

Friedrich Weygand, Wolfgang Steglich und Piergiorgio Pietta

2.2.2-Trifluor-1-acylamino-äthyl-Reste als Schutzgruppen für die Iminogruppe des Histidins bei Peptidsynthesen

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München

(Eingegangen am 21. Juni 1967)

2.2.2-Trifluor-1-benzyloxycarbonylamino-äthyl- sowie 2.2.2-Trifluor-1-tert.-butyloxycarbonylamino-äthyl-Reste*) sind hervorragend geeignete Schutzgruppen für die Iminogruppe des Histidins. Dies wird an der auf mehreren Wegen ausgeführten Synthese von L-Valyl-L-histidyl-L-leucin demonstriert. Die neuen Schutzgruppen sind mit Hilfe von 2.2.2-Trifluor-1-chlor-N-benzyloxycarbonyl-äthylamin bzw. mit Hilfe von 2.2.2-Trifluor-1-trifluoracetoxy-N-tert.-butyloxycarbonyl-äthylamin leicht einführbar. Sie setzen die Basizität des Imidazolringes stark herab und sind unter Bedingungen, unter denen Benzyloxycarbonyl- oder tert.-Butyloxycarbonyl-Reste von Aminogruppen abgespalten werden, entfernbar.

Die Synthese histidinhaltiger Peptide mit ungeschützter Iminofunktion stößt auf Grund der Basizität des Imidazolringes und der Reaktivität der Iminogruppe auf Schwierigkeiten. Schützt man die Iminogruppe durch den Benzylrest¹⁾, so wird der Vorteil der Nichtacylierbarkeit durch die oft nur geringen Ausbeuten und die Nebenreaktionen bei der Abspaltung mit Natrium in flüssigem Ammoniak wieder aufgehoben. Auch die katalytische Hydrierung verläuft in vielen Fällen nicht glatt²⁾. Außerdem wird die Basizität des Imidazolringes durch den Benzylrest kaum verändert, so daß derartig geschützte Histidin-Derivate nicht wie solche von Monoaminomonocarbonsäuren aufgearbeitet werden können. Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, eine geeigneter Schutzgruppe für die Iminogruppe des Histidins zu finden. So wurde der Tritylrest vorgeschlagen³⁾, der jedoch wegen seiner Säurelabilität nicht mit den gebräuchlichen Urethanschutzgruppen kombiniert werden kann. Insbesondere haben japanische Autoren⁴⁾ den Benzyloxycarbonyl-Rest zum intermediären Schutz

*) Abkürzungen: Z-TF = 2.2.2-Trifluor-1-benzyloxycarbonylamino-äthyl-; Boc-TF = 2.2.2-Trifluor-1-tert.-butyloxycarbonylamino-äthyl-. Im übrigen werden die in der Peptidchemie üblichen Abkürzungen verwendet, vgl. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **348**, 256 (1967), vorläufige Regeln der IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature.

¹⁾ V. du Vigneaud und O. K. Behrens, J. biol. Chemistry **117**, 27 (1937).

²⁾ Vgl. z. B. R. G. Jones, J. Amer. chem. Soc. **71**, 383 (1949); K. D. Kopple und D. E. Nitecki, ebenda **84**, 4457 (1962); H. Zahn, J. Kunde und R. Zabel, Liebigs Ann. Chem. **663**, 177 (1963).

³⁾ G. C. Stelakatos, D. M. Theodoropoulos und L. Zervas, J. Amer. chem. Soc. **81**, 2884 (1959).

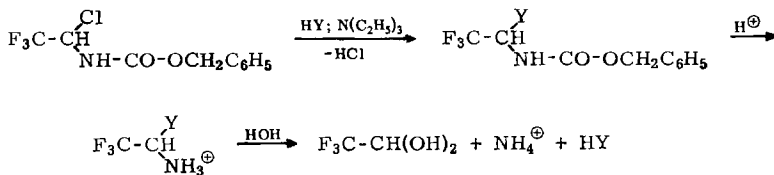
⁴⁾ S. Akabori, K. Okawa und F. Sakiyama, Nature [London] **181**, 772 (1958); F. Sakiyama, K. Okawa, T. Yamakawa und S. Akabori, Bull. chem. Soc. Japan **31**, 926 (1958), C. A. **53** 19913 (1959); K. Inouye und H. Otsuka, J. org. Chemistry **27**, 4236 (1962); vgl. auch A. Patchornik, A. Berger und E. Katchalski, J. Amer. chem. Soc. **79**, 6416 (1957).

der Iminogruppe verwendet, was ebenfalls keine allgemeine Lösung des Problems darstellt, weil der N^{im} -Benzyloxycarbonyl-Rest leicht aminolytisch und alkalisch abgespalten wird. Eine alkalische Esterverseifung oder eine Hydrazinolyse ist daher unmöglich. Ähnliches gilt wohl auch für andere Urethanschutzgruppen, wie den Adamantylloxycarbonyl-Rest⁵⁾.

Eine ideale Schutzgruppe für die Iminogruppe des Histidins sollte

- die Basizität des Imidazolringes erniedrigen,
- unter den bei Peptidsynthesen üblichen Reaktionsschritten stabil sein sowie
- leicht einföhrbar und nach beendeter Peptidsynthese wieder abspaltbar sein, ohne daß Peptidbindungen angegriffen werden.

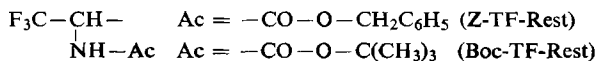
Wie wir schon berichtet haben, addieren die aus 2.2.2-Trifluor-1-halogen-*N*-acyl-äthylaminen mit tert. Basen in wasserfreien Medien entstehenden *N*-Acyl-trifluoracetalimine leicht Nucleophile⁶⁾. Wird in diesen Verbindungen ein selektiv abspaltbarer Acylrest verwendet, so kann das Nucleophil regeneriert werden. Dies ist z.B. der Fall, wenn als Acylrest der Benzyloxycarbonyl-Rest eingesetzt wird, der nach den in der Peptidchemie üblichen Methoden spezifisch entferbar ist⁷⁾, worauf das entstehende 2.2.2-Trifluor-1-amino-äthyl-Derivat durch Hydrolyse schnell das ursprünglich eingesetzte Nucleophil zurückliefert. Im nachstehenden Formelschema 1 ist diese Reaktionsfolge dargestellt.



HY = HOR; HSR; H₂NR; HNR₂ usw.

Formelschema 1

Damit ergeben sich neuartige Möglichkeiten zum Schutz von dritten funktionellen Gruppen von Aminosäuren. Im Falle des Histidins haben sich besonders der 2.2.2-Trifluor-1-benzyloxycarbonylamino-äthyl-Rest⁸⁾ (Z-TF-Rest) und der 2.2.2-Trifluor-1-tert.-butyloxycarbonylamino-äthyl-Rest (Boc-TF-Rest) bewährt.

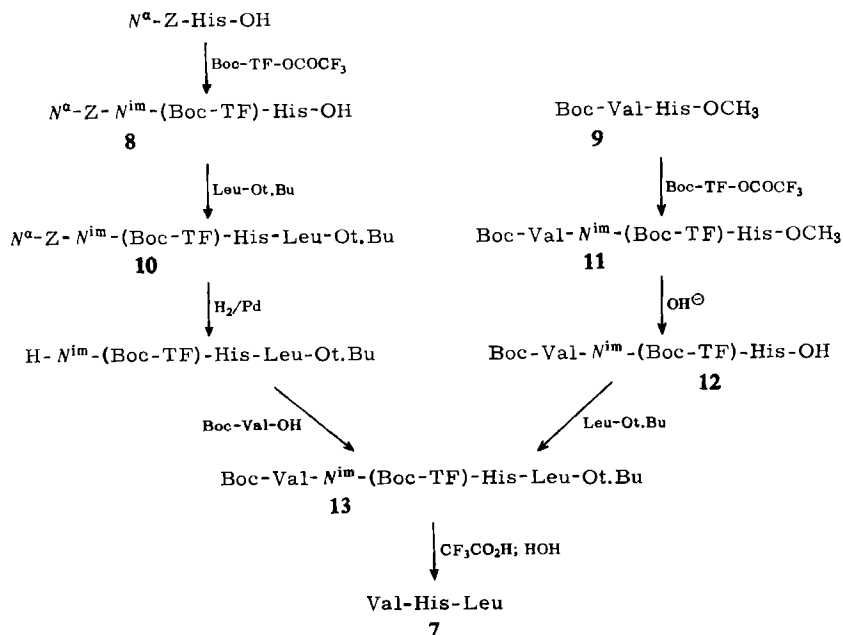


5) W. L. Haas, E. V. Krumkalns und K. Gerzon, J. Amer. chem. Soc. **88**, 1988 (1966).

6) F. Weygand, W. Steglich, I. Lengyel, F. Fraunberger, A. Maierhofer und W. Oettmeier, Chem. Ber. **99**, 1944 (1966).

7) Vgl. E. Schröder und K. Lübke, The Peptides, Vol. I, S. 26 ff., Academic Press, New York und London 1966.

8) Kurzmitteil.: F. Weygand, W. Steglich und P. Pietta, Tetrahedron Letters [London] **1966**, 3751.



Formelschema 3. Synthese von Val-His-Leu unter Verwendung von N^{im} -Boc-TF-geschütztem Histidin

Die Acyl-TF-Schutzgruppen schwächen die Basizität des Imidazolrings infolge des induktiven Effektes der CF_3 -Gruppe so weit ab¹⁰⁾, daß die N -Acyl-histidin-Derivate in verd. Citronensäure schwer löslich sind. Unumgesetzte Aminosäureester und andere Basen sind also nach Peptidsynthesen leicht entfernbar. Weiterhin zeichnen sich alle N^{im} -Z-TF- oder N^{im} -Boc-TF-geschützten N -Acyl-histidin-Derivate durch gute Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln aus. Sie stellen wegen des Chiralitätszentrums in den Schutzgruppen Diastereoisomere dar, deren Zusammensetzung variieren kann. Daher sind die Schmelzpunkte und die optischen Drehungen zur Charakterisierung der Verbindungen nur von begrenztem Wert.

Der N^{im} -Z-TF- und der N^{im} -Boc-TF-Rest sind gegen verd. Laugen bei 20° stabil, so daß Estergruppen im Molekül verseift werden können (z. B. **4** → **5** oder **11** → **12**).

Die Abspaltbarkeit der N^{im} -Acyl-TF-Reste wird im wesentlichen durch die Natur der Acylreste bestimmt. Die in der Peptidchemie üblichen Kombinationen können daher verwendet werden. So wird z. B. der Z-TF-Rest durch katalytische Hydrierung in Methanol entfernt oder der Boc-TF-Rest durch kalte Trifluoressigsäure und anschließende Hydrolyse mit Wasser, die spielend leicht bei der Aufarbeitung erfolgt. Das dabei gebildete Fluoralhydrat stört nicht.

¹⁰⁾ $p_K^* N^{\alpha}\text{-Boc-L-His-OCH}_3$: 5.91, $N^{\alpha}\text{-Boc-N}^{im}\text{-(Z-TF)-L-His-OCH}_3$: 3.30 (durch potentiometrische Titration in 23proz. wäßrigem Äthanol bei 30° in 0.01 *m* Lösung bestimmt).

Außer den im Formelschema 2 und 3 aufgeführten N^{im} -geschützten Verbindungen wurde auch das N^{α} -Boc- N^{im} -(Boc-TF)-L-Histidin über den Methylester hergestellt. Es ist zur Synthese von Peptiden mit aminoendständigem Histidin besonders geeignet.

Zusammenfassend ergibt sich, daß die neuen Schutzgruppen die eingangs formulierten, an eine ideale Schutzgruppe für die Iminogruppe des Histidins zu stellenden Forderungen erfüllen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für eine Sachbeihilfe.

Beschreibung der Versuche

Allgemeine Aufarbeitung bedeutet: Schütteln mit 0.5 *m* Citronensäure, mit Wasser, mit gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser, Trocknen mit Natriumsulfat und Eindampfen i. Vak. Lösungsmittel für die Dünnschichtchromatographie auf Kieselgelplatten: *n*-Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:1 vol.), R_F -Werte als R_{F1} bezeichnet; mit Benzol/Essigester/Eisessig/Wasser (1:1:0.2:0.1), obere Phase, R_F -Werte als R_{F2} bezeichnet.

N^{α} -tert.-Butyloxycarbonyl- N^{im} -[2.2.2-trifluor-1-benzyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidin-methylester (2): Der Lösung von 4.04 g (15 mMol) N^{α} -Boc-His- OCH_3 ¹¹⁾ und 4.01 g (15 mMol) 2.2.2-Trifluor-1-chlor-*N*-benzyloxycarbonyl-äthylamin¹²⁾ in 80 ccm absol. Tetrahydrofuran wurde die Lösung von 1.52 g (15 mMol) Triäthylamin unter Eiskühlung zugefügt. Nach 2 Stdn. wurde das Triäthylammoniumchlorid abfiltriert und die Lösung i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde in Essigester aufgenommen und nach der allgemeinen Vorschrift aufgearbeitet. Ausb. 6.75 g (90 %) (Benzol/Petroläther, Eisschrank), Schmp. 60–80°, R_{F1} 0.86, R_{F2} 0.58, $[\alpha]_{546}^{23}$: +4° ($c = 1$, in Methanol).

$C_{22}H_{27}F_3N_4O_6$ (500.3) Ber. C 52.84 H 5.44 N 11.21 Gef. C 52.63 H 5.62 N 11.18

N^{α} -tert.-Butyloxycarbonyl- N^{im} -[2.2.2-trifluor-1-benzyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidin (1)

a) Zur Verseifung von 2 wurden 5.0 g (10 mMol) in 50 ccm Dioxan und 20 ccm Wasser mit 15 ccm *n*-NaOH 1 Stde. bei Raumtemperatur gerührt. Hierauf wurde das Dioxan i. Vak. weitgehend abgedampft und die wäßrige Lösung mit 0.5 *m* Citronensäure auf pH 4 gebracht, worauf die ausgefallene Verbindung abgesaugt und in Essigester aufgenommen wurde. Nach dem Waschen mit Wasser und Trocknen mit Natriumsulfat wurde i. Vak. eingedampft und der Rückstand aus Benzol/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 3.98 g (82%), Schmp. 80–95°, R_{F1} 0.8, R_{F2} 0.52, $[\alpha]_{546}^{23}$: +4° ($c = 1$, in Methanol).

$C_{21}H_{25}F_3N_4O_6$ (486.5) Ber. C 51.90 H 5.19 N 11.53 Gef. C 51.90 H 5.33 N 11.56

b) 1 wurde auch aus 0.51 g (2 mMol) N^{α} -Boc-His-*OH* und 0.54 g (2 mMol) 2.2.2-Trifluor-1-chlor-*N*-benzyloxycarbonyl-äthylamin in 10 ccm absol. Dimethylformamid durch Zugabe von 0.21 g Triäthylamin in 5 ccm absol. Dimethylformamid unter Eiskühlung erhalten. Nach 2stdg. Rühren wurde i. Vak. eingedampft und der Rückstand in Essigester aufgenommen. Nach Waschen mit 0.5 *m* Citronensäure, Wasser und Trocknen wurde eingedampft und aus Benzol/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 0.81 g (85%), Schmp. etwa 100° (Sintern), chromatographisch identisch mit der durch Verseifung von 2 erhaltenen Verbindung.

$C_{21}H_{25}F_3N_4O_6$ (486.5) Ber. C 51.90 H 5.19 N 11.53 Gef. C 51.98 H 5.26 N 11.51

11) Herrn Dr. E. Wünsch danken wir bestens für die Überlassung dieser Verbindung.

12) Fa. Dr. Th. Schuchardt GmbH & Co., München.

Benzyloxycarbonyl-L-valyl-L-histidin-methylester (3): Der Lösung von 18.8 g (75 mMol) *Z-Val-OH* in 100 ccm absol. Tetrahydrofuran wurde die Lösung von 7.7 g (70 mMol) *1-Di-äthylamino-propin-(1)* in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran innerhalb von 60 Min. bei Raumtemperatur zugetropft. Sodann wurden 8.0 g (33 mMol) *His-OCH₃·2HCl* und 2.77 g (33 mMol) Natriumcarbonat in 35 ccm Wasser zugegeben. Nach 2stdg. Rühren wurde die Lösung i. Vak. eingedampft, der Rückstand mit Wasser verrieben und getrocknet. Nach Waschen mit Äther wurde aus Methanol/Äther 2 mal umkristallisiert. Ausb. 9–10 g (68 bis 74%), Schmp. 161–163° (Lit.¹³): 165–166°, $[\alpha]_{546}^{23}$: -22.0° ($c = 2$, in Äthanol) (Lit.¹³): $[\alpha]_{546}^{23}$: -22°).

Benzyloxycarbonyl-L-valyl-N^{im}-[2.2.2-trifluor-1-benzyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidin-methylester (4)

a) 1.0 g (2 mMol) **2** wurden in 3 ccm *Trifluoressigsäure* gelöst. Nach 5 Min. wurde i. Vak. eingedampft und 2 mal Toluol nachdestilliert. Den Rückstand nahm man in Essigester auf, wusch mit gesätt. Kaliumcarbonatlösung und Wasser, trocknete mit Natriumsulfat und dampfte i. Vak. ein. Ausb. 0.7 g (1.75 mMol) (nach Trocknen über Diphosphorpentoxid) an *N^{im}-[2.2.2-Trifluor-1-benzyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidin-methylester*; ölig, nicht charakterisiert.

Zur Lösung von 0.45 g (1.8 mMol) *Z-Val-OH* in 15 ccm absol. Tetrahydrofuran wurden bei 0° 0.382 g (2.7 mMol) *N-Hydroxy-succinimid* und 0.27 g (1.85 mMol) *Dicyclohexyl-carbodiimid* gegeben. Nach 1stdg. Rühren bei 0° wurde der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff abgesaugt, worauf die erhaltenen 0.7 g an *N^{im}-[2.2.2-Trifluor-1-benzyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidin-methylester* zugefügt wurden. Nach 2stdg. Rühren bei 0° wurde noch von etwas ausgefallenem Dicyclohexylharnstoff abfiltriert, die Lösung i. Vak. eingedampft und der Rückstand in Essigester aufgenommen. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde 2 mal aus Benzol/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 0.77 g (70%), Schmp. 62–74°, $[\alpha]_{546}^{23}$: -19.0° ($c = 1$, in Methanol).

b) 0.40 g (1 mMol) **3** und 0.27 g (1 mMol) *2.2.2-Trifluor-1-chlor-N-benzyloxycarbonyl-äthylamin* in 8 ccm absol. Tetrahydrofuran wurden mit 0.10 g (1 mMol) *Triäthylamin* in wenig absol. Tetrahydrofuran unter Eiskühlung versetzt. Nach 2 Stdn. wurde das ausgefallene Triäthylammoniumchlorid abfiltriert und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde in Essigester aufgenommen und wie üblich aufgearbeitet. Nach Umkristallisieren aus Benzol/Petroläther Ausb. 0.57 g (90%), Schmp. 62–74°, R_{F1} 0.71, R_{F2} 0.6, $[\alpha]_{546}^{23}$: -19.0° ($c = 1$, in Methanol).

$C_{30}H_{34}F_3N_5O_7$ (633.6) Ber. C 56.92 H 5.41 N 11.03 Gef. C 57.08 H 5.52 N 10.98

Benzyloxycarbonyl-L-valyl-N^{im}-[2.2.2-trifluor-1-benzyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidin (5)

a) Zur Verseifung von **4** wurden 1.89 g (3 mMol) in 25 ccm Dioxan und 5 ccm Wasser gelöst und mit 5 ccm *n* NaOH 2 Stdn. gerührt. I. Vak. wurde sodann das Dioxan weitgehend abdestilliert und mit Citronensäure auf pH 4 gebracht. Der Niederschlag wurde in Essigester aufgenommen, worauf die Lösung mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet wurde. Nach Umkristallisieren aus Benzol/Petroläther Ausb. 1.48 g (80%), Schmp. 40–60°.

b) 0.85 g (2 mMol) *Z-Val-His-OH·HCl*¹³ und 0.54 g *2.2.2-Trifluor-1-chlor-N-benzyloxycarbonyl-äthylamin* wurden in 10 ccm absol. Dimethylformamid mit 0.41 g (4 mMol) *Triäthylamin* versetzt. Nach 2 Stdn. wurde das ausgefallene Triäthylammoniumchlorid abfiltriert und die Lösung i. Hochvak. (Bad 30–40°) eingedampft. Der Rückstand wurde in Essigester

¹³ R. Schwyzer, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker, W. Rittel und H. Zuber, *Helv. chim. Acta* **41**, 1273 (1958).

aufgenommen und nach Waschen mit Wasser und Trocknen mit Natriumsulfat eingedampft. Nach Umkristallisieren aus Benzol/Petroläther Ausb. 1.1 g (88%), Schmp. 40–60°, $[\alpha]_{546}^{23}$: -8.0° ($c = 1$, in Methanol).

Die nach a) und b) hergestellten Verbindungen zeigten dieselben R_F -Werte: R_{F1} 0.65, R_{F2} 0.52.

$C_{29}H_{32}F_3N_5O_7$ (619.6) Ber. C 56.18 H 5.20 N 11.30 Gef. C 56.08 H 5.21 N 11.23

Benzoyloxycarbonyl-L-valyl-N^{im}-[2.2.2-trifluor-1-benzoyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidyl-L-leucin-benzylester (6): Die Lösung von 1.24 g (2 mMol) **5**, 0.79 g (2 mMol) *L-Leucin-benzylester-p-toluolsulfonat*, 0.20 g (2 mMol) *Triäthylamin* und 0.46 g (3 mMol) *N-Hydroxysuccinimid* in 15 ccm absol. Tetrahydrofuran wurde bei -20° mit 0.50 g (2.5 mMol) *Dicyclohexylcarbodiimid* versetzt. Nach 2stdg. Rühren bei -20° ließ man auf Raumtemperatur aufwärmen und saugte nach weiteren 3 Stdn. den gebildeten Dicyclohexylharnstoff ab, dampfte ein und nahm den Rückstand in Essigester auf. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde aus Benzol/Petroläther umkristallisiert, Ausb. 1.25 g (78%), Schmp. 58–65°, R_{F1} 0.84, R_{F2} 0.75, $[\alpha]_{546}^{23}$: -38° ($c = 0.5$, in Methanol).

$C_{42}H_{49}F_3N_6O_8$ (822.3) Ber. C 61.29 H 6.00 N 10.21 Gef. C 61.45 H 6.17 N 10.19

N^α-Benzoyloxycarbonyl-N^{im}-[2.2.2-trifluor-1-tert.-butyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidin (8): Der Lösung von 2.8 g (13 mMol) *2.2.2-Trifluor-1-hydroxy-N-tert.-butyloxycarbonyl-äthylamin*⁹⁾ in 20 ccm absol. *Pyridin* wurden 1.8 ccm (13 mMol) *Trifluoressigsäureanhydrid* unter Eiskühlung zugefügt. Nach 30 Min. bei Raumtemperatur wurden 3.66 g (13 mMol) *N^α-Z-His-OH*¹⁴⁾ zugefügt. Anderntags wurde i. Vak. eingedampft und der Rückstand in verd. Natriumhydrogencarbonatlösung (pH ~ 7) gelöst. Sodann wurde 3 mal mit Äther ausgeschüttelt und die wäßrige Lösung mit 0.5 m Citronensäure auf pH ~ 4 gebracht. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde in Essigester aufgenommen, worauf mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet wurde. Aus Äther/Petroläther Ausb. 5.16 g (82%), R_{F2} 0.5, Schmp. 80–95°, $[\alpha]_{546}^{23}$: $+4^\circ$ ($c = 1$, in Methanol).

$C_{21}H_{25}F_3N_4O_6$ (486.5) Ber. C 51.90 H 5.19 N 11.53 Gef. C 51.88 H 5.27 N 11.36

N^α-Benzoyloxycarbonyl-N^{im}-[2.2.2-trifluor-1-tert.-butyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidyl-L-leucin-tert.-butylester (10): 1.46 g (3 mMol) **8** und 0.56 g (3 mMol) *Leu-Ot.Bu* wurden in 30 ccm Essigester bei 0° mit 0.62 g (3 mMol) *Dicyclohexylcarbodiimid* 2 Stdn. lang bei 0° gerührt. Anderntags wurde der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff abgesaugt und wie üblich aufgearbeitet. Nach 2maligem Umkristallisieren aus Äther/Petroläther Ausb. 1.37 g (70%), Schmp. 64–72°, R_{F2} 0.64, $[\alpha]_{546}^{23}$: -10° ($c = 0.5$, in Methanol).

$C_{31}H_{44}F_3N_5O_7$ (655.7) Ber. C 56.84 H 6.77 N 10.69 Gef. C 56.92 H 6.69 N 10.75

tert.-Butyloxycarbonyl-L-valyl-L-histidin-methylester (9): Zu 2.45 g (11.3 mMol) *Boc-Val-OH* und 1.9 g (11.3 mMol) *His-OCH₃*¹⁵⁾ in 80 ccm Acetonitril wurden bei 0° 2.35 g *Dicyclohexylcarbodiimid* gegeben. Nach 2stdg. Rühren bei 0° ließ man über Nacht aufwärmen. Nun wurde auf 40° erwärmt und der Dicyclohexylharnstoff abgesaugt. Nach dem Waschen mit 50 ccm Acetonitril wurde i. Vak. eingedampft und 3 mal aus Methanol/Äther umkristallisiert. Ausb. 2.57 g (62%), Schmp. 154–155°, R_{F1} 0.45, $[\alpha]_{546}^{23}$: -28.0° ($c = 0.5$, in Methanol).

$C_{17}H_{28}N_4O_5$ (368.5) Ber. C 55.48 H 7.67 N 15.23 Gef. C 55.44 H 7.64 N 15.27

tert.-Butyloxycarbonyl-L-valyl-N^{im}-[2.2.2-trifluor-1-tert.-butyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidin-methylester (11): Zu 1.1 g (5 mMol) *2.2.2-Trifluor-1-hydroxy-N-tert.-butyloxycarbonyl-*

14) A. Patchornik, A. Berger und E. Katchalski, J. Amer. chem. Soc. **79**, 6416 (1957).

15) R. B. Merrifield und D. W. Woolley, J. Amer. chem. Soc. **78**, 4646 (1956).

äthylamin in 15 ccm absol. Pyridin wurden unter Eiskühlung 0.69 ccm Trifluoressigsäureanhydrid gegeben. Nach 30 Min. bei Raumtemperatur wurden 1.84 g (5 mMol) **9** zugefügt. Anderntags wurde eingedampft und der Rückstand in Essigester aufgenommen. Die übliche Aufarbeitung lieferte nach 2 maligem Umkristallisieren aus Äther/Petroläther 2.26 g (80%), Schmp. 85–97°, R_F 0.71, $[\alpha]_{546}^{23}$: -12° ($c = 0.5$, in Methanol).

$C_{24}H_{38}F_3N_5O_7$ (565.6) Ber. C 50.93 H 6.77 N 12.37 Gef. C 50.81 H 6.82 N 12.36

tert.-Butyloxycarbonyl-L-valyl-N^{im}-[2.2.2-trifluor-1-tert.-butyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidin (12): 1.13 g **11** wurden in 12 ccm Dioxan und 6 ccm 0.5*n* NaOH innerhalb 1 Stde. verseift. Nach dem Konzentrieren i. Vak. wurde mit 0.5 *m* Citronensäure auf pH 4 gebracht, die ausgefallene Verbindung abfiltriert, 3 mal mit Wasser gewaschen und über Diphosphor-pentoxid getrocknet. Nach Umkristallisieren aus Methanol/Äther Ausb. 0.78 g (71%). **12** ist wenig löslich in Essigester, schwer löslich in Äther und Petroläther. Schmp. 191°, R_F 0.7, $[\alpha]_{546}^{23}$: -32° ($c = 0.5$, in Methanol).

$C_{23}H_{36}F_3N_5O_7$ (551.6) Ber. C 50.04 H 6.57 N 12.69 Gef. C 49.91 H 6.63 N 12.64

tert.-Butyloxycarbonyl-L-valyl-N^{im}-[2.2.2-trifluor-1-tert.-butyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidyl-L-leucin-tert.-butylester (13)

a) Die Lösung von 0.55 g (1 mMol) **12**, 0.18 g (1 mMol) *Leu-Ot.Bu* und 0.23 g (2 mMol) *N-Hydroxy-succinimid* in 20 ccm absol. Dimethylformamid wurde bei -20° mit 0.226 g (1.1 mMol) *Dicyclohexylcarbodiimid* versetzt. Nach 2stdg. Rühren bei -20° ließ man auf Raumtemperatur aufwärmen, saugte nach 12 Stdn. den gebildeten Dicyclohexylharnstoff ab, dampfte i. Hochvak. ein, nahm den Rückstand in Essigester auf und arbeitete wie üblich auf. Nach Umkristallisieren aus Äther/Petroläther Ausb. 0.57 g (79%), Schmp. 110–130°, R_F 0.82, $[\alpha]_{546}^{23}$: -43° ($c = 0.5$, in Methanol).

$C_{33}H_{55}F_3N_6O_8$ (720.8) Ber. C 54.97 H 7.70 N 11.67 Gef. C 54.91 H 7.72 N 11.64

b) 0.93 g (1.48 mMol) **10** wurden zur Abspaltung des Benzyloxycarbonyl-Restes in 20 ccm Methanol mit Pd-Kohle-Katalysator unter Durchleiten von *Wasserstoff* 6 Stdn. lang geschüttelt. Nach Abtrennen des Katalysators wurde eingedampft und der Rückstand in Essigester aufgenommen. Nun wurden bei 0° 0.29 g (1.33 mMol) *Boc-Val-OH* und 0.28 g (1.33 mMol) *Dicyclohexylcarbodiimid* zugefügt. Nach 2stdg. Rühren bei 0° ließ man aufwärmen und saugte anderntags den Dicyclohexylharnstoff ab. Nach der üblichen Aufarbeitung und 2 maligem Umkristallisieren aus Äther/Petroläther Ausb. 0.67 g (70%), Schmp., Drehung und R_F -Wert stimmen mit der nach a) hergestellten Verbindung überein.

L-Valyl-L-histidyl-L-leucin (7)

a) 0.72 g (1 mMol) **13** wurden unter Eiskühlung in 10 ccm Trifluoressigsäure gelöst. Nach 15 Min. bei Raumtemperatur wurde i. Vak. eingedampft und 2 mal Toluol nachdestilliert. Der Rückstand wurde in 3 ccm Wasser aufgenommen, mit Lewatit MP-60 gerührt und eingedampft. Sodann wurde 2 mal Äthanol nachdestilliert und aus Äthanol/Äther umkristallisiert. Ausb. 0.296 g (77%), Schmp. 225–227°, $[\alpha]_{546}^{23}$: -22° ($c = 0.5$, in *n* HCl), R_F 0.17.

b) 0.83 g **6** wurden in 15 ccm Methanol mit Pd-Kohle-Katalysator unter Durchleiten von *Wasserstoff* 6 Stdn. lang geschüttelt. Nach Umkristallisieren aus Äthanol/Äther Ausb. 0.28 g (73%), Schmp., R_F -Wert und optische Drehung wie bei der nach a) hergestellten Verbindung.

$C_{17}H_{29}N_5O_4 \cdot H_2O$ (385.5) Ber. C 53.03 H 8.12 N 18.19 Gef. C 53.24 H 8.12 N 18.27

N^α-tert.-Butyloxycarbonyl-N^{im}-[2.2.2-trifluor-1-tert.-butyloxycarbonylamino-äthyl]-L-histidin-methylester: 1.51 g (7 mMol) *2.2.2-Trifluor-1-hydroxy-N-tert.-butyloxycarbonyl-äthylamin* in 15 ccm absol. Pyridin wurden mit 0.96 ccm Trifluoressigsäureanhydrid unter Eiskühlung

versetzt. Nach 30 Min. bei Raumtemperatur wurden 1.88 g (7 mMol) *N*^α-*Boc*-*His*-*OCH*₃ zugefügt. Anderntags wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand in Essigester aufgenommen und wie üblich aufgearbeitet. Nach 2maligem Umkristallisieren aus Äther/Petroläther Ausb. 2.6 g (80%), Schmp. 60–70°, *R*_{F2} 0.76, $[\alpha]_{546}^{23}$: -4° (*c* = 1, in Methanol).

$C_{19}H_{29}F_3N_4O_6$ (466.5) Ber. C 49.04 H 6.27 N 12.02 Gef. C 49.02 H 6.32 N 11.94

N^α-*tert*-*Butyloxycarbonyl*-*N*^{im}-[2.2.2-trifluor-1-*tert*-*butyloxycarbonylamino*-äthyl]-*L*-*histidin*: Zur Verseifung der voranstehenden Verbindung wurden 0.933 g (2 mMol) in 12 ccm Dioxan und 6 ccm 0.5 *n* NaOH 1 Stde. lang gerührt. Nach dem Abdampfen des Dioxans i. Vak. wurde mit 0.5 *m* Citronensäure auf pH 4 gebracht und der Niederschlag abfiltriert. Er wurde in Essigester gelöst und nach Waschen mit Wasser und Trocknen mit Natriumsulfat eingedampft. Aus Äther/Petroläther 2mal umkristallisiert, Ausb. 0.68 g (75%), *R*_{F2} 0.39, Schmp. 85–115°, $[\alpha]_{546}^{23}$: -4° (*c* = 1, in Methanol).

$C_{18}H_{27}F_3N_4O_6$ (452.5) Ber. C 47.83 H 6.02 N 12.40 Gef. C 47.79 H 6.05 N 12.44

[280/67]