Aufbewahren bei Raumtemperatur wird die Mischung zur Trockne verdampft und der Rückstand mit Essigester/Wasser behandelt. Die Essigesterschicht wird dreimal abwechselnd mit 0.5 *n* NaOH und Wasser, dann mit verd. Essigsäure, schließlich mit Kaliumhydrogencarbonat gewaschen, getrocknet und zur Trockne verdampft und der Rückstand aus wenig Äthanol umkristallisiert. Ausb. 1.5 g (60% d. Th.), Schmp. 137–138°. [α]_D³⁰: 0.7° (*c* = 2, in Äthanol).

$C_{32}H_{32}N_2O_3$ (492.6) Ber. C 78.02 H 6.55 N 5.69 Gef. C 77.84 H 6.43 N 5.59

N-Carbobenzoxy-*L*-phenylalanyl-glycin-benzylester wird analog IVa aus Carbobenzoxy-*L*-phenylalanin³⁴⁾ und Glycin-benzylester³³⁾ nach der Carbodiimid-Methode (vgl. oben) bereitet. Ausb. 80% d. Th.; Schmp. 130° (aus Äthanol).

$C_{26}H_{26}N_2O_5$ (446.4) Ber. N 6.28 Gef. N 6.40

N-Trityl-*L*-methionyl-*L*-methionin-methylester: Der eisgekühlten Lösung von 2.4 g (5 mMol) Trityl-*L*-methionin-diäthylammoniumsalz^{15b)} in 15 ccm THF werden 1.35 g DPP-Chlorid²⁵⁾ zugefügt; nach 10 Min. Stehenlassen bei 0° wird die Mischung zu einer Lösung von 1.15 g (5 mMol) *L*-Methionin-methylester-hydrochlorid in 25 ccm Chloroform und 1.4 ccm

³⁴⁾ M. BERGMANN, L. ZERVAS, H. RINKE und H. SCHLEICH, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 224, 33 [1934]; W. GRASSMANN und E. WÜNSCH, Chem. Ber. 91, 462 [1958].

Triäthylamin gegeben. Die weitere Verarbeitung erfolgt wie beim obigen Trityldipeptid-ester. Zur Reinigung*) wird der zunächst als Sirup erhältliche Trityl-L-methionyl-methionin-methylester in wenig Äther gelöst und durch Zusatz von HCl/Äther in sein ätherunlösliches Hydrochlorid (Ausb. 2.3 g, 80% d. Th.) übergeführt. Das Produkt ist rein genug für die Bereitung des freien Dipeptides (vgl. unten). Wird das Hydrochlorid in sehr wenig eiskaltem Methanol gelöst und unmittelbar darauf die Lösung mit etwas mehr als der berechneten Menge Diäthylamin versetzt, so scheidet sich freier Ester in Prismen aus. Schmp. 112–113°. $[\alpha]_D^{20}$: 12.8° ($c = 3$, in Äthanol).

$C_{30}H_{36}N_2O_3S_2$ (536.5) Ber. N 5.22 S 11.95 Gef. N 5.15 S 11.79

Einwirkung von Bromwasserstoff auf Triester der Phosphorsäure: 2 mMol von A) Tri-benzyl-¹⁷⁾, B) Tris-[*p*-brom-benzyl]-¹⁷⁾ und C) Triäthylphosphat werden in 30 ccm wasserfreiem Chloroform gelöst, die etwa 1 g Bromwasserstoff enthalten. Nach 2stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wird die Lösung wiederholt mit Kaliumhydrogencarbonat extrahiert und in den vereinigten wäßrigen Extrakten die freie Phosphorsäure elektrophotometrisch bestimmt³⁰⁾. Es werden im Fall A und B genau 2 mMol Phosphorsäure gefunden, während die wäßr. Extrakte aus dem Ansatz C praktisch keine freie Phosphorsäure enthalten. Aus der Chloroformlösung von A und B wird ferner in fast theoretischer Ausb. (6 mMol) Benzylbromid bzw. *p*-Brombenzylbromid (Schmp. 61°) erhalten, während aus C der unveränderte Ester isoliert wird.

Behandelt man Tris-[*p*-nitro-benzyl]-phosphat¹⁷⁾ (D) wie oben mit HBr/Chloroform, so scheidet sich in fast quantitativer Ausb. das in Chloroform schwer lösliche Bis-[*p*-nitro-benzyl]-phosphat¹⁷⁾ (Schmp. 175°) ab, das sich dadurch der weiteren Einwirkung von HBr entzieht. Wird aber D mit Eisessig/HBr behandelt, so erhält man auch in diesem Fall³⁾ freie Phosphorsäure und *p*-Nitrobenzylbromid (Schmp. 99°) in fast quantitativer Ausbeute.

L-Phenylalanyl-L-leucin (IVb): a) Die Lösung von 1.8 g (2.5 mMol) *IVb* in 40 ccm 80-proz. Äthanol wird katalytisch in Gegenwart von Palladiumschwarz hydriert. Nach Beendigung der Hydrierung wird dem Filtrat 0.5 ccm konz. Salzsäure zugesetzt und das Ganze zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird in 10 ccm Wasser gelöst und die Lösung mittels 2*n* NaOH auf pH 6.2 gebracht. Das Peptid wird filtriert, erst mit wenig kaltem Wasser und dann mit Äthanol und Äther (zur Entfernung des *p*-Toluidins) gewaschen. Ausb. an Peptidmonohydrat 0.55 g (65% d. Th.); Schmp. 258–260°, $[\alpha]_D^{25}$: +4.8° ($c = 9.3$, in $n/3$ HCl), in Übereinstimmung mit den Angaben der Literatur^{15b)}.

b) In die Lösung von 1.8 g *IVb* in 60 ccm wasserfreiem Chloroform wird unter Eiskühlung während 30 Min. trockener Bromwasserstoff eingeleitet. Die Lösung, die in der Regel 1.5–2 g HBr enthält, wird zwecks Entfernung des größten Teils von HBr auf die Hälfte konzentriert und anschließend mit im ganzen 30 ccm Wasser extrahiert. Beim Einstellen des pH auf 6.2 mittels Natronlauge werden 0.6 g (75% d. Th.) Peptidmonohydrat vom Schmp. 258–260°, $[\alpha]_D^{25}$: +4.7° ($c = 9.3$, in $n/3$ HCl), erhalten.

L-Phenylalanyl-glycin (VIa): a) *IVa* wird analog *IVb* durch Bromwasserstoff in Chloroformlösung entbenzyliert (Weg b, vgl. oben). Die vereinigten wäßr. Extrakte werden zur Trockne verdampft und der Rückstand in Wasser gelöst. Die Lösung läßt man in eine mit Amberlite IR-4B beschickte Säule fließen und die Säule wiederholt mit Wasser nachwaschen. Die vereinigten Lösungen, die nunmehr frei von Bromwasserstoff und Phosphorsäure sind, werden zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird mit Aceton verrieben, wobei das Peptid

*) Dieses ist eine allgemein anwendbare Methode um Trityldi- bzw. polypeptidester in reiner Form zu isolieren (vgl. hierzu l. c. ^{15b)}).

als Monohydrat kristallisiert. Ausb. 90% d. Th.; Schmp. 257–259° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: +95.2° ($c = 2$, in Wasser) (Lit.: +84.4°³⁵), +95.6°³⁶), +99.6°³⁷), je in Wasser).

$C_{11}H_{14}N_2O_3$ (222.2) Ber. C 59.46 H 6.35 N 12.6 Gef. C 59.32 H 6.47 N 12.50

b) *Carbobenzoxy-L-phenylalanyl-glycin-benzylester* (vgl. oben) wird in Methanol/Wasser wie üblich katalytisch (Pd) hydriert, das Filtrat zur Trockne verdampft und der Rückstand mit Aceton behandelt. Ausb. 85% d. Th.; Schmp. 258–259°, $[\alpha]_D^{20}$: +95.3° ($c = 2$, in Wasser).

c) 1.5 g (3 mMol) *N-Trityl-L-phenylalanyl-glycin-äthylester* werden in 10 ccm Äthanol und 3.5 ccm *n* NaOH gelöst. Nach 1 Stde. wird die Lösung mit Wasser verdünnt, mit Essigsäure angesäuert, mit Essigester extrahiert und der Essigesterauszug zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird in wenig 50-proz. Essigsäure gelöst, 2 Min. auf dem Wasserbad erwärmt und anschließend mit Wasser verdünnt, wobei die Abscheidung des Triphenylcarbinols vervollständigt wird. Das Filtrat wird zur Trockne verdampft und das Peptid-monohydrat mit Äthanol oder Aceton aufs Filter gebracht. Ausb. 0.64 g (90% d. Th.); Schmp. 257–259°, $[\alpha]_D^{20}$: +98.1° ($c = 2$, in Wasser).

L-Leucyl-glycin (VI d): *IV d* wird analog *IV a* bzw. *IV b* durch Bromwasserstoff entbenzyliert (Weg b) und anschließend das Peptid mit Hilfe von Amberlite IR-4B (vgl. oben) in reinem Zustand isoliert. Ausb. 81% d. Th., Schmp. 236° (aus Wasser/Aceton); $[\alpha]_D^{20}$: +85.7° ($c = 2.5$, in Wasser) (Lit.³⁸): +85.8°, in Wasser).

Glycyl-L-leucin (VI c) wird aus *IV c* in derselben Weise wie *VI d* aus *IV d* erhalten. Ausb. 84% d. Th.; Schmp. 225°; $[\alpha]_D^{20}$: –35.8° ($c = 4$, in Wasser) (Lit.³⁹): –36°, in Wasser).

L-Phenylalanyl-L-leucin-benzylester-hydrochlorid: Zuerst wird *N-Trityl-L-phenylalanyl-L-leucin-benzylester* analog dem entspr. Glycinderivat (vgl. oben) bereitet. Das sirupöse Rohprodukt, das nur sehr wenig Phosphorverbindungen (etwa 2%) enthält, wird zur Reinigung in trockenem Äther gelöst und mit einer ätherischen Chlorwasserstofflösung versetzt. Das abgeschiedene Hydrochlorid wird mit Äther ausgewaschen und zwecks Abspaltung der Tritylgruppe 2 Min. mit Methanol verkocht^{15b}). Die Lösung wird zur Trockne verdampft und der Rückstand mit Äther behandelt. Ausb. 42% d. Th.; Schmp. 160° (Lit.^{15b}): 161°).

L-Methionyl-L-methionin: 1.1 g (2 mMol) *Hydrochlorid des Trityl-L-methionyl-L-methionin-methylesters* (vgl. oben) werden analog dem Trityl-phenylalanyl-glycinester mit methanol. Kalilauge verseift und anschließend mit wäbr. Essigsäure enttrityliert. Das Rohprodukt (0.4 g, entspr. 70% d. Th.) zeigt $[\alpha]_D^{20}$: +26.4° ($c = 2$, in Wasser), unverändert nach dem Umkristallisieren aus 90-proz. Äthanol (Lit.⁴⁰): +27.0°, in Wasser); Schmp. 227°.

Carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosin-methylester: Das aus *Carbobenzoxy-L-valin*⁴¹) (1.25 g, 5 mMol) und *DPP-Chlorid* (1.35 g) in THF bereitete gemischte Anhydrid wird einer Lösung von 1 g (5 mMol) freiem *L-Tyrosin-methylester* und 0.7 ccm Triäthylamin in THF zugegeben. Das aus der Reaktionslösung in der üblichen Weise (vgl. oben) isolierte Dipeptidderivat, das in der Regel nur etwa 0.8–1% phosphorhaltige Nebenprodukte enthält, wird aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausb. 1.75 g (80% d. Th.); Schmp. 148–149°, $[\alpha]_D^{20}$: +57.2° ($c = 1$, in Chlf.) (Lit.⁴²): 144–147°, +54.0° in Chlf.).

35) J. SHEEHAN, D. CHAPMAN und R. ROTH, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 3822 [1952].

36) J. R. VAUGHAN und J. A. EICHLER, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 5556 [1953].

37) H. SCHWARZ und K. ARAKAWA, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 5691 [1959].

38) M. BERGMANN, L. ZERVAS und J. S. FRUTON, *J. biol. Chemistry* **111**, 225 [1935].

39) F. H. CARPENTER und D. T. GISH, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 3818 [1952].

40) M. BRENNER und R. W. PFISTER, *Helv. chim. Acta* **34**, 2085 [1951].

41) A. L. M. SYNGE, *Biochem. J.* **42**, 99 [1948]; W. GRASSMANN und E. WÜNSCH, *Chem. Ber.* **91**, 462 [1958].

42) W. RITTEL, B. ISELIN, H. KAPPELER, B. RINIKER und R. SCHWYZER, *Helv. chim. Acta* **40**, 614 [1957].

Carbobenzoxyglycyl-L-phenylalanyl-glycin-äthylester: 1.8 g (5 mMol) *Carbobenzoxyglycyl-L-phenylalanin*⁴³⁾ werden in der oben beschriebenen Weise mit *DPP-Chlorid* in das gemischte Anhydrid übergeführt und anschließend mit *Glycin-äthylester* gekuppelt. Bei fraktionierter Kristallisation des erhaltenen Tripeptidderivates aus Äthanol nach den Angaben der Literatur^{28a)} erhält man in der Regel 0.55 g (25% d. Th.) *Carbobenzoxyglycyl-DL-phenylalanyl-glycin-äthylester* (Schmp. 130–131°, Lit.^{28a)}: 132–133°) und 0.7 g (32% d. Th.) *Carbobenzoxyglycyl-L-phenylalanyl-glycin-äthylester* (Schmp. 110°, $[\alpha]_D^{20}$: -12.0° in Äthanol bzw. in Übereinstimmung mit der Lit.^{28a)} Schmp. 118° und $[\alpha]_D$: -13.3° nach dem Umkristallisieren aus Essigester).

Bei Verdampfen der Mutterlauge zur Trockne und Umkristallisieren des Rückstandes aus wenig Äther erhält man mindestens 0.12 g *N-Diphenylphosphoryl-glycin-äthylester*; Schmp. 77–78° in Übereinstimmung mit der Lit.⁴⁴⁾.

$C_{16}H_{18}NO_5P$ (335.2) Ber. C 57.31 H 5.41 N 4.18 P 9.26
Gef. C 57.12 H 5.53 N 4.05 P 9.45

Phosphorbestimmungen zeigen, daß das rohe Kupplungsprodukt etwa dreimal so viel von dieser letzten Substanz enthalten dürfte.

N-Diphenylphosphoryl-L-phenylalanin-benzylester (*VIIa*) wird analog *Ia* aus *DPP-Chlorid*²⁵⁾ und *L-Phenylalanin-benzylester-tosylat*³³⁾ bereitet. Ausb. 84% d. Th.; Schmp. 90° (aus Äther/Petroläther).

$C_{28}H_{26}NO_5P$ (487.4) Ber. N 2.87 P 6.35 Gef. N 2.80 P 6.36

N-Diphenylphosphoryl-glycin-benzylester (*VIIb*) wird analog *VIIa* bereitet. Ausb. 90% d. Th.; Sirup.

$C_{21}H_{20}NO_5P$ (397.3) Ber. N 3.52 P 7.79 Gef. N 3.78 P 8.02

Katalyt. Hydrierung von VIIa und VIIb: Die Lösung von 4.9 g *VIIa* bzw. 4 g *VIIb* (10 mMol) in reinem, wasserfreiem Essigester wird in Gegenwart von Palladiumschwarz hydriert. Nach etwa 15–30 Min. ist die Hydrierung mit der Aufnahme von 250 ccm Wasserstoff (20°, 758 Torr) gewöhnlich beendet. Die Lösung, die sehr stark nach Phenol riecht, wird zur Trockne verdampft und der Rückstand wiederholt mit wasserfreiem Äther oder heißem Petroläther extrahiert. Nach Verdampfen der vereinigten Extrakte wird im Rückstand das Phenol durch Zusatz von Bromwasser gravimetrisch bestimmt. Es werden hierbei nahezu 10 mMol (3.15 g statt 3.3 g) Tribromphenol erhalten.

Dem nach der Hydrierung von *VIIb* und nach der Extraktion mit Petroläther (vgl. oben) verbleibenden Produkt wird eine filtrierte Lösung von 3.2 g Bariumhydroxyd-oktahydrat in 70 ccm 50-proz. Methanol zugefügt. Nach wenigen Min. beginnt die Abscheidung von *N-Monophenylphosphoryl-glycin-barium-dihydrat*¹⁶⁾. Ausb. 3 g (75% d. Th.).

$BaC_8H_8NO_5P$ (366.5) Ber. N 3.82 P 8.46 Ba 37.48 Gef. N 3.75 P 8.52 Ba 37.23

43) K. HOFMANN und M. BERGMANN, J. biol. Chemistry **134**, 225 [1940].

44) L. T. SCIARINI und J. S. FRUTON, J. Amer. chem. Soc. **71**, 2940 [1949].