

FRIEDRICH WEYGAND, AXEL PROX, MONOHAR A. TILAK,
DIETRICH HOFFTER und HANS FRITZ

Peptidsynthesen in Eisessig
Synthesen mit *N*-Trifluoracetyl-Derivaten

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München
(Eingegangen am 30. Oktober 1963)

Die Darstellung von zahlreichen *N*-TFA-Aminosäure- und *N*-TFA-Dipeptid-thiophenylestern wird beschrieben. Bei deren Umsetzung mit Aminosäuren in heißem Eisessig findet erhebliche Racemisierung statt, weshalb diese Methode nicht zur Darstellung von länger-kettigen Peptiden geeignet ist.

Über die Kondensation von aktivierten Estern von Carbobenzoylamino-säuren und -peptiden¹⁾ sowie Phthalylamino-säuren²⁾ mit Aminosäuren oder Peptiden in heißem Eisessig wurde früher berichtet. In der vorliegenden und letzten Mitteilung dieser Reihe wird die Kondensation von *N*-Trifluoracetyl-amino-säure-thiophenylestern mit Aminosäuren behandelt. Vorweg sei schon bemerkt, daß hierbei erhebliche Racemisierungen auftreten.

A. DARSTELLUNG DER THIOPHENYLESTER

Die Darstellung der benötigten *N*-TFA-Aminosäure-thiophenylester erfolgte entweder mit $\text{POCl}_3/\text{Pyridin}$ ³⁾, wobei Temperaturen von -30 bis -35° zur Vermeidung von Dunkelfärbung und Racemisierung eingehalten werden müssen, oder nach der Dicyclohexylcarbodiimid-Methode⁴⁾. Die Reinigung der Verbindungen erfolgte vielfach durch Sublimation im Hochvakuum $15-20^\circ$ unterhalb der Schmelzpunkte. Hierbei findet im allgemeinen keine Zersetzung statt, lediglich beim *N,O*-Bis-TFA-threonin-thiophenylester wird zum Teil Trifluoressigsäure abgespalten⁵⁾. Die dargestellten Verbindungen sind in der Tab. (S. 1027) aufgeführt.

B. VERHALTEN DER THIOPHENYLESTER IN SIEDENDEM EISESSIG

Bedingt durch die beiden elektronenanziehenden Substituenten CF_3CO - und $-\text{SC}_6\text{H}_5$ ist die Gefahr der Racemisierung bei den *N*-TFA-Aminosäure-thiophenylestern viel größer als bei den Cbo-Verbindungen. In der Abbild. ist die Zeitabhängigkeit der optischen Drehung von *N*-TFA-L-Ala- SC_6H_5 in Eisessig bei 125° dargestellt. Für die beobachtete Drehwertabnahme können Racemisierung, Hydrolyse

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

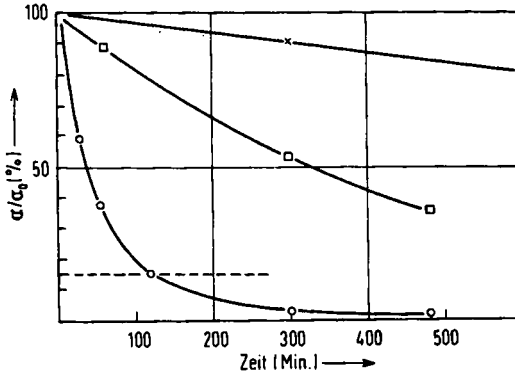
²⁾ F. WEYGAND und J. KÄELICKE, Chem. Ber. **95**, 1031 [1962].

³⁾ TH. WIELAND und B. HEINKE, Liebigs Ann. Chem. **615**, 184 [1958].

⁴⁾ D. F. ELLIOT und D. W. RUSSEL, Biochem. J. **66**, 49 p [1957]; M. ROTHE und F. W. KUNITZ, Liebigs Ann. Chem. **609**, 88 [1957]; M. BODANSZKY und V. DU VIGNEAUD, J. Amer. chem. Soc. **81**, 5688 [1959].

⁵⁾ Vgl. hierzu F. WEYGAND und H. RINNO, Chem. Ber. **92**, 517 [1959].

durch vorhandenes Wasser und Umesterung mit Essigsäure verantwortlich sein. Nach Aufarbeitung einer 10 Stdn. im 125°-Bad gehaltenen Probe zeigte das wieder isolierte *N*-TFA-Ala·SC₆H₅ eine um 4% geringere spezif. Drehung; dagegen hatte



Drehungsabfall beim Erhitzen von *N*-Acyl-L-alanin-thiophenylester in Eisessig auf 125° (Bad). *N*-TFA-L-Ala·SC₆H₅: -x- ohne Zusatz, -o- mit Natriumacetat, --- erwarteter Grenzwert für *N*-TFA-L-Alanin, -□- Cbo-L-Ala·SC₆H₅ mit Natriumacetat

der beobachtete Drehwertabfall in Eisessig rund 20% betragen (s. Abbild.). Ferner wurden 1.5% Thiophenol jodometrisch titriert, Essigsäure-thiophenylester war gaschromatographisch nicht nachweisbar.

Da Basen die Racemisierung von Aminosäuren fördern⁶⁾ und Alkali-acetate⁷⁾, ferner Glycin und andere Aminosäuren⁷⁾ sowie kleine Mengen Wasser⁸⁾ in Eisessig als Basen wirken, haben wir den Einfluß dieser Faktoren auf das Verhalten von *N*-TFA-L-Alanin-thiophenylester in heißem Eisessig untersucht.

In der Abbild. ist der Drehwertverlauf bei Zusatz von 1 Mol Natriumacetat zu 1 Mol *N*-TFA-L-Ala·SC₆H₅ dargestellt. Aus dem sehr starken Abfall der Drehung kann bereits auf Racemisierung geschlossen werden. Die Bestätigung ergab sich aus der spezif. Drehung einer nach 4stdg. Erhitzen isolierten Probe. Der zurückgewonnene Thiophenylester hatte nur noch 4% der Anfangsdrehung, gleichzeitig ließ sich *N*-TFA-Alanin isolieren, das nur etwa 16% der Drehung von *N*-TFA-L-Alanin hatte. Wurde bei der Reaktion auch das gebildete Thiophenol mit Jod titrimetrisch bestimmt, so ergab sich ein Anstieg an Thiophenol innerhalb von 2 Stdn. bis zu 5%, der sich nicht weiter erhöhte. Offenbar war nach 2 Stdn. alles im Eisessig vorhandene Wasser verbraucht. Die große Menge an freiem *N*-TFA-Alanin kann daher nur durch Umesterung mit Essigsäure entstanden sein. Tatsächlich ließ sich (nach Eindampfen i. Vak.) gaschromatographisch Essigsäure-thiophenylester nachweisen.

Einen langsameren Drehwertabfall beobachtet man nach Zusatz von Natriumtrifluoracetat und praktisch keinen nach Zugabe des nur schwer löslichen Natriumchlorids.

Erhitzt man Cbo-L-Alanin-thiophenylester mit Natriumacetat in Eisessig (125°-Bad), so ist der Drehwertabfall erwartungsgemäß wesentlich langsamer als bei der

⁶⁾ A. NEUBERGER, *Advances Protein Chem.* 4, 340, Academic Press, New York 1948.

⁷⁾ I. M. KOLTHOFF und A. WILLMAN, *J. Amer. chem. Soc.* 56, 1014 [1934].

⁸⁾ G. JANDER und H. KLAUS, *Z. Elektrochem., Ber. Bunsenges. physik. Chem.* 58, 241 [1954].

N-TFA-Verbindung (s. Abbild.). Eine nach 8 Stdn. *isolierte* Probe Cbo-L-Ala·SC₆H₅ hat noch 50% der Ausgangsdrehung. Auch das infolge Umesterung mit Essigsäure freigesetzte Cbo-Alanin hatte noch 43% der spezif. Drehung von Cbo-L-Alanin.

Um die nach den vorstehend beschriebenen Versuchen zu erwartende, durch freie Aminosäuren verursachte, Racemisierung des Thiophenylesters untersuchen zu können, wurde der relativ langsam kondensierende *N*-TFA-L-Isoleucin-thiophenylester mit 2 Moläquiv. Glycin in Eisessig 3 Stdn. auf 125° (Bad) erhitzt. Bei der Aufarbeitung wurde noch nicht umgesetzter Ester in zwei Fraktionen isoliert, von denen die erste die volle spezif. Drehung und die zweite nur noch 50% hatte. Glycin bewirkt also ebenfalls Racemisierung von *N*-TFA-Aminosäure-thiophenylestern und zwar etwa in dem Umfange wie Natriumacetat.

C. PEPTIDSYNTHESEN IN EISESSIG MIT *N*-TFA-AMINOSÄURE-THIOPHENYLESTERN

Nach den in Abschnitt B aufgeführten Untersuchungen war zu erwarten, daß bei der Peptidsynthese aus *N*-TFA-Aminosäure-thiophenylestern in heißem Eisessig erhebliche Racemisierungen auftreten müssen, was auch der Fall ist. Es entstehen diastereomere Verbindungen, z. B. *N*-TFA-L-Ala-L-Ala·OH neben weniger *N*-TFA-D-Ala-L-Ala·OH, die nach Veresterung mit Diazomethan zur Untersuchung der gaschromatographischen Trennung von diastereomeren *N*-TFA-Dipeptid-methylestern und der Zuordnung der beiden Banden verwendet werden können⁹⁾.

Neben der Racemisierung verläuft noch die Acetylierung der eingesetzten Aminosäure, die durch Verwendung von möglichst wenig Eisessig und überschüss. Thiophenylester reduziert werden kann.

Trotz dieser Schwierigkeiten gelingt es in vielen Fällen, durch fraktionierte Kristallisation der erhaltenen *N*-TFA-Dipeptide sowie der durch Abspaltung des TFA-Restes gewonnenen freien Dipeptide praktisch reine LL-Dipeptide zu isolieren.

Wir haben ferner untersucht, ob *N*-TFA-Aminosäuren als Lösungsmittel an Stelle von Eisessig verwendet werden können. Kondensationen zu *N*-TFA-Dipeptiden waren möglich in *N*-TFA-Glycin, -Alanin oder -Valin (Schmelze bei 130°). In jedem Falle fand auch in geringem Umfang Acylierung der Aminosäure durch die *N*-TFA-Aminosäure statt. Auch die sterisch besonders gehinderte *N*-TFA-DL- α -Amino-isobuttersäure bewährte sich als Lösungsmittel, nur im Falle der Synthese von *N*-TFA-L-Val-L-Val·OH fand auch Bildung von *N*-TFA-DL- α -Amino-isobutyryl-L-valin statt, das nicht abzutrennen war.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die Methode der Kondensation von *N*-TFA-Aminosäure-thiophenylestern mit Aminosäuren in siedendem Eisessig oder in *N*-TFA- α -Aminosäuren zu teilweise racemisierten Verbindungen führt. Die schon in der ersten Mitteilung getroffenen Feststellungen, daß die Reaktionsgeschwindigkeit vor allem von der Größe der Seitenkette im aktivierten Ester abhängt, wurde erneut bestätigt. Es ist daher nicht verwunderlich, daß sich auch bei der langsam verlaufenden Synthese von Cbo-L-Val-L-Val·OH gaschromatographisch⁹⁾ Racemisierung

⁹⁾ F. WEYGAND, A. PROX, L. SCHMIDHAMMER und W. KÖNIG, *Angew. Chem.* **75**, 282 [1963]; F. WEYGAND, *Peptid-Symposium*, S. 97 ff., Pergamon Press, London 1963; A. PROX, F. WEYGAND, W. KÖNIG und L. SCHMIDHAMMER, VI. Europäisches Peptidsymposium, Athen 1963 (Pergamon Press, im Druck).

N-Trifluoracetyl-aminosäure- und *N*-Trifluoracetyl-dipeptid-thiophenylester. Die optischen Drehungen wurden in Tetrahydrofuran bestimmt

<i>N</i> -TFA-Aminosäure-thiophenylester von	Methode	Ausb. %	Schmp. °C von	optische Drehung		Um- kristallisiert aus	Summenformel (Mol.-Gew.)	Elementaranalyse C H N
				$[\alpha]_D^{25}$	c			
Glycin *)	POCl ₃	93	83	—	—	**)	C ₁₁ H ₁₀ F ₃ NO ₂ S (277.3)	Ber. 47.65 3.64 5.05 Gef. 47.71 3.73 4.94
L-Alanin	POCl ₃	90	90—91	—149	22	**)	C ₁₃ H ₁₄ F ₃ NO ₂ S (305.3)	Ber. 51.14 4.62 4.59 Gef. 51.24 4.82 4.58
L-Valin	POCl ₃	88	109—110	—156	25	**)	C ₁₄ H ₁₆ F ₃ NO ₂ S (319.3)	Ber. 52.65 5.05 4.38 Gef. 52.55 5.15 3.73
L-Leucin	POCl ₃	69	40—41	—127.5	25	**)	C ₁₄ H ₁₆ F ₃ NO ₂ S (319.3)	Ber. 52.65 5.05 4.38 Gef. 52.70 5.47 4.60
L-Isoleucin	POCl ₃	78	93	—146	23	**)	C ₁₃ H ₁₂ F ₃ NO ₂ S (303.3)	Ber. 51.48 3.99 4.62 Gef. 51.77 3.73 4.93
L-Prolin	POCl ₃	76	50—51	—153	23	Essigester/ Petroläther	C ₁₇ H ₁₄ F ₃ NO ₂ S (353.4)	Ber. 57.93 3.89 4.38 Gef. 57.78 3.99 3.96
L-Phenylalanin	POCl ₃	89	115—116	—66.5	26	Toluol	C ₁₂ H ₁₂ F ₃ NO ₂ S (307.3)	Ber. 46.89 3.94 4.56 Gef. 46.97 4.19 4.33
L-Threonin	DCCI	61	135	—128.5	25	Essigester/ Petroläther	C ₁₄ H ₁₁ F ₆ NO ₄ S (403.3)	Ber. 41.69 2.75 3.48 Gef. 41.75 2.77 3.40
O-TFA-L-Threonin	DCCI	44	118—120	—161	24	Tetrahydro- furan/Petrol- äther und **)	C ₁₁ H ₁₀ F ₃ NO ₂ S (277.3)	Ber. 47.65 3.64 5.05 Gef. 47.97 3.61 4.57
DL-Alanin	POCl ₃	97	73—74	—	—	**)	C ₁₃ H ₁₄ F ₃ NO ₂ S (305.3)	Ber. 51.14 4.62 4.59 Gef. 51.05 4.64 4.06
DL-Valin	POCl ₃	94	81—83	—	—	**)	C ₁₄ H ₁₆ F ₃ NO ₂ S (319.3)	Ber. 52.80 4.99 4.13 Gef. 52.82 4.29 3.93
DL-Leucin	POCl ₃	95	114—115	—	—	**)	C ₁₃ H ₁₃ F ₃ N ₂ O ₃ S (334.3)	Ber. 46.70 3.91 8.38 Gef. 46.62 4.05 8.56
DL-Phenylalanin	POCl ₃	91	113	—	—	**)	C ₁₃ H ₁₃ F ₃ N ₂ O ₃ S (334.3)	Ber. 46.70 3.91 8.38 Gef. 46.46 4.00 8.45
L-Ala-Gly	POCl ₃	64	94—97	—54.2	27	Essigester/ Petroläther	C ₁₆ H ₁₉ F ₃ N ₂ O ₃ S (376.4)	Ber. 51.06 5.09 7.44 Gef. 51.84 5.37 7.31
Gly-L-Ala	DCCI	67	95—96	—	—	Essigester/ Petroläther		
Gly-L-Leu ***)	POCl ₃	67	150—151	—85	19	Essigester/ Benzol		
	DCCI	73	100.1	—100.1	24	Essigester/ Petroläther		
	DCCI	89	88—91	—74.5	24	Essigester/ Petroläther		

*) M. CALVIN und E. SCHALLENBERG, J. Amer. chem. Soc. 77, 2779 [1955], über das Säurechlorid dargestellt, Schmp. 80—81.5°.

***) I. Hochvak. sublimiert.

***) Racemischer Anteil in Benzol schwerer löslich.

nachweisen ließ. Früher hatten wir — allerdings auf die übliche Weise ermittelt — bei der Kondensation von Cbo-Aminosäure-thiophenylestern mit Aminosäuren keine Racemisierung gefunden. Für den Aufbau von höheren Peptiden sollte die Eisessig-Methode daher nicht verwendet werden.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung von N-Trifluoracetyl-aminosäure-thiophenylestern

a) *POCl₃/Pyridin-Methode*: Zur Lösung von 10 mMol *N-TFA-Aminosäure* in 10–20 ccm absol. Tetrahydrofuran werden 1.54 g (0.92 ccm) frisch dest. Phosphoroxychlorid (10 mMol) und 1.1 g (1.1 ccm) *Thiophenol* gegeben. Die gut umgeschüttelte Lösung wird in einem Kältebad auf –30 bis –35° abgekühlt. Unter ständiger Kühlung und gutem Umschütteln werden 1.63 ccm (20 mMol) Pyridin zugetropft. Nach Zugabe etwa der halben Pyridinmenge beginnt sich die Lösung durch ausfallendes Pyridinhydrochlorid zu trüben. Nach beendeter Zugabe läßt man verschlossen 1 Stde. bei Raumtemperatur stehen und versetzt anschließend mit 20 ccm Wasser, wobei sich zwei Schichten bilden. Sodann wird i. Vak. bei 30° das Tetrahydrofuran abdestilliert, wobei der *Thiophenylester* oft schlagartig ausfällt.

Er kann durch Umkristallisieren oder durch Hochvakuumsublimation gereinigt werden. Durch Kühlen des Filtrates wird gewöhnlich noch eine weitere Fraktion gewonnen. Wenn der Ester als Öl anfällt, empfiehlt sich folgende Aufarbeitung. Nach Abdestillieren des Tetrahydrofurans wird das Gemisch 3 mal mit 10–20 ccm Essigester oder Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Auszüge werden mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung, Wasser, 1 *n* HCl und Wasser gewaschen. Nach Trocknen mit Natriumsulfat können die Ester unmittelbar nach dem Einengen mit Petroläther gefällt oder nach dem Eindampfen zur Trockne umkristallisiert werden.

b) *Dicyclohexylcarbodiimid-Methode*: 25 mMol *N-TFA-Aminosäure* werden in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran gelöst und mit 2.4 ccm *Thiophenol* (25 mMol) versetzt. Die Lösung wird auf –15° abgekühlt, und unter Schütteln wird die ebenfalls gekühlte Lösung von 5.7 g (27.5 mMol) Dicyclohexylcarbodiimid in 25 ccm Tetrahydrofuran zugefügt. Als bald tritt Ausscheidung von Dicyclohexylharnstoff ein. Nach 2 Tagen im Eisschrank wird in üblicher Weise aufgearbeitet.

Im Falle der Darstellung von Bis-[*N.O-TFA*]-L-threonin-thiophenylester muß der Kontakt mit Wasser vermieden werden, da sonst die *O-TFA-Gruppe* abhydrolysiert wird.

Die dargestellten *Thiophenylester*, auch die analog aus *N-TFA-Dipeptiden* gewonnenen, sind in der Tab. aufgeführt.

N-Trifluoracetyl-dipeptide aus N-TFA-Aminosäure-thiophenylestern

Nach der Kondensation in siedendem Eisessig (s. bei den einzelnen Verbindungen) wird das Lösungsmittel zusammen mit dem gebildeten Thiophenol i. Vak. abdestilliert und das gebildete *N-TFA-Dipeptid* mit Natriumhydrogencarbonatlösung aus Essigesterlösung ausgeschüttelt. Die eingeeengte Essigesterphase liefert durch Fällen mit Petroläther einen evtl. eingesetzten Überschuß an Thiophenylester zurück. Aus der angesäuerten Natriumhydrogencarbonatlösung fallen die *N-TFA-Dipeptide* vielfach kristallin an. Andernfalls werden sie in Essigester aufgenommen und daraus mit Petroläther gefällt.

N-Trifluoracetyl-glycyl-L-alanin: 5.58 g *N-TFA-Gly-SC₆H₅* und 1.89 g *L-Alanin* (Molverhältnis 1 : 1) wurden in 22 ccm Eisessig 2 Stdn. auf 120° erhitzt. Ausb. 3.25 g (63%), Schmelzbereich 95–105°, aus Essigester/Petroläther Schmp. 131–132° (Sintern ab 125°), $[\alpha]_D^{25}$: –28.3° (c = 2.1 in Äthanol).

C₇H₉F₃N₂O₄ (242.3) Ber. C 34.73 H 3.74 N 11.57 Gef. C 34.68 H 3.87 N 11.56

Glycyl-L-alanin: 2.4 g der vorstehenden Verbindung ließ man in 15 ccm konz. Ammoniak 1 Stde. bei Raumtemperatur stehen. Nach dem Einengen i. Vak. wurde der Rückstand in Wasser aufgenommen und 10 ccm Amberlite IR-4B wurden eingerührt. Nach Absaugen und Waschen des Ionenaustauschers mit Wasser engte man die vereinigten Filtrate i. Vak. ein und fällte das *Glycyl-L-alanin* mit Äthanol. Ausb. 1.3 g (89%), Schmp. 227–228° (Zers.), $[\alpha]_D^{27}$: -47.8° ($c = 1.6$ in Wasser) (Lit.¹⁰): $[\alpha]_D$: -50° .

N-Trifluoracetyl-glycyl-L-leucin: 6.37 g *N-TFA-Gly-SC₆H₅* und 3.71 g *L-Leucin* (Molverhältnis 1 : 1) wurden in 48 ccm Eisessig 2 Stdn. auf 120° erhitzt. Aus der wäbr. Lösung fielen beim Ansäuern 2.60 g des Dipeptids vom Schmp. 178–180° aus, durch Ausziehen mit Essigester wurden weitere 1.80 g, Schmp. 175–177°, gewonnen, Gesamtausb. 65%. $[\alpha]_D^{25}$: -24.6° ($c = 2$ in Äthanol) (Lit.¹¹): Schmp. 185–186°, $[\alpha]_D$: -24.1° .

N-Trifluoracetyl-glycyl-L-isoleucin: 2.63 g *N-TFA-Gly-SC₆H₅* und 0.655 g *L-Isoleucin* (Molverhältnis 2 : 1) wurden in 5 ccm Eisessig 2.5 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Beim Ansäuern fielen 0.95 g Dipeptid vom Schmp. 171–173° aus und durch Ausschütteln mit Essigester wurden noch 0.37 g, Schmp. 162–165°, erhalten (Rohausb. 93%). Aus Essigester/Methylenchlorid Schmp. 175–177°, $[\alpha]_D^{22}$: $+22.3^\circ$, $[\alpha]_{546}^{22}$: $+24.6^\circ$ ($c = 0.85$ in Tetrahydrofuran). 1.25 g Thiophenylester wurden zurückgewonnen.

$C_{10}H_{15}F_3N_2O_4$ (284.3) Ber. C 42.26 H 5.32 N 9.85 Gef. C 42.37 H 5.07 N 9.75

N-Trifluoracetyl-glycyl-L-isoleucin-methylester: Aus der vorstehenden Verbindung mit *Diazomethan*. Aus Hexan Schmp. 72.5–73.5°, $[\alpha]_D^{25}$: -20.2° , $[\alpha]_{546}^{25}$: -21.9° ($c = 1.1$ in Äthanol).

$C_{11}H_{17}F_3N_2O_4$ (298.3) Ber. C 44.27 H 5.74 N 9.39 Gef. C 44.41 H 5.70 N 8.95

N-Trifluoracetyl-glycyl-L-valin-methylester: 8 g *N-TFA-Gly-SC₆H₅* und 1.76 g *L-Valin* (Molverhältnis 2 : 1) wurden in 20 ccm Eisessig 2 Stdn. auf 125° erhitzt. Man erhielt 3.6 g (90%) öliges *N-TFA-Gly-L-Val-OH*. Mit *Diazomethan* lieferte dieses *N-TFA-Gly-L-Val-OCH₃* vom Schmp. 104° (aus Essigester/Diisopropyläther), $[\alpha]_D^{25}$: -28.0° , $[\alpha]_{546}^{25}$: -34.5° ($c = 2$ in Methanol).

$C_{10}H_{15}F_3N_2O_4$ (284.2) Ber. C 42.25 H 5.32 N 9.85 Gef. C 42.37 H 5.54 N 9.70

N-Trifluoracetyl-glycyl-L-prolin-methylester: 8 g *N-TFA-Gly-SC₆H₅* und 1.73 g *L-Prolin* (Molverhältnis 2 : 1) wurden in 20 ccm Eisessig 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Ausb. an rohem, öligem *N-TFA-Gly-L-Pro-OH* 3.1 g (77%). Nach Veresterung mit *Diazomethan* Schmp. des *Methylesters* 82° (aus Diisopropyläther). $[\alpha]_{546}^{23}$: -112.5° ($c = 2$ in absol. Methanol).

$C_{10}H_{13}F_3N_2O_4$ (282.2) Ber. C 42.56 H 4.65 N 9.93 Gef. C 42.52 H 4.85 N 9.68

N-Trifluoracetyl-L-prolyl-glycin: 6.1 g *N-TFA-L-Prolin-thiophenylester* und 0.8 g *Glycin* (Molverhältnis 2 : 1) erhitzte man in 20 ccm Eisessig 2 Stdn. unter Rückfluß. Ausb. 0.85 g (32%), Schmp. 110–112° (Rohprodukt), aus Essigester/Methylenchlorid/Petroläther Schmp. 113–115°, $[\alpha]_D^{25}$: -104° , $[\alpha]_{546}^{25}$: -113° ($c = 0.9$ in Äthanol).

$C_9H_{11}F_3N_2O_4$ (268.2) Ber. C 40.31 H 4.13 N 10.44 Gef. C 40.43 H 4.15 N 10.76

L-Prolyl-glycin: 0.13 g der vorstehenden Verbindung wurden in 5 ccm konz. Ammoniak 1 Stde. auf 70° erhitzt. Nach Eindampfen i. Vak. fällte man das *Dipeptid* mit Äthanol. Ausb. 0.08 g (82%), $[\alpha]_D^{25}$: -23.1° ($c = 1.1$ in Wasser) (Lit.¹²): $[\alpha]_D$: -22.5° und -22.8° .

10) F. ERLANGER und E. BRAND, J. Amer. chem. Soc. 73, 3508 [1951].

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

12) J. L. BAILEY, J. chem. Soc. [London] 1950, 3461; E. ABDERHALDEN und Mitarbb., Z. Fermentforsch. 13, 573 [1932].

N-Trifluoracetyl-*L*-prolyl-glycin-methylester: Aus der vorstehenden Verbindung mit *Diazomethan*, Schmp. 123–125° (aus Äther/Hexan), $[\alpha]_D^{25}$: -68.5° ($c = 0.5$ in Tetrahydrofuran).

$C_{10}H_{13}F_3N_2O_4$ (282.2) Ber. C 42.56 H 4.65 N 9.92 Gef. C 43.06 H 4.89 N 10.15

Aus den in der Tabelle beschriebenen *N*-TFA-Aminosäure-thiophenylestern, die sich von anderen optisch aktiven Aminosäuren als *L*-Prolin ableiten, wurden durch Kondensation mit optisch aktiven Aminosäuren in heißem Eisessig zahlreiche andere *N*-TFA-Dipeptide hergestellt. Die gaschromatographische Prüfung zeigte jedoch, daß in allen Fällen die erhaltenen Dipeptide nicht frei von diastereomeren Verbindungen waren. So wurde z. B. bei der Kondensation von *N*-TFA-*L*-Val- SC_6H_5 mit *L*-Valin nach Veresterung des Rohproduktes mit Diazomethan gaschromatographisch⁹⁾ 80.7% *LL*- und 19.3% *DL*-*N*-TFA-Val-Val- OCH_3 gefunden. In einzelnen Fällen gelang es, durch fraktionierte Kristallisation reine *N*-TFA-*LL*-Dipeptide darzustellen¹³⁾.

¹³⁾ Dissertat. A. PROX, Techn. Hochschule München 1962; Diplomarb. H. FRITZ, Techn. Hochschule München 1960.