

Georg Jäger, Rolf Geiger und Walter Siedel

Peptidsynthesen mit *O*-Carbamoyl-tyrosin-Derivaten

Aus der Farbwerke Hoechst AG, vormals Meister Lucius & Brüning, Frankfurt (Main)
(Eingegangen am 28. Februar 1968)

Carbamoyl-Reste eignen sich als *O*-Schutzgruppen des Tyrosins. Sie werden mit nucleophilen Reagentien schonend abgespalten und sind gegen Protonensolvolyse und Hydrogenolyse stabil. Bei Peptidsynthesen erfolgt kein Angriff der Aminokomponente auf die Schutzgruppe.

O-Alkoxy-carbonyl-Reste, besonders der Äthoxy-carbonyl-Rest, erwiesen sich als brauchbare, mit nucleophilen Reagentien abspaltbare *O*-Schutzgruppen des Tyrosins¹⁾. In Fortführung der Arbeit über säurebeständige Tyrosinschutzgruppen fanden wir, daß *O*-Carbamoyl-Derivate des Tyrosins in gleicher Weise zu Peptidsynthesen verwendet werden können. Wie die *O*-Alkoxy-carbonyl-Verbindungen sind sie gegen starke Säuren und katalytische Hydrierung beständig und werden mit wäßriger Alkalilauge, Alkalialkoholaten, Ammoniak, Aminen und Hydrazin leicht unter Freisetzung der Phenolgruppe zerlegt. Hydrazin dient auch hier als besonders vorteilhaftes Spaltungsreagenz. Unter den Bedingungen der Peptidsynthese sind die *O*-Carbamoyl-Derivate des Tyrosins ebenso stabil wie die *O*-Alkoxy-carbonyl-Verbindungen, da auch hier die Nucleophilie der Aminokomponente zur Spaltung nicht ausreicht.

Die unsubstituierte Carbamoyl-Gruppe läßt sich nach Smyth²⁾ mit Isocyanensäure in Tyrosin einführen. Die Carbamoylierung gelingt auch mit *N*-Carbonyl-sulfamid-säurechlorid³⁾ und mit Harnstoffchlorid; auf diese Weise wurde aus Benzyloxy-carbonyl-*L*-tyrosin-methylester⁴⁾ der *N*-Benzyloxy-carbonyl-*O*-carbamoyl-*L*-tyrosin-methylester (**1**) in Ausbeuten von 47 bzw. 49% gewonnen. Derivate mit monosubstituierter Carbamoyl-Gruppe sind in hohen Ausbeuten durch Umsetzung von *N*-geschützten Tyrosinestern mit Isocyanaten zugänglich; lediglich mit 4-Nitro-phenylisocyanat wurden neben beträchtlichen Mengen Dinitrodiphenyl-harnstoff nur 33% *O*-Carbamoyl-Derivat isoliert. Disubstituierte *O*-Carbamoyl-Verbindungen können unter Verwendung von Carbamoyl-chloriden dargestellt werden. Wir erhielten so *N*-Benzyl-

¹⁾ R. Geiger, G. Jäger, A. Volk und W. Siedel, Chem. Ber. **101**, 2189 (1968).

²⁾ D. G. Smyth, J. biol. Chemistry **242**, 1579 (1967).

³⁾ R. Graf, Chem. Ber. **89**, 1071 (1956), und **96**, 56 (1963).

⁴⁾ K. Blau und S. G. Waley, Biochem. J. **57**, 538 (1954).

oxycarbonyl-*O*-diphenylcarbamoyl-L-tyrosin-methylester (**6**) aus Benzyloxycarbonyl-L-tyrosin-methylester⁴⁾ durch 6stdg. Erhitzen mit Diphenylcarbamoyl-chlorid in Pyridin mit einer Ausbeute von 39%.

Tab. 1. *O*-Carbamoyl-tyrosin-Derivate⁵⁾

Nr.	Verbindung	Ausgangs-material	Ausb. %	Schmp.	$[\alpha]_D^{25}$	c	Lösungs-mittel
1	Z-Tyr(AC)-OCH ₃	Z-Tyr-OCH ₃ ⁴⁾	47 ^{a)}	131.5–132°	+45.9°	0.5	a
		Z-Tyr-OCH ₃	49 ^{b)}	131.5°			
2	Z-Tyr(iBAC)-OCH ₃	Z-Tyr-OCH ₃	76	108.5°	– 9.9°	1.6	b
3	Z-Tyr(PAC)-OCH ₃	Z-Tyr-OCH ₃	72	140–141°	–27.9°	1.1	c
4	Boc-Tyr(PAC)-OBzl	Boc-Tyr-OBzl (4a)	72	108–108.5°	–10.3°	1.3	b
5	Z-Tyr(NPAC)-OCH ₃	Z-Tyr-OCH ₃	33	179–180°	–28.4°	1.5	c
6	Z-Tyr(DPAC)-OCH ₃	Z-Tyr-OCH ₃	39	130–131°	– 2.2°	1.5	b
7	H-Tyr(AC)-OCH ₃ · HBr	1	98	217.5–218° (Zers.)	+ 0.3°	1.0	d
8	H-Tyr(AC)-OCH ₃ · HCl	1	91	215.5–216.5° (Zers.)	+ 1.3°	1.0	d
9	H-Tyr(iBAC)-OCH ₃ · HBr	2	88	210.5–211.5° (Zers.)	– 2.6°	1.4	b
10	H-Tyr(iBAC)-OCH ₃ · HCl	2	76	181–182.5° (Zers.)	– 2.5°	1.6	b
11	H-Tyr(PAC)-OCH ₃ · HBr	3	92	205.5° (Zers.)	– 2.1°	1.5	b
12	H-Tyr(PAC)-OCH ₃ · HCl	3	75	195–195.5° (Zers.)	– 1.7°	1.2	b
13	Boc-Tyr(PAC)-OH	4	84	125–130°	+14.0°	0.5	b
14	H-Tyr(PAC)-OH · HCl	13	65	237.5° (Zers.)	–18.1°	1.7	b
15	Boc-Tyr(PAC)-OTCP	13	32	162°	–21.4°	1.0	e

a = Chloroform; b = Methanol; c = Methanol/Dimethylformamid 1:1; d = Methanol/Wasser 1:1; e = Aceton.

α) = Mit *N*-Carbonyl-sulfamidssäurechlorid erzielte Ausb.

β) = Mit Harnstoffchlorid erhaltene Ausb.

Durch Behandeln mit Bromwasserstoff in Eisessig bzw. durch katalytische Hydrierung in Gegenwart von Chlorwasserstoff entstehen aus den *N*-Benzyloxycarbonyl-*O*-carbamoyl-L-tyrosin-methylestern in Ausbeuten von 75–98% die *O*-Carbamoyl-L-tyrosin-methylester-hydrobromide bzw. -hydrochloride. Hydrogenolyse von *N*-tert.-Butyloxycarbonyl-*O*-phenylcarbamoyl-L-tyrosin-benzylester (**4**) liefert **13**, das mit Chlorwasserstoff in Essigester in **14** und mit Trichlorphenol in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid in den Trichlorphenylester (**15**) übergeführt werden kann.

Bei der Umsetzung von **15** mit L-Phenylalanin-methylester wird *N*-tert.-Butyloxycarbonyl-*O*-phenylcarbamoyl-L-tyrosyl-L-phenylalanin-methylester (**19**) in 70proz. Ausbeute erhalten. Mit ebenfalls guten Ausbeuten verlaufen die Synthesen der Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-*O*-carbamoyl-L-tyrosin-methylester **16**, **17** und **18**

5) Abkürzungen entspr. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **348**, 256, 262 (1967). Weiterhin benutzen wir in der vorliegenden Arbeit für den Carbamoyl-Rest AC, für die Isobutyl-, Phenyl-, 4-Nitro-phenyl- und Diphenylcarbamoyl-Gruppen iBAC, PAC, NPAC und DPAC.

aus den *O*-Carbamoyl-L-tyrosin-methylestern und Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanin⁶⁾ bzw. dessen Trichlorphenylester⁷⁾ sowie Hydroxysuccinimidester⁸⁾ nach der Methode der gemischten Anhydride oder der aktivierten Ester⁹⁾; man kann also sowohl am Amino- als auch am Carboxylende des durch Carbamoylierung *O*-geschützten Tyrosins Aminosäuren oder Peptide anbauen. **18** ist auch aus Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-L-tyrosin-methylester (**18a**) durch nachträgliche Einführung der Phenylcarbamoyl-Gruppe mit Phenylisocyanat zugänglich.

Bei den Versuchen, aus **5** *O*-[4-Nitro-phenylcarbamoyl]-L-tyrosin-methylesterhydrobromid und daraus mit Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanin-[2.4.5-trichlorphenylester]⁷⁾ ein entspr. Peptid zu gewinnen, wurden unreine Substanzen erhalten bzw. schlechte Ausbeuten erzielt. Die 4-Nitro-phenylcarbamoyl-Gruppe erscheint zum Schutz der Hydroxylfunktion des Tyrosins ungeeignet, da sie empfindlich und leicht hydrierbar ist.

Tab. 2. *O*-Carbamoyl-tyrosin-peptide

Nr.	Verbindung	Ausgangsmaterialien	Methode	Ausb. %	Schmp.	$[\alpha]_D^{25}$	$c^{a)}$
16	Z-Phe-Tyr(AC)-OCH ₃	7 + Z-Phe-OSu ⁸⁾	A	91	188–189°	–19.1°	1.0
		8 + Z-Phe-OTCP ⁷⁾	A	66	187–188°		
17	Z-Phe-Tyr(iBAC)-OCH ₃	9 + Z-Phe-OTCP	A	85	196–198°	–12.3°	1.5
18	Z-Phe-Tyr(PAC)-OCH ₃	11 + Z-Phe-OH ⁶⁾	G	62	193–195°	–11.6°	0.6
		11 + Z-Phe-OTCP	A	87	195–196°	–12.5°	0.5
		Z-Phe-Tyr-OCH ₃ (18a)	N	56	195–196.5°	–12.0°	1.4
19	Boc-Tyr(PAC)-Phe-OCH ₃	15 + H-Phe-OCH ₃ ·HCl	A	70	152–153°	–8.5°	1.0

A = Aktivester-Methode; G = gemischte Anhydrid-Methode; N = nachträgliche Einführung der PAC-Gruppe mit Phenylisocyanat.

a) in Dimethylformamid.

Die hydrolytische Entfernung der Carbamoyl-Schutzgruppen mit $2n$ NaOH lieferte aus **17** und **18** Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-L-tyrosin in 78proz. Ausbeute. Die hydrazinolytische Abspaltung der *O*-Schutzgruppen gelang in den *N*-Benzyloxycarbonyl-*O*-carbamoyl-L-tyrosin-methylestern sowie in den Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-*O*-carbamoyl-L-tyrosin-methylestern mit 5 Äquivv. Hydrazinhydrat im Verlauf weniger Stdn.; die Ausbeuten betragen 59–87%.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden im Apparat nach Dr. Tottoli bestimmt und sind nicht korrigiert. Die spezif. Drehwerte wurden im Polarimeter 141 von Perkin-Elmer gemessen. Die Reinheitsüberprüfung aller Substanzen erfolgte nach den üblichen Methoden der Dünnschichtchromatographie.

⁶⁾ W. Graßmann und E. Wünsch, Chem. Ber. **91**, 449, 462 (1958).

⁷⁾ J. Pless und R. A. Boissonnas, Helv. chim. Acta **46**, 1609 (1963).

⁸⁾ G. W. Anderson, J. E. Zimmerman und F. M. Callahan, J. Amer. chem. Soc. **86**, 1839 (1964).

⁹⁾ E. Schröder und K. Lübke, The Peptides, Vol. I, Academic Press, New York und London 1965.

A. *O*-Geschützte Tyrosinderivate und -peptide1. *N*-Benzyloxycarbonyl-*O*-carbamoyl-*L*-tyrosin-methylester (1)

a) 3.29 g (10 mMol) *Z*-*Tyr*-*OCH*₃⁴⁾ werden in 4 ccm Acetonitril unter Kühlung mit 0.89 ccm (10 mMol) *N*-Carbonyl-sulfamidsäurechlorid³⁾ versetzt. Nach 4 stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. wird in 500 ccm Wasser eingegossen, 15 Min. auf 70° erhitzt und anschließend auf 5° abgekühlt. Die abgesaugten Kristalle werden mit Wasser säurefrei gewaschen, getrocknet und zweimal aus Chloroform/Äther umkristallisiert. Ausb. 1.75 g (47%) Nadeln vom Schmp. 131.5–132°. $[\alpha]_D^{25}$: +45.9° ($c = 0.5$; in Chloroform).

$C_{19}H_{20}N_2O_6$ (372.4) Ber. C 61.28 H 5.41 N 7.52 Gef. C 61.2 H 5.5 N 7.4

b) 3.29 g (10 mMol) *Z*-*Tyr*-*OCH*₃⁴⁾ in 10 ccm Methylenchlorid werden mit 0.87 g (11 mMol) Harnstoffchlorid versetzt und die Lösung 5 Stdn. bei Raumtemp. aufbewahrt. Nach dem Eindampfen zur Trockne i. Vak. wird der feste Rückstand mit Wasser verrieben, abgesaugt und mit Wasser neutral gewaschen. Das getrocknete Rohprodukt wird dreimal aus Chloroform/Äther umkristallisiert. Ausb. 1.82 g (49%). Schmp. 131.5°.

2. *N*-Benzyloxycarbonyl-*O*-isobutylcarbamoyl-*L*-tyrosin-methylester (2): 3.29 g (10 mMol) *Z*-*Tyr*-*OCH*₃⁴⁾ werden in 10 ccm Isobutylisocyanat 2 Stdn. auf 60° erwärmt. Nach dem Abkühlen auf 0° wird dreimal hintereinander mit Ligroin verrieben und dekantiert. Die Kristalle werden abgesaugt, mit Ligroin gewaschen und aus Chloroform/Ligroin umkristallisiert. Ausb. 3.28 g (76%) Nadeln vom Schmp. 108.5°; $[\alpha]_D^{25}$: -9.9° ($c = 1.6$; in Methanol).

$C_{23}H_{28}N_2O_6$ (428.5) Ber. C 64.47 H 6.59 N 6.54 Gef. C 64.2 H 6.6 N 6.7

3. *N*-Benzyloxycarbonyl-*O*-phenylcarbamoyl-*L*-tyrosin-methylester (3): Die Lösung von 3.29 g (10 mMol) *Z*-*Tyr*-*OCH*₃⁴⁾ in 20 ccm Dimethylformamid wird bei 0° mit 1.31 g (11 mMol) Phenylisocyanat versetzt, 50 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen und i. Hochvak. eingedampft. Der Rückstand kristallisiert beim Verreiben mit Ligroin. Die abgesaugten Kristalle werden mit absol. Äthanol verrieben, abgesaugt und mit absol. Äthanol gewaschen. Ausb. 3.22 g (72%). Schmp. 140–141°; $[\alpha]_D^{25}$: -27.9° ($c = 1.1$; in Methanol/Dimethylformamid 1:1).

$C_{25}H_{24}N_2O_6$ (448.5) Ber. C 66.95 H 5.39 N 6.25 Gef. C 67.0 H 5.1 N 6.0

4. *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*O*-phenylcarbamoyl-*L*-tyrosin-benzylester (4): Die Ausgangssubstanz *tert*-Butyloxycarbonyl-*L*-tyrosin-benzylester (4a) wird aus *L*-Tyrosin-benzylester durch 48 stdg. Rühren bei Raumtemp. mit *tert*-Butylazidoformiat⁹⁾ in Pyridin dargestellt. Ausb. 77%. Schmp. 126–127°; $[\alpha]_D^{25}$: -9.7° ($c = 1.2$; in Methanol).

$C_{21}H_{25}NO_5$ (371.2) Ber. C 67.94 H 6.79 N 3.77 Gef. C 68.0 H 6.8 N 3.7

7.42 g (20 mMol) *Boc*-*Tyr*-*OBzl* (4a) werden in 50 ccm Dimethylformamid mit 2.62 g (22 mMol) Phenylisocyanat wie unter 3. umgesetzt. Beim Umfällen aus Äthanol/Wasser kristallisiert das Produkt völlig durch; es wird aus heißem Äthanol/Wasser umkristallisiert. Ausb. 7.10 g (72%). Schmp. 108–108.5°; $[\alpha]_D^{25}$: -10.3° ($c = 1.3$; in Methanol).

$C_{28}H_{30}N_2O_6$ (490.6) Ber. C 68.55 H 6.16 N 5.71 Gef. C 68.5 H 6.3 N 5.8

5. *N*-Benzyloxycarbonyl-*O*-[4-nitro-phenylcarbamoyl]-*L*-tyrosin-methylester (5): Zu 6.58 g (20 mMol) *Z*-*Tyr*-*OCH*₃⁴⁾ in 25 ccm Dimethylformamid wird bei -5° die vorgekühlte Lösung von 3.6 g (22 mMol) 4-Nitro-phenylisocyanat in 60 ccm Dimethylformamid gegeben und die Gesamtlösung 24 Stdn. bei Raumtemp. aufbewahrt. Dann wird vom ausgefallenen Harnstoff abgesaugt und das Filtrat i. Hochvak. eingedampft. Der Rückstand wird zweimal

mit Ligroin verrieben und dekantiert. Das Rohprodukt wird in Aceton gelöst, auf eine mit neutralem Aluminiumoxid gefüllte Säule gegeben und mit n-Hexan/Essigester/Eisessig (20 : 10 : 1) eluiert. Die Lösung mit der zuerst erscheinenden Substanz wird i. Vak. eingedampft und der feste Rückstand aus heißem Methanol umkristallisiert. Ausb. 3.22 g (33 %). Schmp. 179—180°; $[\alpha]_D^{25}$: -28.4° ($c = 1.5$; in Methanol/Dimethylformamid 1 : 1).

$C_{25}H_{23}N_3O_8$ (493.5) Ber. C 60.85 H 4.70 N 8.52 Gef. C 60.6 H 4.7 N 8.6

6. *N-Benzoyloxycarbonyl-O-diphenylcarbamoyl-L-tyrosin-methylester* (6): 16.5 g (50 mMol) *Z-Tyr-OCH₃*⁴⁾ werden mit 13.0 g (56 mMol) *Diphenylcarbamoyl-chlorid* in 55 ccm Pyridin 6 Stdn. auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wird die Lösung unter Rühren in Wasser gegossen und dekantiert. Das Rohprodukt wird dreimal aus Aceton/Wasser umkristallisiert. Ausb. 10.2 g (39 %). Schmp. 130—131°; $[\alpha]_D^{25}$: -2.2° ($c = 1.5$; in Methanol).

$C_{31}H_{28}N_2O_6$ (524.6) Ber. C 70.98 H 5.38 N 5.34 Gef. C 71.3 H 5.4 N 5.5

7. *O-Carbamoyl-L-tyrosin-methylester-hydrobromid* (7): 1.12 g (3 mMol) *Z-Tyr(AC)-OCH₃* (1) läßt man mit 7.5 ccm 36proz. *Bromwasserstoff*-Lösung in *Eisessig* 1 Stde. bei Raumtemp. reagieren. Nach Zugabe von 150 ccm absol. Äther wird die Suspension 1 Stde. stehengelassen, der kristalline Niederschlag abfiltriert und mit absol. Äther gewaschen. Die Kristalle werden zunächst in absol. Äther und anschließend in heißem Essigester verrieben und gewaschen. Ausb. 0.94 g (98 %); Schmp. 217.5—218° (Zers.). Beim Umkristallisieren aus absol. Äthanol/Äther steigt der Zersetzungspunkt auf 221.5—222.5°. $[\alpha]_D^{25}$: $+0.3^\circ$ ($c = 1.0$; in Methanol/Wasser 1 : 1).

$C_{11}H_{15}N_2O_4$]Br (319.2) Ber. C 41.39 H 4.74 N 8.78 Br 25.04
Gef. C 41.5 H 4.8 N 8.7 Br 25.4

8. *O-Carbamoyl-L-tyrosin-methylester-hydrochlorid* (8): 1.86 g (5 mMol) *Z-Tyr(AC)-OCH₃* (1) werden in 30 ccm Methanol in Gegenwart von Palladiumschwarz und 0.8 ccm (5.8 mMol) 7.3 *n* methanol. *HCl* 2 Stdn. hydriert. Der entstandene Niederschlag wird durch Zugabe von Dimethylformamid in Lösung gebracht. Nach Entfernung des Katalysators wird die Lösung i. Vak. eingedampft. Ausb. 1.25 g (91 %). Schmp. 215.5—216.5° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: $+1.3^\circ$ ($c = 1.0$; in Methanol/Wasser 1 : 1).

$C_{11}H_{15}N_2O_4$]Cl (274.7) Ber. C 48.09 H 5.50 N 10.20 Cl 12.91
Gef. C 47.8 H 5.5 N 10.3 Cl 12.9

9. *O-Isobutylcarbamoyl-L-tyrosin-methylester-hydrobromid* (9): Man setzt 4.28 g (10 mMol) *Z-Tyr(iBAC)-OCH₃* (2) mit 25 ccm *Bromwasserstoff*] *Eisessig* wie unter 7. beschrieben um. Das kristalline Rohprodukt wird in absol. Äther verrieben. Ausb. 3.28 g (88 %). Schmp. 210.5—211.5° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: -2.6° ($c = 1.4$; in Methanol).

$C_{15}H_{23}N_2O_4$]Br (375.3) Ber. C 48.01 H 6.18 N 7.46 Br 21.29
Gef. C 48.1 H 6.0 N 7.1 Br 21.3

10. *O-Isobutylcarbamoyl-L-tyrosin-methylester-hydrochlorid* (10): 2.14 g (5 mMol) 2 werden in 35 ccm Methanol in Gegenwart von 1.34 ccm 4.1 *n* *HCl* (5.5 mMol) wie unter 8. hydriert. Die Kristalle werden in Äther und dann in heißem Essigester verrieben. Ausb. 1.26 g (76 %). Schmp. 181—182.5° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: -2.5° ($c = 1.6$; in Methanol).

$C_{15}H_{23}N_2O_4$]Cl (330.8) Ber. C 54.46 H 7.01 N 8.47 Cl 10.72
Gef. C 54.2 H 7.1 N 8.5 Cl 11.0

11. *O-Phenylcarbamoyl-L-tyrosin-methylester-hydrobromid* (11): Dargestellt aus 4.48 g (10 mMol) *Z-Tyr(PAC)-OCH₃* (3) mit 10 ccm *Bromwasserstoff*] *Eisessig* wie unter 7. be-

geschrieben und aufgearbeitet. Ausb. 3.64 g (92%). Schmp. 205.5° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: -2.1° ($c = 1.5$; in Methanol).

$C_{17}H_{19}N_2O_4$]Br (395.3) Ber. C 51.66 H 4.85 N 7.09 Br 20.22
Gef. C 51.5 H 5.0 N 7.0 Br 20.4

12. *O*-Phenylcarbamoyl-*L*-tyrosin-methylester-hydrochlorid (12): Aus 2.24 g (5 mMol) *Z*-Tyr(PAC)-*OCH*₃ (3) mit 1.34 ccm 4.1 *n* HCl (5.5 mMol) in 55 ccm Methanol wie unter 10. Ausb. 1.31 g (75%). Schmp. 195–195.5° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: -1.7° ($c = 1.2$; in Methanol).

$C_{17}H_{19}N_2O_4$]Cl (350.8) Ber. C 58.20 H 5.46 N 7.99 Cl 10.11
Gef. C 57.8 H 5.6 N 8.1 Cl 10.1

13. *N*-tert.-Butyloxycarbonyl-*O*-phenylcarbamoyl-*L*-tyrosin (13): 3.8 g (7.75 mMol) *Boc*-Tyr(PAC)-*OBzl* (4) werden in 120 ccm Methanol 30 Min. lang in Gegenwart von Palladiumschwarz hydriert. Das Rohprodukt wird aus Essigester/Petroläther umgefällt. Ausb. 2.6 g (84%). Schmp. 125–130°; $[\alpha]_D^{25}$: $+14.0^\circ$ ($c = 0.5$; in Methanol).

$C_{21}H_{24}N_2O_6$ (400.4) Ber. C 62.99 H 6.04 N 7.00 Gef. C 63.1 H 6.2 N 7.2

14. *O*-Phenylcarbamoyl-*L*-tyrosin-hydrochlorid (14): 1.00 g (2.5 mMol) *Boc*-Tyr(PAC)-*OH* (13) werden mit 12.5 ccm einer gesätt. Lösung von Chlorwasserstoff in Essigester übergossen. Nach 30 Min. wird vom Niederschlag abgesaugt, mit Essigester und Äther gewaschen und aus Äthanol/Äther umkristallisiert. Ausb. 0.55 g (65%). Schmp. 237.5° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: -18.1° ($c = 1.7$; in Methanol).

$C_{16}H_{17}N_2O_4$]Cl (336.8) Ber. C 57.06 H 5.09 N 8.32 Cl 10.53
Gef. C 56.9 H 5.0 N 8.5 Cl 10.5

15. *N*-tert.-Butyloxycarbonyl-*O*-phenylcarbamoyl-*L*-tyrosin-[2.4.5-trichlor-phenylester] (15): 2.00 g (5 mMol) *Boc*-Tyr(PAC)-*OH* (13) und 1.19 g (6 mMol) 2.4.5-Trichlor-phenol werden in 45 ccm Essigester bei 0° mit 1.05 g (5.1 mMol) Dicyclohexylcarbodiimid versetzt. Nach 16 Std. Stehenlassen bei 5° wird vom Harnstoff abgesaugt, das Filtrat i. Vak. zur Trockne gebracht und der kristalline Rückstand aus Isopropylalkohol umkristallisiert. Ausb. 0.94 g (32%). Schmp. 162°; $[\alpha]_D^{25}$: -21.4° ($c = 1.0$; in Aceton).

$C_{27}H_{25}Cl_3N_2O_6$ (579.9) Ber. C 55.93 H 4.35 Cl 18.34 N 4.83
Gef. C 56.0 H 4.5 Cl 18.1 N 4.8

16. Benzyloxycarbonyl-*L*-phenylalanyl-*O*-carbamoyl-*L*-tyrosin-methylester (16)

a) Die Mischung von 0.82 g (3 mMol) *H*-Tyr(AC)-*OCH*₃·HCl (8) und 1.43 g (3 mMol) *Z*-Phe-OTCP⁷⁾ in 50 ccm Dimethylformamid wird bei -5° mit 0.43 ccm (3 mMol) Triäthylamin versetzt und 65 Std. bei Raumtemp. aufbewahrt. Die Lösung wird i. Hochvak. in der Kälte eingedampft, der feste Rückstand in viel Chloroform gelöst und die Lösung 5 mal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung, 2 mal mit *n* HCl und 2 mal mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert und der kristalline Rückstand in Äther verrieben, einige Std. bei 5° stehengelassen und abgesaugt. Ausb. 1.03 g (66%). Schmp. 187–188°.

$C_{28}H_{29}N_3O_7$ (519.6) Ber. C 64.73 H 5.63 N 8.09 Gef. C 64.5 H 5.7 N 8.3

b) Aus 0.96 g (3 mMol) *H*-Tyr(AC)-*OCH*₃·HBr (7) und 1.19 g (3 mMol) *Z*-Phe-*OSu*⁸⁾ wie unter a). Reaktionszeit 2¹/₂ Std. bei Raumtemp. Das kristalline Produkt wird in Wasser verrieben, abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Ausb. 1.42 g (91%). Schmp. 188–189°; $[\alpha]_D^{25}$: -19.1° ($c = 1.0$; in Dimethylformamid).

17. *Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-O-isobutylcarbamoyl-L-tyrosin-methylester* (17): 0.75 g (2 mMol) *H-Tyr(iBAC)-OCH₃·HBr* (9) werden mit 0.95 g (2 mMol) *Z-Phe-OTCP*⁷⁾ in 10 ccm Dimethylformamid in Gegenwart von 0.28 ccm (2 mMol) Triäthylamin wie unter 16. umgesetzt. Ausb. 0.98 g (85%). Schmp. 196–198°; $[\alpha]_D^{25}$: -12.3° ($c = 1.5$; in Dimethylformamid).

$C_{32}H_{37}N_3O_7$ (575.7) Ber. C 66.77 H 6.48 N 7.30 Gef. C 66.9 H 6.5 N 7.6

18. *Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-O-phenylcarbamoyl-L-tyrosin-methylester* (18)

a) Die Ausgangsverbindung *Z-Phe-Tyr-OCH₃* (18a) wurde nach der gemischten Anhydridmethode unter Verwendung von *Chlorameisensäure-äthylester* aus *Z-Phe-OH*⁵⁾ und *H-Tyr-OCH₃·HCl* in Gegenwart von Triäthylamin dargestellt. Ausb. 60%. Schmp. 143 bis 144°. Lit.-Schmp. 137–138°¹⁰⁾.

$C_{27}H_{28}N_2O_6$ (476.5) Ber. C 68.05 H 5.92 N 5.88 Gef. C 68.3 H 6.1 N 5.8

2.39 g (5 mMol) *Z-Phe-Tyr-OCH₃* (18a) werden in 20 ccm Dimethylformamid bei -5° mit 0.66 g (5.5 mMol) *Phenylisocyanat* versetzt. Die Lösung wird nach 65 stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. i. Hochvak. eingedampft, der feste Rückstand mit Ligroin verrieben und abgesaugt. Das Rohprodukt wird 2mal aus Chloroform/Dimethylacetamid/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 1.66 g (56%). Schmp. 195–196.5°; $[\alpha]_D^{25}$: -12.0° ($c = 1.4$; in Dimethylformamid).

$C_{34}H_{33}N_3O_7$ (595.7) Ber. C 68.56 H 5.58 N 7.05 Gef. C 68.5 H 5.8 N 7.3

b) 1.49 g (5 mMol) *Z-Phe-OH*⁶⁾ werden in 20 ccm Tetrahydrofuran mit 0.7 ccm (5 mMol) Triäthylamin versetzt, dann werden bei -10° unter Rühren 0.48 ccm (5 mMol) *Chlorameisensäure-äthylester* zugetropft. Den ausgefallenen Niederschlag bringt man durch Zugabe von 20 ccm Dimethylformamid und 50 ccm Chloroform in Lösung. Man rührt 5 Min. bei -5° nach und gibt die auf -5° vorgekühlte Lösung von 1.98 g (5 mMol) *H-Tyr-(PAC)-OCH₃·HBr* (11) und 0.7 ccm (5 mMol) Triäthylamin in 40 ccm Dimethylacetamid und 60 ccm Chloroform zu. Man läßt den Ansatz langsam auf Raumtemp. kommen und rührt noch 1 Stde. nach. Dann werden die Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert, der Rückstand in 2.5 l Chloroform aufgenommen und die Lösung mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung, *n* HCl und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Rohausb. 2.81 g (95%) vom Schmp. 182.5–185°. Nach Umkristallisieren aus Chloroform/Petroläther werden 1.85 g (62%) vom Schmp. 193–195° erhalten. $[\alpha]_D^{25}$: -11.6° ($c = 0.6$; in Dimethylformamid).

$C_{34}H_{33}N_3O_7$ (595.7) Ber. N 7.05 Gef. N 6.8

c) Aus 3.95 g (10 mMol) *H-Tyr(PAC)-OCH₃·HBr* (11) und 4.77 g (10 mMol) *Z-Phe-OTCP*⁷⁾ in 30 ccm Dimethylformamid mit 1.4 ccm (10 mMol) Triäthylamin wie unter 16. dargestellt. Ausb. 5.20 g (87%). Schmp. 195–196°; $[\alpha]_D^{25}$: -12.5° ($c = 0.5$; in Dimethylformamid).

19. *N-tert.-Butyloxycarbonyl-O-phenylcarbamoyl-L-tyrosyl-L-phenylalanin-methylester* (19): Aus 0.58 g (1 mMol) *Boc-Tyr(PAC)-OTCP* (15) und 0.22 g (1 mMol) *H-Phe-OCH₃·HCl* in 3 ccm Dimethylformamid mit 0.14 ccm (1 mMol) Triäthylamin wie unter 16. gewonnen. Das Rohprodukt wird in Äther/Petroläther verrieben. Ausb. 0.39 g (70%). Schmp. 152–153° (Sintern ab 115°); $[\alpha]_D^{25}$: -8.5° ($c = 1.0$; in Dimethylformamid).

$C_{31}H_{35}N_3O_7$ (561.6) Ber. C 66.30 H 6.28 N 7.48 Gef. C 66.5 H 6.3 N 7.5

¹⁰⁾ H. J. Pannemann, A. F. Marx und J. F. Arens, Recueil Trav. chim. Pays-Bas 78, 487 (1959).

B. Abspaltung der *O*-Schutzgruppen

1. Benzyloxycarbonyl-*L*-tyrosin-hydrazid

a) Die Lösung von 1.49 g (4 mMol) *Z*-Tyr(*AC*)-*OCH*₃ (**1**) in 6 ccm Dimethylacetamid wird mit 1.28 ccm (20 mMol) 80proz. *Hydrazinhydrat* versetzt und 3 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Der nach Abdampfen des Lösungsmittels i. Hochvak. bei Raumtemp. erhaltene feste Rückstand wird mit Methanol verrieben, abgesaugt und getrocknet. Ausb. 0.98 g (74%). Schmp. 221–221.5° (Zers.); Lit.-Schmp. 220–221°¹¹⁾. Das Hydrazid zeigt mit authent. *Z*-Tyr-*NHNH*₂¹¹⁾ keine Schmp.-Depression. $[\alpha]_D^{25}$: -10.5° ($c = 1.4$; in Dimethylformamid).

C₁₇H₁₉N₃O₄ (329.4) Ber. C 62.06 H 5.82 N 12.76 Gef. C 61.9 H 5.6 N 13.1

b) 2.15 g (5 mMol) *Z*-Tyr(*iBAC*)-*OCH*₃ (**2**) werden in 10 ccm Dimethylacetamid mit 1.60 ccm (25 mMol) 80proz. *Hydrazinhydrat* 36 Stdn. bei Raumtemp. wie unter a) umgesetzt. Ausb. 1.20 g (73%). Schmp. 220–221° (Zers.); mit *Z*-Tyr-*NHNH*₂¹¹⁾ keine Schmp.-Depression. $[\alpha]_D^{25}$: -10.4° ($c = 1.2$; in Dimethylformamid).

c) 2.24 g (5 mMol) *Z*-Tyr(*PAC*)-*OCH*₃ (**3**) läßt man in 70 ccm Methanol nach Zusatz von 1.9 ccm (30 mMol) 80proz. *Hydrazinhydrat* 5 Stdn. bei Raumtemp. stehen. Der kristalline Niederschlag wird abgesaugt und mit Methanol gewaschen. Ausb. 1.43 g (87%). Schmp. 221–222° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$: -10.9° ($c = 1$; in Dimethylformamid).

d) Man läßt 0.49 g (1 mMol) *Z*-Tyr(*NPAC*)-*OCH*₃ (**5**) in 3 ccm Dimethylacetamid mit 0.32 ccm (5 mMol) 80proz. *Hydrazinhydrat* 20 Stdn. bei Raumtemp. reagieren. Das Rohprodukt wird aus Methanol umkristallisiert. Ausb. 0.21 g (64%). Schmp. 220.5–221° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: -10.9° ($c = 1.7$; in Dimethylformamid).

2. Benzyloxycarbonyl-*L*-phenylalanyl-*L*-tyrosin-hydrazid

a) 0.52 g (1 mMol) *Z*-Phe-Tyr(*AC*)-*OCH*₃ (**16**) werden in 4 ccm Dimethylacetamid mit 0.32 ccm (5 mMol) 80proz. *Hydrazinhydrat* 18 Stdn. wie unter 1a) umgesetzt. Das Rohprodukt (0.37 g = 78% vom Schmp. 210°) wird aus Methanol umkristallisiert. Ausb. 0.28 g (59%). Schmp. 224.5–225° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: -23.2° ($c = 1.5$; in Dimethylformamid).

C₂₆H₂₈N₄O₅ (476.5) Ber. C 65.53 H 5.92 N 11.76 Gef. C 65.3 H 6.0 N 12.2

b) Die Reaktion von 1.15 g (2 mMol) *Z*-Phe-Tyr(*iBAC*)-*OCH*₃ (**17**) mit 0.64 ccm (10 mMol) 80proz. *Hydrazinhydrat* in 8 ccm Dimethylacetamid wird wie oben durchgeführt; Reaktionszeit 24 Stdn. Rohausb. 0.88 g (93%); Schmp. 213.5–215.5°. Reinausb. 0.56 g (59%). Schmp. 224–225°; $[\alpha]_D^{25}$: -23.5° ($c = 1.5$; in Dimethylformamid).

C₂₆H₂₈N₄O₅ (476.5) Ber. C 65.53 H 5.92 N 11.76 Gef. C 65.2 H 5.9 N 12.0

c) 0.60 g (1 mMol) *Z*-Phe-Tyr(*PAC*)-*OCH*₃ (**18**) werden analog obigen Ansätzen mit 5 mMol *Hydrazinhydrat* der Hydrazinolyse unterworfen. Ausb. 0.34 g (72%). Schmp. 224 bis 224.5°; $[\alpha]_D^{25}$: -23.8° ($c = 1$; in Dimethylformamid). Mol.-Gew. ber. 476.5, gef. 495 (Osmometer; Aceton).

3. Benzyloxycarbonyl-*L*-phenylalanyl-*L*-tyrosin

a) 0.58 g (1 mMol) *Z*-Phe-Tyr(*iBAC*)-*OCH*₃ (**17**) werden in 7 ccm Dimethylacetamid und 5 ccm Dioxan nach Zusatz von 1.5 ccm (3 mMol) *2n NaOH* 2 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Die mit 100 ccm Wasser verdünnte Lösung wird mit 1.75 ccm *2n HCl* versetzt,

¹¹⁾ *M. Bergmann* und *J. S. Fruton*, *J. biol. Chemistry* **118**, 405 (1937); *C. R. Harington* und *R. V. Pitt Rivers*, *Biochem. J.* **38**, 417 (1944).

der Niederschlag in Essigester aufgenommen und aus der Lösung mit 3 Portionen Natriumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert. Auf Zusatz von 2*n* HCl zur wäßrigen Lösung fällt das kristalline Produkt aus, das mit Wasser gewaschen und dann getrocknet wird. Ausb. 0.36 g (78%). Schmp. 187–188°; Lit.-Schmp. 184–185°¹²⁾. Beim Umkristallisieren aus Essigester/Petroläther steigt der Schmp. auf 189–189.5°.

$C_{26}H_{26}N_2O_6$ (462.5) Ber. C 67.52 H 5.67 N 6.06 Gef. C 67.7 H 5.8 N 6.0

b) 1.19 g (2 mMol) *Z*-Phe-Tyr(PAC)-OCH₃ (**18**) werden mit 6 mMol 2*n* NaOH wie oben verseift und aufgearbeitet. Ausb. 0.72 g (78%). Schmp. 185–187°.

¹²⁾ H. Zahn und M. Heinz, Liebigs Ann. Chem. **652**, 76 (1962).