

FRIEDRICH WEYGAND und JOACHIM KAELICKE

Peptidsynthesen in Eisessig, II

Synthesen mit Phthalylderivaten *)

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München

(Eingegangen am 16. Oktober 1961)

Aminosäuren lassen sich durch Erhitzen mit Phthalsäure-diphenylester in Gegenwart von 1 Mol. Triäthylamin in befriedigenden Ausbeuten unter Erhaltung der opt. Aktivität phthalylieren. Die bei Z-Aminosäure-thiophenylestern ausgearbeitete Kondensation mit Aminosäuren in siedendem Eisessig¹⁾ wurde auf die Phth-Verbindungen angewandt und ergab in den untersuchten Fällen racemisierungsfreie Phth-Peptide. Die Eisessig-Methode liefert bei Synthesen mit sterisch gehinderten Aminosäuren (Valin, Leucin) Phth-Peptide in nur mäßigen Ausbeuten.

Um die Kondensation von aktivierten Estern von Acylaminosäuren mit Aminosäuren in heißem Eisessig¹⁾ an Phthylaminosäuren studieren zu können, mußte zunächst eine verbesserte Methode zur Herstellung von Phthylaminosäuren entwickelt werden.

In der Literatur ist die Phthalylierung von Aminosäuren, die teils mit, teils ohne Racemisierung verläuft, vorzugsweise mit Phthalsäureanhydrid in zahlreichen Arbeiten beschrieben worden²⁾. Ferner wurden *o*-Carbäthoxy-thiobenzoessäure³⁾ und Thio-phthalsäureanhydrid⁴⁾ verwendet. Erst kürzlich erschien eine Arbeit von G. H. L. NEFKENS, G. I. TESSER und R. J. NIVARD⁵⁾, nach der Phthalylierungen von Aminosäuren mit *N*-Carbäthoxy-phthalimid in natriumhydrogencarbonathaltiger wäßriger Lösung möglich sind.

PHTHALYLIERUNG VON AMINOSÄUREN MIT PHTHALSÄURE-DIPHENYLESTER

Nachdem sich Trifluoressigsäure-phenylester als hervorragendes Trifluoracetylierungsmittel von Aminosäuren in Phenol bewährt hatte⁶⁾, prüften wir, ob der

*) Verwendete Abkürzungen: Phth = Phthalyl-; Z = Carbobenzoxy-

¹⁾ F. WEYGAND und W. STEGLICH, Chem. Ber. **93**, 2983 [1960].

^{2a)} G. WANAG und A. VEINBERG, Ber. dtsh. chem. Ges. **75**, 1558 [1942]; die erhaltenen Schmp. weichen teilweise erheblich von späteren Angaben ab; ^{2b)} M. FLING, F. N. MINARD und S. W. FOX, J. Amer. chem. Soc. **69**, 2466 [1947]; ^{2c)} J. H. BILLMANN und W. F. HARTING, ebenda **70**, 1473 [1948]; ^{2d)} D. A. KIDD und F. E. KING, Nature [London] **162**, 776 [1948]; ^{2e)} F. E. KING und D. A. A. KIDD, J. chem. Soc. [London] **1949**, 3315 (Umsetzung mit Aminosäureestern und Verseifung); ^{2f)} J. C. SHEEHAN, D. W. CHAPMAN und R. W. ROTH, J. Amer. chem. Soc. **74**, 3822 [1952]; ^{2g)} E. D. SCHILLING und F. M. STRONG, ebenda **77**, 2843 [1955], nach R. L. L. NICHOLLS, Fußnote 10; ^{2h)} R. S. TIPSON, J. org. Chemistry **21**, 1353 [1956]; ²ⁱ⁾ J. C. SHEEHAN, M. GOODMAN und G. P. HESS, J. Amer. chem. Soc. **78**, 1367 [1956]; ^{2k)} L. MERIWETHER und F. H. WESTHEIMER, ebenda **78**, 5119 [1956]; ^{2l)} A. K. BOSE, F. GREER und C. C. PRICE, J. org. Chemistry **23**, 1335 [1958].

³⁾ K. BALENOVIC und B. GASPERT, Chem. and Ind. **1957**, 115.

⁴⁾ M. ZAORAL, Collect. czechoslov. chem. Commun. **24**, 83 [1959].

⁵⁾ Recueil Trav. chim. Pays-Bas **79**, 688 [1961].

⁶⁾ F. WEYGAND und A. RÖPSCH, Chem. Ber. **92**, 2095 [1959].

leicht darstellbare und für den vorliegenden Zweck thermisch genügend beständige⁷⁾ Phthalsäure-diphenylester in ähnlicher Weise zur Phthalylierung von Aminosäuren geeignet ist.

Es zeigte sich, daß man Phthalylaminosäuren in den in Tab. 1 angegebenen Ausbeuten ohne Racemisierung erhält, wenn die angegebenen Aminosäuren mit 1.1 Moll. des Diphenylesters und 1 Mol. Triäthylamin 5–7 Min. in Phenol auf 120–130° erhitzt werden. Die Phthalylaminosäuren werden durch Ausschütteln mit Natriumhydrogencarbonatlösung und Ansäuern mit Salzsäure isoliert. Die opt. Drehungen stimmen mit den besten Literaturwerten überein.

Aus Tab. 1 ersieht man, daß auch Phthalyl-L-glutaminsäure in mittlerer Ausbeute optisch rein erhalten wird, während sie nach älteren Verfahren häufig in ganz^{2c, 2i)} oder teilweise^{2s, 2h)} racemisierter Form anfällt. Phthalyl-glycyl-glycin wurde nur in 34-proz. Ausbeute erhalten. Die Zugabe von 1 Äquiv. tert. Base (Triäthylamin), die im heißen Phenol die Aufhebung der Zwitterionenstruktur bewirkt, hat sich als unbedingt notwendig erwiesen. Wird seine Menge reduziert, so sinkt die Ausbeute stark ab und ohne Triäthylaminzusatz findet unter den angewandten Bedingungen keine Phthalylierung statt.

Tab. 1. Dargestellte Phthalylaminosäuren

N-Phthalylaminosäuren	Ausb. %	Schmp. °C	[α] _D ^o	optische Drehung		Lösungsmittel
				<i>t</i> ^o	<i>c</i>	
Glycin	85	191–193	—	—	—	—
L-Alanin ¹⁾	66	143–144	–25.0	28	1	Äthanol
β-Alanin	72	151–153	—	—	—	—
L-Valin ²⁾	67	113–114	–68.0	26	1	Äthanol
L-Leucin ³⁾	75	117–119	–24.6	26	1	Äthanol
L-Phenylalanin ⁴⁾	74	180–182	–210	26	1	Äthanol
L-Methionin ⁵⁾	50	122–123	–74.5	24	2	Dimethylformamid
L-Glutaminsäure ⁶⁾	48	160–161	–48.0	24	3	Dioxan

¹⁾ Aus Aceton + Petroläther ²⁾ Aus Äther/Cyclohexan im offenen Gefäß ³⁾ Aus Petroläther ⁴⁾ Aus Äthanol + Wasser ⁵⁾ Aus Methanol + Wasser ⁶⁾ Aus Wasser

Die Einführung des Phthalylrestes dürfte über die *N*-[*o*-Carbophenoxy-benzoyl]-aminosäure als Zwischenprodukt ablaufen, die sofort den Ringschluß, aber keine weitere Reaktion mit einem zweiten Aminosäuremolekül eingeht. In keinem Falle konnte die angenommene Zwischenstufe als Nebenprodukt nachgewiesen werden.

THIOPHENYLESTER VON PHTHALYL-AMINOSÄUREN UND -PEPTIDEN

Die Thiophenylester von Phth·Glycin, Phth·L-Leucin und Phth·L-Phenylalanin wurden nach der Wielandschen Phosphoroxychlorid-Methode⁸⁾ dargestellt; von den

⁷⁾ Phthalsäure-diphenylester (Schmp. 74–76°) wurde 20 Min. auf 150° erhitzt. Nach dem Abkühlen erstarrte die Schmelze und zeigte keine Schmp.-Änderung.

⁸⁾ TH. WIELAND und B. HEINKE, Liebigs Ann. Chem. 599, 70 [1956].

Phthalyl-dipeptiden Phth·L-Leucyl-L-phenylalanin und Phth·L-Phenylalanyl-L-leucin wurden die Thiophenylester nach der Dicyclohexylcarbodiimid-Methode gewonnen, ebenso Phth·Glycin-[thio-(*p*-nitro-phenylester)]. Lediglich Phth·L-Leucyl-L-phenylalanin-thiophenylester kristallisierte nicht. In der Tab. 2 sind die Ester zusammen mit ihren Konstanten aufgeführt.

Tab. 2. Thiophenylester von Phthalyl-aminosäuren und -peptiden

Verbindung	Ausb. %	Schmp. °C	Optische Drehung (Äthanol)			Summenformel (Mol.-Gew.)	Analyse	
			$[\alpha]_D^{20}$	t°	c		Ber.	Gef.
Phth·Gly·SC ₆ H ₅	69	98–99 ¹⁾	—	—	—	C ₁₆ H ₁₁ N ₃ O ₃ S (297.3)	C 64.63 H 3.73 N 4.71	64.61 3.73 4.47
Phth·L-Leu·SC ₆ H ₅	91	67–68	–64.8	22	1	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃ S (353.4)	C 67.96 H 5.42 N 3.96	67.71 5.39 3.68
Phth·L-Phe·SC ₆ H ₅	68	112–113	–218.8	21	0.69	C ₂₃ H ₁₇ N ₃ O ₃ S (387.4)	C 71.30 H 4.42 N 3.62	71.18 4.53 3.35
Phth·L-Phe·L-Leu·SC ₆ H ₅	68	163–165	–64.0 ²⁾	24	1	C ₂₉ H ₂₈ N ₂ O ₄ S (500.6)	C 69.57 H 5.63 N 5.59	69.42 5.49 5.43
Phth·L-Leu·L-Phe·SC ₆ H ₅	97	Öl	–19.7	28	2.1	C ₂₉ H ₂₈ N ₂ O ₄ S (500.6)	C 69.57 H 5.63 N 5.59	69.13 5.61 4.81
Phth·Gly·SC ₆ H ₄ ·NO ₂ (<i>p</i>)	52	175–176	—	—	—	C ₁₆ H ₁₀ N ₂ O ₅ S (342.3)	C 56.13 H 2.95 N 8.18	56.15 3.02 8.03

¹⁾ M. BODANSZKY, Acta chim. Acad. Sci. hung. 10, 335 [1957].

²⁾ In Tetrahydrofuran.

PHTHALYL-DIPEPTIDE

Wie bei den Carbobenzoxy-Verbindungen wurden die Phthalyl-aminosäure-thiophenylester mit Aminosäuren in siedendem Eisessig kondensiert. Die gewonnenen Verbindungen samt ihren Konstanten zeigt Tab. 3. Sämtliche Beobachtungen hinsichtlich der Ausbeute in Abhängigkeit von der sterischen Hinderung und der gleichzeitig stattfindenden Acetylierung, die bei den Carbobenzoxy-Verbindungen beschrieben wurden¹⁾, wurden auch bei den Phthalylverbindungen gemacht. So erhöhte sich z. B. die Ausbeute bei der Darstellung von Phth·L-Leu·L-Val·OH von 39 auf 52%, als ein, zum größten Teil zurückgewinnbarer, Überschub am Thioester eingesetzt wurde.

Zur Prüfung der Frage, ob die isolierten Phthalyl-dipeptide optisch rein sind, wurde der Phthalylrest der unbekannteren oder ohne Angabe der optischen Aktivität beschriebenen Phth·Dipeptide mit Phenylhydrazin in siedendem Äthanol nach R. BOISSONNAS⁹⁾ abgespalten. Die gefundenen Abweichungen liegen in der Fehlergrenze (Tab. 4).

⁹⁾ I. SCHUMANN und R. BOISSONNAS, Helv. chim. Acta 35, 2235 [1952].

Tab. 3. Durch Erhitzen von Phth·Aminosäure-thiophenylestern mit Aminosäuren in siedendem Eisessig dargestellte Phth·Peptide (Molverhältnis 1 : 1)

Phth·Peptid	Zeit (Min.)	Ausb. % (Schmp.) °C	Optische Drehung (Äthanol)			Summen- formel (Mol.-Gew.)	Analyse	
			$[\alpha]_D^{20}$	t°	c		Ber.	Gef.
Phth·Gly·Gly·OH	105	94 (228—229)						
Phth·Gly·L-Ala·OH	75	70 (194—195)	-25.3	23	1.4	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₅ (276.2)	C 56.52 H 4.38 N 10.14	56.64 4.37 9.80
Phth·Gly·L-Val·OH	60	74 (203—204)	-5.8	27	1	C ₁₅ H ₁₆ N ₂ O ₅ (304.3)	C 59.20 H 5.30 N 9.21	59.03 5.42 8.96
Phth·Gly·L-Leu·OH	60	66 (157—158)	-6.5	26	1.9	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₅ (318.3)	C 60.37 H 5.70 N 8.80	60.49 5.78 8.84
Phth·Gly·DL-Leu·OH	60	65 (186—187)	—	—	—	(318.3)	C 60.37 H 5.70 N 8.80	60.11 5.71 8.62
Phth·Gly·L-Phe·OH	60	69 (194—196)	+56.8	24	1.2	C ₁₉ H ₁₆ N ₂ O ₅ (352.3)	C 64.77 H 4.58 N 7.95	64.72 4.84 7.87
Phth·Gly·L-Tyr·OH	660	69 ¹⁾ 28 ²⁾ (236—237)	+94	23	0.66	C ₁₉ H ₁₆ N ₂ O ₆ (368.3)	C 61.95 H 4.38 N 7.60	61.87 4.65 7.58
Phth·Gly·L-Tryp·OH	60	61 (210—211)	+104.8	26	1	C ₂₁ H ₁₇ N ₃ O ₅ (391.4)	C 64.45 H 4.38 N 10.74	64.35 4.52 10.46
Phth·Gly·L-Pro·OH	75	68 (199—201)	-57.5	20	0.9	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₅ (302.3)	C 59.59 H 4.67 N 9.27	59.51 4.74 9.15
Phth·L-Leu·Gly·OH, 2H ₂ O	90	43 (162—164)	-36.5 ³⁾	27	1			
Phth·L-Leu·L-Val·OH	120	52 ⁴⁾ (178—180)	+33.8	22	1	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₅ (360.4)	C 62.32 H 6.71 N 7.77	63.24 6.64 7.80
Phth·L-Phe·Gly·OH	60	53 (180—181)	-140.4	22	1			
Phth·L-Phe·L-Leu·OH	150	33 ⁵⁾ (186—187)	-61.5	23	1	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ O ₅ (408.4)	C 67.63 H 5.92 N 6.86	67.60 5.92 6.76
Phth·L-Phe·L-Val·OH	135	36 ⁶⁾ (188—189)	-21.9	24	0.7	C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₅ (394.2)	C 66.89 H 5.62 N 7.10	66.33 5.64 7.18

1) Unter Berücksichtigung des nichtumgesetzten L-Tyrosins, das in heißem Eisessig sehr schwer löslich ist.

2) Ohne Berücksichtigung des zurückgewonnenen Tyrosins.

3) In 1 n Na₂CO₃.

4) Mit 5 Moll. Thiophenylester, mit dem doppelten Überschuß an Thiophenylester wurden bei fraktionierter Zugabe des Valins nur 39% an Phth-Dipeptid erhalten.

5) 1.45facher Überschuß an Phth·L-Phe·SC₆H₅. Hiervon wurden 68% unverändert zurückgewonnen.

6) 1.3facher Überschuß an Thiophenylester.

Tab. 4. Aus Phth·Dipeptiden durch Abspaltung des Phth-Restes mit Phenylhydrazin erhaltene Dipeptide

Dipeptid	Abspaltungs- ausb. % (Zers.-P. °C)	Optische Aktivität in H ₂ O			höchster Lit.-Wert
		[α] _D ^o	t ^o	c	
Gly·L-Ala	59 (220–222)	–50.9	23	1.6	–51 ¹⁾
Gly·L-Val	64 (242/3)	–20.1	29	1.3	–21.3 ²⁾
Gly·L-Leu	61 (233–234)	–36.0	24	1.9	–36.3 ¹⁾
Gly·L-Phe	81 (258–262)	+41.7	23	1.5	+42.7 ³⁾
Gly·L-Pro	42 (189–190)	–115.2	24	1	–113.8 ⁴⁾
L-Leu·L-Val, H ₂ O	45 (261–262)	+17.8 ^{*)}	22	1	+18.2 ^{*,5)}
L-Phe·L-Leu	38 (248–250)	–19.9 ^{**)}	26	0.55	–21.0 ^{**,6)}

^{*)} In 1*n* HCl ^{**)} In 1-proz. NaHCO₃

¹⁾ K. R. RAO, S. M. BIRNBAUM und J. P. GREENSTEIN, J. biol. Chemistry 198, 507 [1952].

²⁾ G. LOSSE und H. SCHMIDT, Chem. Ber. 91, 1068 [1958].

³⁾ L. ZERVAS und D. M. THEODOROPOULOS, J. Amer. chem. Soc. 78, 1359 [1956].

⁴⁾ M. BERGMANN, L. ZERVAS, H. SCHLEICH und F. WEINERT, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 212, 72 [1932].

⁵⁾ E. L. SMITH, D. H. SPACKMAN und W. J. POLGLASS, J. biol. Chemistry 199, 801 [1952].

⁶⁾ R. W. HOLLEY und A. D. HOLLEY, J. Amer. chem. Soc. 74, 3069, 1110 [1952].

PHTHALYL-TRIPEPTIDE

Versuche zur Darstellung von Phth-Tripeptiden aus *sterisch gehinderten* Aminosäuren vermitteln einen Eindruck über die auftretenden Schwierigkeiten.

Beim Versuch, Phth·L-Phe·L-Leu·L-Val·OH aus Phth·L-Phe·SC₆H₅ durch Kondensation mit H·L-Leu·L-Val·OH in siedendem Eisessig herzustellen, wurde als Hauptprodukt (83% Ausbeute) das Diketopiperazin aus Leu·Val erhalten, was nicht verwunderlich ist, denn schon bei der Kondensation von Z·Gly·L-Ala·SC₆H₅ mit H·L-Phe·Gly·OH war das Diketopiperazin aus Phe·Gly in 50-proz. Ausbeute angefallen¹⁾. Die Kondensation von Phth·L-Phe·L-Leu·SC₆H₅ mit L-Valin (3 Stdn. siedend) ergab nur 7.5% an Phth·L-Phe·L-Leu·L-Val·OH neben 21% an Acetyl-valin. Wurde in der nicht acylierenden *N*-TFA- α -Aminoisobuttersäure¹⁰⁾ 30 Min. bei 160° kondensiert, so erhöhte sich die Ausbeute am Phth-Tripeptid auf 11.8%. Nach der Methode der gemischten Anhydride konnte mit Chlorameisensäureester aus Phth·L-Phe·L-Leu·OH und L-Valin gar nur eine Ausbeute von 2% am Phth-Tripeptid erhalten werden.

Mit dem sterisch am Thioesterteil weniger gehinderten Phth·L-Leu·L·Phe·SC₆H₅ und L-Valin war die Ausbeute bei der Kondensation in Eisessig etwas besser, nämlich 22%.

Auch die Abspaltung des Phthalylrestes führte bei den sterisch gehinderten Tripeptiden nur zu mäßigen Ausbeuten, so daß in solchen Fällen die Verwendung

¹⁰⁾ F. WEYGAND und M. A. TILAK, unveröffentlicht.

spielend abspaltbarer Schutzgruppen vorgezogen werden sollte. Ferner dürfte es sich empfehlen, neue Peptidsynthesen sogleich mit sterisch stark gehinderten Aminosäuren auszuarbeiten, denn dann ist zu erwarten, daß sie mit den weniger gehinderten viel besser gelingen.

PHTHALYL-AMINOSÄURE-AMIDE

Wie schon bei den *Z*-Aminosäure-thiophenylestern beschrieben, kann man auch die Phthalylverbindungen durch Schmelzen mit Ammoniumacetat in die Amide überführen. So wurden Phth·Gly·NH₂, Phth·L-Leu·NH₂ und Phth·L-Phe·NH₂ in Ausbeuten von 80, 85 bzw. 68% durch Erhitzen mit einem großen Überschuß an Ammoniumacetat auf 110–130° (5–7 Min.) gewonnen.

Dem FONDS DER CHEMISCHEN INDUSTRIE danken wir für die finanzielle Unterstützung und den FARBWERKEN HOECHST AG., vormals Meister, Lucius & Brüning, Frankfurt/M.-Hoechst, für die Überlassung von Aminosäuren.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Allgemeine Vorschrift zur Phthalylierung von Aminosäuren mit Phthalsäure-diphenylester

10 mMol Aminosäure werden mit 11 mMol Phthalsäure-diphenylester¹¹⁾ und 10 mMol Triäthylamin in etwa 5 g Phenol 5–6 Min. auf 120–130° (Innentemperatur) erhitzt. Die abgekühlte Schmelze wird in Essigester gelöst, worauf dreimal mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung ausgeschüttelt wird. Beim vorsichtigen Ansäuern der vereinigten wäßrigen Phasen mit Salzsäure fällt die Phthalylaminosäure aus. Ein ölig anfallendes Produkt wird in Essigester aufgenommen und mit Petroläther gefällt oder nach Verdampfen des Essigesters aus geeigneten Lösungsmitteln zur Kristallisation gebracht und umkristallisiert.

Allgemeine Vorschrift für die Synthese von Phthalyl-peptiden in Eisessig

20 mMol Phthalylaminosäure- oder Phthalyl-peptid-thiophenylester werden mit 20 mMol Aminosäure oder Peptid in 20 bis 30 ccm Eisessig im 125° warmen Ölbad 1–2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Bei sterisch gehinderten Komponenten kann die Reaktionszeit auf das 3–4fache verlängert werden. Ein etwa 2–5facher Esterüberschuß steigert die Reaktionsgeschwindigkeit erheblich.

Nach dem Abkühlen werden Eisessig und gebildetes Thiophenol i.Vak. abdestilliert, und der Rückstand wird mit Essigester und gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Es empfiehlt sich sehr, die Essigesterschicht noch mehrmals mit Wasser auszuschütteln, da Natriumsalze von Phthalyl-peptiden z. T. in Essigester löslich sind. Die vereinigten wäßrigen Phasen werden mit konz. Salzsäure angesäuert, wobei die Phthalyl-peptide meist kristallin anfallen. Das Phth-Peptid wird abfiltriert oder besser mit Essigester ausgeschüttelt. Aus der getrockneten Essigesterlösung wird es gefällt. Meist lassen sich die Verbindungen aus Essigester, Essigester/Petroläther oder Methanol/Diisopropyläther umkristallisieren.

Phthalyl-tripeptide

Phth·L-Phe·L-Leu·L-Val·OH

a) Aus Phth·L-Phe·L-Leu·SC₆H₅ in Eisessig: 1.5 g Thiophenylester wurden mit 0.35 g *L-Valin* (je 3 mMol) in 10 ccm Eisessig 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Bei der üblichen Aufarbeitung mit Essigester/Natriumhydrogencarbonatlösung entstand beim Ansäuern der letz-

¹¹⁾ Aus symm. Phthalsäure-dichlorid und Phenol, Ausb. 97%, nach F. F. BLICKE und O. J. WEINKAUFF, J. Amer. chem. Soc. 54, 331 [1932].

teren nur eine geringe Fällung, die sich nach dem Umkristallisieren aus Essigester/Petroläther als Acetyl-valin (0.10 g, 21%, Schmp. 151–155°) erwies.

Die Essigesterphase wurde nun dreimal mit Wasser ausgeschüttelt, die wäbr. Lösung angesäuert und der Niederschlag in Essigester aufgenommen. Mit Petroläther wurden nacheinander zwei Fraktionen gefällt, von denen die erste (0.11 g, 7.5%) das gesuchte Phth-Tripeptid war. Die zweite Fraktion (0.26 g) war ein Gemisch aus dem Phth-Tripeptid und Phth·L-Phe·L-Leu·OH, das offenbar durch Verseifung des Thiophenylesters gebildet worden war. Die erste Fraktion wurde aus Essigester/Petroläther umkristallisiert, Schmp. 227–228°, $[\alpha]_D^{25}$: -6.4° ($c = 0.31$, in Äthanol).

$C_{28}H_{33}N_3O_6$, $1/2H_2O$ (516.6) Ber. C 65.06 H 6.65 N 8.12 Gef. C 64.71 H 6.61 N 7.87

Aus der ursprünglichen Essigesterlösung konnten mit Petroläther 0.66 g (44%) an Thiophenylester zurückgewonnen werden.

b) Aus Phth·L-Phe·L-Leu·SC₆H₅ in N-TFA-α-Aminoisobuttersäure: 0.75 g (1.5 mMol) Thiophenylester, 0.18 g (1.5 mMol) L-Valin und 0.9 g N-TFA-α-Aminoisobuttersäure wurden gut verrieben und 30 Min. auf 160° erhitzt. Bereits nach 2–3 Min. lag eine klare Lösung vor. Das abgekühlte Reaktionsprodukt wurde in Äther gelöst, wobei 20 mg Valin ausfielen. Nach Ausschütteln mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung und mit Wasser fiel beim Ansäuern das Phth-Tripeptid aus, das aus Essigester/Petroläther umkrist. wurde. Ausb. 0.09 g (11.8%), Schmp. 218–219°, $[\alpha]_D^{25}$: -7.2° ($c = 1$, in Äthanol).

$C_{28}H_{33}N_3O_6$ (507.6) Ber. C 66.25 H 6.58 N 8.27 Gef. C 66.20 H 6.88 N 8.31

c) Aus Phth·L-Phe·L-Leu·OH über gemischtes Anhydrid: Bei einem 1.5-mMol-Ansatz wurden mit Isobutyl-chlorocarbonat nur 15 mg (2%) an Phth·L-Phe·L-Leu·L-Val·OH erhalten, Schmp. 225–226°, Misch-Schmp. mit der nach a) erhaltenen Verbindung 224–226°.

Phth·L-Leu·L-Phe·L-Val·OH: 6 g Phth·L-Leu·L-Phe·SC₆H₅ (12 mMol) und 1.17 g L-Valin (10 mMol) wurden in 20 ccm Eisessig $2/4$ Stdn. unter Rückfluß im Ölbad erhitzt. Aus der i. Vak. eingedampften Lösung fielen bei Zugabe von Essigester 0.18 g (15%) Valin aus. Nun wurde die Essigesterlösung mit Natriumhydrogencarbonatlösung und mehrmals mit Wasser ausgeschüttelt und das beim Ansäuern der wäbr. Phasen ausfallende Produkt in Essigester aufgenommen, bei dessen Verdampfen es schaumig zurückblieb. Die Verbindung kristallisierte aus Methylchlorid/Diisopropyläther (4:1 vol.) durch Zugabe von n-Hexan bis zur beginnenden Trübung. Ausb. 1.2 g (22%), Schmp. 192–193°, $[\alpha]_D^{25}$: $+5^\circ$ ($c = 1$, in Äthanol). $C_{28}H_{33}N_3O_6 \cdot 1.5H_2O$ (507.6) Ber. C 62.90 H 6.79 N 7.86 Gef. C 62.67 H 6.89 N 8.25

Phthalyl-aminosäure-amide

Phth·Gly·NH₂: 1 g Phth·Gly·SC₆H₅ wurde unter vorsichtigem Erwärmen im Reagenzglas mit freier Flamme mit 10 g Ammoniumacetat 5 Min. auf 120° erhitzt. Nach dem Erkalten fiel beim Zugeben von Wasser das Amid aus, aus Propanol 0.64 g (80%), Schmp. 255–257° (Lit. 12): 257°).

Phth·L-Leu·NH₂: Aus 0.5 g Phth·L-Leu·SC₆H₅ und 10 g Ammoniumacetat durch 8 Min. langes Erhitzen auf 110°. Nach dem Erkalten wurde mit Wasser ausgekocht, filtriert und getrocknet. Nach Auskochen mit Essigester war die Verbindung analysenrein. Ausb. 0.31 g (85%), Schmp. 173–174°, $[\alpha]_D^{25}$: -3.9° ($c = 2$, in Äthanol).

$C_{14}H_{16}N_2O_3$ (260.3) Ber. C 64.59 H 6.20 N 10.77 Gef. C 64.36 H 6.12 N 10.87

12) E. RADDE, Ber. dtsch. chem. Ges. 55, 3174 [1922].

Phth·L-Phe·NH₂: 0.5 g *Phth·L-Phe·SC₆H₅* wurden mit 10 g *Ammoniumacetat* 5 Min. auf 130° erhitzt. Der Ansatz wurde wie oben aufgearbeitet. Ausb. 0.26 g (68%), Schmp. 229–230°, $[\alpha]_D^{25}$: -63.0° ($c = 1$, in Tetrahydrofuran).

$C_{17}H_{14}N_2O_3$ (294.3) Ber. C 69.38 H 4.80 N 9.52 Gef. C 69.52 H 5.10 N 9.46

Mit *N-Carbäthoxy-phthalimid* dargestellte *Phthalyl-aminosäuren*⁵⁾

Phth·L-Val·OH: 11.7 g (0.1 Mol.) *L-Valin*, 21.9 g (0.1 Mol.) *N-Carbäthoxy-phthalimid* und 10.6 g (0.1 Mol.) wasserfreies Natriumcarbonat wurden in 150 ccm Wasser bei Raumtemperatur 20 Min. gerührt. Dann wurde vom Ungelösten (7 g = 30% nicht umgesetztes *N-Carbäthoxy-phthalimid*) abfiltriert und das Filtrat vorsichtig mit konz. Salzsäure angesäuert. Es fiel ein Öl an, das nach einigen Stdn. kristallisierte. Aus 10-proz. Äthanol Ausb. 12.6 g (51%), Schmp. 111–113°, $[\alpha]_D^{25}$: -67.8° ($c = 2$, in Äthanol) (Lit. ^{2b, 13)}: Schmp. 114–115°, 115–116°, $[\alpha]_D$: -68.5° in Äthanol).

Phth·L-Phe·OH wurde analog der vorstehenden Vorschrift dargestellt. Ausb. aus 10-proz. Äthanol umkrist.: 4.6 g (78%), Schmp. 182–183°, $[\alpha]_D^{25}$: -210° ($c = 1$, in Äthanol) (Lit. ^{2f, 21)}: Schmp. 183–185°, 182–183°, $[\alpha]_D^{25}$: -212° ; -213° in Äthanol).

¹³⁾ S. SHANKMAN und Y. SCHVO, J. Amer. chem. Soc. **80**, 1164 [1958].