

TOTALSYNTHESE VON LEUCIN-ENKEPHALIN

Wolfgang Voelter, Emanuel Pietrzik  
und Hubert Kalbacher

Chemisches Institut der Universität Tübingen, D-7400 Tübingen, Auf der Morgen-  
stelle, BRD

(Received in Germany 20 April 1976; received in UK for publication 10 May 1976)

Vor kurzem wurde die Strukturklärung von Enkephalin, einem natürlichen Liganden für Opiat-Rezeptoren, beschrieben <sup>1)</sup>; nach seiner Isolierung aus Schweinehirn wurde die Struktur durch Aminosäureanalyse, Dansyl-Edman-Abbau und Massenspektrometrie bewiesen <sup>1)</sup>.

Über die ersten experimentellen Einzelheiten einer klassischen Leucin-Enkephalin-Synthese wird wie folgt berichtet:

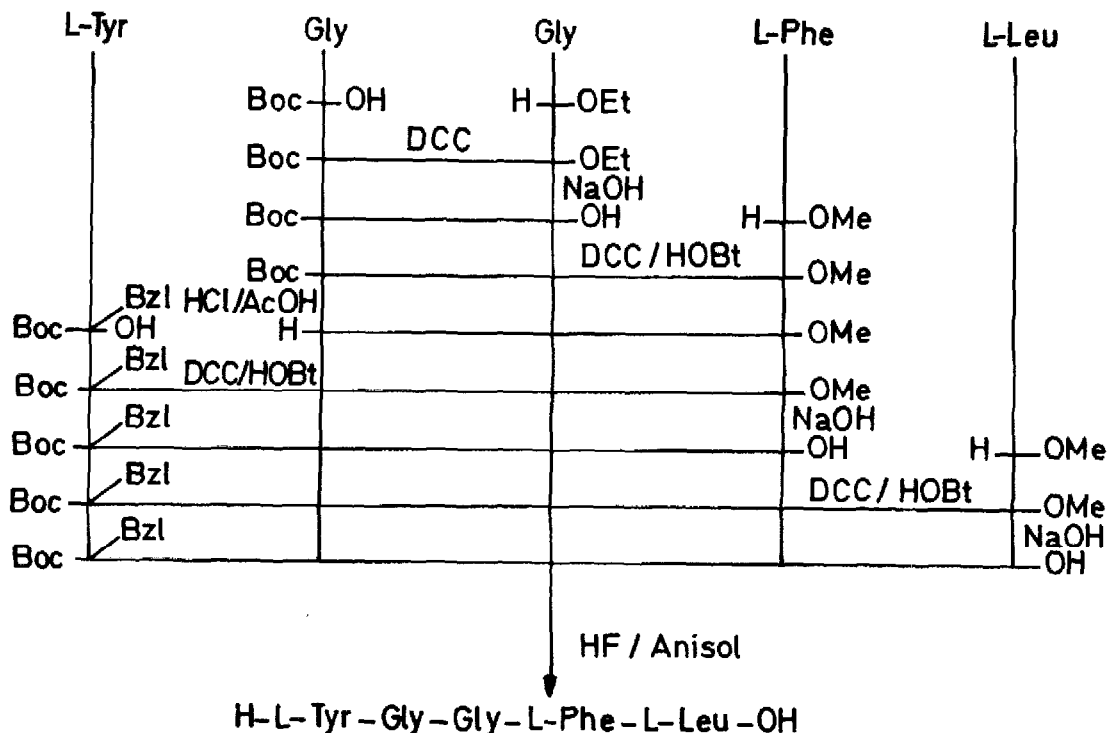
Zur Darstellung des Pentapeptids werden folgende geschützte Aminosäuren synthetisiert:

Aminosäurederivate	Fp. °C	$[\alpha]_D$	Fp. °C	$[\alpha]_D$ (Literaturwerte)
Boc-Gly-OH	88-89		85-89 <sup>2)</sup>	
H-Gly-OEt·HCl	144		145-148 <sup>3)</sup>	
H-L-Phe-OMe·HCl	160-161	+27,3°, c=1,	159-161 <sup>4)</sup>	-4,6°, c=5, H <sub>2</sub> O <sup>4)</sup>
		CH <sub>3</sub> COOH		
H-L-Leu-OMe	148-150	+14,5°, c=1,	153 <sup>5)</sup>	+12,7°, c=2, H <sub>2</sub> O <sup>5)</sup>
		H <sub>2</sub> O		
Boc-L-Tyr(Bzl)-OH	107-109	+16,3°, c=1,	109-111 <sup>6)</sup>	+16,6°, c=1, CH <sub>3</sub> OH <sup>6)</sup>
		CH <sub>3</sub> OH		

Die eingeschlagene Synthesestrategie ist aus dem unten aufgeführten Syntheschema ersichtlich. Boc-Glycyl-glycin-äthylester wird durch Kuppeln von Boc-Glycin und Glycinäthylester in DMF mit Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) hergestellt. Der geschützte Äthylester hat einen Schmelzpunkt von 60-62 °C (Ausbeute 83 % d.Th.). Eine ungefähr 20-proz. Methanol-Wasser(8:2)-Lösung des Äthylesters wird durch Zugabe äquimolarer Mengen an NaOH zum Boc-Glycyl-glycin verseift (Ausbeute 73 % d.Th.; Fp. 125-127 °C).

Der geschützte Boc-Tripeptid-methylester wird durch Kuppeln von Boc-Gly-Gly-OH und H-L-Phe-OMe mit Dicyclohexylcarbodiimid in Gegenwart von 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) hergestellt (Ausbeute 84 % d.Th.). Boc-Gly-Gly-L-Phe-OMe schmilzt bei 121-122 °C und hat einen Drehwert von  $[\alpha]_D +38,7^\circ$  (c=1,25, CH<sub>3</sub>COOH). Von Boc-Gly-Gly-L-Phe-OMe wird der tert-Butyloxycarbonylrest mit 1,2 n HCl, gelöst in Eisessig, abgespalten. H-Gly-Gly-L-Phe-OMe·HCl schmilzt bei 182-183 °C ( $[\alpha]_D = 47,0^\circ$ , c=1, CH<sub>3</sub>COOH; Ausbeute 83 % d.Th.).

An das N-terminale Ende des Tripeptidmethylesters wird Boc-L-Tyr(Bzl)-OH ebenfalls mit DCC/HOBt in DMF zum Boc-L-Tyr(Bzl)-Gly-Gly-L-Phe-OMe gekuppelt



(Ausbeute 49 % d.Th.; Fp. des Reaktionsprodukts: 108-110 °C;  $[\alpha]_D +26,3^\circ$ ,  $c = 1$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). In der bereits beschriebenen Weise wird der geschützte Methylester des Tetrapeptidderivats zur freien Säure Boc-L-Tyr(Bzl)-Gly-Gly-L-Phe-OH (Fp. 95-96 °C;  $[\alpha]_D +34,3^\circ$ ;  $c = 0,95$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ; Ausbeute 72 % d.Th.) verseift.

Das geschützte Pentapeptid mit der gewünschten Sequenz des Enkephalins wird durch erneute Kupplung mit DCC, HOBt in DMF in einer Ausbeute von 92 % d.Th. hergestellt und ohne weitere Reinigung weiterverarbeitet. Die Verseifung des geschützten Pentapeptidmethylesters zu Boc-L-Tyr(Bzl)-Gly-Gly-L-Phe-L-Leu-OH in  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  (8:2) verläuft mit 55-proz. Ausbeute d.Th. Die Abspaltung der restlichen Schutzgruppen mit HF/Anisol liefert Leucin-Enkephalin in 45-proz. Rohausbeute. Die Reindarstellung des Naturstoffs erfolgt durch Trennung über eine LH-20-Säule mit Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$  (95:5) als Elutionsmittel. Enkephalin schmilzt bei 206-208 °C und hat einen Drehwert von  $[\alpha]_D +32,3^\circ$  ( $c = 0,9$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).

#### Literatur

1. J.Hughes, T.W.Smith, H.W.Kosterlitz, L.A.Fothergill, B.A.Morgan und E.R. Morris, *Nature* **258**, 577 (1975).
2. G.W.Anderson und A.C.McGregor, *J.Amer.Chem.Soc.* **79**, 6180 (1957).
3. R.W.Chambers und F.M.Carpenter, *J.Amer.Chem.Soc.* **77**, 1522 (1955).
4. H.Schwarz, F.M.Bumpus und I.H.Page, *J.Amer.Chem.Soc.* **79**, 5697 (1957).
5. E.Sandrin und R.A.Biossonnas, *Helv. Chim. Acta* **46**, 1637 (1963).
6. T.Nagasawa, K.Kuroiwa, K.Narita und Y.Isowa, *Bull.Chem.Soc.Jap.* **46**, 1269 (1973).