

Friedrich Weygandt und Erich Frauendorfer *)

N-Trifluoracetyl-aminosäuren, XXI¹⁾

Reduktive Entfernung des *N*-Trifluoracetyl- und *N*-Trichloracetylrestes durch Natriumborhydrid mit Anwendungen in der Peptidchemie

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München

(Eingegangen am 19. Februar 1970)

Die reduktive Spaltung von *N*-Trifluoracetyl- und *N*-Trichloracetyl-aminen mit Natriumborhydrid in die Amine und die 2.2.2-Trihalogen-äthanole wird beschrieben. Diese Methode benützten wir zum Aufbau von Peptiden unter Verwendung der *N*-Trifluoracetyl- in Kombination mit der tert.-Butylester-Schutzgruppe.

N-(Trifluoroacetyl)amino Acids, XXI¹⁾

Reductive Elimination of the *N*-Trifluoroacetyl and *N*-Trichloroacetyl Group by Sodium Boron Hydride and Applications in Peptide Chemistry

The reductive cleavage of *N*-(trifluoroacetyl)- and *N*-(trichloroacetyl)amines with sodium boron hydride into amines and 2,2,2-trihaloethanols is described. We have used this method for the synthesis of peptides by application of the *N*-trifluoroacetyl and *tert*-butylester protective groups.

Die Anwendung des *N*-Trifluoracetylrestes bei Peptidsynthesen wird durch die Schwierigkeit eingeschränkt, die Schutzgruppe aus sterisch gehinderten Aminosäure- und Peptid-Derivaten zu entfernen. So sind zur Abspaltung des *N*-Tfa-Restes aus Valin- und Isoleucin-Derivaten mit Laugen so drastische Bedingungen erforderlich, daß dabei teilweise Racemisierung und Verseifung von tert.-Butylester-Funktionen beobachtet werden^{2,3)}. Bei *N*-Trifluoracetyl-peptiden, die Asparagyl-tert.-butylester enthalten, bewirken die alkalischen Entacylierungsbedingungen Diacylimidbildung und so α - β -Transpeptidierung oder Hydrolyse der β -tert.-Butylester-Funktion; bei *N*-Tfa-Glutaminy-peptiden bewirken sie Pyrrolidon-Bildung⁴⁾.

*) Neue Adresse: Dr. Erich Frauendorfer, Escuela de Quimica, Universidad Central de Venezuela, Caracas/Venezuela.

¹⁾ XX. Mittcil.: F. Weygandt und H. Fritz, Chem. Ber. 98, 72 (1965).

²⁾ W. König, Dissertat., Techn. Hochschule München 1964.

³⁾ W. Steglich, E. Frauendorfer und F. Weygandt †, Chem. Ber., in Vorbereitung.

⁴⁾ E. Wünsch und F. Drees, Chem. Ber. 99, 110 (1966).

Wie wir fanden, können diese Schwierigkeiten vermieden werden, wenn man den *N*-Trifluoracetylrest mit Natriumborhydrid in Äthanol abspaltet. Die Reduktion ist selbst bei großer sterischer Hinderung nach einer Stunde bei Raumtemperatur beendet. Dabei reagieren Peptidbindungen nicht. Zum Schutz der Carboxylfunktion ist die tert.-Butylgruppe erforderlich, da sie im Gegensatz zum Methylester nur geringfügig vom NaBH₄ angegriffen wird.

Die Abhängigkeit des Reduktionsverlaufes von Lösungsmittel, Temperatur, Reaktionsdauer und Molverhältnis der Reaktanden wurde am Beispiel von Tfa-Leu-Val-OtBu, Tfa-Val-Val-OtBu, Tfa-tert.-Leu-Val-OtBu und Tfa-Pro-Leu-OtBu, untersucht (Tab. 1). Bei diesen Verbindungen ist die sterische Hinderung für die *N*-Tfa-Abspaltung sehr verschieden.

Tab. 1. Abspaltung der *N*-Tfa-Gruppe mit NaBH₄: Prozentsatz an NH₂-Peptidester bei verschiedenen Reaktionszeiten, Temperaturen und Reaktandenverhältnissen

Substanz	Lösungsmittel	Verhältnis <i>N</i> -Tfa-Peptid- ester/NaBH ₄	Temp.	Zeit (Std.n.)	% NH ₂ - Peptid- ester ^{a)}
Tfa-Leu-Val-OtBu	absol. EtOH	1 : 8	60°	1.5	100
Tfa-Leu-Val-OtBu	absol. EtOH	1 : 4	20°	1.0	100
Tfa-Leu-Val-OtBu	96proz. EtOH	1 : 4	20°	1.0	50
Tfa-Val-Val-OtBu	THF	1 : 4	65°	3.2	32
Tfa-Val-Val-OtBu	CH ₃ OH	1 : 4	20°	0.5	11
Tfa-Val-Val-OtBu	tert.-BuOH	1 : 2	80°	10.0	67
Tfa-Val-Val-OtBu	tert.-BuOH	1 : 4	80°	6.0	90
Tfa-Val-Val-OtBu	absol. EtOH	1 : 8	60°	1.0	100
Tfa-Val-Val-OtBu	absol. EtOH	1 : 2	60°	1.0	58
Tfa-Val-Val-OtBu	4% 2 <i>n</i> NaOH + 96% absol. EtOH	1 : 4	20°	1.0	63
Tfa-tert.-Leu-Val-OtBu	THF	1 : 1	20°	48.0	8
Tfa-tert.-Leu-Val-OtBu	tert.-BuOH	1 : 2	80°	1.0	60
Tfa-Pro-Leu-OtBu	absol. EtOH	1 : 4	20°	5 Min.	100 ^{b)}
Tfa-Pro-Phe-OtBu	absol. EtOH	1 : 2	20°	5 Min.	100 ^{b)}

a) Wenn nicht anders angegeben, sind die Prozentzahlen durch planimetrische Integration der Gaschromatogramme bestimmt.

b) Bestimmung der Prozentzahl durch Dünnschichtchromatographie.

Die Reduktion wird jeweils durch Zusatz von Eisessig gestoppt und die erhaltene Lösung gaschromatographisch untersucht, wobei die *N*-Tfa-Dipeptidester und die NH₂-Dipeptidester getrennt werden. Wie die Tabelle zeigt, ist absolutes Äthanol als Reaktionsmedium am besten geeignet. In tert.-Butylalkohol führt die geringe Löslichkeit von NaBH₄ nicht zur vollständigen Umsetzung⁵⁾. In Methanol katalysieren die *N*-Tfa-Derivate die Zersetzung von NaBH₄, so daß kaum eine Reduktion beobachtet wird. Nach zehn Minuten bei Raumtemperatur ist dabei kein Natriumborhydrid mehr vorhanden⁶⁾.

⁵⁾ A. Hajos, Komplexe Hydride, S. 46, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1966.

⁶⁾ H. C. Brown, E. J. Mead und Subba Rao, J. Amer. chem. Soc. 77, 6209 (1955).

Im aprotischen Tetrahydrofuran verläuft die Entacylierung anfänglich gut, kommt aber nach ca. 2 Stdn. zum Stehen. Verschärfte Reaktionsbedingungen führen zur Bildung einer Reihe nicht näher charakterisierter Verbindungen.

Als günstig erwies sich ein Molverhältnis *N*-Tfa-Verbindung/ NaBH_4 von 1 : 4. Die Verwendung von mehr Reduktionsmittel bringt hinsichtlich der Reaktionsdauer keine wesentliche Verbesserung, erschwert jedoch die Aufarbeitung.

Bei *N*-Tfa-Prolyl-Verbindungen verläuft die reduktive Abspaltung des Tfa-Restes besonders schnell und ist beim Molverhältnis 1 : 2 bereits nach 5 Min. beendet.

Ganz analog dem Trifluoracetylrest kann auch der *N*-Trichloracetylrest aus Aminosäure- und Peptid-Derivaten entfernt werden.

Die Abspaltung der *N*-Tfa-Gruppe aus Peptiden verläuft bei Raumtemperatur racemisierungsfrei. Tab. 2 zeigt eine Reihe von *N*-Trifluoracetyl-Verbindungen, die nach der Abspaltung des Tfa-Restes und Rückverwandlung in flüchtige Derivate dem gaschromatographischen Racemisierungstest (nach *Weygand*) unterworfen wurden^{7,3)}.

Tab. 2. Racemisierungsuntersuchung bei der Abspaltung von *N*-Trifluoracetyl- und *N*-Trichloracetylgruppen mit NaBH_4

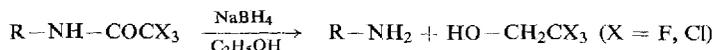
Ausgangsverbindung	Reduzierte Verbindung	Gaschromatographierte Verbindung	Racemisierungsgrad ^{a)}
Tfa-Leu-Val-OtBu	H-Leu-Val-OtBu	Tfa-Leu-Val-OCH ₃	0%
Tfa-Val-Val-OtBu	H-Val-Val-OtBu	Tfa-Val-Val-OCH ₃	0%
Tfa-tert.-Leu-Val-OtBu	H-tert.-Leu-Val-OtBu	Tfa-tert.-Leu-Val-OCH ₃	1% ^{b)}
Tfa-Ile-OtBu	H-Ile-OtBu	Tfa-Leu-Ile-OCH ₃	0%
Tcla-Phe-OtBu	H-Phe-OtBu	Tfa-Val-Phe-OCH ₃	0%

a) Wenn nicht anders angegeben, wird die Reduktion bei 20° durchgeführt.

b) Reduktion bei 60°.

Die gaschromatographische Diastereomerenbestimmung erfolgte an einer 50-m-Stahlkapillarsäule (OS-138 von Perkin-Elmer) unter den in l. c.^{7,3)} angegebenen Bedingungen.

Die Reduktion der *N*-Trifluoracetyl- und *N*-Trichloracetyl-Derivate mit Natriumborhydrid liefert neben der Aminoverbindung die entsprechenden 2.2.2-Trihalogenalkohole:



Eine ähnliche reduktive Spaltung der Amid-Gruppe durch Natriumborhydrid wurde bisher nur bei Diacylamiden⁸⁾ und vinylogenen Diacylamiden⁹⁾ beobachtet. In allen Fällen handelt es sich dabei um Amide, bei denen die Elektrophilie des Carbonylkohlenstoffs besonders hoch ist.

Die Geschwindigkeit der Reduktion hängt stark vom *pK*-Wert des Amins ab. So beträgt die Ausbeute an Amin nach 2 Stdn. bei 20° bei den *N*-Trifluoracetyl-Derivaten

⁷⁾ *F. Weygand, A. Prox, L. Schmidhammer und W. König, Angew. Chem. 75, 282 (1963); Angew. Chem. internat. Edit. 2, 183 (1963).*

⁸⁾ *Z. J. Horii, C. Iwata und Y. Tamura, J. org. Chemistry 26, 2273 (1961); F. C. Uhle, ebenda 26, 2998 (1961); Y. Kondo und B. Witkop, ebenda 33, 206 (1968).*

⁹⁾ *R. E. Lyle und D. A. Nelson, J. org. Chemistry 28, 172 (1963).*

des Cyclohexylamins (pK_b 3.32) 18%, des DL- α -Phenyläthylamins (pK_b 4.6) 73%. Beim Trifluoressigsäure-anilid (Anilin pK_b 9.38) ist die Reaktion bereits nach 36 Min. beendet. *N*-Trifluoracetyl-aminosäure- und -Peptid-Derivate fügen sich in ihrer Reaktivität gut in diese Reihenfolge ein (pK_b von Aminosäureestern und -amiden 6--7)¹⁰.

Tertiäre Trifluoracetamide werden wesentlich schneller gespalten als sekundäre Amide.

Für den Aufbau von Peptiden ist das Verhalten weiterer Schutzgruppen gegenüber Natriumborhydrid von Interesse. Wie wir fanden, werden Urethanschutzgruppen von NaBH₄ nicht angegriffen. So bleiben zum Beispiel Z-Pro-OtBu, Z-Phe-OtBu, Z-Phe-Val-OtBu, Boc-Cys(BzTF)-OH¹¹ und Boc-Cys(ZTF)-OH^{11,11a} beim Behandeln mit NaBH₄ unverändert.

Dagegen werden Methyl-, Äthyl- oder Benzylester mehr oder weniger schnell zum Alkohol reduziert¹². Bei Boc-Phe-Phe-OBzl kann unter verschärften Bedingungen die Esterfunktion vollständig zur Alkoholfunktion reduziert werden. Unter den Standardbedingungen (1 Stde., 20°) beobachtet man bei den tert.-Butylestern von *N*-Tfa-Peptiden ca. 0–3%, von *N*-Tfa-Aminosäuren 5–10% Alkoholbildung. Die entstehenden Alkohole wurden bei Tfa-Phe-OtBu und Tfa-Phe-Phe-OtBu durch Vergleich mit authentischen Proben identifiziert. Die Carboxylgruppe von *N*-Tfa-Peptiden wird bei der reduktiven Entfernung des Tfa-Restes nicht angegriffen.

Die reduktive Entfernung des Trifluoracetylrestes aus β -tert.-Butylestern von Asparaginsäure-Peptiden bereitet im Gegensatz zur Abspaltung mit Lauge⁴) keinerlei Schwierigkeiten. So kann von Tfa-Asp(OtBu)-Tyr(Bzl)-Ser(Bzl)-NH-NH-Z¹³) der Trifluoracetylrest mit NaBH₄ glatt abgespalten werden.

Peptidsynthesen

Um die Anwendbarkeit der neuen Abspaltungsmethode bei der Peptidsynthese zu prüfen, synthetisierten wir das Hexapeptid Phe-Phe-Leu-Ile-Ile-Leu und den *N*-Tfa-Nonapeptid-tert.-butylester Tfa-Phe-Leu-Ile-Ile-Leu-Val-Pro-Pro-Phe-OtBu. Das Nonapeptid entspricht der Sequenz eines aus Leinsamen isolierten Cyclononapeptids¹⁴). Das Hexapeptid ist davon eine Teilsequenz.

Dabei wird der *N*-Trifluoracetylrest mit dem tert.-Butylrest für die Esterfunktion kombiniert. Die Peptidkopplung kann mit Hilfe der *N*-Hydroxy-succinimidester¹⁵) oder der Kombination von Hydroxysuccinimid/Dicyclohexylcarbodiimid (DCCI) racemisierungsfrei durchgeführt werden¹⁶).

¹⁰) E. J. Cohn und J. T. Edsall, *Proteins, Amino Acids, and Peptides*, S. 99, Reinhold Publishing Corporation, New York 1943.

¹¹) H. Siebert, Dissertat., Techn. Hochschule München 1969. — ^{11a}) BzTF = 2.2.2-Trifluor-1-benzoylamino-äthyl-; ZTF = 2.2.2-Trifluor-1-benzoyloxycarbonylamino-äthyl-.

¹²) H. Rapoport und M. S. Brown, *J. org. Chemistry* **28**, 3261 (1963).

¹³) Herrn Priv.-Doz. Dr. E. Wünsch danken wir für die Überlassung dieses Peptidderivats.

¹⁴) A. Prox und F. Weygand in *Peptides* (Herausgeber H. C. Beyermann, A. van de Linde und W. M. van den Brink), S. 158, North Holland Publishing Co., Amsterdam 1967.

¹⁵) G. W. Anderson, J. E. Zimmerman und F. M. Callahan, *J. Amer. chem. Soc.* **86**, 1839 (1964).

¹⁶) F. Weygand, D. Hoffmann und E. Wünsch, *Z. Naturforsch.* **21 b**, 246 (1966).

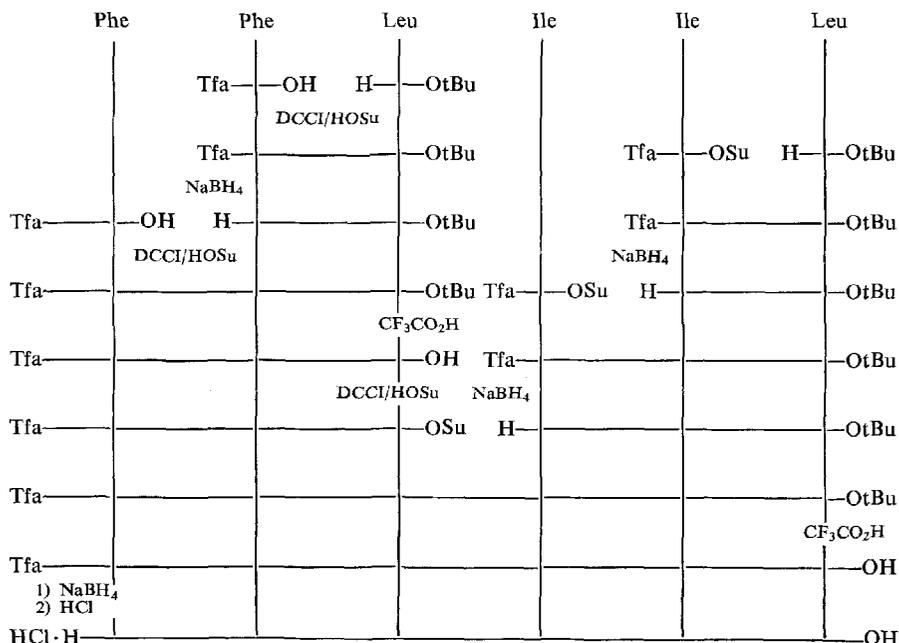
Die zur Synthese verwendeten *N*-Trifluoracetyl-aminosäure-[*N*-hydroxy-succinimidester] (OSu = *N*-Hydroxy-succinimidester) sind in Tab. 3 zusammengefaßt.

Tab. 3. Dargestellte *N*-Hydroxy-succinimidester von *N*-Tfa-Aminosäuren

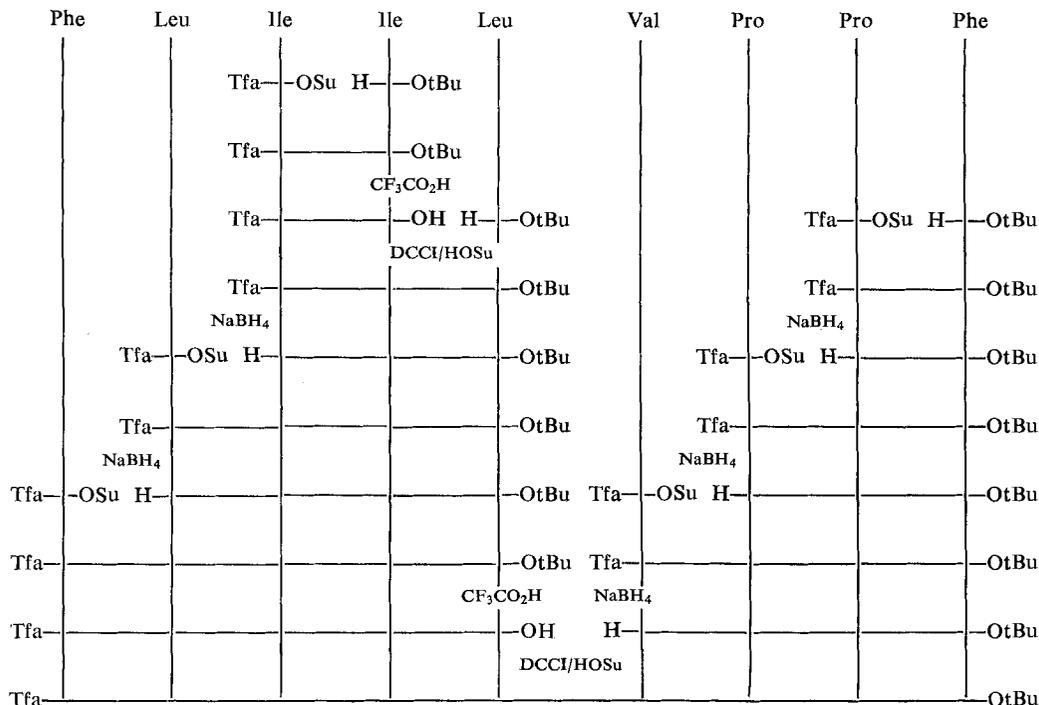
Derivat	Ausb. %	$[\alpha]_{25}^{20}$ (c = 1 in CH ₃ OH)	Schmp.	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analyse C H N
Tfa-Leu-OSu	76	-50.8°	124--126°	C ₁₂ H ₁₃ F ₃ N ₂ O ₅ (324.3)	Ber. 44.45 4.66 8.62 Gef. 44.46 4.80 8.53
Tfa-Ile-OSu	81	-63.6°	94--96°	C ₁₂ H ₁₃ F ₃ N ₂ O ₅ (324.3)	Ber. 44.45 4.66 8.62 Gef. 44.43 4.76 8.52
Tfa-Val-OSu	85	-73.3°	101--103°	C ₁₃ H ₁₃ F ₃ N ₂ O ₅ (310.2)	Ber. 42.59 4.22 9.02 Gef. 42.60 4.22 8.99
Tfa-Pro-OSu	87	-98.0°	116--118°	C ₁₁ H ₁₁ F ₃ N ₂ O ₅ (308.2)	Ber. 42.87 3.60 9.07 Gef. 43.03 3.62 9.04

Sie sind im allgemeinen gut kristallisierende Verbindungen, im Fall des Phenylalanins jedoch recht unbeständig, so daß diese Substanz sofort nach ihrer Bereitung zur Synthese eingesetzt werden sollte.

Der Syntheseverlauf der beiden Peptidsequenzen ist aus den Schemata ersichtlich.



Die Synthese des Hexapeptids verläuft in hohen Ausbeuten. Da es in organischen Lösungsmitteln und in Wasser fast unlöslich ist, bleibt am Ende der Synthese zum Abtrennen des Borats nur das Auswaschen mit Salzsäure.



Die Ausbeute bei der Synthese von Tfa-Phe-Leu-Ile-Ile-Leu-OtBu könnte höher sein, wenn man frisch bereitetes Tfa-Phe-OSu verwenden würde. Bei der Synthese von Tfa-Val-Pro-Pro-Phe-OtBu bereitet die sterische Hinderung am Prolin Schwierigkeiten. Die Ausbeuten sind niedrig und die entstehenden öligen Produkte schwer zu reinigen. Der *N*-Tfa-Tetrapeptid-tert.-butylester wird durch Chromatographie in Essigester an Kieselgel gereinigt. Nach längerem Stehenlassen kristallisiert die Verbindung. Das Massenspektrum zeigt den Molekularpeak $m/e = 611$ und den Zerfall in die Sequenz-Ionen.

Die bei den Reduktionen in geringer Menge entstehenden Peptidalkohole bereiten keine Schwierigkeiten, da sie langsamer mit den aktivierten Estern reagieren als die Peptidester und da sie beim Umkristallisieren der *N*-Tfa-Peptidester leicht abzutrennen sind.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sich die neue Methodik zur raschen Synthese von Peptiden eignet. Inwieweit sie auch auf Peptide mit trifunktionellen Aminosäuren übertragbar ist, muß noch untersucht werden.

Dem Bundesministerium für wissenschaftliche Forschung danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit. Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Tschesche gilt unser Dank für die Durchführung der Aminosäureanalysen.

Beschreibung der Versuche

1) Allgemeine Reduktionsvorschrift für N-Tfa-Peptid-tert.-butylester

Zur Lösung oder Suspension von 1 mMol N-Tfa-Peptidester in 5 ccm absol. Äthanol gibt man 4 mMol feingepulvertes NaBH_4 (bei N-Tfa-Pro-Verbindungen 2 mMol). Das Reaktionsgefäß wird mit einem U-Rohr verschlossen, das als Sperrflüssigkeit Paraffinöl enthält, um die H_2 -Entwicklung verfolgen zu können. Die anfangs auftretende Reaktionswärme führt man durch Kühlen ab. Dann rührt man 1 Stde. bei Raumtemp. (bei N-Tfa-Pro-Verbindungen 6 Min.). Suspendierte Substanzen lösen sich dabei allmählich. Zur Beseitigung des Borhydrid-Überschusses wird die Lösung unter Kühlung mit derselben Menge Aceton versetzt und dann noch 15 Min. gerührt. Man dampft i. Vak. ein und versetzt den Rückstand zur Zersetzung der Borkomplexe mit Wasser. Die wäßrige Lösung schüttelt man mehrmals mit Essigester aus, trocknet mit Na_2SO_4 und zieht das Lösungsmittel am Rotavapor ab. (Bei gut wasserlöslichen Verbindungen verwendet man eine gesättigte K_2CO_3 -Lösung zur Zersetzung der Borkomplexe und Methylenchlorid zum Ausschütteln.) Dünnschichtchromatographisch wird die Vollständigkeit der Reaktion geprüft. Die Chromatogramme werden durch Behandeln mit Chlor (15 Min.) und anschließendes Besprühen mit Kaliumjodid/Stärke-Lösung angefärbt. Wichtig ist, daß man gutes NaBH_4 verwendet. In 5 ccm absol. Äthanol müssen 4 mMol NaBH_4 eine klare Lösung ergeben.

2) Untersuchung des Lösungsmiteleinflusses auf die Reduktion von N-Tfa-Peptidestern

Die in Tab. 1 angegebenen N-Tfa-Peptidester (1m Mol) werden in dem betreffenden Lösungsmittel (5 ccm) mit der berechneten Menge feingepulvertem NaBH_4 versetzt. Nach den genannten Zeiten werden Proben der entstandenen klaren Lösung entnommen, mit Eisessig versetzt und die resultierende Lösung sofort gaschromatographiert (Tab. 4).

Tab. 4. Retentionswerte der Reduktionsgemische von N-Tfa-Dipeptid-tert.-butylestern bei der Auftrennung an $1/8''$ Säulen (2 m), belegt mit 0.5% FFAP auf Chromosorb G (80–100 mesh); Trägergas 30 ccm $\text{N}_2/\text{Min.}$, Detektor FID, 30 ccm $\text{H}_2/\text{Min.}$ und 300 ccm Luft/Min.

Peptid	Retentionszeit (Min.) (X = Tfa oder H)	Säulen- temperatur
X-Val-Val-OtBu	Tfa 3.8 H 4.6	150°
X-Leu-Val-OtBu	Tfa 2.3 H 2.9	160°
X-tert.-Leu-Val-OtBu	Tfa 3.4 H 5.3	150°

Racemisierungskontrolle bei der Entacylierung von:

3) N-Trifluoracetyl-L-valyl-L-valin-tert.-butylester: 207 mg Tfa-L-Val-L-Val-OtBu (0.56 mMol) werden mit 86 mg (2.25 mMol) NaBH_4 in 3.5 ccm Äthanol reduziert. Man erhält 142 mg (93%) Valyl-valin-tert.-butylester. Dieser wird mit 5 ccm Trifluoressigsäure-methylester (TFEM) und einigen Tropfen Triäthylamin (bis zur schwach basischen Reaktion) versetzt¹⁷⁾. Nach Stehenlassen über Nacht bei Raumtemp. (Lösung ist ninhydrinnegativ) dampft man i. Vak. ein, nimmt in Essigester auf, wäscht mit 0.5n Citronensäure-, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser, trocknet über Na_2SO_4 und dampft die Lösung i. Vak. ein. Der Rückstand wird mit 1.0 ccm Trifluoressigsäure 10 Min. gekocht und die Trifluoressigsäure i. Vak. abdestilliert. Dreimal wird mit absol. Äther nachdestilliert und der Rückstand mit Diazomethan methyliert. Das entstandene Tfa-Val-Val-OCH₃ erweist sich beim Gaschromatographieren an der Kapillarsäule⁷⁾ als reine L-L-Verbindung.

¹⁷⁾ F. Weygand und R. Geiger, Chem. Ber. 92, 2099 (1959).

4) *N*-Trifluoracetyl-*L*-leucyl-*L*-valin-*tert*-butylester: 191 mg *Tfa-L-Leu-L-Val-OtBu* (0.5 mMol) werden mit 76 mg (2.0 mMol) NaBH_4 in 2.5 ccm absol. Äthanol reduziert. Man erhält 138 mg *Leucyl-valin-tert-butylester* (94%), der wie bei 3) in *Tfa-Leu-Val-OCH*₃ übergeführt wird. Die Verbindung erweist sich bei der Gaschromatographie an der Kapillare als reine *L-L*-Form.

5) *N*-Trifluoracetyl-*L-tert-leucyl-L-valin-tert-butylester*³⁾: 191 mg *Tfa-L-tert-Leu-L-Val-OtBu* (0.5 mMol) werden mit 76 mg (2.0 mMol) NaBH_4 in 2.5 ccm absol. Äthanol bei 60° reduziert. Man erhält 130 mg *tert-Leucyl-valin-tert-butylester* (91%), der wie bei 3) in *Tfa-tert-Leu-Val-OCH*₃ übergeführt wird. (Die Vollständigkeit der Trifluoracetylierung wird wegen der sterischen Hinderung gaschromatographisch überprüft.) Beim Racemisierungstest an der Kapillarsäule findet man 1% Racemisierung.

6) *N*-Trifluoracetyl-*L-isoleucin-tert-butylester**): 243 mg durch Reduktion aus *Tfa-L-Ile-OtBu* gewonnener *Isoleucin-tert-butylester* (1.3 mMol) werden in 5 ccm Methylenchlorid bei 0° mit 422 mg *Tfa-L-Leu-OSu* (1.3 mMol) gerührt. Man läßt über Nacht auftauen und rührt insgesamt 100 Stdn. Nach Abziehen des Lösungsmittels i. Vak. nimmt man den Rückstand in Essigester auf und schüttelt mit 0.5*n* Citronensäure-, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und Wasser aus. Nach Trocknen über Natriumsulfat und Abziehen des Lösungsmittels erhält man 495 mg *N-Trifluoracetyl-L-leucyl-isoleucin-tert-butylester* (96%), der wie bei 3) in *Tfa-Leu-Ile-OCH*₃ übergeführt wird. Bei der Gaschromatographie an der Kapillarsäule wird nur der *L-L*-Peak gefunden.

7) *N*-Trichloracetyl-*L-phenylalanin-tert-butylester***): 220 mg durch Reduktion aus *Tcla-L-Phe-OtBu* gewonnener *Phenylalanin-tert-butylester* (1 mMol) werden mit 310 mg *Tfa-L-Val-OSu* (1 mMol) in 5 ccm Methylenchlorid 100 Stdn. wie bei 6) umgesetzt und aufgearbeitet. Man erhält 382 mg *N-Trifluoracetyl-L-valyl-phenylalanin-tert-butylester* (92%), der in *Tfa-L-Val-Phe-OCH*₃ übergeführt wird. Bei der Gaschromatographie an der Kapillarsäule⁷⁾ erweist es sich als das reine *L-L*-Diastereomere.

Nachweis der Trihalogenalkohole

8) 2,2,2-Trifluor-äthanol: 1.91 g *Tfa-Val-Leu-OtBu* (5 mMol) werden in 10 ccm absol. Äthanol 1 Stde. mit 0.76 g NaBH_4 reduziert. Dann gibt man 10 ccm 50proz. Essigsäure zu und untersucht die entstandene Lösung gaschromatographisch (Säule 3 m, 1/8'', 0.5% FFAP auf Chromosorb G 80–100 mesh, Säulentemperatur 20°, Einspritzblock und FID 100°, Trägergas 25 ccm $\text{N}_2/\text{Min.}$, FID 25 ccm $\text{H}_2/\text{Min.}$, 400 ccm Luft/Min.). Die planimetrische Integration des erhaltenen Gaschromatogramms ergibt 97.8% Äthanol und 2.2% ± 0.2% $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$. Entsprechende Mischungen von Äthanol und $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ergeben dieselben Werte. Die Berechnung ergibt einen Gehalt von 2.8% 2,2,2-Trifluor-äthanol.

9) 2,2,2-Trichlor-äthanol und *H-Phe-OtBu*: 10.5 g *Tcla-Phe-OtBu* (28.7 mMol) werden in 150 ccm absol. Äthanol mit 4.55 g NaBH_4 (120 mMol) 1 Stde. reduziert. Nach dem Vernichten von überschüssigem NaBH_4 mit Aceton wird zur Trockene eingedampft. Den Rückstand versetzt man mit wenig Wasser und zieht die erhaltene Emulsion mehrmals mit Äther aus. Nach Trocknen der vereinigten Ätherextrakte mit Natriumsulfat wird das Lösungsmittel

*) *Tfa-L-Ile-OtBu* aus *Tfa-L-Ile-OH* und Isobuten: Ausb. 91% Öl, $[\alpha]_{546}^{20}$: -37.1° ($c = 1$ in Methanol).

$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{NO}_3$ (283.3) Ber. C 50.88 H 7.12 N 4.94 Gef. C 50.81 H 7.09 N 4.98

**) Aus *N*-Trichloracetyl-*L-phenylalanin* und Isobuten mit 93% Ausb., Schmp. 65–67°, $[\alpha]_{546}^{20}$: -5.1° ($c = 1$ in Methanol).

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{Cl}_3\text{NO}_3$ (366.6) Ber. C 49.13 H 4.95 N 3.82 Gef. C 49.32 H 4.99 N 4.02

abgezogen. Das verbleibende Öl wird bei 0.1 Torr destilliert. Bei 26° gehen 2.6 g (61%) 2.2.2-Trichlor-Äthanol über, Sdp.₇₆₀ 150° (Identifizierung durch Spektrenvergleich mit authent. Material).

Dann gehen bei 85°/0.1 Torr 4.1 g *H-Phe-OtBu* (Lit.¹⁸): 107°/0.25), das aber ein Nebenprodukt enthält, über. Ausb. 65%.

10) *Reduktion von N-Trifluoracetyl-propyl-leucin-tert.-butylester*: 0.38 g *Tfa-Pro-Leu-OtBu* (Schmp. 88–89°) (1 mMol) werden in 5 ccm absol. Äthanol unter Kühlung mit 76 mg *NaBH₄* versetzt. Nach 6 Min. wird mit 5 ccm Aceton versetzt und 15 Min. weitergerührt. Dann arbeitet man nach der allgemeinen Vorschrift 1) auf. Man erhält 261 mg öliges, nicht kristallisierbares *H-Pro-Leu-OtBu* (92%). 190 mg davon (0.67 mMol) rührt man mit 5 ccm *Trifluorothioessigsäure-S-Äthylester* und 0.5 ccm *N-Äthyl-diisopropylamin* über Nacht¹⁹). Dann wird i. Vak. eingedampft, der Rückstand in Essigester aufgenommen und die Lösung mit 0.5 n Citronensäure-, gesättigter *NaHCO₃*-Lösung und Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel abgezogen und aus Essigester/Petroläther umkristallisiert. Ausb. ca. 70% *Tfa-Pro-Leu-OtBu*, Schmp. 88–89°.

11) *Reduktion von Trifluoressigsäure-cyclohexylamid*: 5.85 g *Trifluoressigsäure-cyclohexylamid* (30 mMol) (Schmp. 93–94°, Lit.²⁰): 94–95°) in 150 ccm Äthanol werden mit 4.5 g *NaBH₄* (120 mMol) bei Raumtemp. 2 Stdn. reduziert. Dann werden unter starker Kühlung 150 ccm Aceton zugegeben und 30 Min. weitergerührt. Nach Abziehen des Lösungsmittels versetzt man mit halbkonzentrierter *Salzsäure* bis zur sauren Reaktion und schüttelt mit Äther aus, wobei 4.8 g (82%) Ausgangsverbindung zurückgewonnen werden. Die salzsaure Lösung wird mit festem *K₂CO₃* alkalisch gemacht und dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Nach Trocknen mit Natriumsulfat wird eingeengt und gaschromatographiert. Das Gaschromatogramm zeigt keine Ausgangsverbindung, aber *Cyclohexylamin* und Spuren einer weiteren nicht identifizierten Substanz. *CF₃CH₂NHC₆H₁₁* wurde durch Vergleich ausgeschlossen. (Trägergas 30 ccm *N₂*/Min., Detektor FID, 30 ccm *H₂*/Min., 300 ccm Luft/Min., Säulentemperatur 55°, Säule 2 m, 1/8", belegt mit 5% SE 30 auf Chromosorb W DMCS.) Retentionszeiten: *Cyclohexylamin* 2.4 Min., *CF₃CH₂NHC₆H₁₁* 4.6 Min., *N-Trifluoracetyl-cyclohexylamin* 5.5 Min.

12) *Reduktion von Trifluoressigsäure-DL-[1-phenyl-äthylamid]*: 6.5 g *Tfa-DL-NHCH(C₆H₅)CH₃* (30 mMol) (Sdp._{0.001} 68°, Lit.²⁰): 70°/0.001) in 150 ccm absol. Äthanol reduziert man mit 4.5 g *NaBH₄* (120 mMol). Nach 2 Stdn. wird das restliche *NaBH₄* vernichtet und die Lösung zur Trockene gebracht. Wie bei 11) kann die Ausgangsverbindung zurückgewonnen werden. 1.75 g (27%).

Das Gaschromatogramm der basischen Produkte zeigt nur *1-Phenyl-äthylamin* und Spuren eines Nebenprodukts (Säulentemperatur 80°, sonstige GC-Bedingungen wie bei 11)). Retentionszeiten: *1-Phenyl-äthylamin* 3.3 Min., Nebenprodukt 6.8 Min.

Vergleiche: *CF₃CH₂NHCH(C₆H₅)CH₃* 4.1 Min., *CH₃CH₂NHCH(C₆H₅)CH₃* 5.8 Min.

13) *Reduktion von Trifluoressigsäure-anilid*: 1.89 g *Tfa-Anilin* (10 mMol) werden in 50 ccm absol. Äthanol mit 1.52 g *NaBH₄* versetzt. Alle 4 Min. wird 1 ccm der Lösung abgenommen und die Reaktion mit 2 n *HCl* gestoppt. Dann wird bei 85° Säulentemperatur gaschromatographiert (sonstige GC-Bedingungen wie bei 11), Retentionszeit von *Tfa-Anilin* = 3.8 Min.).

¹⁸) G. W. Anderson und F. Callahan, J. Amer. chem. Soc. **82**, 3359 (1960).

¹⁹) E. E. Schallenberger und N. Calvin, J. Amer. chem. Soc. **77**, 2779 (1955).

²⁰) M. Pailer und W. J. Huebsch, Mh. Chem. **97**, 1541 (1966).

Nach 36 Min. Reaktionszeit tritt kein Tfa-Anilin im Chromatogramm mehr auf. Nach 1 Stde. wird die restliche Reduktionslösung wie bei 1) aufgearbeitet, und man erhält nach dem Destillieren reines *Anilin*.

Nachweis der Nebenprodukte als Peptidalkohole

14) *Im Falle des N-Trifluoracetyl-phenylalanyl-phenylalanin-tert.-butylesters*

a) 1 mMol *Tfa-Phe-Phe-OtBu* wird nach Vorschrift 1) reduziert.

b) 1 mMol *Boc-Phe-Phe-OBzl* wird mit 8 mMol NaBH_4 2 Stdn. reduziert. Ausb. an *N-tert.-Butyloxycarbonyl-phenylalanyl-phenylalaninol* 90%. Schmp. 148–149°.

$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$ (398.5) Ber. C 69.32 H 7.59 N 7.03 Gef. C 69.44 H 7.67 N 6.94

Mit *Trifluoressigsäure* spaltet man in 10 Min. den Boc-Rest ab und vergleicht dünnschichtchromatographisch mit dem Reduktionsprodukt von a). Das Nebenprodukt von a) stimmt mit dem *Phenylalanyl-phenylalaninol* überein.

15) *Im Falle des N-Trifluoracetyl- und N-Trichloracetyl-phenylalanin-tert.-butylesters*

a) 1 mMol *L-Phenylalanin-methylester* wird mit 8 mMol NaBH_4 bis zum *Phenylalaninol* reduziert. Ausb. 90%, Schmp. 90–91° (Lit.²¹): 85–86°.

b) Bei 2.0 g des höhersiedenden Destillats von 9) trennt man das Nebenprodukt durch Chromatographie an Kieselgel ab. Man erhält 0.15 g reines Nebenprodukt und 1.7 g reines *L-Phe-OtBu*. Diese 1.7 g werden mit *Trifluoressigsäure-methylester* trifluoracetyliert¹⁹). Man erhält 2.2 g öliges *Tfa-Phe-OtBu*.

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{NO}_3$ (317.3) Ber. C 56.9 H 5.7 N 4.3 Gef. C 56.4 H 6.0 N 4.4

c) 2.1 g dieses *Tfa-Phe-OtBu* (6.6 mMol) werden mit NaBH_4 reduziert. Das dabei entstehende Nebenprodukt wird chromatographisch abgetrennt.

Im dünnschichtchromatographischen Vergleich sind die Nebenprodukte von b) und c) identisch mit *Phenylalaninol*.

16) *Asparagyl(β-tert.-butylester) - O-benzyl-tyrosyl-O-benzyl-serin-[2-benzyloxycarbonyl-hydrazid]*: 432 mg *Tfa-Asp(OtBu)-Tyr(OBzl)-Ser(OBzl)-NH-NH-Z¹³* (0.5 mMol) werden in einer Mischung aus 10 ccm absol. Äthanol und 4 ccm absol. Tetrahydrofuran mit 76 mg NaBH_4 (2 mMol) reduziert. Nach dem Aufarbeiten erhält man 360 mg öliges Produkt (94%).

$\text{C}_{42}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_9$ (767.9) Ber. C 65.7 H 6.43 N 9.12 Gef. C 65.5 H 6.67 N 9.27

17) *Isoleucyl-leucin*: 1 mMol *Tfa-Ile-Leu-OH* wird mit 5 mMol NaBH_4 reduziert. Der Reduktionsrückstand wird in 80proz. Methanol aufgenommen und durch dünnschichtchromatographischen Vergleich mit authent. Material als *Ile-Leu* identifiziert.

18) *Stabilität von Urethan-Schutzgruppen gegen NaBH₄*: Jeweils 1 mMol von *Z-Pro-OtBu* (Schmp. 44°), *Z-Phe-OtBu* (Schmp. 79–80°), *Z-Phe-Val-OtBu* (Schmp. 96–98°) und *Boc-Val-Val-OtBu* werden wie unter 1) mit NaBH_4 behandelt. Die wiedergewonnenen Substanzen sind alle ninhydrinnegativ. Schmelzpunkte, Dünnschichtchromatogramme und IR-Spektren stimmen mit denen der Ausgangsverbindungen überein.

19) *N-Tfa-Aminosäure-[N-hydroxy-succinimidester]* (allgemeine Vorschrift) (Tab. 3): Zu 50 mMol *N-Tfa-Aminosäure* in 200 ccm Methylenchlorid gibt man 55 mMol *N-Hydroxy-succinimid*, kühlt auf 0° und tropft 55 mMol *Dicyclohexylcarbodiimid* in 30 ccm Methylenchlorid zu. Man läßt über Nacht auftauen und filtriert nach kurzem Abkühlen auf 0° den aus-

²¹) P. Karrer, P. Portmann und M. Suter, *Helv. chim. Acta* **31**, 1617 (1948).

gefallenen Dicyclohexylharnstoff ab. Dann wird das Lösungsmittel abgezogen und der Rückstand in wenig Acetonitril aufgenommen. Ungelöster Dicyclohexylharnstoff wird abfiltriert und das Lösungsmittel wieder abgezogen. Der Rückstand wird in Essigester aufgenommen, die Lösung mehrmals mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingengt. Dann fällt man mit Petroläther.

Synthese von L-Phenylalanyl-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-isoleucyl-L-isoleucyl-L-leucin

20) *N-Trifluoracetyl-L-isoleucyl-L-leucin-tert.-butylester*: 7.13 g *Tfa-Ile-OSu* (22 mMol) und 3.74 g *H-Leu-OtBu* (20 mMol) läßt man in 200 ccm Methylenchlorid 90 Stdn. miteinander reagieren. Dann gibt man 520 mg (4 mMol) *1-[2-Amino-äthyl]-piperazin* zu und rührt 10 Min. Nach Eindampfen der Lösung i. Vak. wird in Essigester aufgenommen und mit 0.5 *n* Citronensäure-, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser geschüttelt. Nach Trocknen der Essigesterlösung mit Natriumsulfat dampft man i. Vak. ein. Man erhält ein analysenreines Produkt, Ausb. 7.8 g (98%), Schmp. 107–108°, $[\alpha]_{546}^{20}$: -95.0° ($c = 1$ in Methanol).

$C_{18}H_{31}F_3N_2O_4$ (396.5) Ber. C 54.53 H 7.88 N 7.07 Gef. C 54.68 H 8.08 N 7.04

21) *L-Isoleucyl-L-leucin-tert.-butylester*: 7.7 g des unter 20) gewonnenen *Tfa-Peptidesters* (19.5 mMol) werden mit 2.95 g (78 mMol) *NaBH_4* in 100 ccm absol. Äthanol wie unter 1) reduziert und aufgearbeitet. Man erhält 5.55 g (95%) öliges *Ile-Leu-OtBu*, $[\alpha]_{546}^{20}$: -37.2° ($c = 1$ in Methanol).

$C_{16}H_{32}N_2O_3$ (300.5) Ber. C 63.96 H 10.74 N 9.32 Gef. C 63.57 H 10.56 N 9.44

22) *N-Trifluoracetyl-L-isoleucyl-L-isoleucyl-L-leucin-tert.-butylester*: 5.4 g (18 mMol) *Ile-Leu-OtBu* läßt man in 150 ccm Methylenchlorid 105 Stdn. mit 7 g (21.6 mMol) *Tfa-Ile-OSu* reagieren. Dann gibt man 780 mg (6 mMol) *1-[2-Amino-äthyl]-piperazin* zu und rührt 10 Min. Nach Aufarbeiten wie unter 20) und Umkristallisieren aus Essigester/Petroläther erhält man 7.6 g analysenreine Verbindung (83%), Schmp. 208°, $[\alpha]_{546}^{20}$: -118.0° ($c = 1$ in Methanol).

$C_{24}H_{42}F_3N_3O_5$ (509.6) Ber. C 56.56 H 8.31 N 8.25 Gef. C 56.67 H 8.15 N 8.22

Aminosäureanalyse: Ile 1.96, Leu 1.00.

23) *L-Isoleucyl-L-isoleucyl-L-leucin-tert.-butylester*: 7.4 g (14.5 mMol) *Tfa-Ile-Ile-Leu-OtBu* werden mit 58 mMol *NaBH_4* wie unter 1) reduziert. Ausb. 5.85 g (97%), Schmp. 122–124°, $[\alpha]_{546}^{20}$: -75.0° ($c = 1$ in Methanol).

$C_{22}H_{43}N_3O_5$ (413.6) Ber. C 63.89 H 10.48 N 10.16 Gef. C 63.59 H 10.32 N 10.36

24) *N-Trifluoracetyl-L-phenylalanyl-L-leucin-tert.-butylester*: 5.23 g (20 mMol) *N-Trifluoracetyl-L-phenylalanin* und 3.76 g (20 mMol) *L-Leucin-tert.-butylester* werden in 200 ccm Methylenchlorid bei 0° unter Rühren mit 2.53 g (22 mMol) *N-Hydroxy-succinimid* und 4.55 g (22 mMol) *Dicyclohexylcarbodiimid* versetzt. Man läßt über Nacht auftauen, kühlt nochmals kurz auf 0° ab und filtriert vom ausgeschiedenen Dicyclohexylharnstoff. Dann dampft man die Lösung i. Vak. ein, nimmt den Rückstand in Essigester auf und arbeitet wie unter 20) weiter auf. Aus Hexan 8.3 g (97%), Schmp. 139–140°, $[\alpha]_{546}^{20}$: -11.5° ($c = 1$ in Methanol).

$C_{21}H_{29}F_3N_3O_4$ (430.5) Ber. C 58.60 H 6.79 N 6.51 Gef. C 58.42 H 6.75 N 6.53

25) *L-Phenylalanyl-L-leucin-tert.-butylester*: 7 g (16.3 mMol) *Tfa-Phe-Leu-OtBu* werden mit 2.46 g *NaBH_4* reduziert. Man erhält 5.28 g öliges *Phe-Leu-OtBu* (97%). Die Substanz wurde nicht charakterisiert, sondern gleich weiter umgesetzt.

26) *N-Trifluoracetyl-L-phenylalanyl-L-phenylalanyl-L-leucin-tert.-butylester*: 4.9g (14.7mMol) *Phe-Leu-OtBu* und 3.84 g (14.7 mMol) *Tfa-Phe-OH* werden in 200 ccm CH_2Cl_2 bei 0° mit

1.85 g (16.1 mMol) *N-Hydroxy-succinimid* und 3.32 g (16.1 mMol) *Dicyclohexylcarbodiimid* versetzt. Nach 12 Stdn. Reaktionszeit arbeitet man wie bei 24) auf. (Den Dicyclohexylharnstoff filtriert man aber bei Raumtemp. ab.) Ausb. 6.6 g (79%), aus Acetonitril, Schmp. 172 bis 176°, $[\alpha]_{546}^{20}$: -3.3° ($c = 1$ in Eisessig).

$C_{30}H_{38}F_3N_3O_5$ (577.7) Ber. C 62.38 H 6.63 N 7.27 Gef. C 62.20 H 6.70 N 7.46

Aminosäureanalyse: Leu 1.00, Phe 2.03.

27) *N-Trifluoracetyl-L-phenylalanyl-L-phenylalanyl-L-leucin*: 8.9 g (15.5 mMol) *Tfa-Phe-Phe-Leu-OtBu* werden 2 Stdn. bei Raumtemp. mit *Trifluoressigsäure* behandelt. Dann wird i. Vak. zur Trockene eingedampft und zweimal Methanol nachdestilliert. Den Rückstand trocknet man über KOH und verreibt ihn anschließend mit Äther. Ausb. 7.5 g (93%), Schmp. 215–218°. Die Substanz wurde ohne nähere Charakterisierung weiter umgesetzt.

28) *N-Trifluoracetyl-L-phenylalanyl-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-isoleucyl-L-isoleucyl-L-leucin-tert.-butylester*: 6.9 g (13.2 mMol) *Tfa-Phe-Phe-Leu* werden in 200 ccm Methylenchlorid bei 0° mit 1.67 g (14.6 mMol) *N-Hydroxy-succinimid* und 3.0 g (14.6 mMol) *Dicyclohexylcarbodiimid* versetzt. Nach 24 Stdn. Reaktionszeit filtriert man 3.1 g Dicyclohexylharnstoff ab und dampft die Lösung ein.

7.4 g (ca. 12 mMol) des Rückstandes löst man in 200 ccm absol. Dimethylformamid und gibt bei 0° unter Rühren 5.85 g (14.1 mMol) *Ile-Ile-Leu-OtBu* zu. Nach 24 Stdn. wird die Kühlung entfernt und man läßt noch 4 Tage bei Raumtemp. weiterrühren. Dann fällt man mit 300 ccm Wasser vollständig aus, läßt einen Tag stehen und zentrifugiert ab. Der Rückstand wird mehrfach in einer Reibschale mit 0.5 *n* Citronensäure-, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung sowie Wasser verrieben und wieder abzentrifugiert. Nach Trocknen über P_2O_5 kocht man die Substanz mit Methanol aus. Es bleiben 10.0 g sauberer Rückstand (91%), Zers.-P. 278°, $[\alpha]_{546}^{17}$: -42.3° ($c = 0.7$ in Hexamethylphosphorsäuretriimid).

$C_{48}H_{71}F_3N_6O_8$ (917.1) Ber. C 62.86 H 7.80 N 9.16 Gef. C 62.22 H 7.70 N 9.31

Aminosäureanalyse: Phe 2.00, Ile 1.99, Leu 2.04.

29) *L-Phenylalanyl-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-isoleucyl-L-isoleucyl-L-leucin-hydrochlorid*: 306 mg (0.33 mMol) *Tfa-Phe-Phe-Leu-Ile-Ile-Leu-OtBu* werden 48 Stdn. bei Raumtemp. mit *Trifluoressigsäure* behandelt. Dann zieht man diese ab und dampft zweimal Methanol nach. Nach Trocknen i. Hochvak. über KOH digeriert man mehrmals mit absol. Äther. Ausb. 260 mg (90%).

260 mg (0.3 mMol) *N-Tfa-Hexapeptid* werden in 20 ccm Äthanol suspendiert und bei 60° 152 mg $NaBH_4$ (4 mMol) langsam zugegeben, wobei eine klare Lösung entsteht. Nach 1 Stde. gibt man 20 ccm Aceton zu, läßt abkühlen und dampft die entstandene Suspension i. Vak. zur Trockene ein. Den Rückstand verreibt man zur Entfernung des Borats mit 2 *n* HCl und zentrifugiert ab. Nach mehrfacher Wiederholung wäscht man mit Wasser und trocknet i. Hochvak. Die Substanz ist dünnschichtchromatographisch einheitlich. Ausb. 165 mg (69%), Zers.-P. 292°, $[\alpha]_{546}^{20}$: -51.8° ($c = 0.5$ in Eisessig).

$C_{42}H_{65}N_6O_7Cl$ (801.5) Ber. C 62.94 H 8.17 N 10.49 Gef. C 63.23 H 8.42 N 10.67

Aminosäureanalyse: Ile 2.03, Leu 2.00, Phe 2.00.

30) *Synthese von N-Trifluoracetyl-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-isoleucyl-L-isoleucyl-L-leucyl-L-valyl-L-prolyl-L-prolyl-L-phenylalanin-tert.-butylester*: Die Vorschriften zur Synthese dieses Nonapeptid-Derivats sind analog denen bei der Synthese von *Tfa-Phe-Phe-Leu-Ile-Ile-Leu-OtBu*. Wir verzichten deshalb auf die einzelnen Vorschriften (Tab. 5 und 6).

Tab. 5. Daten der bei der Synthese von Tfa-Phe-Leu-Ile-Ile-Leu-Val-Pro-Pro-Phe-OtBu dargestellten Verbindungen

Peptid	Ausb. %	Schmp.	$[\alpha]_{546}^{20}$ (c in Lösungsmittel)	Summenformel (Mol.-Gew.)	C	Analyse H	N
Tfa-Ile-Ile-OtBu	97	88–91°	–76.5° (1; CH ₃ OH)	C ₁₈ H ₃₁ F ₃ N ₂ O ₄ (396.5)	Ber. 54.53 Gef. 54.71	7.88 7.89	7.07 7.05
Tfa-Ile-Ile-Leu-OtBu	71	208°	–118° (1; CH ₃ OH)	C ₂₄ H ₄₂ F ₃ N ₃ O ₅ (509.6)	Ber. 56.56 Gef. 56.67	8.31 8.15	8.25 8.22
H-Ile-Ile-Leu-OtBu	98	122–124°	–75.0° (1; CH ₃ OH)	C ₂₂ H ₄₃ N ₃ O ₄ (413.6)	Ber. 63.89 Gef. 63.59	10.48 10.32	10.16 10.36
Tfa-Leu-Ile-Ile- Leu-OtBu	87	245° Zers.	–109.0° (0.5; CH ₃ CO ₂ H)	C ₃₀ H ₅₃ F ₃ N ₄ O ₆ (622.8)	Ber. 57.86 Gef. 57.28	8.58 8.48	9.00 8.67
H-Ile-Ile-Ile-Leu-OtBu	97	195° Zers.	–89.5° (1; CH ₃ OH)	C ₂₈ H ₅₄ N ₄ O ₅ (526.8)	Ber. 63.84 Gef. 63.16	10.33 10.11	10.64 10.90
Tfa-Phe-Leu-Ile- Ile-Leu-OtBu	41	247° Zers.	–65.0° (0.2; CH ₃ CO ₂ H)	C ₃₉ H ₆₂ F ₃ N ₅ O ₈ (770.0)	Ber. 60.84 Gef. 60.85	8.12 8.11	9.10 9.34
Tfa-Pro-Phe-OtBu	96	100°	–38.0° (1; CH ₃ OH)	C ₂₀ H ₂₅ F ₃ N ₂ O ₄ (414.4)	Ber. 57.96 Gef. 58.14	6.09 6.23	6.76 6.73
H-Pro-Phe-OtBu	96	Öl	verunreinigt				
Tfa-Pro-Pro-Phe-OtBu	50	Öl	verunreinigt				
Tfa-Val-Pro-Pro- Phe-OtBu *)	32	58–63°	–123.0° (1; CH ₃ CO ₂ H)	C ₃₀ H ₄₁ F ₃ N ₄ O ₆ (610.7)	Ber. 59.00 Gef. 59.33	6.77 6.79	9.18 8.83
Tfa-Phe-Leu-Ile- Ile-Leu-Val-Pro-Pro- Phe-OtBu	86	288° Zers.	–106° (0.5; CH ₃ CO ₂ H)	C ₆₃ H ₉₄ F ₃ N ₉ O ₁₁ (1210.5)	Ber. 62.51 Gef. 62.01	7.83 7.80	10.41 10.32

*) Tfa-Val-Pro-Pro-Phe-OtBu wird durch Chromatographie an Kiesels gel in Essigester gereinigt. Das erhaltene Öl kristallisiert erst nach mehrwöchigem Stehenlassen.

Tab. 6. Aminosäureanalysen bei der Synthese von Tfa-Phe-Leu-Ile-Ile-Leu-Val-Pro-Pro-Phe-OtBu

	Ile	Leu	Phe	Val	Pro
Tfa-Ile-Ile-Leu-OtBu	1.96	1.00	—	—	—
Tfa-Leu-Ile-Ile-Leu-OtBu	2.00	2.00	—	—	—
Tfa-Phe-Leu-Ile-Ile-Leu-OtBu	1.96	2.08	1.00	—	—
Tfa-Val-Pro-Pro-Phe-OtBu	—	—	0.99	1.04	2.00
Tfa-Phe-Leu-Ile-Ile-Leu-Val-Pro-Pro-Phe-OtBu	2.00	2.03	1.97	0.97	1.98

[93/70]