

Friedrich Weygand, Wolfgang Steglich und Jonas Bjarnason

Leicht abspaltbare Schutzgruppen für die Säureamidfunktion, 3¹⁾

Derivate des Asparagins und Glutamins mit 2.4-dimethoxy-benzyl- und 2.4.6-trimethoxy-benzyl-geschützten Amidgruppen

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München

(Eingegangen am 10. April 1968)

Die Synthese verschiedener für Peptidsynthesen geeigneter Derivate des Asparagins und Glutamins mit 2.4-dimethoxy-benzyl- und 2.4.6-trimethoxy-benzyl-geschützten Amidgruppen wird beschrieben. Damit durchgeführte Synthesen einfacher Peptide verlaufen ohne Nebenreaktionen.

2.4-Dimethoxy-benzyl- und 2.4.6-Trimethoxy-benzyl-Reste sind zum Schutz von Amidfunktionen bei Peptidsynthesen geeignet^{1,2)}. In dieser Mitteilung wird über ihre Anwendung bei der Synthese asparagin- und glutaminhaltiger Peptide berichtet. Als Ausgangsverbindungen dienten dabei die nach der Methode von Nefkens und Nivard³⁾ leicht zugänglichen *N*-Z- und *N*-Z(OCH₃)-Aminodicarbonsäure- α -benzylester, die sich mit Bis-[2.4-dimethoxy-benzyl]-amin oder 2.4.6-Trimethoxy-benzylamin nach der Dicyclohexylcarbodiimid/Hydroxysuccinimid⁴⁾- oder der Inamin⁵⁾-Methode zu amidsubstit. *N*-Acyl-aminodicarbonsäure- α -benzylester- ω -amiden (**2**) umsetzen lassen. In den meisten Fällen wurden die Amide **2** ohne nähere Charakterisierung zu amidsubstit. *N*-Acyl-aminodicarbonsäure- ω -amiden (**1**) (Tab. 1) verseift. Durch Behandeln mit 1 *n* methanolischer HCl-Lösung ließ sich von den Z(OCH₃)-Derivaten vom Typ **2** die Urethanschutzgruppe unter Bildung amidsubstit. Aminodicarbonsäure- α -benzylester- ω -amid-hydrochloride (**3**) abspalten. Z- und Z(OCH₃)-Reste können auch durch katalytische Hydrierung mit Pd/C-Katalysator ohne Angriff auf die DMB-Reste entfernt werden¹⁾. Somit stehen die für Peptidsynthesen benötigten Ausgangsverbindungen zur Verfügung.

Abkürzungen: DMB = 2.4-Dimethoxy-benzyl-; TMB = 2.4.6-Trimethoxy-benzyl-.

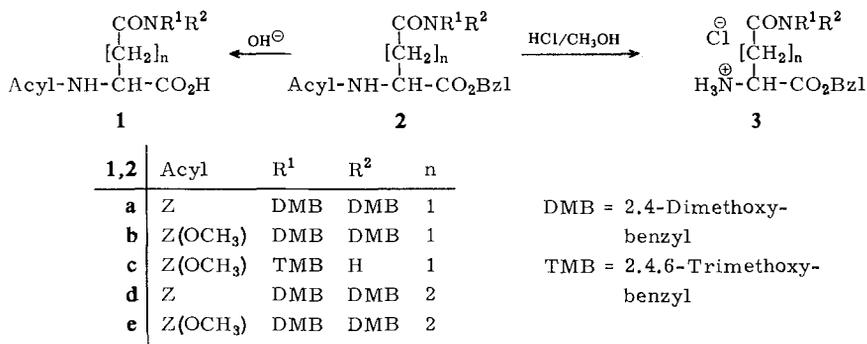
¹⁾ 2. Mitteil.: F. Weygand, W. Steglich, J. Bjarnason, R. Akhtar und N. Chytil, Chem. Ber. **101**, 3623 (1968), vorstehend.

²⁾ F. Weygand, W. Steglich, J. Bjarnason, R. Akhtar und N. M. Khan, Tetrahedron Letters [London] **1966**, 3483.

³⁾ G. H. L. Nefkens und R. J. F. Nivard, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **83**, 199 (1964).

⁴⁾ E. Wünsch und F. Drees, Chem. Ber. **99**, 110 (1966); F. Weygand, D. Hoffmann und E. Wünsch, Z. Naturforsch. **21b**, 426 (1966).

⁵⁾ R. Buyle und H. G. Viehe, Angew. Chem. **76**, 572 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. **3**, 582 (1964); F. Weygand, W. König, R. Buyle und H. G. Viehe, Chem. Ber. **98**, 3632 (1965).

Tab. 1. Amidgeschützte *N*-Acyl-asparaginsäure- und *N*-Acyl-glutaminsäure- ω -amide (1)

| Verbindung | Ausb. (%) | Schmp. | $[\alpha]_{546}^t$ | Summenformel (Mol.-Gew.) | Analyse C H N |
|------------|------------------|--|---|---|--|
| 1a | 84 ^{a)} | 70–73° (amorph) | 10.4° (c = 2, CH ₃ OH), t = 25° | C ₃₀ H ₃₄ N ₂ O ₉ (566.6) | Ber. 63.59 6.04 4.95 Gef. 62.80 6.09 4.85 |
| 1b | 97 | 62–65° (amorph) | 31.3° (c = 5, CH ₃ OH), t = 22° | C ₃₁ H ₃₆ N ₂ O ₁₀ (596.6) | Ber. 62.38 6.08 4.69 Gef. 61.74 6.18 4.69 |
| 1c | 80 | 174° (Zers.) (CHCl ₃ /Petroläther) | 3.7° (c = 3, DMF), t = 20° | C ₂₃ H ₂₈ N ₂ O ₉ (476.4) | Ber. 57.97 5.93 5.88 Gef. 57.51 6.13 6.09 |
| 1d | 71 ^{a)} | amorph | –7.2° (c = 5, CH ₃ OH), t = 22° | C ₃₁ H ₃₆ N ₂ O ₉ (580.6) | Ber. 64.12 6.25 4.83 Gef. 62.90 6.19 4.91 |
| 1e | 98 | 65–70° (amorph) | –8.2° (c = 5, CH ₃ OH), t = 25° | C ₃₂ H ₃₈ N ₂ O ₁₀ (610.6) | Ber. 62.90 6.27 4.59 Gef. 62.08 6.41 4.55 |

^{a)} Für Peptidsynthese nach Inamin-Methode und Verseifung.

Durch Kondensation von **1** mit Aminosäureestern und Verseifen der *N*-Acyl-dipeptidester wurden einige amidgeschützte *N*-Acyl-asparaginyln- und *N*-Acyl-glutaminyl-aminosäuren dargestellt (Tab. 2). Die meist hohen Ausbeuten zeigen, daß die ohne Verwendung von Amidschutzgruppen beobachteten Nebenreaktionen⁶⁾ nicht auftreten.

Auch bei 2stündigem Stehenlassen des aus **1e** mit 1-Diäthylamino-propin-(1) entstehenden symm. Anhydrids⁷⁾ wurde nach Zugabe von L-Valin-methylester der *N*-Acyl-dipeptidester in guter Ausbeute erhalten (Tab. 2). Ein intramolekularer Angriff der aktivierten Carbonsäurefunktion auf die Bis-[2,4-dimethoxy-benzyl]-amid-Gruppierung unter Abspaltung eines DMB-Restes findet daher nicht statt.

Die Abspaltung der DMB- oder TMB-Reste wurde mit wasserfreier Trifluoressigsäure durchgeführt, bei TMB-Verbindungen unter Zusatz von Resorcin-dimethyl-äther¹⁾. Einige Abspaltungsversuche sind in Tab. 3 zusammengefaßt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß DMB- oder TMB-amid-geschützte Asparagin- und Glutamin-Derivate leicht zugänglich sind, einen vollständigen Schutz gegen die bekannten Nebenreaktionen bei der Synthese von asparagin- oder glutaminhaltigen Peptiden bieten, sich mit den üblichen Aminoschutzgruppen kombinieren lassen, die Löslichkeit in organischen Solventien stark erhöhen und sich mit Tri-fluoressigsäure abspalten lassen. Ob man die Amidschutzgruppen unmittelbar nach

⁶⁾ Vgl. z. B. E. Schröder und K. Lübke, *The Peptides*, Vol. 1, Academic Press, New York und London 1965.

⁷⁾ F. Weygand, P. Huber und K. Weiss, *Z. Naturforsch.* **22b**, 1084 (1967).

Tab. 2. Amidgeschützte *N*-Acyl-asparaginyl- und *N*-Acyl-glutaminyl-aminosäuren

| Verbindung | Ausb. (%) | Schmp. | $[\alpha]_{25}^{25}$ | Summenformel (Mol.-Gew.) | Analyse C H N |
|---|------------------|--|--|--|--|
| Z-Asp[β -N(DMB) ₂]-Leu | 87 | 96–100° (CH ₃ OH/H ₂ O) | 1.5° (<i>c</i> = 2, CH ₃ OH) | C ₃₆ H ₄₅ N ₃ O ₁₀ (679.7) | Ber. 63.60 6.67 6.18 Gef. 62.79 6.99 5.86 |
| Z(OCH ₃)-Asp[β -N(DMB) ₂]-Leu | 77 | 96–100° (CH ₃ OH/H ₂ O) | 14.0° (<i>c</i> = 4, CH ₃ OH) | C ₃₇ H ₄₇ N ₃ O ₁₁ (709.8) | Ber. 62.59 6.67 5.92 Gef. 62.40 6.65 5.60 |
| Z(OCH ₃)-Asp[β -NH(TMB)]-Leu | 65 | 163–164° (CHCl ₃ /Petroläther) | –3.4° (<i>c</i> = 3, DMF) | C ₂₉ H ₃₉ N ₃ O ₁₀ (589.6) | Ber. 59.07 6.67 7.13 Gef. 58.60 6.76 7.25 |
| Z-Glu[γ -N(DMB) ₂]-Val | 77 ^{a)} | 132° (CH ₃ OH/H ₂ O) | –4.2° (<i>c</i> = 3, CH ₃ OH) | C ₃₆ H ₄₅ N ₃ O ₁₀ (679.7) | Ber. 63.60 6.67 6.18 Gef. 63.28 6.50 5.92 |
| Z(OCH ₃)-Glu[γ -N(DMB) ₂]-Val | 86 ^{a)} | 91–92° (CH ₃ OH/H ₂ O) | –4.4° (<i>c</i> = 2, CH ₃ OH) | C ₃₇ H ₄₇ N ₃ O ₁₁ (709.8) | Ber. 62.59 6.67 5.92 Gef. 61.90 6.48 5.88 |
| Z(OCH ₃)-Glu[γ -N(DMB) ₂]- Asp[β -N(DMB) ₂] | 95 | 92–95° (amorph) (CH ₃ OH/H ₂ O) | 32.0° (<i>c</i> = 3, Dioxan) | C ₅₄ H ₆₄ N ₄ O ₁₆ ·H ₂ O (1043.2) | Ber. 62.18 6.47 5.35 Gef. 62.33 6.40 5.49 |

a) Gesamtausb. für Peptidsynthese und Verseifung des Methylesters.

Tab. 3. Abspaltung der 2.4-Dimethoxy-benzyl- oder 2.4.6-Trimethoxy-benzyl-Reste mit Trifluoressigsäure

| Ausgangsverbindung | Reaktionsbedingungen | | Endprodukt | Ausb. (%) |
|---|----------------------|-------------|------------------------|-----------|
| | Temp. | Zeit (Std.) | | |
| Z-Asp[β -N(DMB) ₂] | 72° | 1 | Asn · H ₂ O | 84 |
| Z-Asp[β -N(DMB) ₂] | 20° | 3 | Z-Asn | 40 |
| Z(OCH ₃)-Asp[β -N(DMB) ₂]-Leu | 20° | 27 | Asn-Leu | 71 |
| Z(OCH ₃)-Glu[γ -N(DMB) ₂]-Asp[β -N(DMB) ₂] | 20° | 30 | Gln-Asn | 74 |
| Z(OCH ₃)-Asp[β -NH(TMB)] | 20° | 20 | Asn · H ₂ O | 68 |

der Herstellung von asparaginy- oder glutaminyhaltigen Sequenzen entfernt oder erst am Ende der Synthese einer längeren Sequenz, wird von Löslichkeitsproblemen und der Beständigkeit der gesamten Peptidkette gegen Trifluoressigsäure abhängen. Bei der Festkörpersynthese nach Merrifield⁸⁾ wird es nichts ausmachen, wenn die Amidschutzgruppen im Verlauf der Synthese eines länger-kettigen Peptids bei der Abspaltung von Aminoschutzgruppen mit Trifluoressigsäure allmählich verlorengehen, nachdem sie ihren Zweck erfüllt haben.

An Stelle des in der vorliegenden Mitteilung als Aminoschutzgruppe verwendeten Z(OCH₃)-Restes kann auch der BOC-Rest eingesetzt werden.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für eine Sachbeihilfe.

Beschreibung der Versuche

N-[*p*-Methoxy-benzoyloxycarbonyl]-*L*-glutaminsäure- α -benzylester-dicyclohexylammoniumsalz: 2.7 g (8.7 mMol) Z(OCH₃)-*L*-Glu und 0.88 g (8.7 mMol) Triäthylamin wurden mit 1.64 g (9.6 mMol) Benzylbromid in 3 ccm Dimethylformamid über Nacht stengelassen³⁾. Nach Zugabe von 20 ccm Wasser wurde 2mal mit Essigester ausgeschüttelt, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Beim Versetzen des in 20 ccm Äther gelösten Rückstandes mit 1.73 g (9.5 mMol) Dicyclohexylamin kristallisierte das Salz aus. Aus Methanol/Wasser 2.25 g (45%), Schmp. 165° (Lit.⁹⁾: 163–164°).

N-[*p*-Methoxy-benzoyloxycarbonyl]-*L*-asparaginsäure- α -benzylester- β -[bis-(2.4-dimethoxybenzyl)-amid] (**2b**): Zu 6.25 g (16.2 mMol) Z(OCH₃)-*L*-Asp- α -OBzl¹⁰⁾ und 4.90 g (15.5 mMol) Bis-[2.4-dimethoxybenzyl]-amin¹⁾ in 50 ccm Tetrahydrofuran wurden innerhalb 1 Stde unter Rühren 1.89 g (17.0 mMol) *l*-Diäthylamino-propin-(1) in 15 ccm Tetrahydrofuran getropft. Nach Verdampfen des Lösungsmittels i. Vak. wurde in Essigester aufgenommen und je 2mal mit verd. Citronensäurelösung, Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser ausgeschüttelt. Der nach Eindampfen der mit Natriumsulfat getrockneten Essigesterlösung verbleibende Rückstand wurde zur Entfernung des gebildeten Propionsäure-diäthylamids gut mit Petroläther gewaschen, wobei der Benzylester als ein beim Trocknen erstarrendes Öl erhalten wurde. Ausb. 9.1 g (85%).

C₃₈H₄₂N₂O₁₀ (686.7) Ber. C 66.46 H 6.16 N 4.08 Gef. C 66.51 H 6.09 N 4.22

⁸⁾ R. B. Merrifield, J. Amer. chem. Soc. **85**, 2149 (1963); G. R. Marshall und R. B. Merrifield, Biochemistry [Washington] **4**, 2394 (1965).

⁹⁾ F. Weygand und K. Hunger, Chem. Ber. **95**, 7 (1962).

¹⁰⁾ E. Schröder und E. Klieger, Liebigs Ann. Chem. **673**, 208 (1964).

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-asparaginsäure- α -benzylester- β -[2.4.6-trimethoxy-benzylamid] (**2c**): 4.73 g (12.2 mMol) *Z*(*OCH*₃)-*L*-*Asp*- α -*OBz*l und 2.10 g (18.2 mMol) *N*-*Hydroxy-succinimid* wurden in 35 ccm Methylenchlorid unter Eiskühlung mit 2.78 g (13.5 mMol) *Dicyclohexylcarbodiimid* in 10 ccm Methylenchlorid versetzt. Nach 1 stdg. Rühren bei 0° gab man 2.65 g (13.5 mMol) 2.4.6-*Trimethoxy-benzylamin* zu. Anderntags wurde der *Dicyclohexylharnstoff* abgesaugt und das Filtrat je 2 mal mit verd. Citronensäurelösung, Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen. Aus Chloroform/Petroläther 6.10 g (87%), Schmp. 159°, $[\alpha]_{546}^{22}$: -3.2° ($c = 3$ in *CHCl*₃).

*C*₃₀*H*₃₄*N*₂*O*₉ (566.6) Ber. C 63.59 H 6.05 N 4.95 Gef. C 63.60 H 6.04 N 5.28

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-glutaminsäure- α -benzylester- γ -[bis-(2.4-dimethoxybenzyl)-amid] (**2e**): Aus 18.5 g *Z*(*OCH*₃)-*L*-*Glu*- α -*OBz*l, 14.7 g *Bis*-[2.4-dimethoxybenzyl]-*amin*, 8.0 g *N*-*Hydroxy-succinimid* und 10.5 g *Dicyclohexylcarbodiimid* in 100 ccm Chloroform wie bei **2c**. Aus Methanol 24.1 g (65%) Nadeln, Schmp. 78–80°, wenig charakteristisch.

*C*₃₉*H*₄₄*N*₂*O*₁₀ · 2*H*₂*O* (736.8) Ber. C 63.57 H 6.57 N 3.81 Gef. C 63.54 H 6.45 N 3.88

Aus trockenem Essigester/Petroläther erhält man die Verbindung ohne Kristallwasser, Schmp. 98–99° (scharf), $[\alpha]_{546}^{24}$: -13.8° ($c = 5$ in Benzol).

*C*₃₉*H*₄₄*N*₂*O*₁₀ (700.7) Ber. C 66.84 H 6.33 N 3.99 Gef. C 66.75 H 6.45 N 3.94

N-*Benzyloxycarbonyl-L*-asparaginsäure- β -[bis-(2.4-dimethoxybenzyl)-amid] (**1a**): 2.48 g *Z*-*L*-*Asp*- α -*OBz*l und 2.0 g *Bis*-[2.4-dimethoxybenzyl]-*amin* wurden mit 0.78 g 1-*Diäthylamino-propin*-(1), wie für **2b** beschrieben, umgesetzt. Der ölige *N*-*Acyl-ester* wurde ohne Charakterisierung mit 50 ccm 1*n NaOH* und 50 ccm Dioxan 2 Stdn. bei Raumtemp. verseift. Einengen i. Vak., Verdünnen mit Wasser, zweimaliges Ausschütteln mit Äther und Ansäuern der wäbr. Lösung lieferten ein amorphes Produkt, das mit Wasser gewaschen und i. Vak. über *P*₂*O*₅ getrocknet wurde. Ausb. 3.0 g (84%). Siehe Tab. 1.

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-asparaginsäure- β -[bis-(2.4-dimethoxybenzyl)-amid] (**1b**): Aus 0.85 g (1.24 mMol) **2b** durch 5 stdg. Verseifen mit 20 ccm 1*n NaOH* + 20 ccm Dioxan. Zum Ansäuern der wäbr. Phase wurde Citronensäure verwendet. Ausb. 0.71 g (97%), amorph (Tab. 1).

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-asparaginsäure- β -[2.4.6-trimethoxybenzylamid] (**1c**): Aus 6.0 g **2c** durch 5 stdg. Verseifen mit 100 ccm 1*n NaOH* + 150 ccm Aceton. Aus Chloroform/Petroläther 4.0 g (80%) (Tab. 1).

N-*Benzyloxycarbonyl-L*-glutaminsäure- γ -[bis-(2.4-dimethoxybenzyl)-amid] (**1d**): Aus 4.7 g *Z*-*L*-*Glu*- α -*OBz*l, 4.0 g *Bis*-[2.4-dimethoxybenzyl]-*amin* und 1.55 g 1-*Diäthylamino-propin*-(1) wurde, wie für **2b** beschrieben, der ölige *N*-*Acyl-ester* hergestellt. Verseifen mit 75 ccm 1*n NaOH* + 75 ccm Dioxan lieferte 5.2 g (71%) **1d** (Tab. 1).

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-glutaminsäure- γ -[bis-(2.4-dimethoxybenzyl)-amid] (**1e**): Aus 3.95 g **2e** durch 5 stdg. Verseifen mit 150 ccm 1*n NaOH* + 150 ccm Dioxan. Aus Methanol/Wasser 3.40 g (98%), amorph (Tab. 1).

L-*Asparaginsäure*- α -benzylester- β -[bis-(2.4-dimethoxybenzyl)-amid]: 2.0 g (2.9 mMol) **2b** wurden mit 15 ccm 1*n* methanol. *HCl*-Lösung und 4 ccm Benzol 4 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Eindampfen der Lösung i. Vak. auf 1/3 des Volumens, Zugabe von etwas Dioxan und erneutes Einengen lieferte auf Zusatz von Äther öliges *Hydrochlorid* **3** (*R*¹ = *R*² = DMB, *n* = 1). Es wurde in Wasser aufgenommen, mit *Natriumhydrogencarbonat* alkalisch gemacht und mit Essigester ausgeschüttelt. Ausb. 1.45 g (95%) Öl, das ohne Reinigung weiterverwendet wurde.

N-Benzyloxycarbonyl-*L*-asparagyl[β -bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]-*L*-leucin-methylester: Zu 0.60 g (1.06 mMol) **1a**, 0.195 g (1.07 mMol) *L*-Leu-OCH₃·HCl und 0.12 g (1.2 mMol) Triäthylamin in 5 ccm Methylenchlorid wurden innerhalb von 45 Min. 0.13 g (1.17 mMol) *I*-Diäthylamino-propin-(1) getropft. Anderntags wurde wie üblich aufgearbeitet. Ausb. 0.45 g (62%) (Äther/Petroläther) weißes amorphes Pulver, $[\alpha]_{546}^{24}$: -6.0° ($c = 4$ in CH₃OH).

C₃₇H₄₇N₃O₁₀ (693.8) Ber. C 64.05 H 6.82 N 6.06 Gef. C 63.81 H 6.64 N 6.05

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-asparagyl[β -bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]-*L*-leucin-methylester: 4.4 g (7.3 mMol) **1b**, 1.47 g (8.1 mMol) *L*-Leu-OCH₃·HCl und 1.0 g (10 mMol) Triäthylamin wurden in 40 ccm Chloroform unter Rühren und Eiskühlung mit der Lösung von 1.67 g (8.1 mMol) Dicyclohexylcarbodiimid in etwas Chloroform versetzt. Anderntags wurde wie bei **2c** aufgearbeitet. Aus Essigester/Petroläther 4.27 g (80%), amorph, Schmp. 85–86° (wenig charakteristisch), $[\alpha]_{546}^{22}$: 2.5° ($c = 3$ in CH₃OH).

C₃₈H₄₉N₃O₁₁ (723.8) Ber. C 63.05 H 6.83 N 5.81 Gef. C 62.95 H 6.95 N 6.02

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-asparagyl[β -2,4,6-trimethoxy-benzylamid]-*L*-leucin-methylester: Aus 0.65 g **1c**, 0.298 g *L*-Leu-OCH₃·HCl, 0.165 g Triäthylamin und 0.31 g Dicyclohexylcarbodiimid in 2 ccm Dimethylformamid. Aus Chloroform/Petroläther 0.71 g (86%), Schmp. 155–156°, $[\alpha]_{546}^{22}$: -4.8° ($c = 4$ in DMF).

C₃₀H₄₁N₃O₁₀ (603.6) Ber. C 59.68 H 6.84 N 6.96 Gef. C 59.64 H 6.84 N 7.17

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-glutamyl[γ -bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]-*L*-asparaginsäure- α -benzylester- β -[bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]: 1.72 g **1e**, 1.40 g *L*-Asparaginsäure- α -benzylester- β -[bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid] und 0.33 g *I*-Diäthylamino-propin-(1) wurden in 30 ccm Tetrahydrofuran wie bei **2b** umgesetzt. Die Verbindung fiel als Öl an, das beim Trocknen schaumartig erstarrte. Ausb. 2.95 g (96%), $[\alpha]_{546}^{22}$: 15.2° ($c = 5$ in Essigester).

C₆₁H₇₀N₄O₁₆ (1115.2) Ber. C 65.68 H 6.33 N 5.03 Gef. C 65.17 H 6.73 N 5.12

N-Benzyloxycarbonyl-*L*-asparagyl[β -bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]-*L*-leucin: Aus 0.25 g (0.36 mMol) Methylester (s.oben) durch 3stdg. Verseifen mit 10 ccm 1 *n* NaOH + 10 ccm Dioxan. Aufarbeitung wie bei **1a**. Aus Methanol/Wasser 0.21 g (87%) (Tab. 2).

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-asparagyl[β -bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]-*L*-leucin: Aus 3.0 g Methylester durch 1stdg. Verseifen in 50 ccm 1 *n* NaOH + 50 ccm Dioxan. Aus Methanol/Wasser 2.25 g (77%) (Tab. 2).

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-asparagyl[β -2,4,6-trimethoxy-benzylamid]-*L*-leucin: Aus 4.7 g Methylester durch 4stdg. Verseifen in 100 ccm 1 *n* NaOH + 100 ccm Dioxan. Aus Chloroform/Petroläther gallertiger Niederschlag, 3.0 g (65.5%) (Tab. 2).

N-Benzyloxycarbonyl-*L*-glutamyl[γ -bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]-*L*-valin: 2.25 g **1d**, 0.65 g *L*-Val-OCH₃·HCl und 0.5 g Triäthylamin wurden mit 0.5 g *I*-Diäthylamino-propin-(1) in 30 ccm Methylenchlorid umgesetzt. Das ölige Produkt wurde in 30 ccm 1 *n* NaOH + 30 ccm Dioxan verseift. Aus Methanol/Wasser 2.0 g (77%) (Tab. 2).

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-glutamyl[γ -bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]-*L*-valin: 0.10 g (0.165 mMol) **1e** wurden in 3 ccm Tetrahydrofuran gelöst und bei Raumtemp. innerhalb von 15 Min. mit einer Lösung von 0.01 g (0.09 mMol) *I*-Diäthylamino-propin-(1) in 1 ccm Tetrahydrofuran versetzt. Nach 2stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. wurden 0.015 g *L*-Valin-methylester zugesetzt. Anderntags wurde wie üblich aufgearbeitet und der Ester mit 5 ccm 1 *n* NaOH + 5 ccm Dioxan verseift. Ausb. 0.05 g (86%) (Tab. 2).

N-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-glutamyl[γ -bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]-*L*-asparaginsäure- β -[bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]: Aus 1.95 g Benzylester (s. oben) durch 3 stdg. Verseifen mit 50 ccm 1*n* NaOH + 50 ccm Dioxan. Wegen der schlechten Löslichkeit des Natriumsalzes wurde bei der Aufarbeitung nicht eingeeengt, sondern direkt mit Äther ausgeschüttelt. Das *N*-Acyl-dipeptid fiel beim Ansäuern mit Citronensäure amorph aus und wurde beim Rühren in Methanol kristallin. Aus warmem Methanol/Wasser Ausb. 1.70 g (95%), Schmp. wenig charakteristisch (Tab. 2).

Entfernung der Amidschutzgruppen

L-Asparagin

a) 0.50 g (0.88 mMol) **1a** wurden in 5 ccm *Trifluoressigsäure* 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Nach Eindampfen i. Vak. wurde Methanol nachdestilliert, der Rückstand in Wasser aufgenommen und die Lösung mit Chloroform ausgeschüttelt. Die wäbr. Lösung lieferte nach Neutralisieren mit *Amberlite IR 45*, Eindampfen und Umkristallisieren aus Wasser/Äthanol analysenreines *L*-Asparagin-monohydrat. Ausb. 0.11 g (84%), nach Schmp., optischer Drehung, chromatographischem Verhalten und IR-Spektrum identisch mit authent. Material.

b) 0.107 g **1c** wurden mit 0.1 g *Resorcindimethyläther* in 2.5 ccm *Trifluoressigsäure* 20 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Aufarbeitung wie unter a) lieferte 0.023 g (68%) *L*-Asparagin-monohydrat.

N-Benzyloxycarbonyl-*L*-asparagin: 0.5 g **1a** wurden in 5 ccm *Trifluoressigsäure* 3 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Nach Eindampfen wurde der Rückstand in wenig verd. Natronlauge aufgenommen, die Lösung filtriert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Ansäuern und Einengen der wäbr. Lösung lieferte *Z*-*L*-Asn, das aus wenig Wasser umkristallisiert wurde. Ausb. 0.095 g (40%), Schmp. 155–156°, identisch mit authent. Material.

L-Asparaginyll-*L*-leucin: 0.595 g *N*-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-asparagyl[β -bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]-*L*-leucin wurden in 6 ccm *Trifluoressigsäure* 27 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurde das *Peptid* aus Wasser/Aceton umkristallisiert. Ausb. 0.145 g (71%), Schmp. 225–230° (Zers.) (Lit.¹¹): 227–237° (Zers.), $[\alpha]_{546}^{22}$: –12.0°, $[\alpha]_{578}^{22}$: –10.1° (*c* = 5 in H₂O) (Lit.¹¹): $[\alpha]_{578}^{25}$: –9.8°, *c* = 5 in H₂O).

L-Glutaminyll-*L*-asparagin: 0.33 g *N*-[*p*-Methoxy-benzyloxycarbonyl]-*L*-glutamyl[γ -bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid]-*L*-asparaginsäure- β -[bis-(2,4-dimethoxy-benzyl)-amid] wurden in 5 ccm *Trifluoressigsäure* 30 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung und Umkristallisieren aus Wasser/Äthanol 0.061 g (74%), Schmp. 196–197° (Zers.) (Lit.¹²): 203–204° (Zers.), $[\alpha]_{546}^{22}$: 17.5°, $[\alpha]_{578}^{22}$: 15.5° (*c* = 1 in H₂O) (Lit.¹²): $[\alpha]_{578}^{21}$: 17.1°, *c* = 1.5 in H₂O).

¹¹) A. Miller, A. Neidle und H. Waelsch, Arch. Biochem. Biophysics **56**, 11 (1955).

¹²) J. M. Swan und V. du Vigneaud, J. Amer. chem. Soc. **76**, 3110 (1954).