

Alfons Schöberl, Manfred Rimpler und Eberhard Clauß

Untersuchungen zur Struktur von Malformin, I

Synthesen geschützter Bis-thiol-Peptide

Aus dem Chemischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover

(Eingegangen am 25. Februar 1970)

Vier lineare Pentapeptide*) mit zwei geschützten Cystein-Resten werden dargestellt. Als C-terminale Schutzgruppe fungieren Benzylester, Thiolgruppen werden durch Benzylreste geschützt. Die schrittweise Kettenverlängerung erfolgt mit Hilfe von *p*-Nitro-phenylestern.

On the Structure of Malformin, I

Syntheses of Protected Bis-Thiol Peptides

Four pentapeptides*) containing two protected cysteine residues are prepared. Benzyl esters are used for C-terminal protection and sulfhydryl groups are blocked by benzylation. Step-wise elongation is achieved by the use of *p*-nitrophenylesters.

Die Bedeutung von Thiol-Disulfid-Systemen für das Zellgeschehen¹⁾ ergab auch für Wuchsstoffe neue Aspekte. Schon frühere Untersuchungen an Modellpeptiden²⁾, Glutathion und Insulin³⁾ hatten gezeigt, daß die Aktivität solcher Stoffklassen von Thiolen und Disulfiden beeinflusst wird. Jetzt sollte gezielt die Abhängigkeit der biologischen Wirkung von bestimmten Disulfidstrukturen untersucht werden. Dazu schien Malformin A geeignet, das biologisch aktiv ist und über die für unsere Fragestellung erforderlichen Strukturmerkmale verfügt.

1958 fand Curtis⁴⁾, daß Kulturfiltrate des Pilzes *Aspergillus niger* bei Bohnenstecklingen und Getreidekeimlingen beträchtliche Mißbildungen verursachten. Bei Bohnen ließen sich verdickte, verdrehte Stämmchen beobachten sowie Zwergwuchs und tumorartige Verwachsungen an den Stengeln. Kornsämlinge zeigten korkenzieherartige Verdrehungen und gelegentliche Verknotungen der Keimwurzeln. Die gefundenen Wachstumsanomalien wurden von einer bislang unbekanntem Substanz verursacht, die als Malformin⁵⁾ (malformation = Mißbildung) bezeichnet wurde. Die dafür vorgeschlagene Struktur

*) Zur Nomenklatur vgl. IUPAC-IUB Commission Biochem. Nomenclature, Rules for Naming Synthetic Modifications of Natural Peptides; Biochemistry [Washington] 6, 362 (1967); vgl. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 348, 256 (1967).

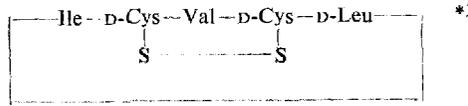
1) Vgl. die Veröffentlichungen des hiesigen Arbeitskreises, u. a. A. Schöberl, Angew. Chem. 70, 646 (1958).

2) A. Schöberl und W. Hahlbrock, VI. Internat. Congress of Biochemistry, Abstracts, New York 1964.

3) A. Schöberl und P. Rambacher, Liebigs Ann. Chem. 538, 84 (1939).

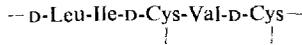
4) R. W. Curtis, Plant Physiol. 33, 17 (1958).

5) R. W. Curtis, Plant Physiol. 33, XXXI (1958).

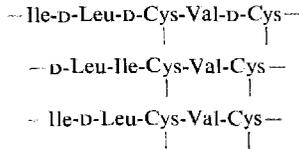


konnte jedoch bislang nicht durch Synthese bewiesen werden⁶⁾.

Um die angenommene Primärstruktur beweisen und die Abhängigkeit der biologischen Wirkung von der chemischen Struktur dieses Cystinpeptides klären zu können, wurden zunächst geschützte, lineare Bis-thiol-Peptide mit der Aminosäurefolge des Malformins



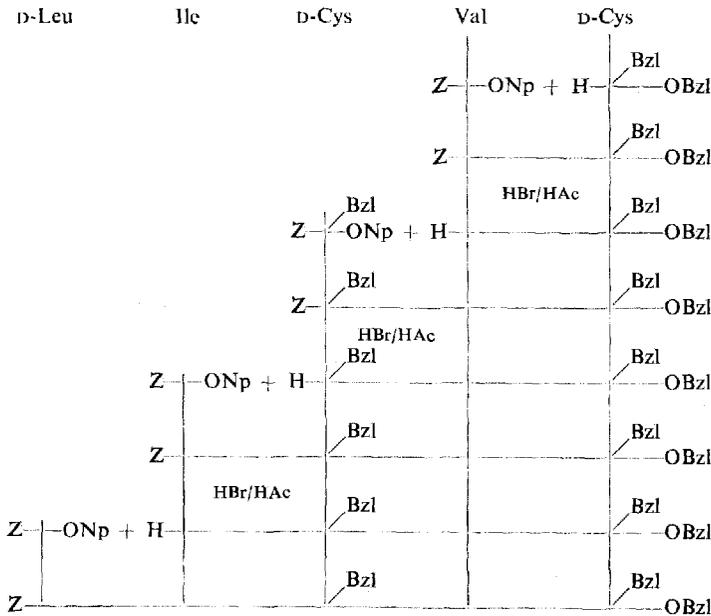
sowie verschiedene Analoga



synthetisiert.

Das erstgenannte, geschützte, lineare Pentapeptid ließ sich nach dem Schema synthetisieren. Die anderen erhielten wir analog, zum Teil über gemeinsame Zwischenstufen.

Schema



*) Der Cystein-Rest wird hier mit Cys (statt Cys) abgekürzt, um die Disulfidbrücke anschaulicher hervortreten zu lassen.



6) K. Isono und R. W. Curtis, *Phytochemistry* 3, 277 (1964).

Die schrittweise Synthese erfolgte vom C-terminalen Ende nach der *p*-Nitrophenylester-Methode⁷⁾. Als C-terminale Aminosäure wurde ein Cystein-Rest gewählt, da geeignete Kupplungs-Derivate vom D-Cystein⁸⁾ gerade bekannt geworden waren. Weiterhin stellt das geschützte Tripeptid der Folge —Cys-Val-Cys— eine Schlüsselverbindung dar, von der durch Kuppeln mit Isoleucin bzw. Leucin in Position 4 und Leucin bzw. Isoleucin in Position 5 die gewünschten Analoga zugänglich waren.

Als Schutzgruppen fanden die Benzyloxycarbonylgruppe⁹⁾ und der Benzylrest¹⁰⁾ sowie die Benzylester-Gruppierung¹¹⁾ für das C-terminale Cystein Verwendung.

Zwar soll bei der acidolytischen Abspaltung der Benzyloxycarbonylgruppe mittels Bromwasserstoff/Eisessig¹²⁾ auch der Benzylester beeinflusst werden¹³⁾, jedoch gelang durch Einhaltung spezieller Reaktionsbedingungen die Synthese aller angestrebten Pentapeptide.

Ausgehend von *S*-Benzyl-L- bzw. -D-Cystein wurden über *N*-Carbonsäure-anhydride Benzylester dargestellt. Alle notwendigen *N*-Benzyloxycarbonyl-aminosäuren wurden durch Umsetzung der freien Aminosäuren mit Chlorameisensäure-benzylester gewonnen und die *p*-Nitrophenylester mit Dicyclohexylcarbodiimid als Kupplungsreagenz¹⁴⁾ dargestellt.

Vor jedem Kupplungsschritt mußte die in Form des Hydrochlorids bzw. Hydrobromids vorliegende Aminogruppe der benzylestergeschützten Verbindungen durch Triäthylamin freigesetzt werden. Dabei war auf eine genaue Dosierung diesesamins zu achten, um während der Kupplungsreaktionen die Razemisierungsgefahr¹⁵⁾ möglichst auszuschließen.

Dem *Fonds der Chemischen Industrie* sei für Chemikalienspenden, der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für Bereitstellung von Forschungsmitteln gedankt.

Beschreibung der Versuche

Die Messung der spezif. Drehung erfolgte mit einem Zeiß-Winkel-Kreispolarmeter 0.01°. Die Schmelzpunkte wurden nicht korrigiert; Zersetzungspunkte wurden im Kupferblock bestimmt. Die Schwefelbestimmungen wurden nach *Schöniger*¹⁶⁾, Stickstoffanalysen nach *Kjeldahl* in der Modifikation nach *Parnas*¹⁷⁾ ausgeführt.

D-Leucin wurde durch enzymatische Spaltung mit *Acylyase I*¹⁸⁾ aus *N-Acetyl-DL-leucin* hergestellt.

Bromwasserstoff in Eisessig wurde durch Einleiten von gereinigtem Bromwasserstoff in anhydridfreien Eisessig gewonnen; das Reagenz war etwa 5.4 n.

7) *M. Bodansky*, *Nature* [London] **175**, 685 (1955).

8) *A. Schöberl*, *M. Rimpler* und *K. H. Magosch*, *Chem. Ber.* **102**, 1767 (1969).

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

10) *J. L. Wood* und *V. du Vigneaud*, *J. biol. Chemistry* **130**, 109 (1939).

11) *M. Bergmann*, *L. Zervas* und *L. Salzmann*, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **66**, 1288 (1933).

12) *D. Ben-Ishai* und *A. Berger*, *J. org. Chemistry* **17**, 1564 (1952).

13) *G. Losse*, *D. Zeidler* und *T. Grieshaber*, *Liebigs Ann. Chem.* **715**, 196 (1968).

14) *J. C. Sheehan* und *P. G. Hess*, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 1067 (1955).

15) *M. Bodansky* und *C. A. Birkhimer*, *Chimia* [Aarau, Schweiz] **14**, 368 (1960).

16) *W. Schöniger*, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1955**, 123.

17) *J. K. Parnas*, *Z. analyt. Chem.* **114**, 261 (1938).

18) *S. M. Birnbaum*, *L. Levintow*, *R. B. Kingsley* und *J. P. Greenstein*, *J. biol. Chemistry* **194**, 455 (1952).

Alle *N*-Benzyloxycarbonyl-aminosäure-[*p*-nitro-phenylester] wurden nach Literaturangaben¹⁹⁻²⁴⁾ synthetisiert. Ausbeuten, Eigenschaften, besonders die spezif. Drehungen entsprachen den Erwartungen.

S-Benzyl-*L*-cystein-benzylester-hydrochlorid wurde nach Rimpler²⁵⁾, das *D*-Cystein-Derivat nach Schöberl und Mitarbb.⁸⁾ erhalten.

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der geschützten Dipeptide

S-Benzyl-cystein-benzylester-hydrochlorid wurde in reinem DMF mit der äquivalenten Menge Triäthylamin 60 Min. geschüttelt. Vom Triäthylammoniumchlorid wurde abgesaugt, das Filtrat mit einer Lösung von *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-valin-[*p*-nitro-phenylester] (10% Überschuß) in DMF versetzt und 48 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Mit wäßrigem Äthanol wurde das Reaktionsprodukt ausgefällt. Umkristallisiert wurde aus Äthanol.

N-Benzyloxycarbonyl-*L*-valyl-*S*-benzyl-*L*-cystein-benzylester: Aus 11.3 g (0.033 Mol) *S*-Benzyl-*L*-cystein-benzylester-hydrochlorid, 3.37 g (0.033 Mol) Triäthylamin und 13.4 g (0.036 Mol) *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-valin-[*p*-nitro-phenylester]; Ausb. 16.7 g (94%), Schmp. 158°, $[\alpha]_D^{25}$: -29.5° ($c = 1$; DMF).

$C_{30}H_{34}N_2O_5S$ (534.7) Ber. N 5.24 S 6.00 Gef. N 5.24 S 5.98

N-Benzyloxycarbonyl-*L*-valyl-*S*-benzyl-*D*-cystein-benzylester: Aus 8.44 g (0.025 Mol) *S*-Benzyl-*D*-cystein-benzylester-hydrochlorid, 2.52 g (0.025 Mol) Triäthylamin und 10.3 g (0.028 Mol) *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-valin-[*p*-nitro-phenylester]; Ausb. 11.2 g (84%), Schmp. 158°, $[\alpha]_D^{25}$: $+30.0^\circ$ ($c = 1$; DMF).

$C_{30}H_{34}N_2O_5S$ (534.7) Ber. N 5.24 S 6.00 Gef. N 5.19 S 5.96

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der geschützten Tripeptide

Vom *N*-Benzyloxycarbonyl-dipeptid-benzylester wurde mittels Bromwasserstoff in Eisessig bei Raumtemp. die *N*-Schutzgruppe abgespalten. Durch Eingießen in absol. Äther wurde das Hydrobromid ausgefällt, abgesaugt, mit kaltem, absol. Äther gewaschen und i. Vak. über $CaCl_2$ und KOH getrocknet.

Das Peptid-hydrobromid wurde in DMF durch Zusatz der entsprechenden Menge Triäthylamin freigesetzt. Nach 60 Min. Rühren wurde das ausgefallene Triäthylammoniumbromid abgesaugt und das Filtrat mit *N*-Benzyloxycarbonyl-*S*-benzyl-*D*- bzw. -*L*-cystein-[*p*-nitro-phenylester] 72 Stdn. bei Raumtemp. gerührt.

N-Benzyloxycarbonyl-*S*-benzyl-*L*-cysteinyl-*L*-valyl-*S*-benzyl-*L*-cystein-benzylester: 13.3 g (0.025 Mol) *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-valyl-*S*-benzyl-*L*-cystein-benzylester ergaben mit 60 ccm Eisessig und 60 ccm Bromwasserstoff/Eisessig 11.5 g (0.024 Mol) Hydrobromid. Nach Freisetzen mit 2.43 g (0.024 Mol) Triäthylamin in 60 ccm DMF wurde mit 12.2 g (0.026 Mol) *N*-Benzyloxycarbonyl-*S*-benzyl-*L*-cystein-[*p*-nitro-phenylester] in 40 ccm DMF gekuppelt. Mit 150 ccm 20proz. Äthanol wurde das Tripeptid ausgefällt. Aus Essigester/Petroläther Ausb. 16.2 g (94%), Schmp. 153°, $[\alpha]_D^{25}$: -40.0° ($c = 2$; DMF).

$C_{40}H_{45}N_3O_6S_2$ (727.9) Ber. N 5.78 S 8.80 Gef. N 5.79 S 8.77

N-Benzyloxycarbonyl-*S*-benzyl-*D*-cysteinyl-*L*-valyl-*S*-benzyl-*D*-cystein-benzylester: 5.35 g (10 mMol) *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-valyl-*S*-benzyl-*D*-cystein-benzylester wurden in 20 ccm

¹⁹⁾ J. E. Vaughan und J. A. Eichler, J. Amer. chem. Soc. **75**, 5556 (1953).

²⁰⁾ B. Iselin, W. Rittel und R. Schwyzer, Helv. chim. Acta **40**, 386 (1957).

²¹⁾ M. Winitz, L. Block-Frankenthal, N. Izumia, S. M. Birnbaum, C. G. Baker und J. P. Greenstein, J. Amer. chem. Soc. **78**, 2423 (1956).

²²⁾ M. Bodansky und V. du Vigneaud, J. Amer. chem. Soc. **81**, 5688 (1959).

²³⁾ C. R. Harington und T. H. Mead, Biochem. J. **30**, 1598 (1936).

²⁴⁾ D. B. Hope, V. V. W. Murti und V. du Vigneaud, J. Amer. chem. Soc. **85**, 3686 (1963).

²⁵⁾ M. Rimpler, Dissertat., Freie Univ. Berlin 1961.

Eisessig mit 20 ccm *Bromwasserstoff*/Eisessig behandelt. 4.68 g (9.7 mMol) *Hydrobromid* in 20 ccm DMF wurden mit 980 mg (9.7 mMol) *Triäthylamin* in 3 ccm DMF freigesetzt und mit 4.97 g (10.7 mMol) *N-Benzylloxycarbonyl-S-benzyl-D-cystein-[p-nitro-phenylester]* in 15 ccm DMF gekuppelt. Mit 30 ccm Wasser wurde das Reaktionsprodukt ausgefällt und aus Äthanol umkristallisiert. Ausb. 6.3 g (89%), Schmp. 134°, $[\alpha]_D^{25}$: +40.5° ($c \approx 2$; DMF).

$C_{40}H_{45}N_3O_6S_2$ (727.9) Ber. N 5.78 S 8.80 Gef. N 5.74 S 8.85

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der geschützten Tetrapeptide

Analog zur Synthese der Tripeptide wurden aus den *N-Benzylloxycarbonyl-tripeptid-benzylestern* mit *Bromwasserstoff* in Eisessig bei Raumtemp. die *Peptidhydrobromide* erhalten. Diese wurden durch Eingießen der Reaktionslösung in absol. Äther ausgefällt und i. Vak. über $CaCl_2$ und KOH getrocknet. Nun wurde in DMF gelöst, die eine Hälfte nach Freisetzen der Aminogruppe mit *Triäthylamin* mit *N-Benzylloxycarbonyl-L-isoleucin-[p-nitro-phenylester]*, die andere mit *N-Benzylloxycarbonyl-D-leucin-[p-nitro-phenylester]* versetzt. Nach 96 Std. Rühren bei Raumtemp. wurden die *Tetrapeptide* isoliert.

N-Benzylloxycarbonyl-L-isoleucyl-S-benzyl-L-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester: Aus 7.3 g (10 mMol) *N-Benzylloxycarbonyl-S-benzyl-L-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester* in 45 ccm Eisessig wurden mit 45 ccm *Bromwasserstoff*/Eisessig 5.1 g *Peptidhydrobromid* synthetisiert. 2.55 g (3.8 mMol) davon in 8 ccm DMF wurden mit einer Lösung von 384 mg (3.8 mMol) *Triäthylamin* in 2 ccm DMF 60 Min. geschüttelt und mit 1.62 g (4.18 mMol) *N-Benzylloxycarbonyl-L-isoleucin-[p-nitro-phenylester]* in 8 ccm DMF umgesetzt. Nach Fällen mit 25 ccm Wasser wurde aus Eisessig/Äthanol umkristallisiert. Ausb. 2.4 g (75%), Zers.-P. 216°, $[\alpha]_D^{25}$: -79.0° ($c \approx 1$; Trifluoressigsäure).

$C_{46}H_{56}N_4O_7S_2$ (841.1) Ber. N 6.66 S 7.63 Gef. N 6.68 S 7.59

N-Benzylloxycarbonyl-D-leucyl-S-benzyl-L-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester: Eine Lösung von 2.55 g (3.8 mMol) des vorstehend dargestellten *Hydrobromids* in 8 ccm DMF setzten wir mit 384 mg (3.8 mMol) *Triäthylamin* in 2 ccm DMF und dann mit 1.62 g (4.18 mMol) *N-Benzylloxycarbonyl-D-leucin-[p-nitro-phenylester]* in 8 ccm DMF um. Das *Tetrapeptid* wurde durch Zufügen von 20 ccm Wasser ausgefällt und aus Eisessig/Äthanol umkristallisiert. Ausb. 2.14 g (67%), Zers.-P. 173° (Substanz beginnt bei 162° zu erweichen), $[\alpha]_D^{25}$: -32.0° ($c \approx 1$; DMF).

$C_{46}H_{56}N_4O_7S_2$ (841.1) Ber. N 6.66 S 7.63 Gef. N 6.64 S 7.62

N-Benzylloxycarbonyl-L-isoleucyl-S-benzyl-D-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-D-cystein-benzylester: 3.64 g (5 mMol) *N-Benzylloxycarbonyl-S-benzyl-D-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-D-cystein-benzylester* in 15 ccm Eisessig lieferten mit 15 ccm *Bromwasserstoff*/Eisessig 3.1 g *Hydrobromid*. 1.55 g (2.3 mMol) davon in 5 ccm DMF versetzte man mit 232 mg (2.3 mMol) *Triäthylamin* in 3 ccm DMF. Nach 60 Min. Schütteln ließ man mit 980 mg (2.53 mMol) *N-Benzylloxycarbonyl-L-isoleucin-[p-nitro-phenylester]* in 3 ccm DMF reagieren. Nach Fällen mit 20 ccm 50proz. Äthanol aus Äthanol Ausb. 1.34 g (69%), Zers.-P. 148°, $[\alpha]_D^{25}$: +41.0° ($c \approx 1$; DMF).

$C_{46}H_{56}N_4O_7S_2$ (841.1) Ber. N 6.66 S 7.63 Gef. N 6.59 S 7.63

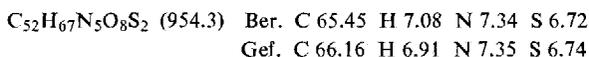
N-Benzylloxycarbonyl-D-leucyl-S-benzyl-D-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-D-cystein-benzylester: 1.55 g (2.3 mMol) des vorstehend gewonnenen *Hydrobromids* und 232 mg (2.3 mMol) *Triäthylamin* wurden 60 Min. in 10 ccm DMF geschüttelt und anschließend mit 980 mg (2.53 mMol) *N-Benzylloxycarbonyl-D-leucin-[p-nitro-phenylester]* in 5 ccm DMF umgesetzt. Mit 15 ccm 80proz. Äthanol wurde das *Peptid* ausgefällt und aus Äthanol/Wasser umkristallisiert. Ausb. 1.36 g (70%), Zers.-P. 182°, $[\alpha]_D^{25}$: +50.0° ($c \approx 1$; DMF).

$C_{46}H_{56}N_4O_7S_2$ (841.1) Ber. N 6.66 S 7.63 Gef. N 6.54 S 7.69

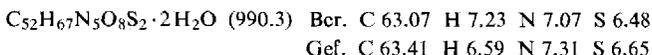
Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der geschützten Pentapeptide

Mit *Bromwasserstoff* in *Eisessig* wurde die *Benzyloxycarbonyl*gruppe der *N-Benzyloxycarbonyl-tetrapeptid-benzylester* bei Raumtemp. unter Feuchtigkeitsausschluß abgespalten. Nach Eingießen in absol. Äther und 12stdg. Stehenlassen im Kühlschrank wurden die *Hydrobromide* abgesaugt und über CaCl_2 und KOH i. Vak. getrocknet. Anschließend ließ man in DMF mit der äquivalenten Menge *Triäthylamin* 60 Min. und dann mit den betreffenden *Nitrophenylestern* 96 Std. bei Raumtemp. reagieren.

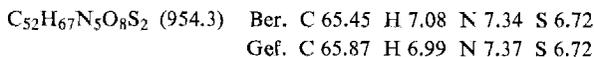
N-Benzyloxycarbonyl-D-leucyl-L-isoleucyl-S-benzyl-L-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester: 841 mg (1 mMol) *N-Benzyloxycarbonyl-L-isoleucyl-S-benzyl-L-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester* in 10 ccm *Eisessig* und 10 ccm *Bromwasserstoff/Eisessig* ergaben 740 mg (0.94 mMol) *Hydrobromid*, das in 7 ccm DMF nach Behandeln mit 95 mg (0.94 mMol) *Triäthylamin* mit 400 mg (1.03 mMol) *N-Benzyloxycarbonyl-D-leucin-[p-nitro-phenylester]* umgesetzt wurde. Durch Zugabe von 15 ccm Wasser wurde ausgefällt und aus Äthanol/Wasser umkristallisiert. Ausb. 645 mg (72%), Zers.-P. 232–233°, $[\alpha]_D^{25}$: -41.2° ($c = 1$; DMF).



N-Benzyloxycarbonyl-L-isoleucyl-D-leucyl-S-benzyl-L-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester: 1.26 g (1.5 mMol) *N-Benzyloxycarbonyl-D-leucyl-S-benzyl-L-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester* in 6 ccm *Eisessig* wurden mit 6 ccm *Bromwasserstoff/Eisessig* in 1.01 g (1.28 mMol) *Hydrobromid* übergeführt. In 10 ccm DMF wurde mit 129 mg (1.28 mMol) *Triäthylamin* in 3 ccm DMF geschüttelt und mit 545 mg (1.41 mMol) *N-Benzyloxycarbonyl-L-isoleucin-[p-nitro-phenylester]* versetzt. 50 ccm Essigester fällten das Reaktionsprodukt, das aus *Eisessig/Äthanol* kristallisierte. Ausb. 1.13 g (84%), Zers.-P. 186°, $[\alpha]_D^{25}$: -29.2° ($c = 1$; DMF).



N-Benzyloxycarbonyl-D-leucyl-L-isoleucyl-S-benzyl-D-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-D-cystein-benzylester: 841 mg (1 mMol) *N-Benzyloxycarbonyl-L-isoleucyl-S-benzyl-D-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-D-cystein-benzylester* in 5 ccm *Eisessig* lieferten mit 5 ccm *Bromwasserstoff/Eisessig* 733 mg (0.93 mMol) *Hydrobromid*. Dieses wurde mit 94 mg (0.93 mMol) *Triäthylamin* in 8 ccm DMF geschüttelt. Nach Umsetzung mit 394 mg (1.02 mMol) *N-Benzyloxycarbonyl-D-leucin-[p-nitro-phenylester]* in 4 ccm DMF und Eingießen in 20 ccm Äthanol fiel das Peptid aus und wurde aus *Eisessig/Äthanol* umkristallisiert. Ausb. 576 mg (65%), Zers.-P. 184° (die Substanz beginnt bei 176° zu erweichen), $[\alpha]_D^{25}$: $+56.0^\circ$ ($c = 1$; DMF).



N-Benzyloxycarbonyl-L-isoleucyl-D-leucyl-S-benzyl-D-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-D-cystein-benzylester: 841 mg (1 mMol) *N-Benzyloxycarbonyl-D-leucyl-S-benzyl-D-cysteinyl-L-valyl-S-benzyl-D-cystein-benzylester* in 5 ccm *Eisessig* ergaben mit 3.5 ccm *Bromwasserstoff/Eisessig* 771 mg (0.98 mMol) *Hydrobromid*. Das daraus mit 99 mg (0.98 mMol) *Triäthylamin* in 5 ccm DMF zugängliche freie Peptid kuppelte mit 417 mg (1.08 mMol) *N-Benzyloxycarbonyl-L-isoleucin-[p-nitro-phenylester]* in 2 ccm DMF. Mit 20 ccm 75proz. Äthanol fällte man das Peptid aus und kristallisierte aus *Eisessig/Äthanol* um. Ausb. 635 mg (68%), Zers.-P. 186° (die Substanz beginnt bei 179° zu erweichen), $[\alpha]_D^{25}$: $+42.0^\circ$ ($c = 1$; DMF).

