

Über die Synthese von Peptiden des DL-Phenylalanins.

Von

F. Wessely, K. Schlögl und G. Korger.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 21. April 1951. Vorgelegt in der Sitzung am 10. Mai 1951.)

Für andere Arbeiten benötigten wir Peptide des DL-Phenylalanins. Da in der Literatur nur die Darstellung des Dipeptides¹ beschrieben war, haben wir eine Reihe von Verfahren für die Gewinnung der von uns gewünschten Peptide — es sollten auch höhere Peptide gewonnen werden — ausprobiert. Dabei war uns die Möglichkeit gegeben, einige Peptidsynthesen einer kritischen Prüfung im Hinblick auf unsere Aminosäure zu unterziehen. Hierüber soll im folgenden berichtet werden.

Da wir vom DL-Phenylalanin ausgingen, so ist schon bei der Bildung des Dipeptides mit der Entstehung von 2 Racematen zu rechnen, die natürlich nicht im Verhältnis 1 : 1 entstehen müssen. Vom Tripeptid mit seinen drei ungleichartig asymmetrischen C-Atomen ist die Bildung von 4 Racematen zu erwarten, wenn das eingesetzte Dipeptid ein Gemisch von 2 Racematen ist. Ist das Dipeptid aber sterisch einheitlich, so wäre mit der Entstehung von nur 2 Racematen zu rechnen. Die Verhältnisse liegen also recht kompliziert. Mit dem Nachweis der sterischen Einheitlichkeit der von uns erhaltenen Di- und Tripeptide konnten wir uns nicht befassen, da die entsprechenden Versuche viel mehr Material, als uns zur Verfügung stand, erfordert hätten.

Es liegen unseres Wissens noch keine Versuche über das papierchromatographische Verhalten von verschiedenen Racematen vor. Unsere Phenylalaninpeptide ließen sich mit den von uns angewendeten papierchromatographischen Methoden nicht aufspalten, was aber noch nicht als Beweis für ihre sterische Einheitlichkeit betrachtet werden kann.

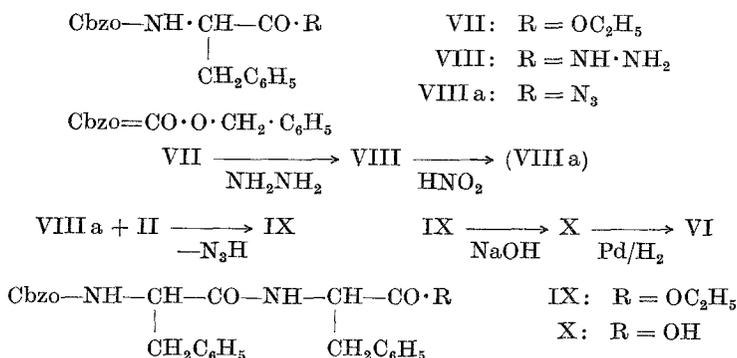
¹ E. Fischer, Ber. dtsch. chem. Ges. **37**, 3062 (1904).

² Dissertation Wien (1927).

Das nach *E. Bergmann*⁵ in verbesserter Ausbeute dargestellte Azlacton I lieferte bei der Umsetzung mit DL-Phenylalanin-äthylester II in absolutem Äther in fast quantitativer Ausbeute den N-Acetyldipeptid-ester III, der entweder direkt oder auf dem Umweg über das N-Acetyldipeptid IV mit Bromwasserstoffsäure in das DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanin VI umgewandelt wurde. Wir haben die Reaktionsbedingungen durch Änderung der Verseifungsdauer und hauptsächlich durch Änderung der Konzentration der Bromwasserstoffsäure variiert. Als beste Ausbeute erhielten wir mit 3 n-HBr 40% d. Th. an Dipeptid, das in seinen Eigenschaften mit dem von *E. Fischer* dargestellten übereinstimmt.

c) Die Anwendung des *Carbobenzoxy-Verfahrens*⁶ hatte besonders den Zweck, diese Methode für die Darstellung des später zu besprechenden Tripeptides zu studieren. Für den Fall des Dipeptides erwies es sich sowohl ausbeutenmäßig als auch arbeitstechnisch dem Azlactonverfahren etwas unterlegen.

Der auf dem üblichen Weg dargestellte Carbobenzoxy-DL-phenylalaninäthylester VII wurde in das Hydrazid VIII übergeführt. Dabei ergaben sich anfänglich unerwartete Ergebnisse, die in anderem Zusammenhang veröffentlicht werden sollen. Das aus dem Hydrazid erhaltene Azid VIIIa haben wir mit DL-Phenylalaninäthylester II umgesetzt. Nach dem Verseifen des Cbzo-Dipeptidesters IX mit alkoholischer Lauge zum freien Cbzo-Dipeptid X, das wir auch durch direkte Carbobenzoxylierung des Dipeptides erhalten konnten, wurde der Carbobenzoxyrest in üblicher Weise mit Pd als Katalysator abhydriert. Das dabei erhaltene Dipeptid erwies sich mit dem auf dem ersten Weg dargestellten identisch.

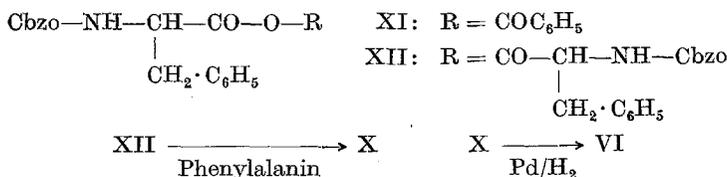


d) Nach einem kürzlich von *Th. Wieland* und *R. Schring*⁷ angegebenen Verfahren versuchten wir durch Umsatz des Natriumsalzes des N-Cbzo-

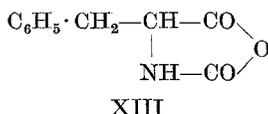
⁶ *M. Bergmann* und *L. Zervas*, Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 1192 (1932).

⁷ *Liebigs Ann. Chem.* **569**, 122 (1950).

DL-Phenylalanins mit Benzoylchlorid das gemischte Säureanhydrid XI darzustellen. Dieses sollte mit Phenylalanin umgesetzt werden, um nach erfolgter Kupplung zum N-Cbzo-Dipeptid X und Abhydrierung des Cbzo-Restes das Dipeptid zu liefern. An Stelle von XI wurde aber die symmetrische Verbindung XII erhalten, die, mit Phenylalanin umgesetzt, nach üblicher Aufarbeitung und Abhydrierung das Dipeptid lieferte. Das Dipeptid wurde wegen der geringen Ausbeute nicht in Substanz isoliert, sondern nur papierchromatographisch nachgewiesen.



e) Viel Arbeit haben wir den Reaktionen des DL-Phenylalanin-N-carbonsäureanhydrids XIII (in Zukunft kurz als NCA bezeichnet) gewidmet. Im Hinblick auf die gute Ausbeute, die der eine von uns (F. W.)⁸ bei der Umsetzung mit L-Tyrosinäthylester erhalten hatte, hofften wir



unter analogen Bedingungen durch Reaktion mit Phenylalaninäthylester den Dipeptidester und damit das Dipeptid zu erhalten. Wenn man die Umsetzung so vornimmt, daß man molare Mengen NCA und Phenylalaninester mit oder ohne Zusatz von Triäthylamin bei -5° bis 0° in Reaktion bringt, so erhält man nach Verseifung des Reaktionsproduktes nur sehr wenig Dipeptid. Als Hauptprodukt gewinnt man ein Gemisch von höheren Peptiden, aus welchem sich nach entsprechenden Isolierungsverfahren (Exp. Teil) eine Substanz in guten Ausbeuten isolieren ließ, die nach dem Papierchromatogramm einheitlich zu sein schien. Der R_F -Wert lag höher als der des Tripeptides (Tabelle 4). Die Titration nach Willstätter ergab einen Wert von 751 für das Äquivalentgewicht. Nach der Veresterung mit methanolischer Salzsäure erhielten wir Substanzen, die schwankende Methoxylwerte lieferten, aus denen jedoch hervorgeht, daß es sich bei der fraglichen Verbindung um ein Peptid mit 4 bis 6 Phenylalaninresten bzw. um ein Gemisch von Peptiden handelt, in welchem das Pentapeptid überwiegt.

Bessere und präparativ brauchbarere Ausbeuten an Dipeptid er-

⁸ F. Wessely, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 146, 72 (1925). — F. Sigmund und F. Wessely, ebenda 157, 91 (1926).

hielten wir, als eine Essigesterlösung von NCA mit der Lösung des Natriumsalzes von Phenylalanin in Wasser geschüttelt wurde. Neben dem Dipeptid entstanden auch noch Aminosäure und höhere Peptide. Die Hauptverluste an Dipeptid sind auf die schwere Abtrennbarkeit dieser Verbindungen zurückzuführen.

Zweifellos wird die Bildung eines monomeren Produktes dann begünstigt werden, wenn das NCA mit einem großen Überschuß der Aminosäure zur Reaktion gebracht wird, denn die Bildung der höheren Peptide wird durch die Umsetzung des NCA mit primär gebildetem Dipeptid bewirkt. Dazu erschien uns die Verfahrenstechnik der Diasolyse⁹ besonders geeignet, da sie es ermöglichen mußte, immer nur geringe Mengen des NCA mit einem Überschuß der Aminosäure in Reaktion zu bringen. Tatsächlich lieferte diese Methode (Einzelheiten im experimentellen Teil) Ausbeuten an Dipeptid, die denen des Cbzo-Verfahrens entsprechen, stellt jedoch diesem Verfahren gegenüber eine große Zeitersparnis dar.

Da uns nach Beendigung unserer Untersuchungen die ausführliche Veröffentlichung *Baileys*¹⁰ erreichte, haben wir seine Methode, die sich von den Angaben der vorläufigen Mitteilung¹¹ hauptsächlich durch die Anwendung sehr tiefer Temperaturen (bis -60°) und die Verwendung von Methyl-dioctylamin unterscheidet, auch auf unseren Fall des Phenylalanins angewendet. Dabei konnten wir feststellen, daß die Anwendung tiefer Temperaturen tatsächlich eine nicht unwesentliche Verbesserung der Ausbeute mit sich brachte, so daß diese Methode als die beste unter den von uns angewendeten anzusehen ist.

Die Ausbeuten, die wir bei den verschiedenen Verfahren erhielten, sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Sie stellen Minimalausbeuten dar, da bei der Aufarbeitung Verluste unvermeidlich sind.

Tabelle 1.

Methode	Ausbeute in Prozent d. Th. des eingesetzten Phenylalanins	
	an Dipeptid	an Tripeptid
Azlactonverfahren	25,6 (Mittelwert)	2,4
Cbzo-Verfahren	19,1 (Mittelwert)	3,1
Ester + NCA	8,3 (bester Wert)	2,8
Na-Salz + NCA	13,6 (bester Wert)	4,5
Diasolyse	19,0	5,0
<i>Bailey</i>	30,0	4,4

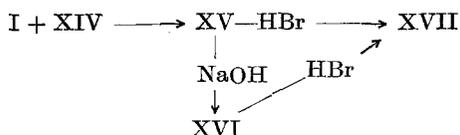
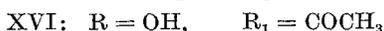
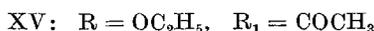
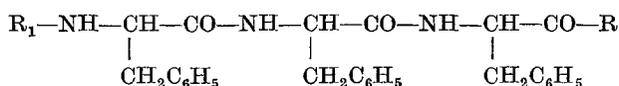
⁹ H. Brintzinger, Kolloid-Z. 79, 324 (1937); Chem. Ber. 81, 293 (1948); Chem. Ing.-Technik 21, 273 (1949).

¹⁰ J. Leggett Bailey, J. chem. Soc. London 1950, 3461.

¹¹ J. Leggett Bailey, Nature (London) 164, 889 (1949).

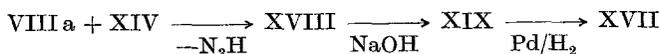
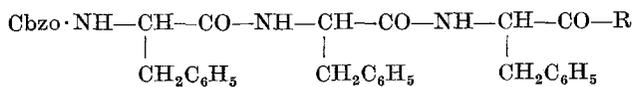
Tripeptid.

a) Zur Synthese des bisher nicht bekannten Tripeptides des DL-Phenylalanins nach dem *Azlactonverfahren* wurde zunächst der Dipeptidester XIV in normaler Weise durch Veresterung des Dipeptides, bzw. des Bromhydrates V dargestellt. Nach Kupplung von XIV mit dem Azlacton I zum N-Acetyltri-peptidester XV haben wir diesen als solchen oder nach Verseifung zum N-Acetyltri-peptid XVI der Hydrolyse mit Bromwasserstoffsäure unterworfen. Diese Hydrolyse führte, wie aus der Fleckengröße des Papierchromatogramms hervorgeht, zu viel Phenylalanin, neben wenig Dipeptid und Tripeptid XVII, das daher nur in einer Ausbeute von 10% d. Th. gewonnen werden konnte.



b) Das *Carbobenzoxy-Verfahren* versprach zur Synthese des Tripeptides mehr Aussicht auf Erfolg. Dabei wurde das Azid des Cbzo-DL-Phenylalanins mit dem Dipeptidester XIV zur Reaktion gebracht, der gebildete N-Cbzo-Tri-peptidester XVIII alkalisch verseift und der Cbzo-Rest abhydriert. Die Abhydrierung war mit Schwierigkeiten verbunden, die darin lagen, daß das Tripeptid während der Hydrierung ausfiel, den Katalysator daher scheinbar inaktivierte und somit erst nach 23stündiger Hydrierung die Maximalausbeute von 48% d. Th. lieferte, die wir nicht mehr verbessern konnten.

Eine weitere Schwierigkeit bei der Synthese ergab sich daraus, daß die meisten Derivate nur amorph erhalten werden konnten, unscharfe Zersetzungspunkte aufwiesen und die Reinigung und Beurteilung der Einheitlichkeit daher sehr erschwerten.



Das Tripeptid, das aus wäßrigem Äthanol in Nadeln kristallisiert, scheint nach den Analysendaten als Monohydrat vorzuliegen. Auch durch Anwendung extremer Trocknungsbedingungen ergaben sich nur unwesentliche Änderungen der Analysenwerte. Die Äquivalentgewichtsbestimmung und das papierchromatographische Verhalten ließen das Vorliegen des Tripeptides als sicher erscheinen. Trotzdem stellten wir zur weiteren Charakterisierung das Äthylesterchlorhydrat XX dar und konnten somit das Vorliegen des gewünschten Peptides endgültig beweisen.

c) Die Reaktion des Dipeptidesters XIV mit *DL-Phenylalanin-N-carbonsäureanhydrid XIII* verlief unter analogen Bedingungen prinzipiell ähnlich wie beim Dipeptid. Nur fiel hier nach dem Verseifen der gebildeten Ester beim Neutralisieren mit Salzsäure ein Teil des Tripeptides infolge seiner Schwerlöslichkeit zusammen mit den oben erwähnten höheren Peptiden aus und konnte von diesen mit 90%igem Äthanol abgetrennt werden. Die Ausbeute liegt zwischen der des Azlacton- und Cbzo-Verfahrens (Tabelle 1).

Analog wie beim Dipeptid führte auch beim Tripeptid die Umsetzung des NCA mit dem Natriumsalz des Dipeptides sowohl im heterogenen System Essigester-Wasser, als auch bei Anwendung der Diasolyse zu besseren Ergebnissen. Wenn auch die Absolutausbeuten nicht sehr hoch liegen, so bedeutet doch die Reduzierung des Arbeitsganges auf eine Stufe eine Verbesserung der Gesamtausbeute in bezug auf das eingesetzte Phenylalanin (Tabelle 1) und außerdem eine wesentliche Zeitersparnis.

Die Darstellung des Tripeptides nach dem Verfahren von *Bailey* haben wir sowohl durch Umsetzung des NCA mit Dipeptidester bei -60° in Tetrahydrofuran, als auch durch 2maligen Umsatz des Phenylalaninesters mit dem NCA ausgeführt. Die Ausbeute bewegte sich in derselben Größenordnung wie die bei der Diasolyse erhaltene (Tabelle 1). Es bietet also die Methode von *Bailey* unter den von uns angewendeten Bedingungen keine wesentlichen Vorteile gegenüber der Umsetzung des NCA mit dem Natriumsalz des Dipeptides.

Da einige Umsetzungen des NCA in dem heterogenen System Essigester-Wasser ausgeführt wurden, lag es nahe, den Einfluß des Wassers auf die Zersetzung des NCA zu untersuchen. Dabei zeigte sich, daß in ähnlicher Weise, wie beim Glycin-N-carbonsäureanhydrid¹² mit zunehmender Wassermenge die Bildung höherer Peptide auf Kosten der Aminosäure zurückgedrängt wird. Zum Unterschied vom Glycin bilden sich aber in unserem Fall kürzere Ketten (Tabelle 2).

Gleichzeitig untersuchten wir den Einfluß des pH auf die Zersetzung durch Umsatz des NCA mit Salzsäure und Natronlauge wechselnder

¹² *F. Wessely, K. Riedl und H. Tuppy, Mh. Chem.* 81, 861 (1950).

Normalität. Auch hier ergab sich, wie die Ergebnisse der Tabelle 3 zeigen, qualitative Übereinstimmung mit den Befunden beim Glykokoll¹². Mit zunehmendem pH nimmt die Bildung von höhermolekularen Produkten stark zu.

Diese Befunde, die durch Äquivalentgewichtsbestimmung der Zersetzungsprodukte nach *Willstätter* erhalten wurden, konnten auch durch papierchromatographische Untersuchungen gestützt werden. Da uns auch bei den anderen Untersuchungen die Papierchromatographie zur Identifizierung der Reaktionsprodukte wertvolle Dienste leistete, geben wir in der Tabelle 4 die R_F -Werte der wichtigsten von uns dargestellten Phenylalanin- und Peptidderivate wieder.

Tabelle 2.

Je 0,1 g (0,5 Millimol) NCA wurden in 3 ml Aceton gelöst und mit den angegebenen Mengen Wasser versetzt.

ml H ₂ O	Äquivalentgewicht	Durchschnittliche Kettenlänge	Im Papierchromatogramm nachgewiesen			
			Phenylalanin	Dipeptid	Tripeptid	Höhere Peptide
1	620	4,1	—	—	—	+
2	436	2,83	+	+	+	+
5	244	1,53	+	+	+	—
10	219	1,36	+	+	+	—
20	171	1,04	+	—	—	—

Tabelle 3.

Je 0,1 g (0,5 Millimol) NCA wurden in 3 ml Aceton gelöst und mit je 2 ml Salzsäure bzw. Natronlauge der angegebenen Normalität versetzt.

Säure (Lauge)	Äquivalentgewicht	Durchschnittliche Kettenlänge	Im Papierchromatogramm nachgewiesen				Trübung nach
			Phenylalanin	Di-peptid	Tri-peptid	Höhere Peptide	
0,1 n HCl.	185	1,13	+	—	—	—	keine
0,01 n HCl. ...	292	1,86	+	+	+	—	8 Stdn.
0,001 n HCl. ...	391	2,54	+	+	+	+	5,5 Stdn.
H ₂ O	436	2,83	+	+	+	+	3 Stdn.
0,001 n NaOH	411	2,67	+	+	+	+	2,5 Stdn.
0,01 n NaOH .	514	3,37	+	(+)	+	+	30 Sek.
0,1 n NaOH ..	2174	14,66	—	—	—	+	sofort

Außerdem untersuchten wir das DL-Phenylalanin und die Peptide, einschließlich des fraglichen „Pentapeptides“ bezüglich ihrer UV-Absorption. Wie zu erwarten, wirkt sich in den Absorptionskurven fast ausschließlich der Phenylrest aus, so daß die Kurven der des Benzols stark ähneln. Die Maxima liegen in allen Fällen bei 258,5 $m\mu$, während

Tabelle 4. R_F -Werte von Phenylalanin- und Peptidderivaten.

Whatman Nr. 1, Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5),
absteigend, Dauer: 20 Stdn.

Verbindung	R_F -Wert
Phenylalanin.....	0,55
Phenylalanin-äthylester	0,82
Phenylalanin-äthylester-chlorhydrat ...	0,81
Dipeptid	0,79
Dipeptid-äthylester	0,86
Dipeptid-äthylester-chlorhydrat	0,86
Tripeptid	0,88
Tripeptid-äthylester	0,92
Tripeptid-äthylester-chlorhydrat.....	0,94
„Pentapeptid“	0,93

sich die weniger charakteristischen Minima vom Phenylalanin zum Tripeptid hin ins längerwellige Spektralgebiet verschieben. Auch die Ex-

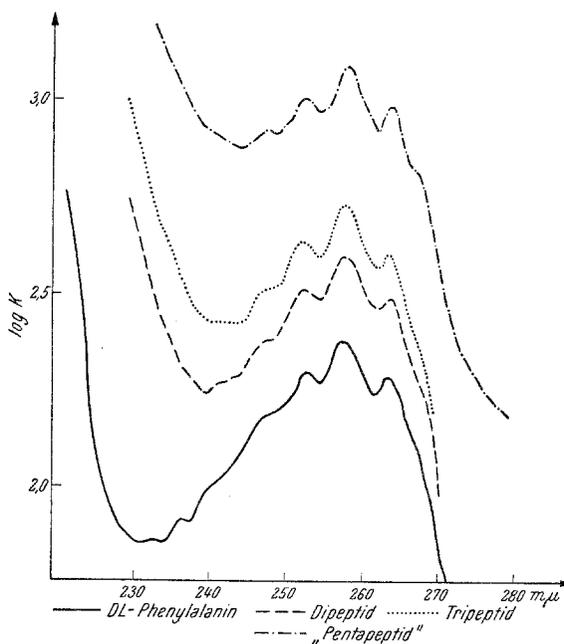


Abb. 1. UV-Spektren von Phenylalanin und Peptiden.

tinktionen zeigen die erwartete Zunahme vom Phenylalanin zum Tripeptid (Abb. 1). Die Spektren wurden in 60%iger äthanolischer Lösung mit einem Beckman-Spektrophotometer bestimmt.

Experimenteller Teil.

Dipeptidsynthesen.

b) Azlactonverfahren.

Azlacton des N-Acetyl-DL-phenylalanins (I). DL-2-Methyl-4-benzyl-oxazolin-(4,5)-on(5).

Dieses wurde nach *Bergmann*⁵ dargestellt, nur haben wir das Reaktionsprodukt im Kugelrohr bei 90 bis 100° Badtemp. und 0,02 Torr destilliert. Ausbeute 82% d. Th.

N-Acetyl-DL-phenylalanyl-DL-phenylalanin-äthylester (III).

Zu einer Lösung von 2,0 g DL-Phenylalanin-äthylester in 20 ml abs. Äther wurde eine Lösung von 1,9 g I (1 Mol) in 25 ml abs. Äther langsam zutropft. Nach kurzer Zeit begann sich unter Aufsieden des Äthers ein Niederschlag abzuscheiden, der nach mehrstündigem Stehen auf Eis abgesaugt und mit Äther gewaschen wurde. Ausbeute 3,4 g (90% d. Th.). Aus Essigester Blättchen. Schmp. 195 bis 197¹³.

$C_{22}H_{26}O_4N_2$. Ber. C 69,08, H 6,85. Gef. C 69,14, H 6,65.

N-Acetyl-DL-phenylalanyl-DL-phenylalanin (IV).

0,12 g III in 2 ml Äthanol verseiften wir mit 1 ml n-NaOH (3 Mol) 16 Stdn. bei Zimmertemp. Beim Ansäuern mit n-HCl fiel das N-Acetyldipeptid in einer Menge von 0,10 g (90% d. Th.) aus. Aus 50%igem Methylalkohol Nadeln. Schmp. 173 bis 175° (Zers.).

$C_{20}H_{22}O_4N_2$. Ber. C 67,79, H 6,26. Gef. C 67,89, H 6,40

Äqu.-Gew. 354 Äqu.-Gew. 361 (nach *Willstätter*).

DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanin-hydrobromid (V).

3,0 g III wurden in 300 ml 3 n-HBr 20 Min. zum gelinden Sieden erhitzt, wobei nach 15 Min. alles in Lösung gegangen war. Beim Eindampfen im guten Vakuum schied sich bald ein Niederschlag aus, der beim weiteren Einengen zunahm. Als das Volumen etwa 50 ml betrug, wurde gekühlt, mit etwas Aceton versetzt, abgesaugt und mit Aceton gewaschen (das Hydrobromid des Phenylalanins ist in Aceton löslich). Ausbeute 1,2 g (40% d. Th.). Weiße Blättchen. Schmp. 218 bis 220° (Zers.).

$C_{18}H_{21}O_3N_2Br$. Ber. Br 20,35. Gef. Br 20,30.

Ausbeuten in Prozent d. Th. an Dipeptid-Bromhydrat bei Verseifung von III mit der 100fachen Menge Bromwasserstoffsäure der angegebenen Normalität.

Erhitzungs- dauer in Minuten	Normalität der HBr			
	1 n	2 n	3 n	5 n
15	10%	—	40%	30%
30	12%	30%	37%	—
45	—	—	32%	—

¹³ Wenn nicht besonders angegeben, sind die Schmelzpunkte im *Rothschen* Apparat im Vakuumröhrchen bestimmt worden.

In analoger Weise konnte aus dem N-Acetyldipeptid IV durch Behandeln mit 3 n-HBr das Bromhydrat in einer Ausbeute von 38% d. Th. gewonnen werden.

DL-Phenylalanyl-DL-Phenylalanin (VI).

1 g V in 15 ml Wasser versetzten wir mit einer gesättigten Lösung von Natriumacetat. Das sofort rein ausfallende Dipeptid wog nach dem Trocknen 0,72 g (91% d. Th.). Nadeln. Schmp. 283 bis 285° (Zers., Mikroschmp. nach Kofler).

Zur Analyse wurde über P₂O₅ bei 10 mm und 100° mehrere Stdn. getrocknet.

C₁₈H₂₀O₃N₂. Ber. C 69,23, H 6,46. Gef. C 68,91, H 6,43.

Äqu.-Gew. 312. Äqu.-Gew. 318 (nach Willstätter).

Bei größerer Verdünnung fiel das Dipeptid manchmal erst nach einiger Zeit, und zwar als Dihydrat aus. Blättchen aus Wasser. Schmp. 135 bis 138°, erstarrt wieder bei höheren Temp., um dann bei 283 bis 285° zu schmelzen (Mikroschmp.).

C₁₈H₂₀O₃N₂ · 2 H₂O. Ber. Äqu.-Gew. 348. Gef. Äqu.-Gew. 350 (Willstätter).

Die Überführung des Dihydrats in die wasserfreie Verbindung konnte entweder durch längeres Kochen mit absol. Äthanol oder nach E. Fischer durch 2stündiges Erhitzen auf 110° erreicht werden.

c) Carbobenzoxyverfahren.

N-Cbzo-DL-Phenylalanin-äthylester (VII).

Zu 3 g DL-Phenylalanin-äthylester-chlorhydrat in 50 ml Chloroform wurden unter guter Kühlung und kräftigem Schütteln in Portionen 2,4 g Benzylchlorkohlensäureester (1,1 Mol) und 27 ml n-NaOH (2 Mol) abwechselnd zugegeben. Nach dem Ausschütteln der Chloroformlösung mit je 30 ml n-HCl und verd. K₂CO₃-Lösung und Trocknen über Natriumsulfat hinterblieb nach dem Abdampfen ein Öl, das beim Kratzen sofort kristallisierte. Mit Äther-Petroläther (1 : 1) haben wir versetzt und abgesaugt. Ausbeute 3,15 g (74% d. Th.). Aus Äther-Petroläther Blättchen. Schmp. 77 bis 79°.

C₁₉H₂₁O₄N. Ber. N 4,27. Gef. N 4,21.

N-Cbzo-DL-Phenylalanin-hydrazid (VIII).

3,0 g VII in 10 ml absol. Äthanol haben wir in der Wärme mit 1,0 g Hydrazinhydrat (2,2 Mol) versetzt. Nach 24 Stdn. wurde der abgeschiedene Kristallbrei durch Erwärmen in Lösung gebracht und erneut 0,2 g Hydrazinhydrat zugegeben. Nach weiteren 24 Stdn. versetzten wir mit Wasser und saugten ab. Ausbeute 2,65 g (92% d. Th.). Aus verd. Äthanol Nadeln. Schmp. 136 bis 138°. Die Substanz ist leicht löslich in Methanol und Äthanol, sehr schwer löslich in Wasser und Äther, unlöslich in Petroläther.

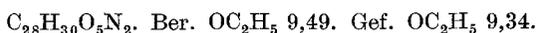
C₁₇H₁₉O₃N₃. Ber. N 13,41. Gef. N 13,55.

N-Cbzo-DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanin-äthylester (IX).

2,4 g VIII wurden in 18 ml Eisessig und 42 ml 2 n-HCl gelöst, auf — 3° gekühlt und unter Rühren mit einer Lösung von 0,54 g Natriumnitrit (1 Mol) in 4 ml Wasser diazotiert. Dabei schied sich sofort das Azid VIIIa als eine

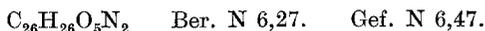
dicke, fadenziehende Masse ab. Nach Aufnehmen derselben in 40 ml eisgekühltem Äther haben wir mit Wasser, Natriumhydrogenkarbonatlösung und wieder mit Wasser (alle Lösungen eiskalt) durchgeschüttelt, kurz über Natriumsulfat getrocknet und mit einer absolut-ätherischen Lösung von 2,3 g DL-Phenylalanin-äthylester (1,5 Mol) versetzt. Nach 24stündigem Stehen bei 0° wurde nacheinander mit n-HCl, Natriumhydrogenkarbonatlösung und Wasser durchgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet und der Äther abgedampft. Es hinterblieben 2,94 g (82% d. Th.) eines schwach gelblichen Glases, welches für die folgende Verseifung rein genug war.

Nach öfterem Umlösen aus wäßr. Äthanol resultierte ein amorphes Pulver, das keinen ausgeprägten Schmp. zeigte.



N-Cbzo-DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanin (X).

2,7 g IX wurden in 30 ml Äthanol gelöst und mit 15 ml n-NaOH (3 Mol) bei Zimmertemp. 12 Stdn. verseift. Das beim Ansäuern mit n-HCl zuerst ölig ausfallende Produkt konnte durch Umlösen aus Dioxan-Methylalkohol-Wasser kristallin erhalten werden. Nadeln. Schmp. 138 bis 140° (Zers.). Ausbeute 2 g (80% d. Th.).



Äqu.-Gew. 446. Äqu.-Gew. 452 (nach Willstätter).

DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanin (VI).

1,0 g X, gelöst in 6 ml Eisessig, 80 ml Methanol und 5 ml Wasser haben wir in Gegenwart von 0,40 g Palladiummohr unter geringem Wasserstoffüberdruck 24 Stdn. geschüttelt. Hierauf wurde der Katalysator abfiltriert, die Lösung im Vak. zu Trockene gedampft, der Rückstand in wenig Salzsäure gelöst, erneut im Vak. eingedampft und das rückbleibende Chlorhydrat des Dipeptides mit Natriumacetatlösung zersetzt. Ausbeute 0,50 g (71% d. Th.) an reinem Dipeptid von den angegebenen Eigenschaften.

X durch Carbobenzoylierung des Dipeptides.

0,43 g Dipeptid in 1,3 ml n-NaOH (1 Mol) wurden mit 0,22 g Benzylchlor-kohlensäureester (1 Mol) und 1,3 ccm n-NaOH wie üblich acyliert. Ausbeute 0,47 g (77% d. Th.). Aus Dioxan-Methanol-Wasser Nadeln. Schmp. 139 bis 141° (Zers.).

d) Wieland-Verfahren.

Anhydrid des N-Cbzo-DL-Phenylalanins (XII).

1 g Natriumsalz des N-Cbzo-DL-Phenylalanins, gelöst in 2 ml Benzonnitril wurde mit 0,44 g Benzoylchlorid (1 Mol) 30 Min. im Schliffrohrchen geschüttelt, wobei die Viskosität der Lösung stark zunahm. Zur Aufarbeitung versetzten wir mit 3 ml abs. Äther und 0,5 ml abs. Petroläther und zentrifugierten vom ausgefallenen Niederschlag ab. Das klare Zentrifugat wurde mit abs. Petroläther bis zur beginnenden Trübung versetzt und auf Eis gekühlt. Nach 6 Stdn. wurde vom Niederschlag abgesaugt und mit Petroläther nachgewaschen. Ausbeute 0,47 g. Schmp. 123 bis 125° (Zers.).



Umsetzung von XII mit DL-Phenylalanin.

In eine Lösung von 0,2 g DL-Phenylalanin in 0,6 ml 2 n-NaOH wurden 0,35 g XII (0,5 Mol) eingerührt. Nach tropfenweiser Zugabe von weiteren 0,6 ml 2 n-NaOH ging der Niederschlag teilweise in Lösung. Beim Ansäuern mit HCl (1 : 1) gegen Kongo fiel ein zähes Öl aus, von welchem abdekantiert wurde. Es war auch nach öfterem Umfällen aus Dioxan-Methanol-Wasser nicht zur Kristallisation zu bringen und wurde daher roh der Hydrierung unterworfen, die in der üblichen Weise erfolgte. Bei der Aufarbeitung erhielten wir ein Gemisch von Dipeptid neben viel Phenylalanin. Eine Abtrennung des Dipeptides wurde wegen der geringen Ausbeute nicht durchgeführt, sondern das Peptid nur papierchromatographisch nachgewiesen.

*e) Umsetzungen des DL-Phenylalanin-N-carbonsäureanhydrides.**I. Mit DL-Phenylalaninäthylester in wasserfreien Lösungsmitteln.*

Zur Darstellung des NCA erwies sich die Methode von D. Coleman¹⁴ am geeignetsten.

Der allgemeine Arbeitsvorgang bei der Umsetzung des NCA mit dem Phenylalaninäthylester war folgender:

Versuche 2, 3, 5 und 6 der Tabelle 5 (S. 684): Zu einer Lösung von Ester und von Triäthylamin in Essigester tropften wir bei -3° unter Rühren die Essigesterlösung des NCA. Nach halbstündigem Stehen auf Eis und halbstündigem Stehen bei Zimmertemp. wurde noch 2 Stdn. auf zirka 50° erwärmt. Dabei war keine CO_2 -Entwicklung zu beobachten. Der Abdampfrückstand, der mit Anilin keine Reaktion mehr zeigte, war in allen Fällen ein zäh-glasiges Öl. Dieses wurde in zirka 15 ml Äthylalkohol in der Kälte gelöst, von ungelösten Polymeren (A) abgesaugt und mit 10 ml n-NaOH bei Zimmertemp. durch 12 Stdn. verseift. Den hiebei in geringer Menge ausfallenden Niederschlag (Polymere B) haben wir abfiltriert und das Filtrat mit der äquival. Menge n/10-HCl neutralisiert. Niederschlag (C) wurde abgesaugt, gut mit Wasser gewaschen und das Filtrat im Vak. zur Trockene eingedampft. Den Abdampfrückstand haben wir erneut mit wenig verd. NH_3 im Vak. zur Trockene gedampft, mit Wasser verrührt, abgesaugt und gut mit Wasser zur Entfernung von NaCl und Spuren von NH_4Cl gewaschen (D).

Versuche 1 und 4 der Tabelle 5: Bei diesen Versuchen wurde das NCA fest in die Lösung des Esters und des Triäthylamins bei -3° eingerührt. Die weitere Umsetzung und Aufarbeitung erfolgte wie unter Versuch 2, 3, 5 und 6 angegeben. Bei Versuch 1 und 4 war CO_2 -Entwicklung zu beobachten, die allerdings im Fall 4 wesentlich stärker war.

Reinigung von Substanz C.

Die Zersetzungspunkte der einzelnen Rohprodukte C lagen durchwegs zwischen 120 und 140° . Nach öfterem Umfällen aus Methanol-Wasser unter Zusatz von Tierkohle erhielten wir ein Produkt, das sich durch die angewendeten Methoden papierchromatographisch nicht weiter aufspalten ließ und dessen R_F -Wert höher als der eines Tripeptides lag (Tabelle 4). Es war amorph und zersetzte sich von 164 bis 167° . Es war leicht löslich in Methanol, Äthanol, Dioxan, Eisessig, Essigester und Aceton, schwer löslich in n-Butanol, Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff, unlöslich in Wasser, 2 n-HCl und 2 n-NaOH.

¹⁴ J. chem. Soc. London 1950, 3222.

Tabelle 5. Umsetzung von NCA mit Ester (e l).

Versuch Nr.	Ausgangsprodukte					Reaktionsprodukte					
	NCA g	in ml Essig- ester	Phenyl- alanin- ester (E) g	Tri- äthyl- amin (T) g	E + T in ml Essig- ester	Polymere		C	D	Di- peptid	Aus- beute % d. Th.
						A	B				
1	1,0	1	1,0	0,52	2	0,2	—	0,50	0,50	0,05	3,1
2	1,0	7	1,0	0,52	10 ¹⁵	0,06	0,05	0,40	0,87	0,11	6,7
3	1,0	10	1,0	0,52	4	0,05	0,01	0,38	0,57	0,25	14,9
4	1,0	—	1,0	5,00	5	0,2	0,1	0,38	0,56	0,15	9,1
5	1,0	20	2,0	—	4	0,04	—	0,12	1,30	0,20	11,8
6	1,0	10	1,0	—	5	0,1	0,2	0,25	0,75	0,12	7,2

Gef. Äqu.-Gew. 751 (nach *Willstätter*, Mittel aus 7 Bestimmungen).

C 68,10 (Mittel aus 2 Bestimmungen), H 6,38.

Für ein Pentapeptid $C_{45}H_{47}O_6N_5$ berechnet sich:

Äqu.-Gew. 753. C 71,71, H 6,29.

$C_{45}H_{47}O_6N_5 \cdot 1 H_2O$ C 70,02, H 6,40.

$C_{45}H_{47}O_6N_5 \cdot 2 H_2O$ C 68,42, H 6,50.

Aus den C-, H-Werten glaubten wir keine Schlüsse ziehen zu können, da, wie sich schon beim Tripeptid ergab, mit einem sehr schwer entfernbaren Wassergehalt zu rechnen ist. Jedenfalls liegt der gefundene Wert beträchtlich unter dem für ein Pentapeptid berechneten, während das Äquivalentgewicht in guter Übereinstimmung mit einem solchen ist.

Veresterung von C.

Beim dreimaligen Verestern von C in der Kälte mit methanol. HCl erhielten wir ein Produkt, das wir durch Lösen in Chloroform und Fällen mit Petroläther reinigten. Es war amorph und zersetzte sich von 102 bis 112°. Bei verschiedenen Ansätzen erhielten wir ähnliche Produkte, die sich jedoch durch den Methoxylgehalt unterschieden.

Am häufigsten lag der Wert um 4,80% (Mittel aus 3 Best.) OCH_3 , während sich für ein Pentapeptid-methylesterchlorhydrat 3,86% OCH_3 und für ein Tetrapeptid-derivat 4,76% OCH_3 berechnen. Es scheint also bei der Veresterung, wie dies schon häufiger beobachtet wurde, eine Sprengung der Peptidbindung, zumindestens teilweise, eingetreten zu sein. Das würde auch die schwankenden Methoxylwerte bei verschiedenen Ansätzen erklären.

Reinigung von D.

D ist, wie das Papierchromatogramm zeigte, in der Hauptsache ein Gemisch von Aminosäure und Dipeptid. Zur Trennung wurde mit wenig Wasser so lange ausgekocht, bis sich der Rückstand als papierchromatographisch einheitliches Dipeptid erwies. Die in der Tabelle 5 angegebenen Ausbeuten an Dipeptid beziehen sich auf dieses Produkt.

¹⁵ In diesem Fall wurde Chloroform als Lösungsmittel verwendet. Substanz A, Versuch 5 erwies sich als Diketopiperazin.

e) II. Umsetzung des NCA mit dem Natriumsalz von DL-Phenylalanin.

Das Natriumsalz wurde durch Eindampfen der Lösung von Phenylalanin in der äquivalenten Menge methanol. NaOH erhalten. Die Lösung des Natriumsalzes aus 0,86 Phenylalanin in 8 ml Wasser haben wir mit der Lösung von 1,0 g NCA (1 Mol) in 12 ml Essigester 2,5 Stdn. auf der Maschine geschüttelt. Anschließend wurde die gesamte Lösung im Vak. eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen, von 0,2 g Polymeren abgesaugt und mit 20%iger Essigsäure das Filtrat eben angesäuert. Aus dem Niederschlag (1,72 g) haben wir das Dipeptid wie oben durch Auskochen mit Wasser von beigemengter Aminosäure rein erhalten. Die Ausbeute betrug in diesem Fall 14,2% an Dipeptid. In einem weiteren Ansatz, bei dem in etwas verdünnter Lösung gearbeitet wurde, lag die Ausbeute in derselben Größenordnung (11%).

e) III. Darstellung des Dipeptides mit Hilfe der Diasolyse.

0,5 g NCA wurde in 7 ml abs. Essigester gelöst und die Lösung in einen Gummibeutel gefüllt. Dieser hing, wie aus der Abb. 2 hervorgeht, in eine Suspension des Natriumsalzes aus 0,43 g Phenylalanin (1 Mol) in 50 ml abs. Aceton. Nach 24stündigem Schütteln auf der Maschine haben wir sowohl die Aceton- als auch die Essigesterlösung im Vak. eingedampft. Die Essigesterlösung lieferte 0,2 g Polymere, während der Abdampfrückstand der Acetonlösung glatt in Wasser löslich war. Nach Fällung mit verd. Essigsäure (0,28 g) wurde das Dipeptid darauf, wie oben beschrieben, isoliert und gereinigt. Ausbeute 0,17 g (19,9% d. Th.).

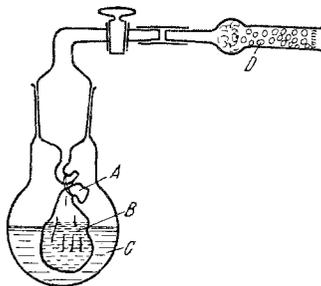


Abb. 2. Anordnung zur Diasolyse.
A: Gummibeutel.
B: Lösung von NCA in Essigester.
C: Lösung (Suspension) von Natriumsalz in Aceton.
D: Chlorcalciumrohr.

e) IV. Darstellung des Dipeptides nach Bailey.

Eine Lösung von 1,0 g NCA in 8 ml Tetrahydrofuran wurde auf -60° gekühlt und in zwei Portionen zu einer ebenfalls auf -60° gekühlten Lösung von 1,0 g Phenylalaninäthylester und 1,35 Methyl-di-n-octylamin gegeben. Nach 5 Stdn. bei -60° haben wir auf Zimmertemp. erwärmt, das Lösungsmittel im Vak. abgedampft, das Amin mit Petroläther entfernt und den zähglasigen Rückstand wie unter e I beschrieben weiter aufgearbeitet. Dabei erhielten wir 0,63 g Dipeptid (38% d. Th.).

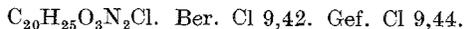
Tripeptidsynthesen.

a) Azlactonverfahren.

DL-Phenylalanyl-DL-phenylalaninäthylester-Chlorhydrat.

6 g V, (vgl. S. 680) in 80 ml abs. Äthanol gelöst, sättigten wir in der Kälte mit HCl-Gas, anschließend erhitzen wir 10 Min. zum Sieden und dampften hierauf den Alkohol im Vak. ab.

Nach 2maligem Umlösen des Rückstandes aus Äthanol-Äther verblieben 4,5 g (78% d. Th.) an reinem Hydrochlorid. Farblose Nadeln. Schmp. 170 bis 172°.



DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanin-äthylester (XIV).

Diesen haben wir in üblicher Weise mit K_2CO_3 aus dem Chlorhydrat in Freiheit gesetzt. Zähes, farbloses Öl, das nicht zur Kristallisation zu bringen war. Ausbeute fast quantitativ. Leicht löslich in Chloroform, ziemlich schwer in Äther.

N-Acetyl-DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanyl-DL-phenylalanin-äthylester (XV).

3,5 g Dipeptid-äthylester XIV, in 15 ml abs. Chloroform und 1,9 g Azlacton I (1 Mol) in 40 ml abs. Äther wurden, wie beim N-Acetyl-Dipeptid-ester III beschrieben, umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute 4,35 g (80% d. Th.). Aus Äthanol-Wasser Nadeln. Schmp. 205 bis 206° (Zers.).

$C_{31}H_{35}O_5N_3$. Ber. C 70,22, H 6,61. Gef. C 69,90, H 6,48.

N-Acetyl-DL-phenylalanyl-DL-phenylalanyl-DL-phenylalanin (XVI).

0,5 g XV in 10 ml Äthanol haben wir mit 6 ml n-NaOH (6 Mol) über Nacht bei Zimmertemp. verseift. Die beim Ansäuern mit n-HCl ausfallende zäh-schmierige Substanz wurde durch öfteres Umfällen aus Methanol-Wasser gereinigt, konnte aber nur als amorphes Pulver erhalten werden, das sich von 145 bis 155° allmählich zersetzte.

$C_{29}H_{31}O_5N_3$. Ber. Äqu.-Gew. 502. Gef. Äqu.-Gew. 513 (nach Willstätter).

DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanyl-DL-phenylalanin (XVII).

1,8 g XV, in 180 ml 4 n-HBr suspendiert, haben wir 20 Min. zum gelinden Sieden erhitzt, nach dem Erkalten von wenig Ungelöstem abgesaugt und das Filtrat im Vak. zur Trockene gedampft. Der bräunlich-schmierige Rückstand wurde in wenig warmen Wasser gelöst, filtriert und mit einer gesättigten Natriumacetatlösung versetzt. Der ausfallende Niederschlag wog nach dem Auskochen mit wenig Wasser 0,15 g (10% d. Th.).

Aus viel 90%igem Äthanol mehrfach umgelöst. Nadeln (mikrokrist.). Schm. 220 bis 222° (Zers.).

$C_{27}H_{29}O_4N_3 \cdot H_2O$. Ber. C 67,86, H 6,54. Gef. C 67,71, H 6,59.

Äqu.-Gew. 477. Äqu.-Gew. 488 (Willstätter).

Nach 14stündigem Trocknen bei 140° und 0,02 Torr über P_2O_5 .

Gef. C 68,32, H 6,40. Ber. für $C_{27}H_{29}O_4N_3$. C 70,59, H 6,36.

Äqu.-Gew. 480. Äqu.-Gew. 459.

*b) Carbobenzoxyverfahren.**N-Cbzo-DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanyl-DL-phenylalanin-äthylester (XVIII).*

4,6 g N-Cbzo-DL-Phenylalaninhydrazid VIII wurden mit 1 g Natriumnitrit, wie beim N-Cbzo-Dipeptidäthylester IX angegeben, diazotiert und die ätherische Lösung des Azides in der Kälte zu einer Lösung von 5,2 g Dipeptid-äthylester XIV (1 Mol) in 50 ml abs. Chloroform gegeben. Nach 18stündigem Stehen im Eisschrank hatte sich ein Niederschlag gebildet, der abgesaugt und mit Äther gewaschen wurde. Ausbeute 4,5 g (50% d. Th.).

Zur Reinigung lösten wir in Chloroform, schüttelten mit n-HCl, Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser durch, trockneten über Na_2SO_4 , engten

im Vak. ein und fällten mit Äther. Ausbeute 3,8 g. Amorphes Pulver, das sich von 165 bis 170° zersetzt.

$C_{37}H_{39}O_6N_3$. Ber. C 71,46, H 6,32, N 6,79, Gef. C 71,28, H 6,38, N 7,09,
 OC_2H_5 7,24. OC_2H_5 7,30.

N-Cbzo-DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanyl-DL-phenylalanin (XIX).

2,7 g XVIII, gelöst in 50 ml warmen Äthanol, versetzten wir nach raschem Abkühlen mit 12 ml n-NaOH (3 Mol). Nach 12 Stdn. wurde von ganz wenig Ungelöstem abfiltriert und mit n-HCl eben angesäuert. Die anfängliche Trübung verwandelte sich nach einigem Stehen auf Eis in einen Niederschlag. Dieser wurde zur Reinigung aus viel Äthanol-Wasser mehrmals umgefällt. Ausbeute 1,5 g (60% d. Th.).

Amorphes Pulver, das sich von 180 bis 190° zersetzt. Leicht löslich in Äthanol, Methanol, Essigester und Dioxan. In kaltem Wasser praktisch unlöslich.

$C_{35}H_{35}O_6N_3$. Ber. N 7,08. Gef. N 7,38.

DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanyl-DL-phenylalanin (XVII).

0,47 g XIX wurden in einer Lösung aus 35 ml Methanol, 1 ml Eisessig und 0,5 ml Wasser in Gegenwart von 0,25 g Palladiummohr bei geringem Wasserstoffüberdruck 24 Stdn. geschüttelt. Dabei hatte sich in der Lösung ein Niederschlag abgeschieden, der mit der Mutterlauge vorsichtig vom Katalysator abgossen wurde.

Abgesaugt und getrocknet wog er 0,106 g. Schmp. 216 bis 219° (Zers.).

Aus der Mutterlauge wurden weitere 0,08 g von einem bei 210 bis 215° schmelzenden Produkt erhalten, welches sich papierchromatographisch ebensfalls als Tripeptid erwies, so daß die Gesamtausbeute an rohem Tripeptidhydrat 0,186 g (48% d. Th.) beträgt. Durch 2maliges Umlösen aus 90%igem Äthanol erhielten wir ein reines Produkt. Schmp. 219 bis 220° (Zers.). Mikrokrist. Nadeln.

$C_{27}H_{29}O_4N_3 \cdot 1 H_2O$. Ber. C 67,86, H 6,54. Gef. C 68,30, H 6,38.

Aqu.-Gew. 477. Aqu.-Gew. 481 (*Willstätter*).

DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanyl-DL-phenylalanin-äthylester-Chlorhydrat.

0,11 g XVII wurden in 10 ml abs. Äthanol suspendiert und in der Kälte HCl-Gas bis zur Sättigung eingeleitet. Nach 2stündigem Stehen dampften wir den Alkohol im Vak. ab und veresterten nochmals in derselben Weise.

Den Abdampfrückstand lösten wir 3mal aus Äthanol-Äther um. Ausbeute 0,110 g (90% d. Th.). Schmp. 224 bis 227° (Zers.).

$C_{29}H_{33}O_4N_3 \cdot HCl$. Ber. OC_2H_5 8,60, Cl 6,77. Gef. OC_2H_5 8,61, Cl 6,87.

c) I. Umsetzung des NCA mit Dipeptidester XIV in wasserfreiem Essigester.

1,0 g NCA in 13 ml Essigester und 1,7 g XIV (1 Mol) zusammen mit 0,52 g Triäthylamin (1 Mol) in 2,5 ml Essigester wurden, wie beim Dipeptid beschrieben, umgesetzt. Beim Erwärmen war keine CO_2 -Entwicklung zu beobachten. Nach dem Aufnehmen des Estergemisches in Äthanol blieben 0,05 g an Diketopiperazin ungelöst. Dieses haben wir abfiltriert, das Filtrat über Nacht mit 10 ml 1 n-NaOH verseift und hierauf mit n/10 HCl neutralisiert. Aus dem ausfallenden Produkt, das 1,12 g wog, konnte durch Umlösen

aus 90%igem Äthanol papierchromatographisch einheitliches Tripeptid gewonnen werden. Das Filtrat der HCl-Fällung wurde im Vak. zur Trockene gedampft und ergab bei der Behandlung mit Äthanol eine weitere Menge an Tripeptid. Gesamtausbeute 0,22 g (8,8% d. Th.).

c) II. Umsetzung des NCA mit dem Na-Salz des Dipeptides.

1,0 g NCA in 18 ml Essigester und das Na-Salz aus 1,6 g Dipeptid (1 Mol) in 18 ml Wasser wurden, wie beim Dipeptid beschrieben, umgesetzt und aufgearbeitet und lieferten 0,30 g (12% d. Th.) an papierchromatographisch einheitlichem Tripeptid.

c) III. Diasolyse.

0,5 NCA in 7 ml Essigester und das Na-Salz aus 0,92 g Dipeptid-dihydrat (1 Mol) in 40 ml Aceton haben wir in analoger Weise, wie beim Dipeptid, zur Reaktion gebracht. Aus 0,82 g Substanz, die bei der Fällung mit Essigsäure anfielen, konnten wir 0,21 g reines Tripeptid (17% d. Th.) isolieren.

c) IV. Tripeptidsynthese nach Bailey.

Die Synthese von XVII wurde beim Versuch 1 durch Umsatz des NCA mit der molaren Menge Dipeptidester, beim Versuch 2 durch 2maligen Umsatz von DL-Phenylalaninäthylester mit NCA erreicht. Die Reaktionsbedingungen und Methoden der Aufarbeitung gleichen denen beim Dipeptid (unter e IV) beschrieben.

Die näheren Angaben sind aus der Tabelle 6 zu entnehmen.

Tabelle 6.

Versuch Nr.	Ausgangsprodukte					Reaktionsprodukte			
	NCA g	in ml Tetrahydrofuran	Ester (E) g	Amin (A) g	E + A in ml Tetrahydrofuran	Polymere g	HCl-Fällung g	Tripeptid g	Ausbeute %
1	1,0	9	1,8	1,35	8	—	1,5	0,39	16
2	1,0	8	0,5	0,67	8	0,15	1,3	0,30 ¹⁶	13

Die Mikro-C,H-Analysen und Halogenbestimmungen wurden von Herrn Dr. G. Kainz im Mikroanalytischen Laboratorium des II. Chem. Institutes durchgeführt.

¹⁶ Außerdem erhielten wir in diesem Fall 0,26 g reines Dipeptid (16% d. Th.).