

Hans Jeschkeit, Günter Losse und Klaus Neubert

Peptidsynthesen mit dem Furfuryloxycarbonylrest als Aminoschutzgruppe

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Halle-Wittenberg

(Eingegangen am 12. März 1966)

Der Furfuryloxycarbonylrest wird bei der nach verschiedenen Methoden vorgenommenen Synthese einfacher Peptide als Aminoschutzgruppe eingesetzt. Der Rest wird durch Umsetzung der *N*-Carbonyl-aminosäureester mit Furfurylalkohol eingeführt, wieder abgespalten wird er acidolytisch mit 6.5-proz. HBr/Eisessiglösung, mit Chlorwasserstoff/Eisessig und mit wasserfreier Trifluoressigsäure. Die Spaltung ist selektiv gegenüber Benzylester-, Benzyläther- und Benzyloxycarbonylschutzgruppen.

Von den seit Einführung der Benzyloxycarbonylgruppe durch *Bergmann* und *Zervas*¹⁾ untersuchten Urethanen²⁾ hat sich insbesondere der tert.-Butyloxycarbonylrest³⁾ als Aminoschutzgruppe bei Peptidsynthesen durchsetzen können, weil die acidolytische Wiederabspaltung unter extrem milden Bedingungen vorgenommen werden kann.

Als ebenfalls sehr labil gegenüber konz. Mineralsäuren erwies sich der kürzlich von uns bei der Prüfung weiterer Urethangruppierungen gefundene Furfuryloxycarbonylrest⁴⁾ *). Hydrogenolytisch nicht und acidolytisch nur unvollständig spaltbar waren dagegen die Urethane aus Isocyanato-essigester und Methanol ($\text{CH}_3\text{O}-\text{CO}-\text{NHR}$, $\text{R} = -\text{CH}_2\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$), *n*-Hexanol ($\text{H}_3\text{C}-[\text{CH}_2]_4-\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{NHR}$), Dicyclohexylcarbinol ($(\text{C}_6\text{H}_{11})_2\text{CHO}-\text{CO}-\text{NHR}$) und Tetrahydrofurfurylalkohol ($\text{C}_4\text{H}_7\text{OCH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{NHR}$) (vgl. Tab. 1). Die Darstellung der ursprünglich zur Untersuchung vorgesehenen Urethane auf Basis des Benzhydrols und Triphenylcarbinols gelang nicht.

*) Nach freundlichem Hinweis von Herrn Dr. E. Wünsch, München, nunmehr als FOC-Rest abgekürzt.

1) M. Bergmann und L. Zervas, Ber. dtsh. chem. Ges. **65**, 1192 (1932).

2) C. M. Stevens und R. Watanabe, J. Amer. chem. Soc. **72**, 725 (1950); D. M. Channing, P. B. Turner und G. T. Young, Nature [London] **167**, 487 (1951); F. H. Carpenter und D. T. Gish, J. Amer. chem. Soc. **74**, 3818 (1952); D. T. Gish und F. H. Carpenter, ebenda **75**, 950 (1953); F. C. McKay und N. F. Albertson, ebenda **79**, 4686 (1957); L. Kisfaludy und S. Dulska, Acta chim. Acad. Sci. hung. **24**, 301 (1960); R. Schwyzer und P. Sieber, Helv. chim. Acta **41**, 491 (1958), **43**, 1910 (1960); S. Guttmann und R. A. Boissonnas, ebenda **42**, 1257 (1957); F. Weygand und K. Hunger, Chem. Ber. **95**, 1 (1962).

3) G. W. Anderson und A. C. McGregor, J. Amer. chem. Soc. **79**, 6180 (1957); F. C. McKay und N. F. Albertson, ebenda **79**, 4686 (1957); L. A. Carpino, ebenda **79**, 4427 (1957); L. A. Carpino, C. A. Giza und B. A. Carpino, ebenda **81**, 955 (1959); R. Schwyzer, H. Kappeler, B. Iselin, W. Rittel und H. Zuber, Helv. chim. Acta **42**, 1702 (1959); R. Schwyzer, P. Sieber und H. Kappeler, ebenda **42**, 2622 (1959).

4) G. Losse, H. Jeschkeit und E. Willenberg, Angew. Chem. **76**, 271 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. **3**, 307 (1964).

Tab. 1. Acidolyse von Alkoxy-carbonyl-glycin-Derivaten mit 36-proz. HBr/Eisessiglösung bei Raumtemperatur

Substrat	nach 1'	% Glycinäthylester(Glycin)-HBr				
		3'	10'	1h	3h	12h
Methoxycarbonyl-glycin-äthylester	0	0	5	21	50	76
n-Hexyloxycarbonyl-glycin-äthylester	0	0	1	5	7	19
Dicyclohexylmethoxy-carbonyl-glycin-äthylester	0	0	1	10	20	62
Tetrahydrofurfuryloxycarbonyl-glycin	0	0	0	0	0	0
Furfuryloxycarbonyl-glycin-äthylester	89	87	85	85	85	85

Die leichte Spaltbarkeit des *N*-FOC-Restes hatten wir auf die Ausbildung des mesomeriestabilisierten Furfurylkations zurückgeführt⁴⁾, wodurch die Furfurylester den Charakter vinyloger Acetale annehmen und säureempfindlich wie normale Acetale sind. In Übereinstimmung damit steht die Säurestabilität des Tetrahydrofurfuryloxycarbonylrestes, der durch 36-proz. HBr/Eisessiglösung erst beim Erhitzen auf 70° partiell gespalten wird. Nach kürzlich von *Blaha* und *Rudinger*⁵⁾ ausgeführten kinetischen Messungen ist die Acidolysegeschwindigkeit der *N*-FOC-Gruppe und der *p*-Methoxy-benzyloxycarbonylgruppe von gleicher Größenordnung. In der Reihe der sauer spaltbaren Urethanschutzgruppen nimmt der *N*-FOC-Rest somit eine Mittelstellung zwischen der tert.-Butyloxycarbonyl- und der Benzyloxycarbonylgruppe ein.

Furfuryloxycarbonylaminosäuren und Derivate

Zur Gewinnung der *N*-FOC-Aminosäuren setzt man die entsprechenden *N*-Carbonyl-aminosäureester (Isocyanatofettsäureester)⁶⁾ in Gegenwart katalytischer Mengen Triäthylamin⁷⁾ mit Furfurylalkohol um und verseift die dabei entstehenden *N*-FOC-Aminosäureester. Die Ausbeute beträgt etwa 70–90%; sie ist höher, wenn die kristallin oder als gelbliche Öle anfallenden *N*-FOC-Aminosäureester (Tab. 2) vor der Verseifung isoliert werden. Bei der Synthese der *N*-FOC-Verbindungen des Cysteins, Tyrosins und Lysins haben wir die SH- und OH-Funktion durch den Benzylrest, die ω-NH₂-Funktion durch den Tosyl- bzw. Z-Rest geschützt.

Alle dargestellten *N*-FOC-Aminosäuren (s. Tab. 3) zeigen ebenso wie ihre DCHA-Salze gutes Kristallisationsvermögen. Ihre Löslichkeit entspricht der der Benzyloxycarbonylverbindungen, die Beständigkeit gegenüber 2 bis 4 *n* Mineralsäuren und verd. Alkalien gewährleistet ein ungefährdetes Aufarbeiten peptidsynthetischer Reaktionsansätze.

Versuche, die Einführung des *N*-FOC-Restes generell über Chlorameisensäurefurfurylester vorzunehmen, scheiterten an der Unbeständigkeit dieser bisher nicht beschriebenen Verbindung. Eine direkte Umsetzung von Furfurylalkohol mit Phos-

⁵⁾ K. *Blaha* und J. *Rudinger*, Collect. czechoslov. chem. Commun. **30**, 585 (1965).

⁶⁾ St. *Goldschmidt* und M. *Wick*, Liebigs Ann. Chem. **575**, 217 (1952).

⁷⁾ J. W. *Baker* und J. *Gaunt*, J. chem. Soc. [London] **1949**, 9.

gen unter den Bedingungen der Darstellung des Chlorameisensäure-benzylesters⁸⁾ führt zur vollständigen Verharzung des Reaktionsansatzes, und der bei -60° aus äquivalenten Mengen Furfurylalkohol, Phosgen und Triäthylamin gebildete Ester zeigt bei tiefen Temperaturen eine zu geringe acylierende Wirkung, als daß ein Arbeiten in präparativem Maßstab in Frage käme. Aktivierte Ester der *N*-FOC-Aminosäuren (vgl. Tab. 2) erhält man nach den üblichen Verfahren, die Cyanmethylester⁹⁾ in guter Ausbeute aus den *N*-FOC-Aminosäuren und Chloracetonitril, die *p*-Nitrophenyl- und Thiophenylester vorteilhaft nach der Carbodiimidmethode¹⁰⁾.

Peptidsynthesen

Bei den Peptidsynthesen (die wir nach der Carbodiimid-, Azid- und Anhydridmethode sowie der Methode aktivierter Ester durchführten) prüften wir die Einsatzmöglichkeit der *N*-FOC-Gruppe in Kombination mit der Benzyläther- und Benzylestergruppe. Die für die Azidmethode¹¹⁾ benötigten *N*-FOC-Aminosäurehydrazide sind aus den *N*-FOC-Aminosäureestern bequem zugänglich. Beim Arbeiten nach der POCl_3 -Methode¹²⁾ empfiehlt sich das Eintropfen einer Suspension von Phosphoroxychlorid in Pyridin bei -15° in die Lösung der zu verknüpfenden Komponenten.

Als nicht anwendbar erwies sich die Carboxylaktivierung über Säurechloride, da hier der Zusatz von Thionylchlorid oder Phosphorpentachlorid in Tetrahydrofuran und anderen Lösungsmitteln zur Verharzung des Reaktionsansatzes führte. Zur Wiederabspaltung der *N*-FOC-Gruppe mit HBr /Eisessig haben wir die an *N*-FOC-Glycin-benzylester als Substrat ermittelten optimalen Bedingungen¹³⁾ (3 Min. Einwirkung von zwei Äquivv. HBr in 6.5-proz. Eisessiglösung) gewählt, unter denen Benzylestergruppen quantitativ erhalten bleiben. Bei den hydrolyseempfindlichen Cyanmethylestern erfolgt unter diesen Bedingungen keine Bildung der inaktiven Glykolamidestergruppe, wie sie bei Hydrogenolyse und Acidolyse von *Z*-Aminosäure-cyanmethylestern beobachtet wird¹⁴⁾. Präparativ einfach und mit hoher Ausbeute verläuft die Abspaltung der *N*-FOC-Gruppe mit Chlorwasserstoff/Eisessig, wie am Beispiel von *N*-FOC-*S*-Benzyl-L-cysteinyl-glycin-benzylester gezeigt werden konnte. Die *N*-FOC-Verbindung wird bei Raumtemperatur in Eisessig gelöst und durch Einleiten von Chlorwasserstoff entacyliert. Für die Spaltung mit wasserfreier Trifluoressigsäure, die von *Weygand*¹⁵⁾ erstmals zur Entcarbobenzoylierung von Aminosäurederivaten herangezogen wurde, erzielten wir an *N*-FOC-Glycyl-glycin-benzylester die günstigsten Ergebnisse bei Raumtemperatur und 5–10 Min. Einwirkungsdauer.

⁸⁾ *A. C. Farthing*, J. chem. Soc. [London] **1950**, 3213.

⁹⁾ *R. Schwyzer, M. Feurer, B. Iselin und H. Kägi*, Helv. chim. Acta **38**, 80 (1955).

¹⁰⁾ *M. Rothe und F. W. Kunitz*, Liebigs Ann. Chem. **609**, 88 (1957).

¹¹⁾ *Th. Curtius*, Ber. dtsh. chem. Ges. **35**, 3226 (1902); *N. A. Smart, G. T. Young und M. W. Williams*, J. chem. Soc. [London] **1960**, 3902.

¹²⁾ *Th. Wieland und B. Heinke*, Liebigs Ann. Chem. **615**, 184 (1958).

¹³⁾ Diplomarb. *U. Neef*, Univ. Halle 1964.

¹⁴⁾ *M. Goodman und K. C. Stueben*, J. Amer. chem. Soc. **81**, 3980 (1959); *F. H. C. Stewart*, Austral. J. Chem. **18**, 1089 (1965).

¹⁵⁾ *F. Weygand und W. Steglich*, Z. Naturforsch. **14b**, 472 (1959).

Chromatographisch nicht einheitlich waren die bei der Abspaltung des *N*-FOC-Restes mit Chlorwasserstoff/Methanol erhaltenen Esterhydrochloride. Hier wurden offensichtlich Peptid- und Benzylesterbindung in Mitleidenschaft gezogen.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Mikro-Heiztisch „Boetius“ bestimmt und sind nicht korrigiert. Papierchromatographische Reinheitsprüfung: Laufmittel *n*-Butanol/Eisessig/Wasser (4 : 1 : 1); Indikator: 100 mg Ninhydrin in 60 ccm Aceton, 0,4 ccm Eisessig und 1,2 ccm Wasser. Unter „üblichem Aufarbeiten“ wird Ausschütteln der Lösungen mit *n* HCl, gesätt. NaHCO₃-Lösung und Wasser, Trocknen über Na₂SO₄ und Einengen i. Vak. verstanden.

A. Ausgangsstoffe

Die *N*-Carbonyl-aminosäureester wurden nach Goldschmidt und Wick⁶⁾ aus den entsprechenden Aminosäureester-hydrochloriden und Phosgen in siedendem Toluol gewonnen. Nicht beschrieben waren *N*-Carbonyl-DL-alanin-methylester, Ausb. 85%, Sdp.₄ 42–43°; *N*-Carbonyl-DL-valin-methylester, Ausb. 83%, Sdp.₄ 50°; *N*-Carbonyl-S-benzyl-L-cystein-methylester, Ausb. 77%, Sdp.₃ 172°, und *N*-Carbonyl-L-glutaminsäure-dibenzylester, Ausb. 65%, Sdp._{0.001} 135° (Badtemp.). Die über *N*-*p*-Toluolsulfonyl-L-lysin-methylester-hydrochlorid¹⁶⁾ und *O*-Benzyl-L-tyrosin-methylester-hydrochlorid¹⁷⁾ gewonnenen Isocyanate wurden ohne besondere Reinigung weiterverarbeitet.

B. Alkoxy-carbonyl-glycinderivate

1. Methoxycarbonyl-glycin-äthylester, Sdp.₁₃ 127°, Ausb. 85%, wurde aus Chlorameisensäure-methylester und Glycin-äthylester nach Leuchs¹⁸⁾ gewonnen.

2. *n*-Hexyloxycarbonyl-glycin-äthylester: Je 6,5 g Isocyanatoessigsäure-äthylester und *n*-Hexanol wurden nach Zusatz von 1 ccm absol. Pyridin bis zum Verschwinden des Isocyanatgeruchs unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurde über eine Widmer-Kolonne i. Vak. fraktioniert. Ausb. 8,6 g (75%), farbloses Öl, Sdp.₁₆ 166°.

C₁₁H₂₁NO₄ (231.3) Ber. C 57.12 H 9.15 N 6.06 Gef. C 57.91 H 9.24 N 6.17

3. Dicyclohexylmethoxycarbonyl-glycin-äthylester: 9,8 g Dicyclohexylcarbinol kochte man mit 6,5 g Isocyanatoessigsäure-äthylester und 1 ccm Triäthylamin in 20 ccm Toluol wie oben unter Rückfluß und kristallisierte die beim Einengen i. Vak. ausfallenden farblosen Nadeln aus Ligroin um. Ausb. 13,0 g (80%), Schmp. 98–100°.

C₁₈H₂₉NO₄ (323.4) Ber. C 66.84 H 9.04 N 4.33 Gef. C 66.43 H 9.06 N 4.30

4. Tetrahydrofurfuryloxycarbonyl-glycin wurde analog der allgemeinen Vorschrift zur Darstellung von *N*-FOC-Aminosäuren gewonnen. Der intermediär entstehende Ester wurde ohne Isolierung verseift. Ausb. 78%, Schmp. 72°.

C₈H₁₃NO₅ (203.2) Ber. C 47.29 H 6.45 Gef. C 47.44 H 6.62

C. Furfuryloxycarbonyl-aminosäuren und Derivate

N-FOC-Aminosäureester (vgl. Tab. 2): 0,1 Mol des entsprechenden *N*-Carbonyl-aminosäureesters wird mit 9,8 g (0,1 Mol) frisch dest. Furfurylalkohol versetzt. Nach Zugabe von 0,3 ccm Triäthylamin beginnt die Reaktion unter Selbsterwärmung. Die Temperatur wird durch Außenkühlung auf etwa 40° gehalten. Nach 1 bis 3 Stdn. wird das Reaktionsgemisch

¹⁶⁾ R. Schwyzer und P. Sieber, Helv. chim. Acta **41**, 1582 (1958).

¹⁷⁾ E. Wünsch, G. Fries und A. Zwick, Chem. Ber. **91**, 542 (1958).

¹⁸⁾ H. Leuchs, Ber. dtsh. chem. Ges. **39**, 859 (1906).

Tab. 2. Dargestellte *N*-FOC-Aminosäureester

Furfuryloxycarbonyl-aminosäureester	% Ausb.	Schmp. bzw. Sdp.	$[\alpha]_D$ in Chlf.	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analyse C H N		
<i>N</i> -FOC-Glycin-äthylester	93.5	Sdp. ₁₆ 184°		C ₁₀ H ₁₃ NO ₅ (227.2)	Ber. 52.86 Gef. 53.09	5.77 5.92	6.17 6.28
<i>N</i> -FOC-Glycin-benzylester *)	48	47°		C ₁₅ H ₁₅ NO ₅ (289.3)	Ber. 62.28 Gef. 62.68	5.23 5.34	4.84 5.48
<i>N</i> -FOC-DL-Alanin-methylester	92	76–77°		C ₁₀ H ₁₃ NO ₅ (227.2)	Ber. 52.86 Gef. 52.75	5.77 5.99	6.17 6.06
<i>N</i> -FOC-DL-Alanin-äthylester	80	gelbes Öl		C ₁₁ H ₁₅ NO ₅ (241.2)	Ber. 54.76 Gef. 54.56	6.27 6.21	5.81 5.87
<i>N</i> -FOC-DL-Valin-äthylester	86.5	gelbes Öl		C ₁₃ H ₁₉ NO ₅ (269.3)	Ber. 57.98 Gef. 57.63	7.11 6.95	5.20 5.20
<i>N</i> -FOC-DL-Leucin-äthylester	82	Sdp. ₁ 168–170°		C ₁₄ H ₂₁ NO ₅ (283.3)	Ber. 59.35 Gef. 59.94	7.47 8.00	4.94 4.96
<i>N</i> -FOC-DL-Phenylalanin-äthylester	82	gelbes Öl		C ₁₇ H ₁₉ NO ₅ (317.3)	Ber. 64.34 Gef. 64.24	6.04 6.57	4.41 4.49
<i>N</i> -FOC-S-Benzyl-L-cystein-methylester	80	49–51°		C ₁₇ H ₁₉ NO ₅ S (349.4)	Ber. 58.43 Gef. 58.32	5.48 5.81	4.01 4.51
<i>N</i> -FOC-L-Glutaminsäure-dibenzylester	78	77°	$[\alpha]_D^{23}$: –4.2° (<i>c</i> = 1.31)	C ₂₅ H ₂₅ NO ₇ (451.5)	Ber. 66.51 Gef. 65.50	5.58 5.78	3.10 3.44
<i>N</i> -FOC-Glycin-cyanmethylester	72.5	56–57°		C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₅ (238.2)	Ber. 50.42 Gef. 50.35	4.23 4.40	11.76 11.70
<i>N</i> -FOC-Glycin-thiophenylester	53	69°		C ₁₄ H ₁₃ NO ₄ S (291.3)	Ber. 57.73 Gef. 57.44	4.50 4.72	4.82 5.49
<i>N</i> -FOC-Glycin- <i>p</i> -nitrophenylester	68	147–148°		C ₁₄ H ₁₂ N ₂ O ₇ (320.2)	Ber. 52.50 Gef. 52.72	3.78 4.08	8.75 8.75
<i>N</i> -FOC-DL-Alanin-cyanmethylester	70.5	77–78°		C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₅ (252.2)	Ber. 52.38 Gef. 52.62	4.80 4.94	11.11 10.90
<i>N</i> -FOC-DL-Alanin- <i>p</i> -nitrophenylester	65	93–94°		C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₇ (334.3)	Ber. 53.98 Gef. 53.98	4.18 4.48	8.39 8.47
<i>N</i> -FOC-L-Alanin-thiophenylester	79	132–133°	$[\alpha]_D^{23}$: –30.3° (<i>c</i> = 1.57)	C ₁₅ H ₁₅ NO ₄ S (305.3)	Ber. 59.01 Gef. 59.10	4.95 4.99	4.59 5.01
<i>N</i> -FOC-DL-Valin-cyanmethylester	72	54°		C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₅ (280.3)	Ber. 55.71 Gef. 55.27	5.75 5.70	10.00 10.05
<i>N</i> -FOC-DL-Valin- <i>p</i> -nitrophenylester	70	89–90°		C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₇ (362.3)	Ber. 56.35 Gef. 56.32	5.01 4.93	7.73 8.03
<i>N</i> -FOC-S-Benzyl-L-cystein-cyanmethylester	86	73–74°		C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₅ S (374.3)	Ber. 57.75 Gef. 57.74	4.85 4.71	7.48 7.64
<i>N</i> -FOC-L-Phenylalanin-thiophenylester	85	111–112°	$[\alpha]_D^{23}$: –44.1° (<i>c</i> = 1.16)	C ₂₁ H ₁₉ NO ₄ S (381.4)	Ber. 66.13 Gef. 66.23	5.02 5.49	3.67 3.71

*) Aus *N*-FOC-Glycin und Benzylchlorid.

mit Essigester verdünnt, zur Entfernung des Triäthylamins mit wenig *n* HCl durchgeschüttelt, mit Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Beim Einengen i. Vak. erhält man die *N*-FOC-Aminosäureester kristallin oder in Form gelblicher Öle, die durch Petroläther in der Kälte zur Kristallisation gebracht werden können. Größere Kristallisationstendenz zeigten in allen untersuchten Fällen die Methylester.

N-FOC-Aminosäuren (vgl. Tab. 3)

a) Zur Lösung von 0.02 Mol *N*-FOC-Aminosäureester in ca. 40 ccm Dioxan gibt man 12ccm 2*n* NaOH (20% Überschuß) und läßt 2 bis 5 Stdn. bei Raumtemp. stehen. Nach Neutralisation mit einigen Tropfen Eisessig destilliert man das Lösungsmittel i. Vak. bei Raumtemp. weitgehend ab, nimmt den Rückstand in wenig Wasser auf und macht mit 2*n* HCl kongosauer. Scheidet sich dabei die *N*-FOC-Aminosäure nicht kristallin ab, so wird in Essigester aufgenommen, über Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand kristallisiert beim Zusatz von Petroläther. Soll die Isolierung über die DCHA-Salze¹⁹⁾ erfolgen, so versetzt man die getrockneten Essigesterextrakte mit der entsprechenden Menge Dicyclohexylamin.

¹⁹⁾ F. Weygand und M. Reiher, Chem. Ber. **88**, 26 (1955); E. Klieger, E. Schröder und H. Gi-bian, Liebigs Ann. Chem. **640**, 157 (1961).

Tab. 3. Dargestellte *N*-FOC-Aminosäuren

<i>N</i> -FOC-Aminosäure	°/° Ausb. *)	Schmp.	[α] _D	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analyse		
					C	H	N
<i>N</i> -FOC-Glycin	59 (88)	80°		C ₆ H ₉ NO ₅ (199.2)	Ber. 48.24 Gef. 48.43	4.56 4.80	7.03 6.94
<i>N</i> -FOC-DL-Alanin	64 (93)	85–86°		C ₆ H ₁₁ NO ₅ (213.2)	Ber. 50.70 Gef. 50.41	5.20 4.92	6.57 6.51
<i>N</i> -FOC-L-Alanin	66	69°		C ₆ H ₁₁ NO ₅ (213.2)	Ber. 50.70 Gef. 50.35	5.20 5.61	6.57 6.51
<i>N</i> -FOC-L-Alanin-DCHA-Salz	73	157–158°	[α] _D ²⁰ : +5.77° (c = 1.5 in Äthanol)	C ₁₂ H ₂₄ N[C ₉ H ₁₀ NO ₅ (394.5)	Ber. 63.93 Gef. 63.79	8.69 9.09	7.10 7.18
<i>N</i> -FOC-DL-Valin	75	108–109°		C ₁₁ H ₁₅ NO ₅ (241.2)	Ber. 54.76 Gef. 54.49	6.27 6.24	5.81 5.90
<i>N</i> -FOC-L-Valin-DCHA-Salz	65	156–159°	[α] _D ²² : +6.0° (c = 1.92 in Äthanol)	C ₁₂ H ₂₄ N[C ₁₁ H ₁₄ NO ₅ (422.6)	Ber. 65.37 Gef. 65.48	9.06 9.13	6.63 6.99
<i>N</i> -FOC-DL-Leucin	87	93–96°		C ₁₂ H ₁₇ NO ₅ (255.3)	Ber. 56.46 Gef. 57.03	6.71 7.01	5.49 5.70
<i>N</i> -FOC-L-Leucin-DCHA-Salz	67	142–143°	[α] _D ²³ : -4.37° (c = 1.83 in Äthanol)	C ₁₂ H ₂₄ N[C ₁₂ H ₁₆ NO ₅ (436.6)	Ber. 66.02 Gef. 66.46	9.24 9.30	6.42 6.56
<i>N</i> -FOC-DL-Phenylalanin	78	100–102°		C ₁₅ H ₁₅ NO ₅ (289.3)	Ber. 62.28 Gef. 62.02	5.23 5.35	4.84 5.00
<i>N</i> -FOC-L-Phenylalanin-DCHA-Salz	72	174–176°	[α] _D ²⁵ : +38.0° (c = 1.92 in Äthanol)	C ₁₂ H ₂₄ N[C ₁₅ H ₁₄ NO ₅ (470.6)	Ber. 68.91 Gef. 68.55	8.14 8.12	5.95 5.95
<i>N</i> -FOC-S-Benzyl-L-cystein	75 (95)	114–115°	[α] _D ²⁴ : -9.7° (c = 1.65 in Chlf.)	C ₁₆ H ₁₇ NO ₅ S (335.3)	Ber. 57.31 Gef. 57.14	5.07 5.22	4.18 4.26
<i>N</i> -FOC-O-Benzyl-DL-tyrosin	68	118–119°		C ₂₂ H ₂₁ NO ₆ (395.4)	Ber. 66.82 Gef. 66.58	5.35 5.49	3.54 3.81
<i>N</i> -FOC-N-Tosyl-L-lysin-DCHA-Salz	53	148–149°	[α] _D ²¹ : +9.75° (c = 2.4 in Äthanol)	C ₁₂ H ₂₄ N[C ₁₉ H ₂₃ N ₂ O ₇ S (605.8)	Ber. 61.50 Gef. 61.57	7.77 7.60	6.95 7.25

*) Bei den eingeklammerten Ausbeuten wurde der *N*-FOC-Aminosäureester vor der Verseifung isoliert.

b) Das bei der Umsetzung der *N*-Carbonyl-aminosäureester mit *Furfurylalkohol* erhaltene Reaktionsgemisch wird mit *n*HCl und Wasser gewaschen und ohne Isolierung des *N*-FOC-Aminosäureesters mit der äquiv. Menge *2n* NaOH verseift. Die weitere Aufarbeitung erfolgt wie unter a) beschrieben.

Aktivierte *N*-FOC-Aminosäureester

a) *Cyanmethylester*⁹⁾: 0.025 Mol *N*-FOC-Aminosäure erhitzt man mit 4.2 ccm Triäthylamin und 3.2 ccm *Chloracetonitril* 1 Stde. im Wasserbad auf 70°. Danach wird mit wenig Essigester verdünnt, das ausgefallene Triäthylammoniumsalz abgesaugt und die organische Phase wie üblich aufgearbeitet. Zur Analyse werden die *N*-FOC-Aminosäure-cyanmethylester aus Äther/Petroläther umkristallisiert.

b) *p*-Nitrophenyl- und *Thiophenylester*¹⁰⁾: 0.02 Mol *N*-FOC-Aminosäure und 3.34 g *p*-Nitro-phenol bzw. 2.65 ccm *Thiophenol* in 60 ccm Acetonitril werden bei -15° mit 4.5 g *Dicyclohexylcarbodiimid* (in Acetonitril) versetzt. Man rührt 3 Stdn. bei -15° und läßt über Nacht bei Raumtemp. stehen. Nach Abtrennen des ausgefallenen Dicyclohexylharnstoffs wird das Lösungsmittel nach Zusatz von 2 ccm Eisessig i. Vak. abdestilliert, der Rückstand in Essigester aufgenommen und wie üblich aufgearbeitet. Umkristallisiert wird aus Essigester/Petroläther.

N-FOC-Aminosäurehydrazide

a) *N*-FOC-Glycin-hydrazid: Zu einer Lösung von 6.8 g (0.03 Mol) *N*-FOC-Glycin-äthylester in 60 ccm absol. Äthanol gab man 2.8 g *Hydrazinhydrat*, ließ 36 Stdn. bei Raumtemp. stehen, dampfte das Lösungsmittel i. Vak. ab und kristallisierte den Rückstand aus Essigester/Petroläther um. Ausb. 6.2 g (96%), Schmp. 91–92°.

C₈H₁₁N₃O₄ (213.2) Ber. C 45.07 H 5.20 N 19.71 Gef. C 44.51 H 5.48 N 20.15

b) *N-FOC-DL-Alanin-hydrazid* wurde analog aus *N-FOC-DL-Alanin-äthylester* und *Hydrazinhydrat* in 95-proz. Ausb. gewonnen. Schmp. 141–145°.

$C_9H_{13}N_3O_4$ (227.2) Ber. C 47.57 H 5.77 N 18.50 Gef. C 47.86 H 6.16 N 18.11

D. Peptidsynthesen (vgl. Tab. 4)

Hier sollen nur kurze Arbeitsvorschriften der einzelnen Methoden wiedergegeben werden. Detaillierte Angaben sind der angegebenen Originalliteratur zu entnehmen.

Tab. 4. Dargestellte Furfuryloxycarbonyl-dipeptidester

Methode der Peptidverknüpfung	<i>N-FOC</i> -Dipeptid(ester)	Schmp.	$[\alpha]_D$ (in Chlf.)	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analyse C H N
Azid-Methode	<i>N-FOC</i> -Glycyl-glycin-benzylester	85–86°		$C_{17}H_{18}N_2O_6$ (346.3)	Ber. 58.95 5.24 8.09 Gef. 58.99 5.48 8.10
	<i>N-FOC</i> -L-Alanyl-L-phenylalanin-benzylester	118–120°	$[\alpha]_D^{21}$: –1.74° (<i>c</i> = 1.72)	$C_{25}H_{26}N_2O_6$ (450.5)	Ber. 66.65 5.82 6.22 Gef. 66.40 5.97 6.24
Carbodiimid-Methode	<i>N-FOC</i> -Glycyl-glycin-benzylester	85–86°			
	<i>N-FOC-DL</i> -Valyl-glycin-benzylester	142–143°		$C_{20}H_{24}N_2O_6$ (388.4)	Ber. 61.84 6.23 7.21 Gef. 62.19 6.26 7.24
	<i>N-FOC</i> -L-Alanyl-L-phenylalanin-benzylester	120–121°	$[\alpha]_D^{22}$: –2.06° (<i>c</i> = 1.81)		
	<i>N-FOC</i> -L-Valyl-L-valin-benzylester	145–146°	$[\alpha]_D^{21}$: –39.0° (<i>c</i> = 1.92)	$C_{23}H_{30}N_2O_6$ (430.5)	Ber. 64.17 7.02 6.51 Gef. 64.16 7.13 6.48
	<i>N-FOC</i> -L-Phenylalanyl-L-valin-benzylester	105–107°	$[\alpha]_D^{23}$: +2.1° (<i>c</i> = 3.6)	$C_{27}H_{30}N_2O_6$ (478.5)	Ber. 67.76 6.32 5.85 Gef. 67.87 6.12 6.05
	<i>N-FOC-DL</i> -Alanyl- <i>N</i> -Z- <i>DL</i> -lysin-benzylester	75–76°		$C_{30}H_{35}N_3O_8$ (565.6)	Ber. 63.70 6.24 7.43 Gef. 62.79 6.28 7.48
	<i>N-FOC-DL</i> -Leucyl-glycin-benzylester	79–80°		$C_{21}H_{27}N_2O_6$ (403.4)	Ber. 62.60 6.75 6.95 Gef. 62.64 6.84 7.13
	<i>N-FOC</i> -S-Benzyl-L-cysteinyl-glycin-benzylester	105–106°	$[\alpha]_D^{25}$: +12.8° (<i>c</i> = 1.87)	$C_{25}H_{26}N_2O_6S$ (482.5)	Ber. 62.22 5.43 5.81 Gef. 62.30 5.72 6.29
POCl ₃ -Methode	<i>N-FOC</i> -Glycyl-glycin-benzylester	84–86°			
	<i>N-FOC</i> -L-Valyl-L-leucin-benzylester	122–123°	$[\alpha]_D^{22}$: –14.8° (<i>c</i> = 1.3)	$C_{24}H_{32}N_2O_6$ (444.5)	Ber. 64.84 7.26 6.30 Gef. 65.19 6.91 6.81
Chlorkohlensäureester-Methode	<i>N-FOC</i> -Glycyl-glycin-benzylester	85–86°			
	<i>N-FOC-DL</i> -Alanyl-glycin-benzylester	118–119°		$C_{18}H_{20}N_2O_6$ (360.4)	Ber. 59.99 5.59 7.77 Gef. 59.91 5.84 7.90
	<i>N-FOC</i> -L-Leucyl-L-phenylalanin-benzylester	122–124°	$[\alpha]_D^{23}$: –8.0° (<i>c</i> = 1.06)	$C_{29}H_{32}N_2O_6$ (492.6)	Ber. 68.27 6.55 5.69 Gef. 68.22 6.66 5.85
<i>p</i> -Nitrophenylester-Methode	a) <i>N-FOC</i> -Glycyl-glycin-benzylester	85–86°			
	b) <i>N-FOC</i> -Glycyl-glycin	125°		$C_{10}H_{12}N_2O_6$ (256.2)	Ber. 46.88 4.72 10.93 Gef. 46.98 5.20 10.11
	<i>N-FOC</i> -Glycyl- <i>DL</i> -alanin	155–156°		$C_{11}H_{14}N_2O_6$ (270.2)	Ber. 48.89 5.22 10.37 Gef. 48.46 5.26 10.25
	<i>N-FOC</i> -Glycyl- <i>DL</i> -valin	106–107°		$C_{13}H_{18}N_2O_6$ (298.3)	Ber. 52.34 6.08 9.39 Gef. 51.72 6.37 9.78
	<i>N-FOC</i> -Glycyl- <i>DL</i> -phenylalanin	146–147°		$C_{17}H_{18}N_2O_6$ (346.3)	Ber. 58.95 5.24 8.09 Gef. 59.01 5.42 8.29
Thiophenylester-Methode	<i>N-FOC</i> -L-Alanyl-S-benzyl-L-cystein	130–132°	$[\alpha]_D^{22}$: –20.4° (<i>c</i> = 1.4)	$C_{19}H_{22}N_2O_6S$ (406.4)	Ber. 56.15 5.46 6.89 Gef. 56.29 5.80 7.21

*Azidmethode*¹¹⁾: Zu einer Mischung von 20 ccm Wasser, 4 ccm Eisessig und 4 ccm konz. Salzsäure gibt man bei 0° unter Rühren 0.02 Mol *N-FOC*-Aminosäure-hydrazid und bei –2° 2.4 g Natriumnitrit in wenig Wasser. Danach wird die Lösung mehrfach mit Äther ausge-

schüttelt. Die Ätherextrakte werden i. Vak. auf 80 ccm eingeeengt, über Na_2SO_4 getrocknet und bei 0° mit dem zu verknüpfenden *Aminosäureester* versetzt. Nach 48 Stdn. bei Raumtemp. wird wie üblich aufgearbeitet. Ausb. 70%.

*Carbodiimidmethode*²⁰⁾: Zur Peptidsynthese wird verfahren, wie bei aktivierte *N*-FOC-Aminosäureester unter b) beschrieben, nur wird anstelle der Phenolkomponente der *Aminosäureester* zugegeben. Ausb. 70–90%.

Methode der gemischten Anhydride

a) Mit *Phosphoroxchlorid*¹²⁾: 0.02 Mol *Aminosäureester* und 0.02 Mol *N*-FOC-Aminosäure werden in 100 ccm absol. Tetrahydrofuran unter Rühren bei -15° innerhalb einer Stde. mit einer Suspension von 1.6 ccm POCl_3 in 4.8 ccm absol. Pyridin versetzt. Nach weiterem einstdg. Rühren setzt man 40 ccm Wasser zu und destilliert das THF i. Vak. ab. Der sich abscheidende *N*-FOC-Dipeptidester wird in Essigester aufgenommen und wie üblich aufgearbeitet. Ausb. ca. 60%.

b) Mit *Chlorameisensäure-äthylester*²¹⁾: Die Lösung von 0.02 Mol *N*-FOC-Aminosäure und 2.8 ccm Triäthylamin in 50 ccm Tetrahydrofuran wird bei -15° tropfenweise mit 1.9 ccm *Chlorameisensäure-äthylester* versetzt. Nach 30 Min. wird bei der gleichen Temp. 0.02 Mol *Aminosäureester* hinzugefügt, der Ansatz weitere 30 Min. bei -15° und 1 Stde. bei Raumtemp. aufbewahrt. Nach Verdampfen des Lösungsmittels i. Vak. wird der Rückstand in Essigester aufgenommen und wie üblich aufgearbeitet. Ausb. ca. 60%.

p-Nitrophenylestermethode²²⁾

a) *N*-FOC-Dipeptidester: 0.02 Mol *N*-FOC-Glycin-*p*-nitrophenylester in 150 ccm Acetonitril werden unter Rühren bei 20° mit 0.02 Mol *Aminosäureester* versetzt. Man läßt über Nacht stehen, dampft das Acetonitril i. Vak. ab, nimmt den Rückstand in Essigester auf und arbeitet wie üblich auf. Ausb. 80%.

b) *N*-FOC-Dipeptide: Zu einer Lösung von 3.2 g (0.01 Mol) *N*-FOC-Glycin-*p*-nitrophenylester in 30 ccm Tetrahydrofuran wird eine wäbr. Lösung von je 0.01 Mol *Aminosäure* und Triäthylamin gegeben. Am andern Morgen wird i. Vak. eingeeengt und der Rückstand in $2n$ Na_2CO_3 aufgenommen. Zur Entfernung nicht umgesetzten *p*-Nitrophenylesters wird ausgeäthert, anschließend mit $3n$ HCl kongosauer gemacht, das ölig anfallende FOC-Dipeptid in Äther aufgenommen und durch Zusatz von Petroläther zur Kristallisation gebracht. Ausb. 40–50%.

*Thiophenylestermethode*²³⁾: 0.01 Mol *N*-FOC-Aminosäure-thiophenylester wird mit 0.01 Mol *Aminosäure* in 10 ccm n NaOH und 50 ccm Tetrahydrofuran unter Zugabe von etwas Methanol in homogene Lösung gebracht. Nach 4stdg. Erwärmen auf 60° wird das THF i. Vak. abgedampft, das freigesetzte Thiophenol mit Äther extrahiert und der Rückstand mit $3n$ HCl angesäuert. Das ausfallende *N*-FOC-Dipeptid wird aus Essigester/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 60%.

²⁰⁾ J. Sheehan und G. P. Hess, J. Amer. chem. Soc. **77**, 1067 (1955); J. Sheehan, M. Goodman und G. P. Hess, ebenda **78**, 1367 (1956).

²¹⁾ Th. Wieland und H. Bernhard, Liebigs Ann. Chem. **572**, 190 (1951); R. A. Boissonnas, Helv. chim. Acta **34**, 874 (1951); J. R. Vaughan, J. Amer. chem. Soc. **73**, 3547 (1951).

²²⁾ M. Bodanszky, Nature [London] **175**, 685 (1955); M. Bodanszky, M. Szelke, E. Tomorkeňy und E. Weisz, Chem. and Ind. **1955**, 1517; Acta chim. Acad. Sci. hung. **11**, 179 (1957).

²³⁾ Th. Wieland und W. Schäfer, Liebigs Ann. Chem. **576**, 104 (1952); Th. Wieland, W. Schäfer und E. Bokelmann, ebenda **573**, 99 (1951).

E. Wiederabspaltung der *N*-FOC-Gruppe

1. Mit 6.5-proz. *HBr*/Eisessiglösung: 0.005 Mol *N*-FOC-Verbindung wird bei Raumtemp. unter Feuchtigkeitsausschluß mit 9.5 ccm (0.01 Mol) 6.5-proz. *HBr*/Eisessiglösung versetzt. Der Ansatz färbt sich unter CO₂-Entwicklung dunkelbraun. Nach 3 Min. wird die Reaktion durch Zusatz von 100 ccm absol. Äther abgebrochen. Man läßt das ausgefallene Hydrobromid zur vollständigen Kristallisation noch 2 Stdn. bei Raumtemp. stehen, dekantiert den Äther, löst den Rückstand in 50 ccm absol. Methanol, erwärmt kurz mit Aktivkohle und filtriert. Aus dem i. Vak. eingeeigneten Filtrat wird das Esterhydrobromid mit absol. Äther ausgefällt. Zur Analyse wird über NaOH und dann über P₂O₅ getrocknet (vgl. Tab. 5).

Tab. 5. Esterhydrobromide aus *N*-FOC-Verbindungen durch Acidolyse mit 6.5-proz. *HBr*/Eisessiglösung

Hydrobromid von	% Ausb.	Schmp.	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analyse		
				C	H	N
Glycin- cyanmethylester	86	159–162° (Zers.)	C ₄ H ₇ N ₂ O ₂ Br (195.0)	Ber. 24.63 Gef. 24.98	3.62 3.74	14.37 14.25
DL-Alanin- cyanmethylester	77	164–165° (Zers.)	C ₅ H ₉ N ₂ O ₂ Br (209.1)	Ber. 28.71 Gef. 29.01	4.34 4.35	13.40 13.18
DL-Valin- cyanmethylester	73	143–144°	C ₇ H ₁₃ N ₂ O ₂ Br (237.1)	Ber. 35.46 Gef. 35.65	5.52 5.76	11.82 11.70
<i>S</i> -Benzyl-cystein- cyanmethylester	65	146–148°	C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₂ SBr (311.4)	Ber. 43.51 Gef. 43.04	4.56 4.81	8.46 8.41
Glycin- <i>p</i> -nitrophenylester	84	209–212° ^{a)}	C ₈ H ₆ N ₂ O ₄ Br (277.1)	Ber. 34.68 Gef. 34.77	3.27 3.32	10.11 10.19
DL-Valin- <i>p</i> -nitrophenylester	96	187–188° ^{b)}	C ₁₁ H ₁₅ N ₂ O ₄ Br (319.2)	Ber. 41.38 Gef. 41.34	4.74 5.01	8.78 8.83
Glycyl-glycin- benzylester	80	165–167° ^{c)}	C ₁₁ H ₁₅ N ₂ O ₃ Br (303.2)	Ber. 43.49 Gef. 43.25	4.98 5.03	9.26 9.35
DL-Alanyl-glycin- benzylester	71	163–164°	C ₁₂ H ₁₇ N ₂ O ₃ Br (317.2)	Ber. 45.38 Gef. 45.07	5.41 5.70	8.83 8.61
DL-Valyl-glycin- benzylester	75	125–128° (Zers.)	C ₁₄ H ₂₁ N ₂ O ₃ Br (345.2)			8.12 8.35
L-Alanyl-L-phenylalanin- benzylester	77	187–189° ^{d)}	C ₁₉ H ₂₃ N ₂ O ₃ Br (407.3)	Ber. 56.02 Gef. 56.13	5.70 6.09	6.88 6.84
DL-Alanyl- <i>N</i> -Z-DL-lysin- benzylester	62	212° (Zers. geschl. Rohr)	C ₂₄ H ₃₂ N ₃ O ₃ Br (522.4)			8.06 8.26
L-Valyl-L-valin- benzylester	78	202–204° ^{e)}	C ₁₇ H ₂₇ N ₂ O ₃ Br (387.3)	Ber. 52.75 Gef. 52.89	6.98 7.02	7.24 7.13

^{a)} Lit.¹²⁾; Schmp. 210–213°; ^{b)} Lit.¹²⁾; Schmp. 188°; ^{c)} D. Ben-Ishai, J. org. Chemistry 19, 62 (1954); Schmp. 144°; ^{d)} $[\alpha]_D^{22} = -3.42^\circ$ ($c = 1.1$ in Methanol); ^{e)} $[\alpha]_D^{20} = -13.5^\circ$ ($c = 0.93$ in Äthanol).

2. Mit Chlorwasserstoff/Eisessig; *S*-Benzyl-*L*-cysteinyl-glycin-benzylester-hydrochlorid^{*}): In eine Lösung von 4.82 g (0.01 Mol) *N*-FOC-*S*-Benzyl-*L*-cysteinyl-glycin-benzylester in 20 ccm absol. Eisessig wird ca. 10 Min. über H₂SO₄ getrockneter Chlorwasserstoff eingeleitet. Danach wird i. Vak. eingeeignet, der Rückstand in Methanol aufgenommen, die Lösung mit Aktivkohle behandelt und das Esterhydrochlorid durch Zusatz von absol. Äther ausgefällt. Ausb. 3.5 g (88%), Schmp. 128–130°, $[\alpha]_D^{25} = +44.0^\circ$ ($c = 0.25$ in H₂O).

C₁₉H₂₃N₂O₃Cl (394.9) Ber. C 57.79 H 5.87 N 7.09 Gef. C 57.87 H 5.85 N 7.13

3. Mit wasserfreier Trifluoressigsäure; Glycyl-glycin-benzylester-trifluoressigsäure: 1.75 g (0.005 Mol) *N*-FOC-Glycyl-glycin-benzylester werden bei Raumtemp. unter Feuchtigkeitsausschluß mit 6 ccm wasserfreier Trifluoressigsäure versetzt. Die Lösung färbt sich augenblicklich unter CO₂-Entwicklung schwarz. Nach 8–10 Min. wird i. Vak. eingeeignet, der Rückstand in 50 ccm absol. Methanol gelöst und wie oben weiterverarbeitet. Ausb. 1.36 g (81%), Schmp. 131–132°, R_F 0.693.

C₁₃H₁₅F₃N₂O₅ (336.2) Ber. C 46.48 H 4.46 N 8.33 Gef. C 46.17 H 4.61 N 8.35

^{*}) Diplomarb. K. Hilger, Univ. Halle 1966.

4. Mit Chlorwasserstoff in Methanol; *Glycyl-glycin-benzylester-hydrochlorid*

a) 1.75 g (0.005 Mol) *N-FOC-Glycyl-glycin-benzylester* werden in 25 ccm *HCl*-gesättigtem *Methanol* gelöst und 12 Stdn. bei Raumtemp. aufbewahrt. Danach wird die schwarzviolett gefärbte Lösung i. Vak. eingeeengt, der Rückstand in *Methanol* aufgenommen und wie unter 1. aufgearbeitet. Ausb. 1.02 g (79%), Schmp. 148–160° (Lit.²⁴): Schmp. 160°, R_{F1} 0.685; R_{F2} 0.406; R_{F3} 0.258 (sehr schwach).

b) bei der analogen Umsetzung mit 5-proz. *methanolischer HCl* wurden 0.885 g *Dipeptid-benzylester-hydrochlorid* (69%) erhalten, Schmp. 154–160°, zwei Flecke im Papierchromatogramm: R_{F1} 0.675 und R_{F2} 0.391.

²⁴) L. Zervas und D. M. Theodoropoulos, J. Amer. chem. Soc. **78**, 1359 (1956).