

cis- $[Pt(CH_2CN)(PPh_3)_2](BF_4)_2$ (**13**) and $[Pt(CH_2CN)(C_2H_2P_2Ph_4)]_2(BF_4)_2$ (**14**). $AgBF_4$ (0.5 mmol) was added to a solution of **2** (0.5 mmol) or $PtCl(CH_2CN)(C_2H_2P_2Ph_4)$ (**6**) in dichloromethane (30 ml). After 15 min the filtrate was evaporated to 5 ml. Precipitation with diethylether followed by recrystallisation from CH_2Cl_2 /benzene yielded quantitative amounts of white **13** and **14** respectively. Starting with the *trans* complexes **1** or **6** gave polymeric insoluble products which are probably similar to **12** instead of **13** ($\nu(CN) = 2255$ and 2280 cm^{-1} respectively).

$[Pt(CH_2CN)(PPh_3)_3]BF_4$ [**15**]. PPh_3 (0.5 mmol) was added to a solution of **13** (0.2 mmol) in dichloromethane (20 ml). The crude product precipitated with diethylether was recrystallized from CH_2Cl_2 /benzene (85%, white microcrystals).

trans- $PtBr(COC_2H_4CN)(PPh_3)_2$ (**16**) and *trans*- $PtBr(COC_3H_6CN)(PPh_3)_2$ (**17**). A solution of **6** (2 g) or of **7** (1.5 g) in dichloromethane was stirred for 2 days under CO in an autoclave (90 atm.). Precipitation with diethylether and recrystallisation from CH_2Cl_2 /benzene yielded white microcrystals of **16** and **17** respectively (95%).

We thank Dr. Y. Gjeller and Mr. P. Meier for recording the ^{31}P -NMR. spectra. We acknowledge the generous support of the *Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique* through grant 2.829.73.

BIBLIOGRAPHY

- [1] R. Ros, J. Renaud & R. Roulet, J. organometal. Chemistry 77, C4 (1974).
- [2] A. J. Deeming & B. L. Shaw, J. chem. Soc. (A) 1969, 1128.
- [3] K. Suzuki & H. Yamamoto, J. organometal. Chemistry 54, 385 (1973).
- [4] F. Faraone, C. Ferrara & E. Rotondo, J. organometal. Chemistry 33, 221 (1971).
- [5] W. J. Bland, R. D. W. Kemmit & R. D. Moore, J. chem. Soc. Dalton, 1973, 1292.
- [6] K. Suzuki, H. Yamamoto & S. Kanie, J. organometal. Chemistry 73, 131 (1974).
- [7] R. Ros, J. Renaud & R. Roulet, J. organometal. Chemistry, accepted for publication.
- [8] A. Pidcock, R. E. Richards & L. M. Venanzi, J. chem. Soc. (A) 1966, 1707.
- [9] S. H. Mastin, Inorg. Chemistry 13, 1003 (1974).
- [10] R. A. Walton, Quart. Rev. 19, 126 (1965).
- [11] H. C. Clark & L. E. Manzer, Inorg. Chemistry 10, 2699 (1971).
- [12] D. G. Cooper & J. Powell, J. Amer. chem. Soc. 95, 1102 (1973); F. Basolo & R. G. Pearson, 'Mechanisms of Inorganic Reactions', J. Wiley, New-York 1967, 2nd ed., p. 426.
- [13] F. R. Hartley, 'The Chemistry of Platinum and Palladium', Applied Science Publishers Ltd, London 1973, p. 340.
- [14] D. D. Perrin, W. L. F. Armarego & D. R. Perrin, 'Purification of Laboratory Chemicals', Pergamon, London 1966.

18. Zur Verwendung des Tosylaminocarbonyl-Restes als Amino-Schutzgruppe in der Peptidchemie

von Hans Künzi und Rolf O. Studer¹⁾

Chemische und Diagnostische Forschungsabteilungen
der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel

Herrn Prof. Dr. H. Bretschneider zum 70. Geburtstag gewidmet

(19. XI. 74)

Summary. Several N-tosylaminocarbonyl amino acids and corresponding di- and tripeptides were prepared in order to investigate the suitability of the tosylaminocarbonyl group as an amino protecting group in peptide chemistry. The group is shown to be selectively cleavable under neutral conditions.

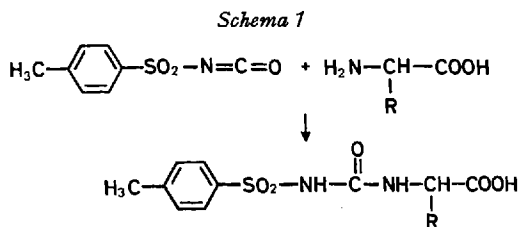
¹⁾ Herrn Dr. H. Büchi, Kantonsschule Sargans, verdanken wir seine zeitweilige Mitarbeit bei diesen Untersuchungen.

Tabelle 1. Charakterisierung der hergestellten Tac-Derivate

Verbindung	Smp.	Umkrist. aus	Ausbeute	[α] _D	Ber.					Gef.				
					C	H	N	S	C	H	N	S		
Tac-Gly-OH	197-198°	Acetonitril	25%		44,11	4,44	10,29	11,78	44,19	4,36	10,43	11,85		
Tac-L-Ala-OH	165-166°	Aceton/H ₂ O	21%	- 8,3° (c = 2, EtOH)	46,15	4,93	9,79		46,15	4,98	9,65			
Tac-L-Val-OH	169-171°	MeOH/H ₂ O	57%	- 1,9° (c = 2, EtOH)	49,68	5,77		10,20	50,00	6,09		10,16		
Tac-L-Leu-OH	175-176°	EtOH/H ₂ O	70%	- 5,1° (c = 2, EtOH)	51,21	6,14	8,53	9,76	51,12	6,24	8,55	9,85		
Tac-L-Phe-OH	186-187°	EtOH/H ₂ O	60%	+ 46,5° (c = 1, MeOH)	56,34	5,00	7,73		56,49	5,07	7,73			
Tac-L-Phe-OMe	158-160°	EtOAc/Hexan	67%	+ 18,4° (c = 1, MeOH)	57,43	5,36	7,44	8,52	57,00	5,19	7,46	8,56		
Tac-L-Ser (Bzl)-OH	160-161°	EtOH/H ₂ O	78%	+ 31,5° (c = 1, EtOH)	55,09	5,14	7,14	8,17	55,19	5,11	7,11	8,24		
Tac-L-Tyr (Bzl)-OH	180-181°	MeOH/H ₂ O	59%	+ 69,6° (c = 1, EtOH)	61,55	5,16	5,98		61,16	5,23	5,94			
Tac-L-Cys (Bzl)-OH	177-179°	EtOH/H ₂ O	75%	- 13,5° (c = 1, EtOH)	52,93	4,94	6,86	15,70	52,95	4,97	6,70	15,87		
Tac-L-Arg (Tos)-OH	182-183°	EtOAc	21%		47,99	5,18	13,33		48,20	5,54	13,24			
Tac-L-Lys (Z)-OH	amorph	EtOAc/Benzol	65%		55,34	5,70	8,80		55,49	5,83	8,79			
Tac-L-Dab (Z)-OH	164-165°	EtOH/H ₂ O	68%		53,44	5,16	9,35		53,72	5,20	9,50			

Bei der Suche nach hypoglykämisch wirksamen Substanzen wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen eine grosse Zahl von Sulfonylharnstoffderivaten synthetisiert. *Bramanti & Di Paco* [1] und später *Karten et al.* [2] stellten dabei eine Reihe von N-(*p*-Tolylsulfonyl-carbamoyl)-aminosäuren her. *Bretschneider et al.* beobachteten vor mehreren Jahren, dass sich diese Verbindungen bei längerem Erhitzen in Alkohol zersetzen²⁾. Aus diesem Grunde sind wir dieser Beobachtung nachgegangen, um zu prüfen, ob die Tosylaminocarbonyl-Gruppe (Abkürzung: Tac-), (*p*-Tolylsulfonyl-carbamoyl-) als Amino-Schutzgruppe in der Peptidchemie Verwendung finden könnte.

Darstellung der Tac-Aminosäuren. – Die Tac-Verbindungen wurden durch Umsatz von *p*-Tosylisocyanat mit der freien Aminosäure oder einem entsprechenden Derivat in Benzol hergestellt (*Schema 1*) und sind mit ihren analytischen Daten in Tabelle 1 zusammengefasst.



Meist konnte bereits nach kurzem Erhitzen unter Rückfluss mit den in der Peptidchemie üblichen Methoden aufgearbeitet werden, wobei die Produkte in mässiger bis guter Ausbeute anfielen. Einzig mit Prolin wurde nicht die entsprechende Tac-Verbindung erhalten, sondern das daraus durch Wasserabspaltung entstandene bicyclische N-*p*-Tolylsulfonyl-1,2-pyrrolid-dicarboximid.

Die *Abspaltung der Tac-Gruppe* erfolgte durch Erhitzen der in Tabelle 1 beschriebenen Verbindungen in Alkoholen wie Methanol, Äthanol, Propanol oder Butanol unter Zusatz von 5% Wasser. Schon nach relativ kurzer Reaktionsdauer konnte dünnschichtchromatographisch die Bildung der freien Aminosäure festgestellt werden. Dabei ergab sich eine klare Abhängigkeit der Spaltungsgeschwindigkeit von Reaktionstemperatur und verwendetem Alkohol. Diese Abhängigkeit wurde am Beispiel des Tac-L-Leu-OH mit Hilfe der Aminosäureanalyse genau untersucht (s. Tabelle 2).

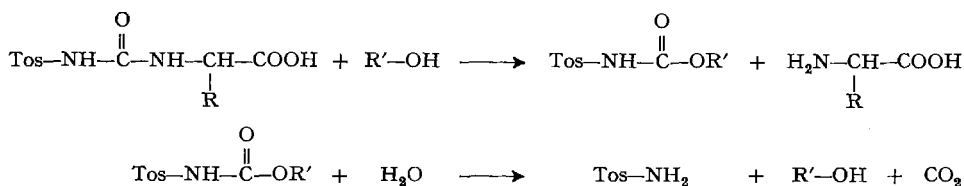
Tabelle 2. *Deblockierung von Tac-L-Leu-OH mittels 95proz. Alkohole in Funktion von Temperatur und Reaktionszeit*

ROH/H ₂ O 95:5	Temperatur	% freies Leucin nach				
		15'	30'	60'	120'	180'
EtOH/H ₂ O	85°	10	22	41	62	70
PropOH/H ₂ O	85°	14	31	57	78	86
BuOH/H ₂ O	85°	15	33	60	85	90
PropOH/H ₂ O	105°	45	78	89	92	
BuOH/H ₂ O	105°	71	90	95		

²⁾ *H. Bretschneider*, Privatmitteilung.

Zur Abklärung des Reaktionsmechanismus wurden mehrere Deblockierungsexperimente mit Tac-L-Leu-OH bzw. Tac-L-Phe-OH nach verschiedenen Zeiten aufgearbeitet. Dabei konnten neben der freien Aminosäure wechselnde Anteile von *p*-Toluolsulfonamid sowie die dem verwendeten Alkohol entsprechenden *p*-Tosylcarbaminsäureester isoliert werden. Wurde die Abspaltungsreaktion jedoch in einem absoluten Alkohol durchgeführt, so isolierte man neben der freien Aminosäure praktisch ausschliesslich den entsprechenden *p*-Tosylcarbaminsäureester. Dass in keinem der Experimente eine N-Alkyloxycarbonylamino-säure nachgewiesen werden konnte, spricht eindeutig dafür, dass die Deblockierungsreaktion gemäss *Schema 2* abläuft.

Schema 2



Aufgrund dieses Reaktionsverlaufs wurden weitere Deblockierungsversuche durchgeführt mit dem Ziel, den nucleophilen Angriff auf die Carbonylgruppe zu verstärken, um dadurch die doch recht hohen Reaktionstemperaturen (vgl. Tabelle 2) bei gleichbleibender Reaktionsgeschwindigkeit zu senken. Für diese Versuche drängten sich Verbindungen wie substituierte Alkohole, Thiole und Nitrile auf, die als gute Nucleophile bekannt sind. Als Standardreaktion wurde wiederum die Deblockierung von Tac-L-Leu-OH gewählt.

Die Resultate mit einigen ausgewählten Vertretern der obengenannten Verbindungsklassen sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Sie zeigen klar, dass die Art des Nucleophils die Abspaltungsgeschwindigkeit beeinflusst, dass aber die Reaktionstemperatur der dominierende Parameter der Reaktion ist. Auch mit Mercapto-äthanol oder Methoxyacetonitril muss *ca.* eine Stunde auf 90–100° erhitzt werden, um eine

Tabelle 3. Deblockierung von Tac-L-Leu-OH mittels verschiedener Reagenzien in Funktion von Temperatur und Reaktionszeit

Deblockierungsmittel/H ₂ O 95:5	Temperatur	% freies Leucin nach					
		15'	30'	60'	120'	240'	480'
PropOH/H ₂ O	85°	14	31	57	78		
HOCH ₂ CH ₂ SH/H ₂ O	85°	31	55	89	99		
PropOH/H ₂ O	80°	10	21	41	71		
CF ₃ CH ₂ OH/H ₂ O	80°	18	34	54	76		
CH ₃ CN/H ₂ O	80°	21	41	65	92		
PropOH/H ₂ O	60°		3	5	9	13	25
CF ₃ CH ₂ OH/H ₂ O	60°		5	9	18	31	44
CH ₃ CN/H ₂ O	60°		6	11	22	37	56
(CH ₃) ₂ CHCN/H ₂ O	60°		7	13	24	41	62
CH ₃ OCH ₂ CN/H ₂ O	60°		8	15	31	54	86

vollständige Abspaltung der Tac-Gruppe zu erreichen, woraus sich natürlich Bedenken wegen allfälliger Racemisierung ergeben. Entsprechende Versuche mit Tac-L-Leu-OH und Tac-L-Phe-OH führten jedoch zu optisch reinem L-Leucin bzw. L-Phenylalanin.

Die Abspaltungsreaktion liess sich durch wechselnde Zusätze von Säuren (HCl, TosOH) nur geringfügig beeinflussen, während Zusätze von Basen (KOH, $H_2NNH_2 \cdot H_2O$) zur vollständigen Blockierung der Reaktion führten. Auch nach mehrstündigem Erhitzen wurde in Anwesenheit von 1 Äquivalent Base die unveränderte Tac-Verbindung isoliert, da wohl die Salzbildung mit dem durch die benachbarte Sulfonylgruppe aktivierten Proton die Deblockierungsreaktion verhinderte. In weiteren Versuchen wurde der Einfluss verschiedener Substituenten am Benzolkern der Tac-Gruppe (2,4-Dimethoxy-, *p*-Nitro- und *p*-Chlor-) auf die Abspaltungsgeschwindigkeit bei den entsprechenden Leu-Derivaten untersucht: Sie verhielten sich alle praktisch gleich wie Tac-L-Leu-OH, d. h. die Arylsubstituenten sind zu weit von der reagierenden Carbonylgruppe entfernt, um noch einen Einfluss auf die Deblockierungsgeschwindigkeit auszuüben.

Zur Selektivität der Tac-Gruppe. – Zur Abklärung dieser Frage wurde eine Reihe von Tac-, Boc-, Z- und Phth-aminosäuren den verschiedenen, spezifischen Abspaltungsbedingungen unterworfen. Die dünnschichtchromatographisch erhaltenen Resultate sind in Tabelle 4 zusammengefasst (vgl. [3]).

Tabelle 4. Vergleichende Spaltungsversuche von Aminosäurederivaten mit verschiedenen Aminoschutzgruppen³⁾

Abspaltungsbedingungen	Z-	Boc-	Phth-	Tac-
HBr in CF_3COOH oder CH_3COOH , 90', RT	<i>Spaltung</i>	<i>Spaltung</i>	stabil	stabil
50% CF_3COOH in CH_2Cl_2 , 120', RT	stabil	<i>Spaltung</i>	stabil	stabil
$H_2/Pd/C$ in CH_3OH , > 24 h, RT	<i>Spaltung</i>	stabil	stabil	stabil
KOH od. NaOH in div. Lsm., > 24 h, RT	stabil	stabil	Nebenreaktion	stabil
$H_2NNH_2 \cdot H_2O$ in CH_3OH > 24 h, RT	stabil	stabil	<i>Spaltung</i>	stabil
ROH/ H_2O 95:5 od. RCH_2CN/H_2O 95:5, 4 h, 80°	stabil	stabil	stabil	<i>Spaltung</i>
6 N HCl, 24 h, 110°	<i>Spaltung</i>	<i>Spaltung</i>	<i>Spaltung</i>	<i>Spaltung</i>
HF, 90', 0°	<i>Spaltung</i>	<i>Spaltung</i>		Nebenreaktion*

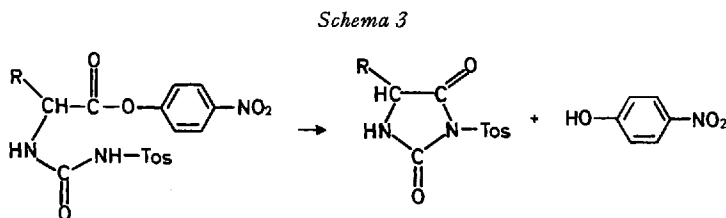
* Abspaltung des Tosylrestes: $Tos-NH-CO-NH-CHR-COOH \rightarrow H_2N-CO-NH-CHR-COOH$.

Peptidsynthesen. – Tac-L-Leu-OH und Tac-L-Phe-OH wurden mittels der DCC-Methode mit H-L-Leu-OMe bzw. H-L-Leu-OBu^t problemlos in guter bis sehr guter Ausbeute zu den entsprechenden Tac-Dipeptidestern umgesetzt. Die Abspal-

³⁾ Verwendet wurden die Derivate von Gly, Ala, Val, Leu und Phe.

tung der Carboxylschutzgruppen mit verd. KOH resp. Trifluoressigsäure führte glatt und mit guter Ausbeute zu den entsprechenden Tac-Dipeptiden.

Bei Versuchen Tac-L-Leu-OH bzw. Tac-L-Phe-OH mit Hilfe von DCC und *p*-Nitrophenol in die Nitrophenylester zu überführen trat Ringschluss ein, d. h. nur die entsprechenden Tosylhydantoinen konnten isoliert werden (*Schema 3*). Diese Tosylhydantoin-Bildung konnte dünn-schichtchromatographisch in geringem Masse auch bei der Herstellung der Tac-Dipeptidester mit Hilfe von DCC nachgewiesen werden.



Zur Abspaltung der Tac-Gruppe wurden die oben erwähnten Tac-Dipeptide während 1–2 Stunden bei 90–100° mit Butanol/H₂O 95:5 oder Acetonitril/H₂O 95:5 behandelt. Die Deblockierungsreaktionen verliefen quantitativ, doch wurden neben den freien Dipeptiden auch wechselnde Mengen der entsprechenden Diketopiperazine isoliert. Da eine solche Diketopiperazin-Bildung bei Tripeptiden und höheren Peptiden nicht eintreten kann, wurde eine Reihe von Tac-Tripeptiden synthetisiert. Am Beispiel von Tac-Gly-L-Phe-Gly-OH liess sich denn auch zeigen, dass die Abspaltung ohne Nebenreaktion in sehr guter Ausbeute durchgeführt werden kann.

Diskussion. – Aufgrund der Resultate scheint es zulässig, die Tac-Gruppe als eine echte Amino-Schutzgruppe zu bezeichnen. Sie lässt sich einfach in die Aminosäuren einführen und führt in der Regel zu gut isolierbaren, kristallinen Verbindungen, die für Kupplungsreaktionen günstige Löslichkeitseigenschaften besitzen. Zudem lässt sie sich mit sehr geringem experimentellen Aufwand praktisch quantitativ unter neutralen Bedingungen abspalten, eine Eigenschaft, die bisher nur für die verschiedenen Silyl-Schutzgruppen, die Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppe und einige photolytisch abspaltbare Schutzgruppen zutraf. Zusätzlich zeichnet sie sich durch eine hohe Selektivität aus, denn sie kann einerseits unter Bedingungen abgespalten werden, die weder die Benzyloxycarbonyl-, noch die *t*-Butyloxycarbonyl-, noch die Phthalyl-Schutzgruppen beeinflussen, andererseits ist sie stabil unter den Deblockierungsbedingungen für eben diese Schutzgruppen.

Als nachteilig erweist sich die zur Abspaltung benötigte hohe Temperatur, die zwar bei entsprechender Verlängerung der Reaktionsdauer reduziert werden kann, trotzdem jedoch die Gefahr der Racemisierung in sich birgt. Genaue Untersuchungen zur Klärung dieser Frage sind noch ausstehend. Die bei der Aktivierung der Carboxylgruppe auftretende Hydantoin-Bildung, insbesondere im Falle des *p*-Nitrophenylesters ist als weiterer Nachteil aufzuführen. Allerdings müssten hier auch noch Kupplungen *via* gemischtes Anhydrid und Azid etc. untersucht werden. Die als weitere unerwünschte Nebenreaktion aufgetretene Bildung von Diketopiperazinen bei der Tac-Abspaltung aus Tac-Dipeptiden ist nicht schwerwiegend, da sie einerseits nur in re-

lativ geringem Masse auftritt, andererseits durch entsprechende Wahl des Syntheseweges umgangen werden kann.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Tac-Gruppe eine Schutzgruppe mit interessanten Eigenschaften für spezifische Fälle in der Peptidchemie darstellt, dass sie aber wohl kaum generelle Bedeutung erlangen wird.

Experimenteller Teil

Die Smp. wurden auf einem Büchi-Apparat bestimmt und sind unkorrigiert. Die optische Drehung wurde mit einem Polarimeter Perkin-Elmer 141 gemessen; die IR.-Spektren wurden auf Apparaten der Firma Beckman und die NMR.-Spektren auf einem Varian A-60 aufgenommen. Die Aminosäureanalysen wurden mit einem Beckman Unicrom Aminosäureanalysator durchgeführt. Alle verwendeten Aminosäure- und Peptidderivate wurden entweder in unsern Laboratorien hergestellt, oder von Fluka AG, Buchs, bezogen.

Abkürzungen: Me für Methyl, Et für Äthyl, Prop für Propyl, Bu für Butyl, Ac für Acetyl, DMF für N,N-Dimethylformamid, DCC für N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid und RT. für Raumtemperatur. Alle übrigen Abkürzungen sind gemäss [4].

Tac-L-Leu-OH (Beispiel für die Herstellung der in Tabelle 1 angegebenen Verbindungen). Zu 6,5 g (0,05 mol) H-L-Leu-OH, suspendiert in 100 ml abs. Benzol, wurden unter Rühren 7,5 ml (0,05 mol) *p*-Tosylisocyanat gegeben und anschliessend wurde während 30–45 Min. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf RT. wurde abgenutscht. Der Rückstand wurde gut mit Benzol nachgewaschen, kurz getrocknet und in 5proz. NaHCO₃-Lösung aufgenommen. Nach dem Klarfiltrieren wurde die Lösung mit 1N HCl auf pH 2 gestellt, worauf das rohe Produkt ausfiel (wenn das Produkt in Lösung blieb, oder ölig anfiel, wurde mit EtOAc extrahiert). Nach Umkristallisieren aus kaltem EtOH/H₂O erhielt man 11,4 g (70%) Tac-L-Leu-OH (analytische Daten, s. Tab. 1).

Abspaltung der Tac-Gruppe. Zur Abspaltung der Tac-Gruppe wurde eine 1 bis 10proz. Lösung der Tac-Verbindung im jeweiligen Deblockierungsmedium, gegebenenfalls unter Zusatz von wenig DMF hergestellt und erhitzt. Dabei fiel das deblockierte Produkt meist direkt aus und konnte abfiltriert werden. Blieb das Produkt in Lösung, so wurde eingedampft und der Rückstand zwischen H₂O und EtOAc verteilt, worauf die deblockierte Verbindung aus der wässrigen Phase isoliert wurde.

Für die genauen Messungen (s. Tabellen 2 und 3) löste man 300 mg Tac-L-Leu-OH in 30 ml des entsprechenden Deblockierungsmittels und teilte in 6 Portionen à 5 ml. Eine Portion diente als Vergleich (Nullwert), während die andern in Kolben mit Rückflusskühlern in einem Wärmebad auf die gewünschte Temperatur gebracht wurden. Zu den verschiedenen Zeitpunkten wurden die Proben auf 30° gekühlt und bei dieser Temperatur im Vakuum eingedampft (inkl. Vergleich). Die Rückstände wurden in H₂O aufgenommen, mit Äther extrahiert (3 ×), die Ätherphasen nochmals mit H₂O gewaschen und anschliessend die kombinierten H₂O-Phasen im Vakuum eingengt. Nach Herstellung genau definierter Messlösungen wurden diese direkt im Aminosäureanalysator analysiert.

Spaltung von Tac-L-Phe-OH mit PropOH/H₂O 95:5. Eine Lösung von 3,62 g (10 mmol) Tac-L-Phe-OH in 40 ml PropOH/H₂O 95:5 wurde 2 Std. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch während ca. 2 Std. in den Kühlschrank gestellt, worauf das ausgefallene H-L-Phe-OH (1,56 g, 95%) abfiltriert wurde. Das Filtrat wurde eingedampft, der Rückstand in EtOAc aufgenommen und die Lösung in der Kälte 3 × mit 2N Na₂CO₃-Lösung extrahiert. Die EtOAc-Phase wurde mit H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Umkristallisieren des Rückstandes (1,06 g) aus CHCl₃/Hexan ergab 0,9 g (53%) reines *p*-Tosylamid vom Smp. 137–138°. Die Na₂CO₃-Lösung wurde mit 6N HCl auf pH ~3 gestellt und mit Äther extrahiert (3 ×). Nach dem Trocknen der kombinierten Ätherphasen über Na₂SO₄ wurde durch Eindampfen 0,82 g Öl erhalten, das sich im Vergleich mit authentischem Material als praktisch reiner *p*-Tosylcarbaminsäure-propylester erwies (Dünnschichtchromatographie, IR., NMR.).

Spaltung von Tac-L-Phe-OH mit abs. PropOH. Eine Lösung von 3,62 g (10 mmol) Tac-L-Phe-OH in 40 ml abs. PropOH wurde 2 Std. auf 110° erhitzt. Die Aufarbeitung wie vorher beschrieben

ergab 1,50 g (91%) reines H-L-Phe-OH, 0,1 g (5%) *p*-Tosylamid und (aus der Soda-Lösung) 2,64 g Öl. Chromatographie dieses Öls auf einer Kieselgelsäule (5 × 50 cm) mit Benzol/EtOAc 4:1 lieferte 2,4 g (91%) *p*-Tosylcarbaminsäure-propylester vom Smp. 64–66° nach Umkristallisieren aus Äther/Hexan; IR. und NMR. waren identisch mit denjenigen der authentischen aus *p*-Tosylisocyanat und abs. PropOH hergestellten Verbindung.

$C_{11}H_{16}NO_4S$ Ber. C 51,35 H 5,88 N 5,44 S 12,46%
(257,31) Gef. „ 51,64 „ 6,00 „ 5,62 „ 12,42%

Tac-L-Leu-L-Leu-OMe. 3,3 g (20 mmol) H-L-Leu-OMe · HCl gelöst in 20 ml DMF wurden bei 0° mit 2,8 ml (20 mmol) Triäthylamin versetzt und während 5 Min. gerührt. Nach dem Filtrieren wurden im Filtrat 6,6 g (20 mmol) *Tac-L-Leu-OH* gelöst, auf 0° gekühlt und mit 4,2 g (20 mmol) DCC versetzt. Darauf wurde bei 0° während ca. 1 Std. weitergerührt und dann über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Man nutschte den Harnstoff ab, dampfte das Filtrat ein und nahm den Rückstand in Äther auf. Nach üblichem Extrahieren der Ätherphase mit 1N HCl, 5proz. NaHCO₃-Lösung und H₂O, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen erhielt man rohes Produkt, das aus Äther/Petroläther umkristallisiert 3,4 g (92%) *Tac-L-Leu-L-Leu-OMe* vom Smp. 153–156° ergab.

$C_{21}H_{33}N_3O_6S$ (455,56) Ber. C 55,36 H 7,30 N 9,32% Gef. C 55,10 H 7,38 N 9,25%

Analog wurden die zwei folgenden Verbindungen hergestellt:

Tac-L-Leu-L-Leu-OBu^t. Ausbeute 85%, Smp. 149–151°.

$C_{24}H_{39}N_3O_6S$ (497,64) Ber. C 57,92 H 7,89 N 8,44% Gef. C 58,06 H 7,93 N 8,52%

Tac-L-Phe-L-Leu-OBu^t. Umkristallisation aus EtOH/H₂O. Ausbeute 84%, Smp. 159–161°.

$C_{27}H_{37}N_3O_6S$ (531,59) Ber. C 61,00 H 7,02 N 7,91% Gef. C 60,96 H 7,33 N 7,93%

Tac-L-Phe-L-Leu-OH. 8 g (15 mmol) *Tac-L-Phe-L-Leu-OBu^t* wurden in 40 ml abs. Trifluoressigsäure gelöst und während 40 Min. bei RT. gerührt. Danach wurde mit Äther gefällt, abgenutscht und der Rückstand gut mit Äther gewaschen. Nach Umkristallisieren aus EtOH/H₂O erhielt man 6,7 g (94%) reines *Tac-L-Phe-L-Leu-OH* vom Smp. 195–197°.

$C_{23}H_{29}N_3O_6S$ (475,57) Ber. C 58,09 H 6,14 N 8,83% Gef. C 58,34 H 6,37 N 8,90%

Tac-Gly-L-Phe-Gly-OEt. Eine Lösung von 5,8 g (17,5 mmol) H-L-Phe-Gly-OEt · HBr in 50 ml DMF wurde bei 0° mit 2,5 ml (17,5 mmol) Triäthylamin versetzt und nach 10 Min. Rühren filtriert. Im Filtrat wurden 4,8 g (17,5 mmol) *Tac-Gly-OH* gelöst, die Lösung auf 0° gekühlt und mit 3,6 g (17,5 mmol) DCC versetzt. Man rührte das Reaktionsgemisch während 1 Std. bei 0° und stellte es dann über Nacht in den Kühlschrank. Nach Entfernung des Harnstoffs wurde das Filtrat eingedampft und der Rückstand 2mal mit EtOAc digeriert. Danach wurde der Rückstand getrocknet, mit 5proz. NaHCO₃-Lösung digeriert (3 ×) und mit H₂O gewaschen. Nach erneutem Trocknen wurde aus Tetrahydrofuran umkristallisiert. Ausbeute 3,7 g (42%), Smp. 190–191°.

$C_{23}H_{28}N_4O_7S$ (504,57) Ber. C 54,75 H 5,59 N 11,10% Gef. C 54,89 H 5,62 N 11,13%

Tac-Gly-L-Phe-Gly-OH. 2,3 g (4,5 mmol) *Tac-Gly-L-Phe-Gly-OEt* wurden in Dioxan/H₂O 1:1 (~200 ml) suspendiert und durch Zusatz von 10 ml 1N KOH (10 mmol) in Lösung gebracht. Nach 3 Std. bei RT. wurde mit Salzsäure angesäuert (pH 3) und eingedampft. Der Rückstand wurde in H₂O aufgenommen, worauf 2,5 g (95%) *Tac-Tripeptid* vom Smp. 178–179° (Zers.) auskristallisierten.

H-Gly-L-Phe-Gly-OH. Eine Lösung von 200 mg (0,42 mmol) *Tac-Gly-L-Phe-Gly-OH* in 30 ml PropOH/H₂O 95:5 wurde 2 Std. unter Rückfluss erhitzt. Darauf wurde auf 0° gekühlt und abfiltriert. Umkristallisieren aus H₂O ergab 101 mg (86%) reines H-Gly-L-Phe-Gly-OH vom Smp. 217–218° (Zers.).

$C_{13}H_{17}N_3O_4$ (279,30) Ber. C 55,90 H 6,14 N 15,05% Gef. C 55,59 H 6,24 N 14,93%

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] G. Bramanti & G. F. Di Paco, Ann. Chim. (Rom) 51, 1202 (1961).
- [2] M. J. Karten, A. Schwinn & W. Oroshnik, J. med. Chemistry 9, 448 (1966).
- [3] E. Schröder & K. Lübbke, 'The Peptides', Academic Press, London & New York, 1965.
- [4] IUPAC-IUB Commission, Biochemistry 5, 2485 (1966); ibid. 6, 362 (1967).