

# Peptid-Synthesen III

## 17. Mitteilung<sup>1)</sup>

Von Prof. Dr. THEODOR WIELAND und BÄRBEL HEINKE

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt/M.

Die seit dem zweiten, 1954 in dieser Zeitschrift gegebenen Bericht erzielten Ergebnisse anderer Laboratorien und des eigenen Arbeitskreises auf dem Gebiet der Peptid-Synthesen werden zusammenfassend dargestellt. Es sind weitere erhebliche Fortschritte gemacht worden, die heute die Synthese komplizierter Oligopeptide, Cyclopeptide und sogar Polypeptide ermöglichen.

### Einleitung

#### Schützende Gruppen

1. Am Stickstoff
2. Am Schwefel und Sauerstoff
3. An der Carboxyl-Gruppe

#### Peptid-Synthesen unter Aktivierung der Carboxyl-Gruppe

1. Anhydride mit Carboxyl-Verbindungen
2. Anhydride mit anorganischen Säuren
3. Aminoacyl-mercaptane
4. Aminoacyl-phenole

#### 5. Weitere aktivierte Ester

#### 6. Aktivierte Amide

#### Peptid-Verknüpfung mit N-substituierten Bausteinen

#### Verwendung von wasserabspaltenden Mitteln

1. Carbodiimide
2. Alkoxy-acetylene

#### Polypeptide

1. Polymerisation der inneren Carbaminsäureanhydride
2. Andere Polypeptid-Synthesen

#### Cyclische Peptide

### Einleitung

Bei der wachsenden Bedeutung, die der Chemie der Peptide und Proteine zukommt, haben sich seit der letzten von uns 1954 gegebenen Zusammenfassung<sup>2)</sup> die Arbeiten über weitere Methoden zur Verknüpfung von  $\alpha$ -Aminosäuren stetig vermehrt. Die wichtigsten seither publizierten Arbeiten zusammen mit noch unveröffentlichten Ergebnissen aus dem eigenen Arbeitskreis sind in der folgenden Abhandlung zusammengestellt. In der Zwischenzeit erschien ein ausführliches Kapitel über alle Synthesen von Peptiden von W. Grassmann und E. Wünsch<sup>3)</sup>, das die Literatur bis zum Anfang des vergangenen Jahres berücksichtigt.

Von den beiden prinzipiellen Möglichkeiten der Aminosäure-Verknüpfung, nämlich durch Aktivierung der Carboxyl-Gruppe oder durch entsprechende Vorbereitung der Amino-Gruppe, ist besonders die erste Möglichkeit variiert oder erweitert worden. Dazu kamen als wertvolle Bereicherungen solche Reagentien, die zwischen der Carboxyl-Gruppe einer am Stickstoff geschützten Aminosäure und der Amino-Gruppe einer zweiten, am Carboxyl substituierten (Aminosäureester) in milder Weise Wasser abspalten. Hierzu eignen sich nach J. F. Arens<sup>4)</sup> Alkoxyacetylene und nach J. C. Sheehan und G. P. Hess<sup>5)</sup> sowie H. G. Khorana<sup>6)</sup> Carbodiimide.

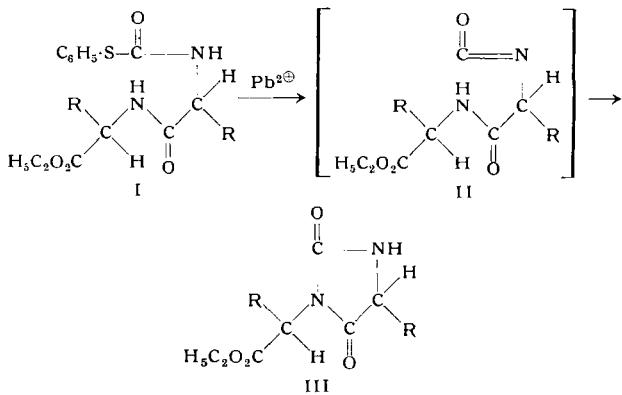
Besonderes Augenmerk hat man in letzter Zeit der Darstellung von cyclischen Oligopeptiden zugewandt, die nun nach verschiedenen Methoden erhältlich sind. Auch die Methoden zur Synthese hochmolekularer Polypeptide wurden erheblich verbessert.

### Schützende Gruppen

#### 1. Am Stickstoff

Um eine noch größere Variationsmöglichkeit bei der selektiven Abspaltung schützender Reste vom Stickstoff als bisher<sup>7)</sup> zur Verfügung zu haben, ist die Suche auf diesem Gebiet weiter fortgesetzt worden. Hierbei griffen J. Kollo-

nitsch und Mitarbb.<sup>8)</sup> auf den von G. C. H. Ehrensvärd<sup>9)</sup> früher empfohlenen Phenylthiocarbonyl-Rest,  $C_6H_5-S-CO-$ , zurück, der leicht mit Bleiacetat entfernt werden kann. Eine Anwendung des Verfahrens durch K. Hofmann und Mitarbb.<sup>10)</sup> auf N-Phenylthiocarbonyl-dipeptidester (I) ergab jedoch, daß die Blei-Einwirkung wohl zunächst zu einer Isocyanato-Verbindung (II) führt, die sich unter Hydantoin-Bildung (III) cyclisiert.



Da somit diese Art der Abspaltung für die Peptid-Chemie ungeeignet war, versuchte J. Kollonitsch<sup>8)</sup> durch Oxydationsmittel zum Erfolg zu kommen. Am besten bewährt sich Perbenzoësäure, auch bei den von denselben Verfassern empfohlenen Benzyl- oder N-Butyl-thiocarbonyl-peptiden. Gegenüber dem zur Abspaltung des Carbobenzoxy-Restes oft angewandten HBr/Eisessig-Gemisch sind diese Gruppen völlig beständig. Ihr Vorteil, verglichen mit dem Phenylthiocarbonyl-Rest, liegt weiterhin darin, daß sie sich mit Hilfe der entsprechenden Thiocarbonylchloride nach Art einer Schotten-Baumann-Reaktion direkt in Aminosäuren einführen lassen, während Phenylthiocarbonylchlorid nur mit Aminosäureestern im inneren Lösungsmittel in der beabsichtigten Weise zur Reaktion gebracht werden kann. Mit Aminosäuren in wäßriger alkalischer Lösung liefert das aromatische Thiocarbonylchlorid unter Thiophenol-Abspaltung substituierte Harnstoffe<sup>11)</sup>.

<sup>1)</sup> Th. Wieland u. K. W. Ohly, 16. Mitt. über Peptid-Synthesen, Liebigs Ann. Chem., im Druck [1957].

<sup>2)</sup> Th. Wieland, Peptid-Synthesen II, diese Ztschr. 66, 507 [1954].

<sup>3)</sup> W. Grassmann u. E. Wünsch, Fortschr. Chemie org. Naturstoffe [Wien] XIII, 444 [1956].

<sup>4)</sup> J. F. Arens, Recueil Trav. chim. Pays-Bas 74, 769 [1955]; Festschrift A. Stoll, Birkhäuser-Verlag Basel 1957, S. 468.

<sup>5)</sup> J. C. Sheehan u. G. P. Hess, J. Amer. chem. Soc. 77, 1067 [1955]; J. C. Sheehan, M. Goodman u. G. P. Hess, J. Amer. chem. Soc. 78, 1367 [1956].

<sup>6)</sup> H. G. Khorana, Chem. and Ind. 1955, 1087.

<sup>7)</sup> R. A. Boissonnas u. G. Preitner, Helv. chim. Acta 36, 875 [1953].

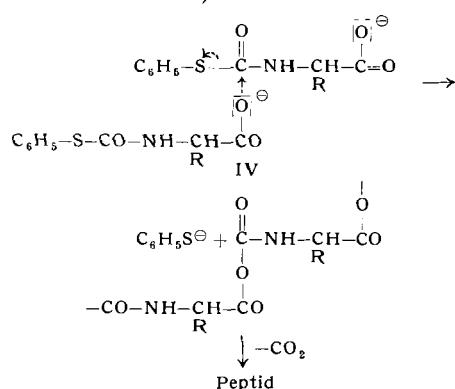
<sup>8)</sup> J. Kollonitsch, V. Gábor u. A. Hajós, Nature [London] 177, 841 [1956]; dieselben, Chem. Ber. 89, 2288 u. 2293 [1956].

<sup>9)</sup> G. C. H. Ehrensvärd, Nature [London] 159, 500 [1947].

<sup>10)</sup> A. Lindenmann, N. H. Khan u. K. Hofmann, J. Amer. chem. Soc. 74, 476 [1952].

<sup>11)</sup> W. H. Schüller u. C. Niemann, ebenda 75, 3425 [1953].

Phenylthiocarbonyl-aminoäuren (IV) und -peptide spalten in der Schmelze oder beim Erhitzen in Dioxan oder Benzol und wenig Pyridin zwischenmolekular Thiophenol und  $\text{CO}_2$  ab, wodurch wohl über Anhydride Polypeptide erhalten werden können<sup>12)</sup>.



Auch vom Rest der Brenztraubensäure erwarteten wir, daß er leicht oxydativ entfernt werden könne, da diese bekanntlich durch verdünntes Wasserstoffperoxyd rasch zu  $\text{CO}_2$  und Essigsäure gespalten wird (*Holleman-Reaktion*). Es zeigte sich aber, daß die N-Pyruvyl-aminoäuren (s. u.) durch dieses Reagens bedeutend schwerer angegriffen werden und ihren Acyl-Rest erst nach 40 stündiger Einwirkung verlieren (*H. Merz*, unveröffentlicht).

Durch energische katalytische Hydrierung läßt sich die Benzyl-Gruppe bei mehreren Verbindungen vom Stickstoff als Toluol abspalten<sup>13)</sup>. Diese Beobachtung benutzten *L. Velluz* und *Mitarbb.*<sup>14)</sup> sowie *Y. Liwschitz* und *A. Zilkha*<sup>15)</sup> bei der Synthese von mehreren Peptiden. N-Benzyl-aminoäuren lassen sich durch katalytische Debenzylierung mit Wasserstoff und Palladium aus N-Dibenzylaminoäuren herstellen<sup>14)</sup>, die man bei der Einwirkung von Benzylchlorid auf Aminoäuren erhält oder durch katalytische Hydrierung der Benzalaminoäure-ester und nachfolgender Verseifung<sup>16)</sup> oder durch Behandlung von  $\alpha$ -Halogenfettsäuren mit Benzylamin<sup>17)</sup> sowie nach der *Strecker-Methode*<sup>18)</sup>. Die von *Liwschitz* verwendete Benzylasparaginsäure<sup>15)</sup> wurde aus Maleinsäureanhydrid und Benzylamin erhalten<sup>19)</sup>. Da die N-Benzylaminoäuren am Stickstoff noch ein reaktionsfähiges Wasserstoff-Atom tragen, das der Acyl-Substitution zugänglich ist, genügt eine Benzyl-Gruppe als Schutz nicht in allen Fällen. Deshalb wird von *Velluz* und *Mitarbb.*<sup>14)</sup> empfohlen, die oben genannten N-Dibenzylaminoäuren für die Synthese komplizierterer Peptide heranzuziehen, die sich über die gemischten Alkylkohlensäureanhydride<sup>20)</sup> mit zweiten Aminoäuren oder Peptiden verknüpfen lassen. Um beide Benzyl-Reste am Stickstoff zu entfernen, muß mit Palladium-Wasserstoff bei etwa 80 °C hydriert werden.

Ebenfalls hydrogenolytisch entfernbare ist der Trityl-Rest, wie nach der letzten zusammenfassenden Darstellung<sup>2</sup>) von *L. Zervas* und *D. M. Theodoropoulos*<sup>21)</sup> gefunden und für Peptid-Synthesen ausgenutzt wurde. Früher er-

<sup>12)</sup> *J. Noguchi* u. *T. Hayakawa*, ebenda 76, 2846 [1954].

<sup>13)</sup> *L. Birkofor*, Ber. dtsch. chem. Ges. 75, 429 [1942].

<sup>14)</sup> *L. Velluz*, *G. Amiard* u. *R. Heymès*, Bull. Soc. chim. France [5] 27, 1012 [1954]; *L. Velluz*, *J. Anatol* u. *G. Amiard*, ebenda [5] 27, 1449 [1954]; *L. Velluz*, *G. Amiard* u. *R. Heymès*, ebenda [5] 22, 201 [1955].

<sup>15)</sup> *Y. Liwschitz* u. *A. Zilkha*, J. Amer. chem. Soc. 76, 3698 [1954].  
<sup>16)</sup> *H. Scheibler* u. *P. Baumgarten*, Ber. dtsch. chem. Ges. 55, 1358 [1922].

<sup>17)</sup> *E. Fischer* u. *L. v. Mechel*, ebenda 49, 1355 [1916].

<sup>18)</sup> *J. Anatol* u. *V. Torelli*, Bull. Soc. chim. France 27, 1446 [1954].

<sup>19)</sup> *M. Frankel*, *Y. Liwschitz* u. *Y. Amiel*, J. Amer. chem. Soc. 75, 330 [1953].

<sup>20)</sup> *R. A. Boissonnas*, Helv. chim. Acta 34, 874 [1951]; *J. R. Vaughan*, J. Amer. chem. Soc. 73, 3547 [1951]; *Th. Wieland* u. *H. Bernhard*, Liebigs Ann. Chem. 572, 190 [1951].

<sup>21)</sup> *L. Zervas*, Vortrag XIV. IUPAC-Kongr. Zürich 1955; *L. Zervas* u. *D. M. Theodoropoulos*, J. Amer. chem. Soc. 78, 1359 [1956].

hielt man die N-Tritylaminoäuren durch Tritylierung der Aminoäureester und anschließende Verseifung; die Ester von C-reichen Tritylaminoäuren lassen sich aber nur sehr schwer hydrolysieren, die Benzylerster allerdings selektiv durch katalytisch erregten Wasserstoff spalten<sup>21a)</sup>). Trotzdem bedeutet es einen entschiedenen Fortschritt, daß man im Diäthylamin eine Base fand, in deren Gegenwart auch die freien Aminoäuren mit befriedigender Ausbeute trityliert werden können<sup>21)</sup>. Die Tritylaminoäuren lassen sich als Chlorid-Hydrochloride<sup>21)</sup>, als gemischte Kohlenäsäureester-anhydride<sup>21, 22, 23)</sup> oder besser mit Carbodiimiden<sup>24, 25, 26)</sup> zur Peptid-Synthese verwenden. Bei diesen Peptid-Synthesen wurde, um die Schutzgruppe nachträglich zu entfernen, auch die schon länger bekannte katalytische Wirkung des  $\text{H}^+$ -Ions herangezogen.

Der Di-p-nitrobenzylphosphoryl-Rest ( $\text{O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{O}_2\text{PO}$ ) kann vom entsprechenden Säurechlorid aus ebenfalls an den Stickstoff von Aminoäuren gebracht werden. Bei der katalytischen Hydrierung geht die Gruppe in die N-Phosphoryl-Verbindung über, die in schwach saurem Milieu gleichzeitig schonend abhydriert wird<sup>21a)</sup>.

Die einzige, durch schwaches Alkali abspaltbare N-Schutzgruppe, der Trifluoracetyl-Rest<sup>27)</sup>, hat ebenfalls ihre Brauchbarkeit bewiesen. Es gelingt, sie ohne Racemisierung der Aminoäuren einzuführen, nach neueren Erfahrungen beim Arbeiten in wasserfreier Trifluoressigsäure als Lösungsmittel mit Hilfe von Trifluoressigsäure-anhydrid<sup>28)</sup>. Beim Lysin und Ornithin werden in diesem Falle nur die  $\alpha$ -ständigen Amino-Gruppen acyliert. Auch Trifluoracetyläthylmercaptan  $\text{CF}_3\text{CO}-\text{SC}_2\text{H}_5$  kann als Acyl-Donator verwendet werden<sup>29)</sup>. Im Gegensatz zu oben werden durch dieses Reagens die  $\omega$ -ständigen Amino-Gruppen des Lysins und Ornithins acyliert.

Die Benzylsulfonyl-Gruppe  $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{SO}_2$ , die nach *Schotten-Baumann* über das Chlorid an den Stickstoff zahlreicher Aminoäuren herangebracht werden kann, läßt sich nach der Peptid-Synthese durch Natrium in flüssigem Ammoniak oder mit Wasserstoff und Ni entfernen<sup>30)</sup>, scheint jedoch keine besonderen Vorteile zu bringen.

Weiterhin wurde versucht nach Art der Phthalimidosäuren Maleimidosäuren aus Aminoäuren und Maleinsäureanhydrid zu gewinnen. Hierbei wurden jedoch nur die Maleinsäurehalbamide  $\text{HOOC}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R})-\text{COOH}$  erhalten, die sich auf keine Weise zu den gewünschten Verbindungen cyclisieren ließen<sup>31)</sup>.

Als eine durch Reduktion leicht in die Amino-Gruppe überführbare Vorstufe<sup>32, 33)</sup> kann auch der Azido-Rest Bedeutung erlangen. Mit seiner Hilfe gelang in letzter Zeit die Darstellung des Azaserins<sup>34)</sup>  $\text{N}_2\text{CH}-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$  und des Diglycylimid-dihydrochlorids<sup>35)</sup>  $(\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{CO})_2\text{NH}\cdot 2\text{HCl}$ . Auch bei der Darstellung von Aminoäurephosphorsäure-anhydriden sind  $\alpha$ -Azido-Ver-

<sup>21a)</sup> *L. Zervas*, Chim. chronica 21, 69 [1956]; *C. A.* 50, 15423 [1956].

<sup>22)</sup> *A. Hillmann-Elies*, *G. Hillmann* u. *H. Jätzkeowitz*, Z. Naturforsch. 8b, 445 [1953]; *H. Wiedenmüller*, Diplomarb., Frankfurt/M. 1953.

<sup>23)</sup> *G. Amiard*, *R. Heymès* u. *L. Velluz*, Bull. Soc. chim. France [5] 22, 191 [1955].

<sup>24)</sup> *G. Amiard*, *R. Heymès* u. *L. Velluz*, Bull. soc. chim. France [5] 22, 1464 [1955]; dieselben, ebenda [5] 23, 97 [1956]; [5] 23, 698 [1956].

<sup>25)</sup> *L. Velluz*, *G. Amiard*, *J. Bartos*, *B. Goffinet* u. *R. Heymès*, ebenda [5] 23, 1464 [1956].

<sup>26)</sup> *R. A. Boissonnas*, *S. Guttmann*, *J.-P. Waller* u. *P.-A. Jaquenoud*, Experientia [Basel] 12, 446 [1956].

<sup>27)</sup> *F. Weygand* u. *E. Csendes*, diese Ztschr. 64, 136 [1952].

<sup>28)</sup> *F. Weygand* u. *R. Geiger*, Chem. Ber. 89, 647 [1956].

<sup>29)</sup> *E. E. Schallenberg* u. *M. Calvin*, J. Amer. chem. Soc. 77, 2779 [1955].

<sup>30)</sup> *H. B. Milne* u. *Chi-Hsieh Peng*, ebenda 79, 639 [1957].

<sup>31)</sup> *F. E. King*, *J. W. Clark-Lewis*, *R. Wade* u. *W. A. Swindin*, J. chem. Soc. [London] 1957, 873.

<sup>32)</sup> *A. Bertho* u. *J. Maier*, Liebigs Ann. Chem. 495, 113 [1932].

<sup>33)</sup> *K. Freudenberg*, *H. Eichel* u. *F. Leutert*, Ber. dtsch. chem. Ges. 65, 1183 [1932].

<sup>34)</sup> *E. D. Nicolaides*, *R. D. Westland* u. *E. L. Witte*, J. Amer. chem. Soc. 76, 2887 [1954].

<sup>35)</sup> *Th. Wieland* u. *H. Mohr*, Liebigs Ann. Chem. 599, 222 [1956].

bindungen als Vorstufen verwendet worden<sup>36)</sup>. Die Überführung der aliphatisch gebundenen Azido-Gruppe in die Amino-Gruppe ist nach einem Vorbild der aromatischen Chemie<sup>37)</sup> auch hier mit HBr in Eisessig möglich (*H. Urbach*, unveröffentlicht).

## 2. Am Schwefel und Sauerstoff

Nicht nur Amino-Gruppen, sondern auch andere funktionelle Bestandteile bestimmter Aminosäuren bedürfen mitunter eines reversiblen Schutzes. Für die SH-Gruppe des Cysteins hat sich seit langem der Benzyl-Rest<sup>38)</sup> bewährt, der mit Natrium in flüssigem Ammoniak glatt als Toluol abgespalten wird. Neuerdings wurde auch hier der Trityl-Rest<sup>21, 24, 25)</sup> herangezogen. Er läßt sich vom Schwefel durch HCl in Chloroform abspalten, wobei derselbe Rest auch vom Stickstoff entfernt wird. Bei der Behandlung des N,S-Di-tritylcysteins mit HCl in Aceton bleibt er hingegen am Schwefel erhalten<sup>24)</sup>.

Weiterhin kann auch der Carbobenzoxy-Rest an den Schwefel des Cysteins geknüpft werden<sup>39)</sup>. Beim Behandeln von Cystein mit Carbobenzoxychlorid in wäßriger Natriumbicarbonatlösung entsteht S-Carbobenzoxy cystein. Unter diesen Bedingungen entzieht sich die ausfallende S-Acyl-Verbindung der intramolekularen Acyl-Wanderung vom Schwefel zum Stickstoff<sup>40)</sup> durch ihre Schwerlöslichkeit. In stärker alkalischer Lösung werden beide funktionellen Gruppen durch den Carbobenzoxy-Rest besetzt.

Gleichzeitigen Schutz des Stickstoffs und Schwefels gewährt Aceton, das mit Cystein im alkalischen Milieu eine Dimethylthiazolidin-Verbindung bildet. Diese läßt sich nach N-Formylierung über ein gemischtes Äthylkohlensäureanhydrid zur Peptid-Synthese verwenden, wonach sich der Formyl-Rest mit HCl in Methanol, der Isopropyliden-Rest mit Schwefelsäure entfernen läßt (Glutathion-Synthese)<sup>41)</sup>. Die in den meisten Fällen entbehrliche Abschirmung von Hydroxyl-Gruppen läßt sich durch Reaktion mit Dihydroxyran erreichen. Hiermit bilden sie acetal-artige Tetrahydropyranyl-Verbindungen, von denen der Heterocyclus durch Säure leicht wieder entfernt werden kann<sup>42, 43)</sup>.

Zum Schutz der Guanido-Gruppe des Arginins wird Nitrierung und nachträgliche katalytische Hydrierung der Nitro-Verbindung empfohlen<sup>44)</sup>. Es hat sich neuerdings gezeigt, daß man auch ohne solchen Schutz auskommt<sup>26, 45)</sup>.

## 3. An der Carboxyl-Gruppe

Für die Mehrzahl der gebräuchlichen Peptid-Synthesen muß die zu acylierende Aminosäure in Form eines im organischen Lösungsmittel löslichen basischen Derivates verwendet werden. Hierzu dient meistens ein Ester. Um die mitunter uneinheitlich und langsam verlaufende alkalische Verseifung der erhaltenen Peptidester zu vermeiden, benutzt man oft die Benzylester der Aminosäuren, die

<sup>36)</sup> M. Bentler u. H. Netter, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 293, 362 [1953].

<sup>37)</sup> P. A. S. Smith u. B. B. Brown, J. Amer. chem. Soc. 73, 2438 [1951].

<sup>38)</sup> H. S. Loring u. V. du Vigneaud, J. biol. Chemistry 111, 385 [1935].

<sup>39)</sup> A. Berger, J. Noguchi u. E. Katchalski, J. Amer. chem. Soc. 78, 4483 [1956].

<sup>40)</sup> Th. Wieland u. E. Bokelmann, Liebigs Ann. Chem. 576, 20 [1952].

<sup>41)</sup> F. E. King, J. W. Clark-Lewis u. R. Wade, J. chem. Soc. [London] 1957, 880.

<sup>42)</sup> G. F. Woods u. D. N. Kramer, J. Amer. chem. Soc. 69, 2246 [1947].

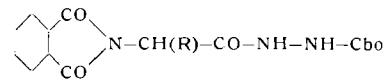
<sup>43)</sup> B. Iselin u. R. Schwyzer, Helv. chim. Acta 39, 57 [1956].

<sup>44)</sup> K. Hofmann, A. Rheiner, W. D. Peckham, J. Amer. chem. Soc. 75, 6083 [1953].

<sup>45)</sup> G. W. Anderson, ebenda 75, 6081 [1953].

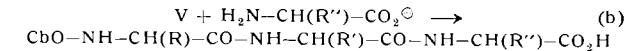
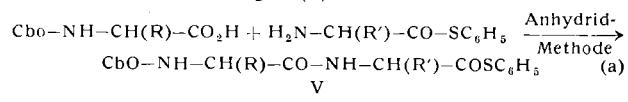
durch neuere Untersuchungen<sup>46)</sup> bequem zugänglich geworden sind. Der Benzyl-Rest wird dann durch katalytische Hydrierung abgespalten.

Oft erhebt sich bei Peptid-Synthesen weniger die Frage nach der Freilegung der endständigen Carboxyl-Gruppe als vielmehr die Notwendigkeit, an diese eine weitere Aminosäure anzuknüpfen. Hierzu sind Carboxyl-Derivate geeignet, die entweder nach einer einfachen Umwandlung oder sogar direkt diesen Erfordernissen entsprechen. Für den ersten Fall geeignet sind die Carbobenzoxy-hydrazide von Acylpeptiden  $\text{Ac}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R})-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R})-\text{CO}-\text{NH}-\text{NH}-\text{Cbo}$  oder von Acylaminosäuren z. B.



Diese erhält man durch Umsetzung geeigneter Säure-Derivate z. B. der N-Phthalylaminosäure-chloride mit Carbobenzoxy-hydrazid. Selektive Entfernung der schützenden Gruppe vom Stickstoff liefert daraus eine neue, der Peptid-Synthese zugängliche basische Verbindung. Durch katalytische Hydrierung wird sodann der Carbobenzoxy-Rest abgespalten und das hierbei resultierende Hydrazid mit salpetriger Säure ins Azid, ein aktiviertes Derivat, verwandelt<sup>47)</sup>, das zur Anknüpfung an einen weiteren Aminosäureester verwendet werden kann.

Auch die von uns untersuchten Thiophenyl-Verbindungen genügen, wie das bereits 1948 von *P. Karrer* und *H. Heynemann*<sup>48)</sup> untersuchte O-Glycyl-phenol, dieser Forderung. Aminoacyl- oder Peptidyl-thiophenole lassen sich an ihrer freien Amino-Gruppe mit einem neuen Aminoacyl-Rest z. B. nach der Anhydrid-Methode<sup>20)</sup> verknüpfen (a) und die so erhaltenen aktivierten längeren Peptide (V) nunmehr mit Hilfe ihrer aktivierten Carboxyl-Gruppe nochmals zur Reaktion bringen (b).



Da aus V der Carbobenzoxy-Rest ohne Beteiligung der Thiophenyl-Bindung mit HBr in Eisessig abgespalten werden kann<sup>49)</sup>, fällt hier gleichermaßen das Ausgangsmaterial für Peptid-Aufbau durch Verlängerung an der Amino-Gruppe (analog (a)) unter Erhaltung des geschützten Carboxyl-Endes an. Auch die Aminoacyl-p-nitrophenole sind dieser Reaktion zugänglich (*B. Heinke*, unveröffentlicht).

## Peptid-Synthesen unter Aktivierung der Carboxyl-Gruppe

### 1. Anhydride mit Carboxyl-Verbindungen

Die „Anhydrid-Methode“<sup>2</sup>), besonders mit Alkylkohlensäure-chlorid zur Darstellung der gemischten Anhydride<sup>20)</sup>, ist in letzter Zeit vielfach angewendet worden. Auch Peptide von  $\beta$ -Aminosäuren sind so erhalten worden<sup>50)</sup>. Die Methode hat sich auch als brauchbar zur besonders einfachen Darstellung der p-Nitrophenyl- und p-Nitrothiophenyl-Verbindungen von Acyl-aminoäuren und -peptiden (s. o.) erwiesen.

<sup>46)</sup> H. K. Miller u. H. Waelsch, ebenda 71, 1092 [1952]; D. Ben-Ishai u. A. Berger, J. org. Chemistry 17, 1564 [1952]; B. F. Erlanger u. R. M. Hall, J. Amer. chem. Soc. 76, 5781 [1954].

<sup>47)</sup> K. Hofmann, A. Lindenmann, M. Z. Magee u. N. H. Khan, J. Amer. chem. Soc. 74, 470 [1952].

<sup>48)</sup> P. Karrer u. H. Heynemann, Helv. chim. Acta 31, 398 [1948].

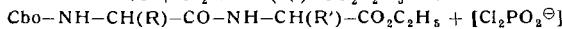
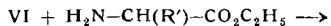
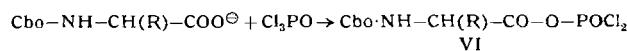
<sup>49)</sup> R. Schwyzer, ebenda 37, 647 [1954].

<sup>50)</sup> L. Birköfer u. I. Hartwig, Chem. Ber. 89, 1608 [1956].

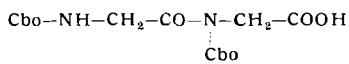
## 2. Anhydride mit anorganischen Säuren

G. W. Kenner arbeitete seine Methode, bei der Lithium-Salze eines gemischten Acylaminosäure-schwefelsäure-anhydrids  $\text{Ac}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R})-\text{CO}-\text{O}-\text{SO}_3^\ominus \text{Li}^\oplus$  zur Acylierung benutzt werden, weiter aus<sup>51)</sup>. Er fand, daß die Kupplung mit freien Aminosäuren in Dimethylformamid-Wasser in Gegenwart von  $\text{MgCO}_3$  vorgenommen werden kann, wonach bei Verwendung von optisch aktiven Komponenten nicht-racemisierte Produkte mit guten Ausbeuten erhalten wurden.

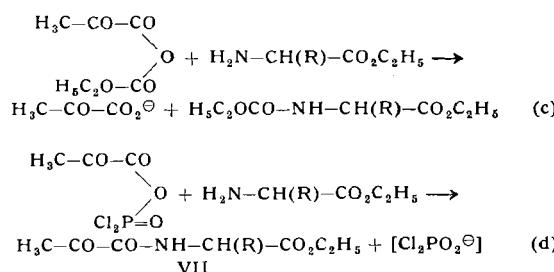
Sehr gut verwendbar sind nach eigenen Untersuchungen neuerdings gemischte Anhydride von Acyl-aminosäuren oder -peptiden mit Dichlorphosphorsäure (VI)<sup>52)</sup>. Man erhält sie durch Einwirkung von 1 Mol  $\text{POCl}_3$  auf die Säuren in Gegenwart der berechneten Menge eines tertiären Amins oder eines Pyridin-Überschusses bei  $-15^\circ\text{C}$ . Sie werden ohne Isolierung mit den zu kuppelnden Aminosäureestern zusammengebracht, mit denen sie innerhalb weniger Minuten reagieren. Das Verfahren gelingt auch in einem Schritt, indem zur Mischung der zu vereinigenden Bausteine in Gegenwart der Base die berechnete Menge  $\text{POCl}_3$  bei  $-15^\circ\text{C}$  zugetropft wird.



Soweit bisher untersucht, tritt dabei keine Racemisierung ein. Das gemischte Anhydrid gehört zu den reaktionsfähigsten dieser Art. So entsteht aus Carbobenzoxy-glycin unter den beschriebenen Bedingungen unter Acylierung des substituierten Stickstoffs in einer Dimerisierungsreaktion Carbobenzoxy-glycyl-carbobenzoxy-glycin:



Nicht nur Acylaminosäuren, sondern auch andere Carbonsäuren lassen sich auf diesem Wege zur Acylierung aktivieren. Dies ist von Vorteil bei solchen, bei denen die klassischen Derivate (Chloride, Azide) sich nur in minimaler Ausbeute herstellen lassen, oder deren gemischte Carbonsäure-anhydride durch nucleophile Agentien im unerwünschten Sinne aufgespalten werden, wie z. B. bei der Brenztraubensäure. Diese läßt sich nämlich nicht über gemischte Äthylkohlensäure-anhydride mit Amino-Gruppen zur Reaktion bringen, da hierbei die Carboäthoxy-Hälfte reagiert (c). Das  $\text{POCl}_3$ -Verfahren erlaubt es hingegen, N-Pyruvoyl-aminosäure (VII)- und peptid-ester darzustellen (d) (B. Heinke, unveröffentlicht).



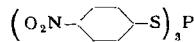
Auch zur Darstellung der anschließend zu behandelnden Phenyl- und Thiophenyl-Verbindungen ist die Methode gut brauchbar.

<sup>51)</sup> D. W. Clayton, J. A. Farrington, G. W. Kenner u. J. M. Turner, J. chem. Soc. [London] 1957, 1398.

<sup>52)</sup> Th. Wieland u. B. Heinke, Liebigs Ann. Chem. 599, 70 [1956].

## 3. Aminoacylmercaptane

N-Acylaminosäure- oder -peptid-Verbindungen des Thiophenols<sup>53)</sup> haben sich weiterhin als Acylierungskomponenten bei der Peptid-Synthese bewährt. Um die Aminolyse-Geschwindigkeit dieser Verbindungen zu erhöhen, hat G. W. Kenner<sup>54)</sup> p-Nitrothiophenol an Stelle des Thiophenols empfohlen. Die p-Nitrothiophenyl-Verbindungen reagieren etwa 140 mal rascher mit Aminen. Zu ihrer Synthese kann man nach dem alten Verfahren<sup>55)</sup> über die gemischten Alkylkohlensäure-anhydride zum Ziel kommen. Wird hierbei Dimethylformamid als Lösungsmittel verwendet, so tritt bei optisch aktiven Aminosäuren Racemisierung ein<sup>54, 55)</sup>. Nach eigenen Erfahrungen ist dies jedoch nicht der Fall, wenn in Tetrahydrofuran gearbeitet wird. So ließ sich Carbobenzoxy-glycyl-L-phenylalanin mit einer Gesamtausbeute von 65% in die p-Nitrothiophenyl-Verbindung überführen. Davon wurden durch fraktionierte Kristallisation  $\frac{9}{10}$  optisch rein, der Rest mit etwas geringerer Drehung, isoliert. Nach G. W. Kenner erhält man diese Derivate durch Erwärmen der Säuren mit dem Tri-thiophosphorigsäure-p-nitrophenylester (Tri-p-nitrophenyl-phosphorotriithioit)



Carbobenzoxy-glycin und Carbobenzoxy-triglycin wurden von R. Schwyzer nach der Anhydrid-Methode<sup>20)</sup> mit Thioglykolsäure zu den entsprechenden S-Acylverbindungen vereinigt, die ebenfalls als Acylierungsmittel empfohlen werden. Mit HBr in Eisessig ließ sich der Carbobenzoxy-Rest abspalten<sup>49</sup>). Über eine katalytische Beschleunigung der S-CO-Aminolyse durch Schwermetallionen, besonders  $\text{Ag}^+$ , berichtet derselbe Autor<sup>56</sup>). Die Abspaltung des Carbobenzoxy-Restes mit HBr in Eisessig gelingt auch bei den p-Nitrothiophenyl-Verbindungen. Glycyl-L-leucyl-glycyl-L-leucyl-glycin-p-nitrophenylester wurde so aus der Carbobenzoxy-Verbindung erhalten<sup>57</sup>). Aminoacylmercaptane mit freier Amino-Gruppe lassen sich, wie früher berichtet wurde<sup>2</sup>), auch aus Aminosäure-chlorid-hydrochloriden und Mercaptanen oder durch Aminoacyl-Übertragung von Thiophenyl-Verbindungen auf die gewünschten Mercaptane herstellen. Wir konnten so einige S-Aminoacyl-Derivate des Glutathions synthetisieren und ihre Spaltbarkeit durch Glyoxalase II untersuchen<sup>58</sup>). Ebenso wurde S-Alanyl-CoA synthetisiert<sup>59</sup>). Die Anwendung dieses Prinzips auf L- und D-Lactoyl-thiophenol und Glutathion hat die optisch-reinen S-Lactoyl-Derivate des Glutathions ergeben, die mit dem natürlichen Zwischenprodukt der Glyoxalase-Reaktion verglichen wurden<sup>60</sup>).

Von allen untersuchten Acylmercaptanen sind die von  $\alpha$ -Aminoacyl-Verbindungen weitaus am labilsten. Während Carbobenzoxy-aminosäure-thiophenylester der Hydrolyse durch wäßriges Alkali einen bemerkenswerten Widerstand entgegensetzen, tritt die Spaltung bei den analogen Derivaten mit freier Amino-Gruppe (VIII) besonders leicht ein. Wesentlich beschleunigt wird die Hydrolyse in schwach alkalischer Medium durch Kohlensäure. Dieser „Bicarbonat-Effekt“ wurde von uns eingehender untersucht<sup>61</sup>). Wir kommen zu dem Schluß, daß die katalytische Wirkung

<sup>53)</sup> Th. Wieland u. W. Schäfer, ebenda 576, 104 [1952].

<sup>54)</sup> J. A. Farrington, G. W. Kenner u. J. M. Turner, Chem. and Ind. 1955, 601.

<sup>55)</sup> J. A. Farrington, P. J. Hextall, G. W. Kenner u. J. M. Turner, J. chem. Soc. [London] 1957, 1407.

<sup>56)</sup> R. Schwyzer u. Ch. Härlimann, Helv. chim. Acta 37, 155 [1954].

<sup>57)</sup> G. W. Kenner u. J. M. Turner, Chem. and Ind. 1955, 602.

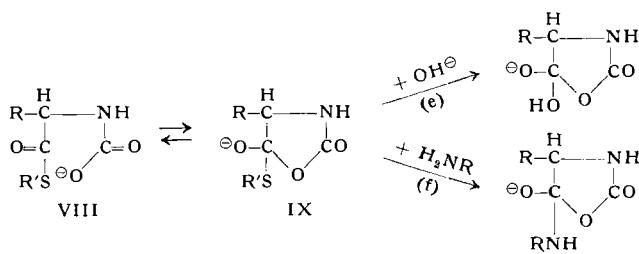
<sup>58)</sup> Th. Wieland, G. Pfleiderer u. H. H. Lau, Biochem. Z. 327, 393 [1956].

<sup>59)</sup> Ch. J. Stewart u. Th. Wieland, Nature [London] 176, 316 [1955].

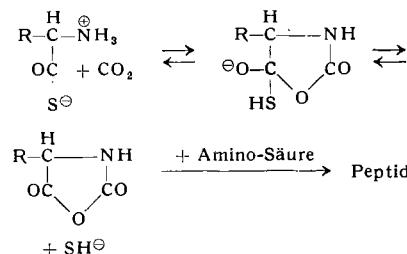
<sup>60)</sup> Th. Wieland, B. Sandmann u. G. Pfleiderer, Biochem. Z. 328, 239 [1956].

<sup>61)</sup> Th. Wieland, R. Lambert, H. U. Lang u. G. Schramm, Liebigs Ann. Chem. 597, 181 [1955].

darauf beruht, daß sich über ein N-Carbamyl-Derivat ein Abkömmling des Leuchsschen Körpers (IX) ausbildet, der rascher durch Hydrolyse (e) aber auch durch Aminolyse (f) zersetzt wird, als die offene Aminoacyl-Verbindung (VIII).



Aus einem ähnlichen Grunde lassen sich auch  $\alpha$ -Aminothiosäuren durch Bicarbonat zur Peptid-Synthese aktivieren<sup>62)</sup>.



Diesem Schema gemäß lassen sich in Umkehrung Aminothiosäuren in einer neuartigen Reaktion aus den Leuchsschen Körpern mit  $H_2S$  in Gegenwart von Basen gewinnen, mit Thiophenolat entstehen hierbei Aminoacylthiophenole<sup>63)</sup>. Diese Reaktion erinnert an die Umsetzung der Leuchsschen Körper mit HCl oder HBr, wobei unter Wasserausschluß die Halogenidhydrohalogenide der Aminosäuren mit guten Ausbeuten entstehen<sup>64)</sup>.

Über die Verwendung von Aminoacyl- oder Peptidylmercaptanen, die eine freie Amino-Gruppe haben, als nucleophile Komponenten der Peptid-Synthese ist oben berichtet worden.

#### 4. Aminoacyl-phenole

Dieselben Strukturverhältnisse, welche den Säurecharakter des Phenols und besonders geeignet substituierter Phenole bedingen (mesomerer und induktiver Effekt), bewirken auch, daß O-Acylphenole als Acylierungsreagentien benutzt werden können. Auf diese Eigenschaft des O-Glycyl-phenols wurde bereits 1951 hingewiesen<sup>65)</sup>. Später wurde an derselben Verbindung gezeigt, daß sie ebenfalls dem oben erwähnten Bicarbonat-Effekt zugänglich ist und dabei ihren Glycyl-Rest in wäßriger Lösung auf Alanin zu Glycyl-alanin überträgt<sup>66)</sup>.

Wie bei der Thiophenyl-Verbindung, so bewirkt auch hier die Anwesenheit einer Nitro-Gruppe in p-Stellung eine bedeutende Steigerung der Reaktionsfähigkeit, die beim 2,4-Dinitro-Derivat so stark erhöht ist, daß sich dieses in neutraler wäßriger Lösung sehr rasch zersetzt<sup>66)</sup>. Wesentlich stabiler sind die erstmals von M. Bodanszky<sup>67)</sup> genauer untersuchten Phthalylaminosäure-Derivate der nitrierten Phenole, welche als Komponenten für die Peptid-Synthese empfohlen werden können. Sie lassen sich nach eigenen Erfahrungen aus Acylaminosäuren und p-Nitrophenol bzw. 2,4-Dinitrophenol nach den Anhydrid-Methoden mit Chlorkohlensäureester<sup>20)</sup> oder  $POCl_3$ <sup>52)</sup> (s. o.)

<sup>62)</sup> Th. Wieland u. W. Bartmann, Chem. Ber. 89, 946 [1956].

<sup>63)</sup> Th. Wieland u. K. E. Euler, diese Ztschr. 67, 765 [1955].

<sup>64)</sup> M. Brenner u. J. Photaki, Helv. chim. Acta 39, 1525 [1956].

<sup>65)</sup> Th. Wieland u. W. Schäfer, diese Ztschr. 63, 146 [1951].

<sup>66)</sup> Th. Wieland u. F. Jaenicke, Liebigs Ann. Chem. 599, 125 [1956].

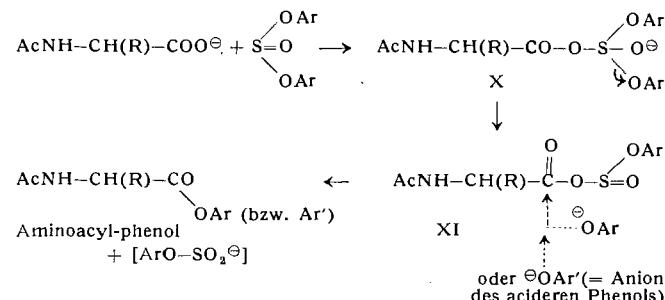
<sup>67)</sup> M. Bodanszky, Nature [London] 175, 685 [1955]; M. Bodanszky, M. Szelke, E. Tömörkény u. E. Weisz, Chem. and Ind. 1955, 1517.

oder  $SO_3$ <sup>55)</sup> sehr gut darstellen. Auch N-acylierte Oligopeptide lassen sich so mit Nitrophenolen verknüpfen.

Neuerdings haben sich auch R. Schwyzer und Mitarbeiter<sup>68)</sup> intensiv mit den Aminoacyl- und Peptidyl-Derivaten

von zahlreichen Phenolen beschäftigt. Es gelang ihnen, die von G. W. Kenner und Mitarbeitern<sup>54, 55)</sup> bei den p-Nitrophenolen aufgefundenen Phosphit-Methode (s. o.) auf die Sauerstoff-Analogen zu übertragen. Danach eignen sich negativ substituierte Triarylphosphite z. B.  $(O_2N-C_6H_4O)_3P$  zur Herstellung

der Arylester von Carbonsäuren. Gleich gut geeignet sind für denselben Zweck Arylschwefligsäure-ester, die ebenfalls mit Acylaminosäuren in Pyridin bei mehrstündigem Stehen bei Zimmertemperatur die entsprechenden Aminosäurephenylester in guter Ausbeute liefern. Als Mechanismus für diese Reaktion wird u. a. ein primärer Angriff der Carboxyl-Gruppe auf den elektrophilen Schwefel des Diarylsulfits vorgeschlagen. Das Additionsprodukt (X) spaltet ein Phenolat-Anion, bei unsymmetrischen Estern das Anion des acideren Phenols, ab unter Ausbildung eines sehr reaktionsfähigen Arylschwefligsäure-amino-säure-anhydrids (XI), das nun vom abgespaltenen Phenolat-Ion am Carbonyl-Kohlenstoffatom aufgespalten wird. Für die Richtigkeit dieser Ansicht spricht, daß dem System zugesetzte acidere Phenole ( $Ar'OH$ ) als Phenylester gebunden werden.



Ein analoger Mechanismus dürfte auch für die Reaktion der Arylphosphite zutreffen.

Mit dieser Methode wurden zehn Acyl-Derivate des Glycins zu mehr oder weniger aktivierten Estern umgesetzt. Die p-Nitrophenyl-Verbindung des synthetisch erhaltenen ringoffenen Gramicidins S, eines Ornithin-haltigen Dekapeptids, wurde von R. Schwyzer nach der Sulfit-Methode aus dem am Amino-Ende durch den Trityl-Rest geschützten Peptid hergestellt und nach Abspaltung der Trityl-Gruppe mit wäßriger Trifluoressigsäure in verdünnter Pyridin-Lösung zum Antibioticum cyclisiert<sup>69)</sup>.

Die von Brenner und Mitarb.<sup>70)</sup> beobachtete Umlagerung O-amino-acylierter Salicyl-aminosäuren zu Salicylpeptiden (s. u.) wird ebenfalls durch die nucleophile Reaktivität der Phenylester-Gruppierung eingeleitet.

#### 5. Weitere aktivierte Ester

Aminosäurealkylester können bekanntlich als aktive, wenn auch nicht besonders reaktionsfähige Derivate der Aminosäuren angesehen werden (Bildung von Hydroxamsäuren, Hydraziden, Curtiusche Biuretbasis usw.). Ihre

<sup>68)</sup> B. Iselin, W. Rittel, P. Sieber u. R. Schwyzer, Helv. chim. Acta 40, 373 [1957].

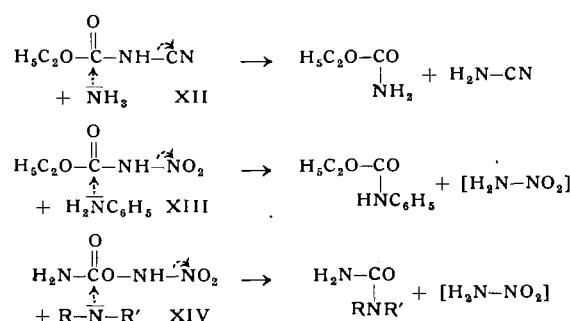
<sup>69)</sup> R. Schwyzer u. P. Sieber, diese Ztschr. 68, 518 [1956].

<sup>70)</sup> M. Brenner, J. P. Zimmermann, J. Wehrmüller, P. Quitt u. J. Photaki, Experientia [Basel] 11, 397 [1955]; M. Brenner, diese Ztschr. 69, 102 [1957].

Reaktionsfähigkeit kann nach R. Schwyzer durch Einführung elektronenanziehender Gruppen in den Methyl-Rest stark gesteigert werden, da der Kohlenstoff der Carbonyl-Gruppe durch den induktiven Effekt elektrophiler wird<sup>71)</sup>. Als elektronenanziehende Substituenten wurden folgende ausprobiert (ungefähr in abnehmender Reihenfolge ihrer Wirksamkeit):  $-\text{CN}$ ,  $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{COOC}_2\text{H}_5$ ,  $-\text{CO}-\text{CH}_3$  und  $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ . Diese Ester wurden aus den entsprechenden Halogenmethyl-Verbindungen z. B.  $\text{ClCH}_2-\text{CN}$  hergestellt, die sich mit den acylierten Aminosäuren in Essigester bei mehrstündigem Kochen umsetzen, wenn eine tertiäre Base vorhanden ist. Die aus Chloracetonitril so erhaltenen Cyanmethylester stellen bei den zahlreichen untersuchten Acylaminosäuren kristallisierte, haltbare Verbindungen dar<sup>72)</sup>, welche sich am besten in Acetonitril oder Essigester mit Estern zweiter Aminosäuren bei Zimmertemperatur ohne Racemisierung zu Peptidestern umsetzen<sup>73)</sup>. Katalytische Mengen von Essigsäure beschleunigen diese Reaktion.

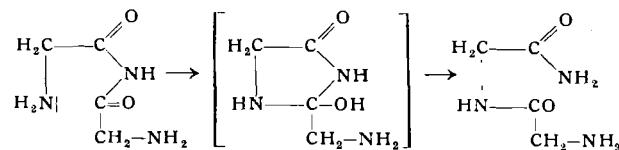
## 6. Aktivierte Amide

Säureamide gehören zwar zu den energieärmsten Acyl-Verbindungen. Aus bekannten theoretischen Gründen ist aber auch hier vorauszusehen, daß die nucleophile Angreifbarkeit des Carbonyl-Kohlenstoffs dann ansteigen muß, wenn sich am Stickstoff elektronen-anziehende Gruppen befinden. So wird N-Cyanäthylkohlensäure-amid (Cyanurethan, XII) durch alkoholisches Ammoniak in einer Acylierungsreaktion zum Urethan und Cyanamid gespalten<sup>74)</sup>, und N-Nitrourethan (XIII) überträgt seinen Äthylcarbonyl-Rest leicht auf wäßriges Ammoniak oder Anilin zu Urethan bzw. Phenylurethan<sup>75)</sup>. Ebenso wird die Carbonamid-Gruppe des Nitroharnstoffs (XIV) auf primäre und sekundäre Amine unter Bildung unsymmetrischer Harnstoffe übertragen<sup>76)</sup>.

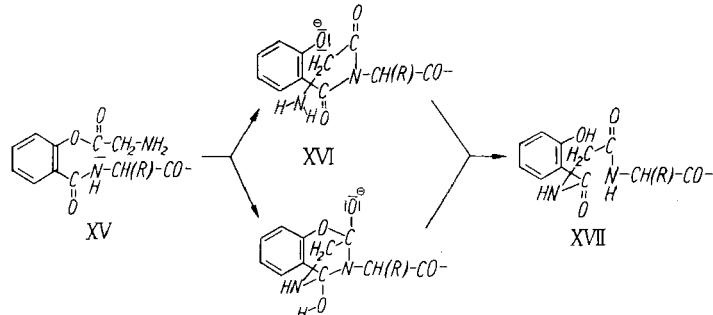


Einen ähnlichen Einfluß übt auch eine Acyl-Gruppe am Stickstoff eines Säureamids aus, so daß auch Diacylimide zu den energiereichen Säure-Derivaten gehören, bei denen jeder der beiden Säurereste leichter von nucleophilen Agentien angegriffen wird<sup>77)</sup>. Während das eingangs erörterte Prinzip der durch die Cyan- oder Nitro-Gruppe aktivierten Amide bisher in der Peptid-Chemie noch nicht angewendet wurde, gelang es vor kurzem als Beispiel für die schon früher bei Umlagerungsreaktionen als Zwischenprodukte postulierten Diaminoacylimide<sup>77, 78)</sup> das Di-hydrochlorid des Diglycinimids in die Hand zu bekommen<sup>79)</sup>. Erwartungsgemäß verhält sich die Verbindung wie eine akti-

vierte Aminosäure. Schon bei  $p_{\text{H}}$  5 findet Aminolyse der einen Acyl-Hälfte durch die Amino-Gruppe der zweiten und zwar in intramolekularer Reaktion statt.

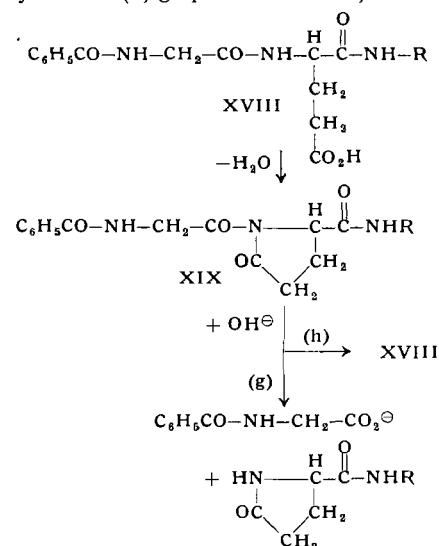


Auch bei der interessanten, von M. Brenner und Mitarb.<sup>70)</sup> beobachteten Umlagerung von O-Glycyl-salicyldipeptidestern (XV) durch Alkali zu Salicyl-tripeptidestern (XVII), spielt die Acylimid-Zwischenstufe (XVI) eine Rolle, die von den Schweizer Autoren in einer tricyclischen valenztautomeren Schreibweise (untere Struktur) formuliert wird.



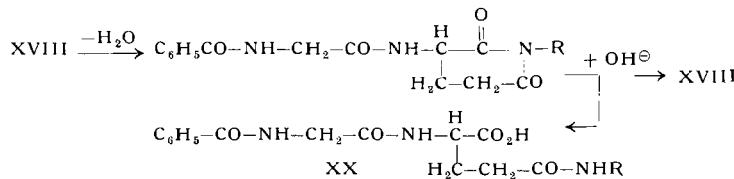
Im Aminoacylharnstoff (XXVI, S. 368) liegt ebenfalls eine energiereiche Acyl-Verbindung vor, die der Aminolyse zugänglich ist<sup>6)</sup>. Ferner werden Diacylimide als Zwischenprodukte bei einer intramolekularen Umlagerung von Trifluoracetylaminosäureanhydriden zu Trifluoracetyl-peptiden angenommen<sup>78a)</sup>.

Die ideale Nachbarschaft ist auch für einige spezifische Reaktionen der  $\alpha$ -Glutamylpeptide verantwortlich. N-Acyl-glutaminsäuren geben unter Bedingungen des Wasserentzuges (Thionylchlorid<sup>79</sup>), Acetylchlorid<sup>80</sup>),  $\text{PCl}_5$ <sup>81, 82</sup>) N-Acylpyrrolidoncarbonsäuren. Unter gewissen Bedingungen tritt diese Reaktion auch bei Aminoacyl-glutaminsäure- $\alpha$ -amiden (XVII) oder -peptiden ein. Die dabei gebildeten Diacylimide (XIX) können durch wäßriges Alkali unter gleichzeitiger Hydrolyse des einen (g) oder anderer Acyl-Restes (h) gespalten werden<sup>79</sup>).

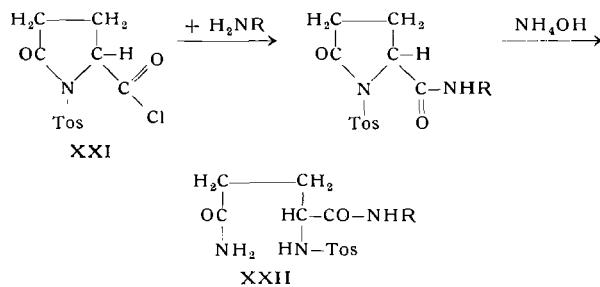


- <sup>78a)</sup> F. Weygand u. M. Reiher, Chem. Ber. 88, 26 [1955].  
<sup>79)</sup> F. E. King u. P. C. Spensley, J. chem. Soc. [London] 1950, 3159;  
A. R. Battersby u. J. C. Robinson, ebenda 1956, 2076; D. W. Clayton, G. W. Kenner u. R. C. Sheppard, ebenda 1956, 371.  
<sup>80)</sup> C. R. Harrington u. R. C. G. Moggridge, ebenda 1940, 706.  
<sup>81)</sup> M. Berenbom u. J. White, J. Amer. chem. Soc. 71, 2246 [1949].  
<sup>82)</sup> J. M. Swan u. V. du Vigneaud, ebenda 76, 3110 [1954].

Die intramolekulare Acylierung kann aber auch, bedingt durch sterische Faktoren, den begünstigteren Ring zum entfernten Amidstickstoff schließen. Bei der alkalischen Hydrolyse des dabei entstandenen Diketopiperidins findet die Ringöffnung vorwiegend unter Bildung des  $\gamma$ -Glutamylpeptides (XX) statt, was im Ganzen eine Umlagerung von  $\alpha$ - zu  $\gamma$ -Glutamylpeptiden bedeutet.

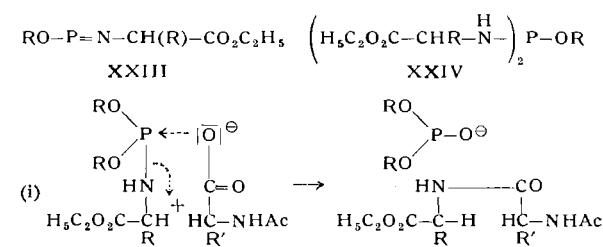


N-Tosylpyrrolidoncarbonsäure hat sich durch V. du Vigneaud<sup>82)</sup> als wertvolle Ausgangssubstanz für Glutamylpeptide, besonders des Ocytocins<sup>83)</sup>, erwiesen. Dies beruht ebenfalls auf dem Prinzip der Diacylimid-Aktivierung, wobei hier nur der Carbonsäure-Rest aktiviert ist. Die Säure lässt sich aminolytisch zu  $\gamma$ -Amiden der Tosylglutaminsäure aufspalten. Hat man vorher die Verbindung über ihr Chlorid (XXI) mit Aminosäuren peptid-artig verknüpft, so führt die Behandlung mit Ammoniak zu N-Tosyl-glutaminyl-peptiden (XXII).



### Peptid-Verknüpfung mit N-substituierten Bausteinen

Sowohl G. W. Anderson als auch St. Goldschmidt haben N-Phosphorigsäure-Derivate der Aminosäuren für Peptid-Synthesen weiter untersucht. Außer einer Aktivierung durch  $\text{PCl}_3$ , Diäthylphosphorigsäurechlorid ( $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{PCl}$ ) oder Tetraäthylpyrophosphit ( $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}-\text{O}-\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$ ) kann man auch mit Äthylenphosphorigsäurechlorid ( $\text{CH}_2-\text{O}-\text{PCl}$ ) oder Monoäthyl-phosphorigsäuredichlorid ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}-\text{PCl}_2$ )<sup>84)</sup> oder Monophenyl-phosphorigsäuredichlorid<sup>85)</sup> zum Ziel kommen. In den beiden letzten Fällen entstehen, wohl je nach den Molverhältnissen des Reagens zum verwendeten  $\alpha$ -Ester, Imid (XXIII)- oder Diamid-Derivate (XXIV) der phosphorigen Säure, die beim Erhitzen mit acylierten Aminosäuren nach Art der N-Phosphite unter Peptid-Bildung reagieren (i).

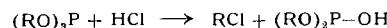


<sup>82)</sup> V. du Vigneaud, Ch. Ressler, J. M. Swan, C. W. Roberts u. P. G. Katsoyannis, ebenda 76, 3115 [1954].

<sup>84)</sup> R. W. Young, K. H. Wood, R. J. Joyce u. G. W. Anderson, ebenda 78, 2126 [1956].

<sup>85)</sup> St. Goldschmidt u. F. Obermeier, Liebigs Ann. Chem. 588, 24 [1954]; St. Goldschmidt u. H. L. Krauss, diese Ztschr. 67, 471 [1955].

Als Medium für diese Umsetzungen bewähren sich die Di- und Triäthylester der phosphorigen Säure, da sie besonders in der Wärme ein gutes Lösungsvermögen auch für Derivate höherer Peptide zeigen. Trialkylphosphite haben weiterhin den Vorteil, daß sie den bei der Reaktion auftretenden Chlorwasserstoff nach



als Alkylchloride unschädlich machen. In diesen Lösungsmitteln tritt aber leichter Racemisierung ein als in Benzol oder Dioxan<sup>84)</sup>.

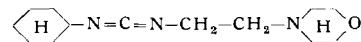
Derivate der Phosphorsäure an Stelle der phosphorigen Säure scheinen sich nicht zu bewähren, da schon die Übertragung des Anilin-Restes aus Phosphorsäure-aniliden auf die Carboxyl-Gruppe der Benzoësäure Temperaturen von 110–220 °C erfordert.

Zu den Peptid-Synthesen, die unter geeigneter Vorbereitung der Amino-Gruppe verlaufen, gehört auch die oben erwähnte Hitzepolymerisation der Phenylthiocarbonyl-aminoäuren- und peptide<sup>12)</sup>.

### Verwendung von wasserabspaltenden Mitteln

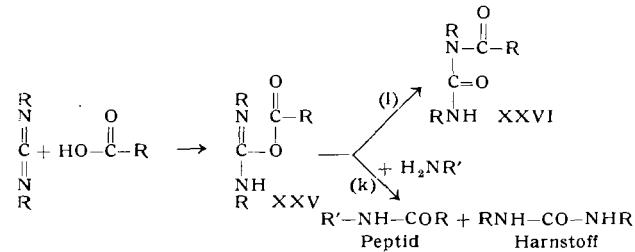
#### 1. Carbodiimide

Carbodiimide bilden aus einigen Carbonsäuren glatt die Anhydride<sup>86)</sup>. Diese wasserabspaltende Wirkung wurde von J. C. Sheehan und G. P. Hess<sup>5)</sup> sowie von H. G. Khorana<sup>6)</sup> auch für die Peptid-Verknüpfung herangezogen. Als besonders erfolgreich erwies sich Dicyclohexylcarbodiimid, da der durch die Hydratisierung entstehende Dicyclohexylharnstoff in Wasser sehr schwer löslich ist. Dies ist erwünscht, wenn die gebildeten Peptide in Lösung bleiben. Andererseits kann sich auch die Notwendigkeit ergeben, den Harnstoff vom schwerlöslichen Peptid abzutrennen. Hierfür wird unter anderen basischen Carbodiimiden z. B. das gemischte morpholin-haltige Carbodiimid



vorgeschlagen, das nebst seinem Hydratationsprodukt als Salz in Wasser löslich ist<sup>87)</sup>.

Über den Mechanismus der Wasserabspaltung kann man sich folgende Vorstellung machen<sup>6)</sup>. Die Carboxyl-Gruppe der einen Peptid-Komponente addiert sich an das Diimid unter Bildung eines O-Acylisoharnstoffes (XXV), der als energiereiche Acyl-Verbindung von der Amino-Gruppe der zweiten Komponente unter Amid-Bildung gespalten wird (k). In Konkurrenz zu dieser Aminolyse kann aber mehr oder weniger rasch Umlagerung zum N-Acylharnstoff XXVI (l), als unerwünschte Nebenreaktion eintreten, obwohl diese Verbindung als Diacylimid ebenfalls der Aminolyse, jedoch bedeutend langsamer zugänglich ist.



Trotzdem gehört diese bequeme Methode der Peptid-Verknüpfung zu den heute gebräuchlichsten. Für die Peptid-Synthese mit N-tritylierten Komponenten<sup>24, 25)</sup> und für Arginin-peptide<sup>26)</sup> scheint sie die Methode der Wahl zu

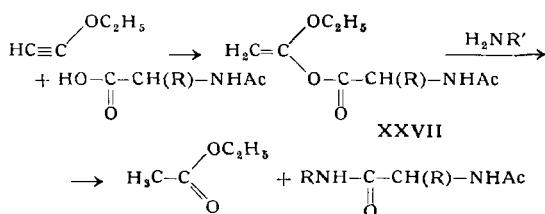
<sup>86)</sup> F. Zetsche u. H. Lindlar, Chem. Ber. 71, 2095 [1938]; F. Zetsche u. A. Fredrich, ebenda 72, 363 [1939].

<sup>87)</sup> J. C. Sheehan u. J. J. Hlavka, J. org. Chemistry 21, 439 [1956].

sein. Sie ist auch zur Darstellung von Cyclopeptiden geeignet<sup>1)</sup>. Vor kurzem ist sogar die Synthese des  $\beta$ -Lactam-Ringes mit Hilfe dieses Reagens zu einem vollsynthetischen Penicillin in 10proz. Ausbeute gelungen<sup>88)</sup>.

## 2. Alkoxyacetylene

Diese sehr reaktionsfähigen Verbindungen sind nach J. F. Arens<sup>4)</sup> ebenfalls imstande, zwischen zwei geeigneten Komponenten Wasser abzuspalten. Erhitzt man in ihrer Gegenwart Acylaminosäuren und Hydrochloride zweiter Aminosäureester in Essigester auf dem Wasserbad bis zur klaren Lösung, so findet die Kupplung zu Dipeptidestern, diesmal im sauren Medium, mit besonders guten Ausbeuten statt. Zur Erklärung des Reaktionsmechanismus scheint uns die Annahme einer primären Addition der Acylaminosäuren an die Acetylen-Dreifachbindung gerechtfertigt. Das hierbei entstehende Anhydrid eines Ketenhalbacetals (XXVII) kann nun mit der Amin-Komponente unter Peptid-Bildung und Abspaltung von Essigester reagieren.



## Polypeptide

Das Interesse an der Synthese hochmolekularer Peptide hat in den letzten Jahren erheblich zugenommen. Außer der besonders eingehend studierten Bildungsweise dieser Verbindungen aus den inneren Carbaminsäureanhydriden (*Leuchsschen Körpern*) hat man weitere für den Aufbau von Oligopeptiden bewährte Methoden hier anzuwenden versucht. Bei der Polymerisation der inneren Anhydride erhält man zwar sehr hochmolekulare Verbindungen, die jedoch nur aus einer Art von Bausteinen zusammengesetzt sind. Man kann auch Mischungen verschiedener *Leuchscher Körper* zu Polypeptiden mit statistischer Verteilung von Aminosäuren polymerisieren, oder nach Art der Blockpolymerisation an niedrige Polypeptide längere Ketten zweiter Aminosäuren anknüpfen, doch wird es stets ein besonderes Anliegen des vorwiegend biologisch interessierten Chemikers sein, Polypeptide mit definierter Bausteinreihenfolge aus möglichst verschiedenenartigen Aminosäuren aufzubauen. Eine ausführliche Darstellung des heutigen Standes geben C. H. Bamford, A. Elliott und W. E. Hanby in einer jüngst erschienenen ausgezeichneten Monographie<sup>89)</sup>.

### 1. Polymerisation der inneren Carbaminsäureanhydride

Das Zusammentreten dieser Bausteine unter  $\text{CO}_2$ -Abspaltung zu mehr oder weniger langen Peptid-Ketten kann durch Katalysatoren verschiedener Wirkungen in Gang gebracht und geleitet werden. Die altbekannte Wirkung von Verbindungen mit aktivem Wasserstoff (primäre und sekundäre Amine, Wasser), die in der Ringöffnung zu Carbaminsäuren, Decarboxylierung und analoger Weiterreaktion der am Dimeren neugebildeten Amino-Gruppen mit weiterem Monomeren besteht, ist durch kinetische Analyse an verschiedenen Monomeren, in verschiedenen Lösungsmitteln in Einzelheiten erkannt worden.

<sup>88)</sup> J. C. Sheehan u. K. R. Henery-Logan, J. Amer. chem. Soc. 79, 1262 [1957].

<sup>89)</sup> C. H. Bamford, A. Elliott u. W. E. Hanby: Synthetic Polypeptides, Academic Press, New York, 1956.

<sup>90)</sup> D. G. H. Ballard u. C. H. Bamford, Proc. Roy. Soc. A 223, 495 [1954]; D. G. H. Ballard, C. H. Bamford u. J. Weymouth, Proc. Roy. Soc. A 227, 155 [1955]; Nature [London] 174, 173 [1954].

Dabei entdeckten die Chemiker der Courtaulds Ltd., England, daß *Leuchssche Körper* in Gegenwart von Alkalialzen in organischen Lösungsmitteln, z. B. mit LiCl in Dimethylformamid, rasch polymerisieren (s. S. 370). Voraussetzung hierfür ist ein H-Atom am Stickstoff, denn das innere Carbaminsäureanhydrid des Sarkosins zeigt keine Reaktion. Die Polymerisation läßt sich aber im gleichen System durch Zusatz von 3-Methylhydantoin (XXXII) einleiten. Beim besonders eingehend studierten *Leuchsschen Körper* des Glycins wird neben cyclischem Polymeren Hydantoin-3-Essigsäure (XXXI) gebildet.

Hieraus und aus kinetischen Daten läßt sich ableiten, daß ein Salz des Lithiums mit dem Heterocyclus (XXVIII) den eigentlichen Initiator darstellt, der sich an das  $\text{C}_2$  einer zweiten Anhydrid-Moleköl zu (XXIX) anlagert. Diese wird dadurch labilisiert und erleidet Ringöffnung unter  $\text{CO}_2$ -Abspaltung zu einer Verbindung (XXX), die, wie oben, mittels ihres aktiven Wasserstoffs mit einer nächsten Anhydrid-Moleköl usw. reagiert (m). (XXX) kann aber auch am  $\text{C}_2$  des intakten 5-Ringes eine alkali-aktivierte Anhydrid-Moleköl aufnehmen (n) und so als bifunktioneller Baustein reagieren. Die Reaktion kommt durch intramolekularen Ringschluß der bis zu einer gewissen Größe angewachsene Moleköl zum Ende. Findet dieser auf der frühestmöglichen Stufe statt, so entsteht dabei das Hydantoin-Derivat (XXXI), aus sterischen Gründen kein Diketopiperazin.

In demselben Arbeitskreis wurde auch die analoge katalytische Wirkung von Alkalialzen schwächerer organischer Säuren aufgefunden, deren primäre Wirkung ebenso erklärt werden kann. Besonders hochmolekulare Polypeptide z. B. Poly- $\alpha$ -glutaminsäure- $\gamma$ -benzylerster vom Mol.-Gew. 350000 erhält man rasch durch alkoholische Natronlauge oder von Natriumalkoholat-Lösung als Katalysatoren, wie Blout und Mitarb. fanden<sup>91)</sup>. Es scheint nicht unwahrscheinlich, daß auch hier die Kettenreaktion über ein Dimeres (XXIX) verläuft und daß die bifunktionelle Natur der Zwischenprodukte für die große Geschwindigkeit verantwortlich ist. Allerdings dürfte hierbei die Kettenverlängerung nach dem „klassischen“ Mechanismus, wie er in dem durch primäre und sekundäre Amine katalysierten System gilt, weniger zum Zuge kommen, da die Carbaminsäuren in alkalischer Lösung in Form ihrer Salze stabil sind. Es treten dabei keine cyclischen Endprodukte auf, was durch die Beendigung der Reaktion durch sovolytische Öffnung des Anhydrid-Ringes durch das Hydroxyl oder Alkoholat erklärt werden könnte (o).

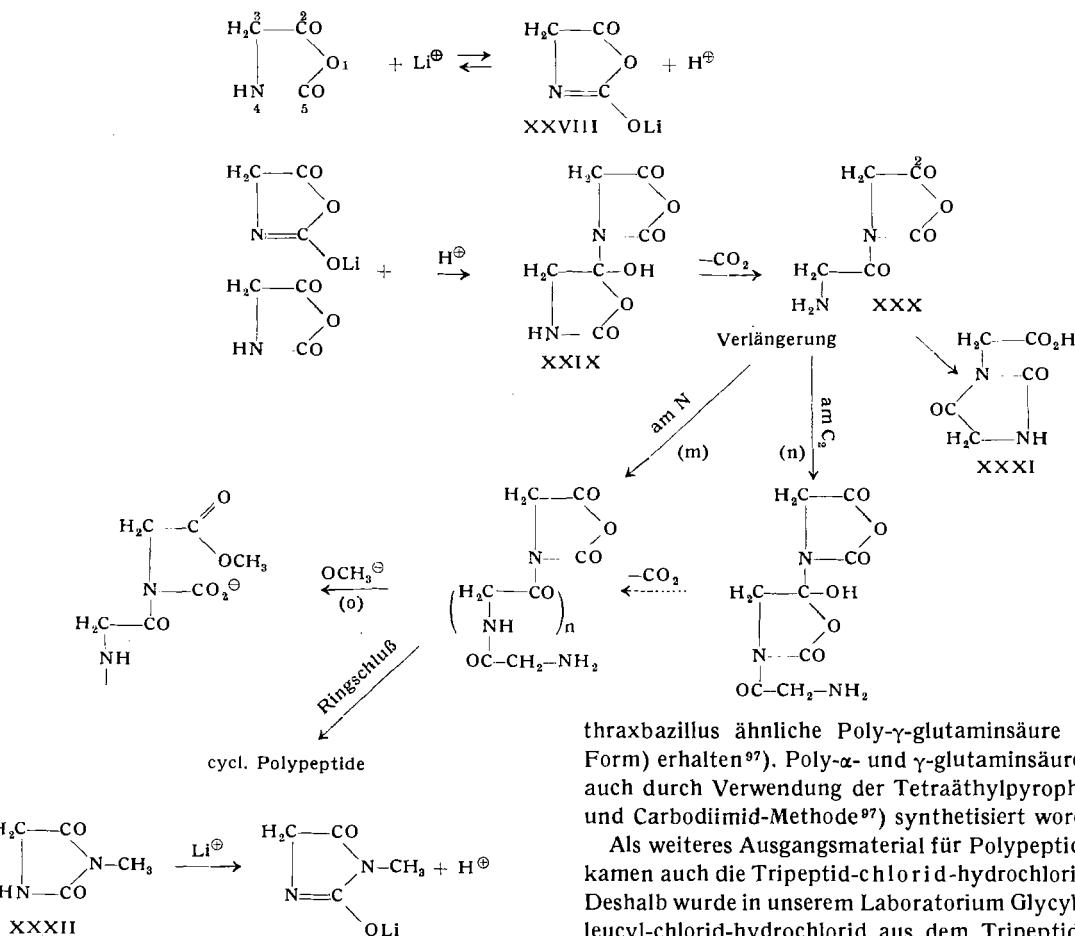
Schließlich konnte auch in die Polymerisationsreaktionen, die durch tertiäre Basen ausgelöst werden, Licht gebracht werden. Es hat sich gezeigt, daß der von uns formulierte hypothetische Ablauf<sup>2)</sup> nicht das Richtige treffen kann<sup>92)</sup>. Dies geht vor allem daraus hervor, daß N-substituierte *Leuchssche Körper* (vom Sarkosin) mit tertiären Basen nicht zur Polymerisation zu bringen sind und daß Diketopiperazine unter den Reaktionsprodukten anderer fehlen. Es bilden sich aber aus den *Leuchsschen Körpern* des Glycins in Dimethylformamid bei Gegenwart von Tributylamin in rascher Reaktion etwa zur Hälfte cyclische Polypeptide, aus denen kristallisiertes cyclisches Hexaglycin isoliert werden konnte und zur anderen Hälfte Hydantoin-3-essigsäure (XXXI). Dies, unter anderen Indizien, läßt den Schluß zu, daß auch hierbei die Reaktion

<sup>91)</sup> E. R. Blout, R. H. Karlson, P. Doty u. B. Hargitay, J. Amer. chem. Soc. 76, 4492 [1954]; E. R. Blout u. R. H. Karlson, ebenda 78, 941 [1956].

<sup>92)</sup> D. G. H. Ballard u. C. H. Bamford in A. D. Jenkins u. D. F. Elliott: Peptide Chemistry, Report of a Symposium, London chem. Soc. 1955, S. 25; D. G. H. Ballard u. C. H. Bamford, J. chem. Soc. [London] 1956, 381.

durch Anlagerung der tertiären Base an das C<sub>2</sub> des 5-Ringes eingeleitet und ähnlich wie bei der Alkali-ionsen-Katalyse fortgeführt wird.

Bemerkenswerterweise findet auch in wasserfreiem Fluorwasserstoff eine Polymerisation der Leuchsschen Anhydride statt, die allerdings nur zu Kettenlängen von ungefähr 25 Einheiten führt<sup>93)</sup>.



## 2. Andere Polypeptid-Synthesen

Wie im ersten Bericht<sup>94)</sup> ausführlich geschildert wurde, treten Aminosäureester besonders beim Erhitzen zu Oligopeptidestern und zu Diketopiperazinen zusammen. Dipeptidester erfahren vorwiegend denselben Ringschluß, so daß erst Tripeptid-Derivate aussichtsreiche Bausteine für Polypeptid-Synthesen darstellen. Vor kurzem wurde auch das Verhalten von Tetra- bis Octa-glycyl-alanyl-methylestern beim Erhitzen im Vakuum untersucht und im wesentlichen festgestellt, daß die Polymerisationsgrade der erhaltenen Produkte in der gleichen Größenordnung wie die aus den gleichen Tripeptidestern erhaltenen, nämlich zwischen 20 und 30, liegen<sup>95)</sup>.

Im Bestreben, höhere Molekulargewichte zu erzielen, haben wir vor einiger Zeit Tripeptidyl-thiophenole in Aceton und tertiärem Amin reagieren lassen, aber ebenfalls nur ein Polypeptid mit definierter Bausteinreihenfolge aus etwa 27 Einheiten erhalten<sup>96)</sup>. Für dieses relativ niedrige Molekulargewicht machten wir den Umstand verantwortlich, daß das Produkt in dem verwendeten Lösungsmittel unlöslich ist und sich durch Ausscheidung einem weiteren Kettenwachstum entzieht. Es wurde deshalb nunmehr ein besseres Lösungsmittel, Dimethylsulfoxid, für die

<sup>93)</sup> K. D. Kopple u. J. J. Katz, J. Amer. chem. Soc. 78, 6199 [1956].  
<sup>94)</sup> Th. Wieland, diese Ztschr. 63, 7 [1951].

<sup>95)</sup> I. v. Brunn-Leube u. G. Schramm, Chem. Ber. 89, 2045 [1956].  
<sup>96)</sup> Th. Wieland u. H. Bernhard, Liebigs Ann. Chem. 582, 218 [1953].

analogeren Polykondensationen herangezogen. Dabei erhielten wir bei Zimmertemperatur in einigen Tagen Polypeptide, die aus 50–60 definiert angeordneten Aminosäuren bestehen (B. Heinke, unveröffentlicht).

Durch Verwendung des  $\gamma$ -Thiophenylesters von  $\gamma$ -Glutamyl-glutaminsäure- $\alpha,\alpha'$ -dibenzylester wurde von J. Kovács und Mitarbeitern eine der Kapselsubstanz des An-

thraxbazillus ähnliche Poly- $\gamma$ -glutaminsäure (L- und D-Form) erhalten<sup>97)</sup>. Poly- $\alpha$ - und  $\gamma$ -glutaminsäuren sind u. a. auch durch Verwendung der Tetraäthylpyrophosphit<sup>98)</sup> – und Carbodiimid-Methode<sup>97)</sup> synthetisiert worden.

Als weiteres Ausgangsmaterial für Polypeptid-Synthesen kamen auch die Tripeptid-chlorid-hydrochloride in Frage. Deshalb wurde in unserem Laboratorium Glycyl-methionyl-leucyl-chlorid-hydrochlorid aus dem Tripeptid in Chloroform mit PCl<sub>5</sub> dargestellt und in wäßriger Soda-Lösung einige Zeit aufbewahrt. Dabei bildete sich ein in den üblichen Lösungsmitteln unlöslicher Niederschlag, der sich als Polypeptid aus etwa 30 Aminosäuren erwies<sup>99)</sup>. Es ist also hier im Gegensatz zur Polymerisation von Aminosäure- und Dipeptid-chloriden-hydrochloriden<sup>100)</sup> nicht nötig, Wasser aus dem System fernzuhalten. Eine Polykondensation von Leucyl-chlorid-hydrochlorid zu einem Produkt aus etwa 15 Bausteinen wird auch im wasserfreien Fluorwasserstoff erhalten<sup>93)</sup>.

Beim Erhitzen von Phenylthiocarbonyl-aminoäuren, -dipeptiden und -tripeptiden in Benzol unter Zusatz von wenig Pyridin werden ebenfalls Polypeptide erhalten<sup>101)</sup>. Ihre Molekulargewichte, die auf Grund von osmotischen Messungen zu 10000–100000 angegeben werden, unterliegen wegen der geringen Viscosität ihrer Lösungen jedoch berechtigten Zweifeln<sup>101)</sup>.

Interesse verdient auch die Bildung von Polypeptiden aus Aminosäure-phosphorsäureanhydripen in wäßriger Lösung<sup>102)</sup>.

<sup>97)</sup> V. Bruckner, J. Wein, M. Kajtár u. J. Kovács, Naturwissenschaften 42, 463 [1955]; V. Bruckner, J. Wein, H. Nagy, M. Kajtár u. J. Kovács, ebenda 42, 210 [1955]; V. Bruckner, M. Szekerke u. J. Kovács, ebenda 43, 107 [1956]; V. Bruckner, J. Wein, M. Kajtár u. J. Kovács, ebenda 44, 89 [1957].  
<sup>98)</sup> S. G. Waley, Chem. and Ind. 1954, 1148.  
<sup>99)</sup> W. Heigel, Diss. Mainz 1956.

<sup>100)</sup> M. Frankel, Y. Lisschitz u. A. Zilkha, Experientia [Basel] 9, 179 [1953]; dieselben, J. Amer. chem. Soc. 76, 2814 [1954].  
<sup>101)</sup> F. J. Weymouth, Chem. and Ind. 1956, 34.  
<sup>102)</sup> A. Katchalsky u. M. Paecht, J. Amer. chem. Soc. 76, 6042 [1954].

## Cyclische Peptide

Bei der zunehmenden Anzahl biologisch wirksamer Stoffe, die sich als cyclische Peptide herausstellen, kommt den präparativen Möglichkeiten zur Gewinnung solcher Verbindungen ein gewisses Interesse zu. Die dabei einzuschlagenden Wege sind im Prinzip Anwendungen bekannter Methoden zur Verknüpfung, die hier zwischen der Amino-Gruppe und der Carboxyl-Gruppe derselben Moleköl einzutreten hat. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, in Verdünnung zu arbeiten.

Zu kristallisierten, Ninhydrin-negativen Produkten führt z. B. die Behandlung von Glycyl-DL-alanyl-DL-phenylalanin-methylester in Methanol mit Ammoniak oder Piperidin<sup>103</sup>), ferner die Umsetzung von Triglycin-azid-hydrochlorid in verdünnter, wäßriger Lösung mit Hydrogen-carbonat<sup>104</sup>), durch das die Amino-Gruppe zur intramolekularen Reaktion mit dem Säureazid-Rest freigesetzt wurde. In diesem Falle stellte sich das ursprünglich als Cyclo-tripeptid aufgefaßte Produkt als das cyclische Hexaglycycl heraus<sup>90, 105, 106</sup>), nachdem diese Verbindung analog aus Hexaglycylazid in authentischer Weise erhalten worden war. Das cyclische Hexaglycycl entsteht neben anderen, wie schon oben erwähnt, auch aus dem inneren Carbaminsäure-anhydrid des Glycins<sup>90</sup>.

Ein kristallisiertes Cyclopentapeptid wurde nach dem im hiesigen Arbeitskreis aufgefundenen Prinzip der reaktionsfähigen Aminoacylmercaptan-Gruppierung durch intrareaktion<sup>103</sup>) H. Brockmann, H. Tummes u. F. A. v. Metzsch, Naturwissenschaften 41, 37 [1954].  
<sup>104</sup>) J.C. Sheehan u. W.L. Richardson, J. Amer. chem. Soc. 76, 6329 [1954].  
<sup>105</sup>) J. C. Sheehan, M. Goodman u. W. L. Richardson, ebenda 77, 6391 [1955].  
<sup>106</sup>) C. H. Bamford u. F. J. Weymouth, J. Amer. chem. Soc. 77, 6368 [1955].

molekulare Peptid-Synthese aus Glycyl-L-leucyl-glycyl-L-leucyl-glycyl-p-nitrothiophenol erhalten<sup>54</sup>). Ähnlich gelang die Darstellung von Cyclotetraglycycl und Cyclohexaglycycl aus den S-Peptidyl-Derivaten der Thioglykolsäure<sup>107</sup>) und aus den aktiven Cyanmethylestern des Tetraglycins und, unter Dimerisierung, des Triglycins. Zur Cyclisierung eines Dekapeptids wurde bei der bemerkenswerten Synthese des cyclischen Gramicidin S durch R. Schwyzer von der Aktivierung des Carboxyls des offenen Polypeptids durch Veresterung mit p-Nitrophenol Gebrauch gemacht<sup>69</sup>).

Nach eigenen Befunden<sup>1)</sup> eignet sich auch Dicyclohexylcarbodiimid in methanolisch-wäßriger Lösung sehr gut für Peptid-Cyclisierungen. So konnten aus 500 mg Glycyl-valyl-glycyl-glycyl-valyl-glycin gelöst in 0,5 l 80 proz. Methanol nach mehrtägigem Aufbewahren bei Zimmertemperatur 45% des kristallisierten cyclischen Hexapeptids gewonnen werden.

Mit den hier betrachteten zahlreichen präparativen Methoden hat die Peptid-Chemie heute einen Stand erreicht, der es ermöglicht, Polypeptide auch komplizierteren Baues unter Erhaltung der optischen Aktivität ihrer Bausteine zu synthetisieren. Die plangerechte Knüpfung anderer Bindungen als des grundlegenden NH—CO-Strukturelements, z.B. von Disulfid- oder Phosphodiester-brücken, die Darstellung großer wasserlöslicher abwechslungsreicher Polypeptide und die künstliche Faltung solcher Ketten zur eigenartigen Protein-Struktur mit ihrer biologischen Wirkung sind nun die nächsten Aufgaben, deren Bewältigung allerdings noch in fernerer Zukunft liegen dürfte.

Eingegangen am 29. April 1957 [A 813]

<sup>107</sup>) R. Schwyzer, B. Iselin, W. Rittel u. P. Sieber, Helv. chim. Acta 39, 872 [1956].

## Lactonacetale, eine neue Klasse von Carbonsäure-Derivaten

### Zur Theorie des isosbestischen Punktes in ihrer Bedeutung für die Erkennung von Reaktionszwischenprodukten

Von Prof. Dr. RICHARD KUHN und Dipl.-Chem. D. WEISER

Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg

Bei der UV-spektroskopischen Verfolgung der Hydrolyse von 3-Phenyl-cumarinimid ( $A_1$ ) in  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$ -Gemischen zeigte sich, daß nicht sofort 3-Phenyl-cumarin ( $C_{III}$ ) gebildet wird. Beim isosbestischen Punkt des Systems  $A_{II}$ — $C_{III}$  sinkt nämlich die Extinktion vorübergehend stark ab. Das dafür verantwortliche Reaktionszwischenprodukt ist ein Lactonacetal, das präparativ isoliert werden konnte ( $F_p$  68–69 °C). Der weitere hydrolytische Zerfall dieses Dimethylacetals ( $B_{II}$ ) zum 3-Phenyl-cumarin erfolgt wiederum in 2 Stufen, wie Messungen am isosbestischen Punkt des Systems  $B_{II}$ — $C_{III}$  erkennen ließen. Hier tritt das Halbacetal  $C_1$  als Reaktionszwischenprodukt in Erscheinung. — Alle Umsetzungen gehorchen der Reaktionsgeschwindigkeits-Gleichung 1. Ordnung.

Verbindungen, in denen die Carbonyl-Gruppe eines Lactons in  $>\text{C}(\text{OR})_2$  verwandelt ist, scheinen noch nicht beschrieben worden zu sein. Acetalisierungsmittel wie Orthokohlensäureester, Orthoameisensäureester, Orthokieselsäureester, Dimethylsulfat u. a., mit deren Hilfe sich Aldehyde und Ketone in die entsprechenden Acetale verwandeln lassen, wirken, wie wir gefunden haben, auf Lactone nicht ein. Es ist jedoch kein Grund ersichtlich, warum Lactonacetale nicht existenzfähig sein sollten. Denn sie erscheinen als Orthocarbonsäureester, deren Besonderheit nur darin liegt, daß die eine von den drei Hydroxyl-Gruppen, die schematisch mit dem Carbonsäure-Hydrat  $-\text{C}(\text{OH})_3$  unter Wasseraustritt reagieren, der Moleköl der Carbonsäure selbst angehört.

Es ist nicht unsere Zielsetzung gewesen, die anscheinend bestehende kleine Lücke in der Systematik der Kohlenstoff-

Verbindungen zu schließen. Wir waren vielmehr daran interessiert, die Eigenschaften und Reaktionen von Iminolactonen zu studieren, da deren Bildung bei der von R. Kuhn und W. Kirschenlohr<sup>1)</sup> aufgefundenen Aminozucker-Synthese in manchen Fällen eine unerwünschte Rolle spielt. Während die meisten Aminonitrile der Zuckerreihe als solche existieren, d.h. die der Gruppierung  $-\text{CH}-\text{NH}_2-\text{CN}$  entsprechende IR-Bande bei ca. 4,5  $\mu$  zeigen und sich zu den Aminozuckern katalytisch hydrieren lassen, fehlt mitunter die genannte IR-Bande, und dann versagt auch die Hydrierungsmethode<sup>2)</sup>. Es ist recht wahrscheinlich geworden, daß die Ursache in der spontan erfolgenden Cyclisierung gewisser Hydroxynitrile zu Iminolactonen besteht.

<sup>1)</sup> R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, diese Ztschr. 67, 786 [1955].

<sup>2)</sup> R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Liebigs Ann. Chem. 600, 126 [1956]; R. Kuhn u. D. Weiser, ebenda 602, 208 [1957].