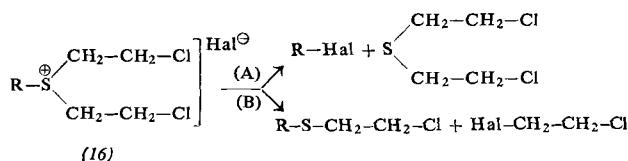
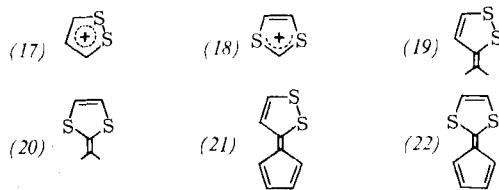


In der Absicht, eine Verbesserung der cytostatischen Wirksamkeit der Tris-(β -chloräthyl)-sulfonium-Salze zu erzielen, synthetisierten *A. Lüttringhaus* und *J. Ringhartz*, Freiburg, durch zweimalige Umsetzung von Cholestanthiolen mit Äthylenbromhydrin die entsprechenden Bis-(β -hydroxyäthyl)-sulfonium-Salze. Die Chlorierung mit Thionylchlorid ergab jedoch nicht die erwarteten Bis-(β -chloräthyl)-sulfonium-Salze, sondern β -Chloräthylsulfide. An Hand von Modellverbindungen ließ sich zeigen, daß die Sulfonium-



salze (16) bei $R =$ Benzyl oder Alkyl ausschließlich nach (A) zerfallen. Ist $R =$ *t*-Butyl oder Cyclohexyl, so zerfallen sie teilweise auch nach (B). Br^- (oder J^-) als Anion verstärken die Tendenz zum Zerfall nach (B).

Vergleichende Protonenresonanz-Messungen an 1,2- und 1,3-Dithiolium-Salzen führten *H. Prinzbach*, *E. Futterer*, *H. Berger* und *A. Lüttringhaus*, Freiburg, durch. Die Verbindun-



gen (17) und (18) sind mit dem Tropylium-Ion iso- π -elektrisch, die Dithiafulvalene [(19), (20)] und Dithiafulvalene [(21), (22)] dem Heptafulven und Sesquifulvalen analog. Die chemischen Verschiebungen der Protonen-Signale von (17) und (18) spiegeln das ausgeprägte lokale Elektronendefizit an den entsprechenden Träger-C-Atomen wieder. Aus dem Einfluß von Substituenten in 3- und 4-Stellung in (17) oder in 4-Stellung in (18) auf die chemische Verschiebung von H-4 und H-5 oder H-2 läßt sich eine cyclische Delokalisierung des π -Elektronensystems in (17) und (18) unter Einbeziehung von jeweils einem p_{π} -Elektronenpaar der S-Ringglieder ableiten.

Die H-Signale in den analog substituierten Verbindungen (19)–(22) sind um 2 bis 2,5 ppm diamagnetisch verschoben. Diese Daten sind nur mit weitgehend lokalisierten Bindungssystemen vereinbar, dipolaren Strukturen kommt kein Gewicht zu.

[VB 844]

7. Europäisches Peptidsymposium

Vom 3. bis 8. September 1964 fand in Budapest das 7. Europäische Peptidsymposium statt.

Aus den Vorträgen:

Schutzgruppen

Th. Wieland (Frankfurt/M.) hob hervor, daß auch heute noch neue, selektiv unter milden Bedingungen abspaltbare Schutzgruppen in der Peptidchemie gebraucht werden. Ausgehend von der Beobachtung, daß einige Amanita-Toxine schon durch wäßrige Trifluoressigsäure bei Raumtemperatur spezifisch an der γ -Hydroxyleucyl-Bindung gespalten werden [1], wurde der γ -Hydroxyisocaproyl-Rest (HIC-Rest) als Aminoschutzgruppe verwendet. HIC-Aminosäuren lassen sich durch Erhitzen von Aminosäuren mit γ - γ -Dimethylbutyrolacton in Gegenwart von Imidazol darstellen. Nach der Peptidsynthese kann die Schutzgruppe mit verdünnten Säuren abgespalten werden, z. B. beim HIC-Gly-L-Leu-OBz (Bz = Benzyl) mit 50-proz. Trifluoressigsäure (20°C , 2 Std.) [2].

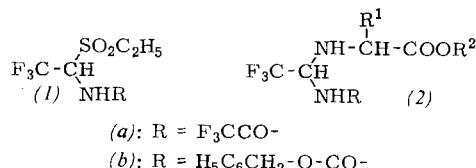
m -Nitrophenyloxycarbonyl-aminosäuren können durch Bestrahlung mit einer Quecksilberlampe ($\lambda > 300 \text{ m}\mu$) entacyliert werden (1 mMol in 2–3 Std.) oder auch mit Triäthylamin/Wasser bei Raumtemperatur. Leider bilden sich bei der Entacylierung von Peptid-Derivaten stets Hydantoine, so daß sich die Schutzgruppe nicht für Peptidsynthesen eignet.

K. und H. Medzihradzky (Budapest, Ungarn) fanden, daß sich bei Z-Peptiden (Z = Carbobenzoxy), die nicht aminoschutzfähiges Methionin enthalten, der Carbobenzoxy-Rest abhydriert läßt, wenn man die 4-molare Menge Cyclohexylamin zusetzt und etwa die 0,1- bis 1-fache Gewichtsmenge an Katalysator verwendet. Beim Vorhandensein empfindlicher Estergruppen kann auch Triäthylamin als Base zugesetzt werden. Die Methode versagt bei Carbobenzoxy-dipeptidestern, da hierbei Diketopiperazine entstehen.

[1] *Th. Wieland*, Helv. chim. Acta 44, 919 (1961).

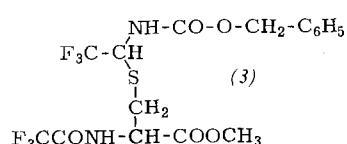
[2] Spaltung einer Peptidbindung unter milderen Bedingungen: *Th. Wieland* u. *D. Rehbinder*, Liebigs Ann. Chem. 670, 149 (1963).

Über eine neue CF_3 -haltige Schutzgruppe berichteten *F. Weygand*, *W. Steglich* und *I. Lengyel* (München). Das aus 2-Trifluormethyl-pseudooxazol-5-on und Äthylmercaptan in $\text{HBr}/\text{Eisessig}$ leicht zugängliche 2,2,2-Trifluor-1-äthylmercapto-äthylamin-hydrobromid [3] kann am Stickstoff acyliert und zum Sulfon (1) oxydiert werden.



(1) tauscht den Sulfonylrest leicht gegen andere nucleophile Gruppen wie $-\text{OR}$, $-\text{SR}$ und $-\text{NHR}$ aus. Verwendet man ein Sulfon wie (1a) oder (1b), das einen reversibel abspaltbaren Acylrest enthält, so gelangt man durch Umsetzung mit Aminosäureestern zu Derivaten des Typs (2a) bzw. (2b).

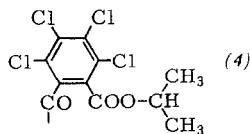
Aus N-Trifluoracetyl-L-cysteinmethylester und (1b) entsteht in Gegenwart von 1 Mol Triäthylamin bei Zimmertemperatur in guter Ausbeute (3).



Entsprechend wurden weitere Cystein-Derivate S-geschützt. Die Schutzgruppen werden wie üblich entfernt.

St. Guttmann und *J. Pless* (Basel, Schweiz) prüften Acylreste auf ihre Verwendbarkeit zum reversiblen Schutz der Guanidinogruppe des Arginins. Dabei erwiesen sich die Tetrachlor-isopropoxy-phthaloyl-Gruppe (TIP-Gruppe) (4) und die *p*-Nitro-benzylloxycarbonyl-Gruppe (*Z*(NO_2)-Gruppe) als besonders geeignet.

[3] *F. Weygand*, *W. Steglich* u. *H. Tanner*, Liebigs Ann. Chem. 658, 128 (1962).

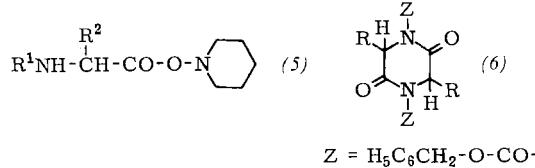


Zur Darstellung von Z-(ω -TIP)-L-Arginin wurde Z-L-Arginin mit TIP-2,4,5-trichlorphenylester umgesetzt. Der TIP-Rest kann nach der Peptidsynthese mit wässriger Essigsäure bei 100 °C quantitativ abgespalten werden. Er ist gegen HBr/Eisessig, Trifluoressigsäure und H₂/Pt stabil. Auch Z-[ω -Z-(NO₂)-L-Arginin eignet sich zur Peptidsynthese. Die Guanidino-Schutzgruppe, die sich durch kontrollierte katalytische Hydrierung selektiv abspalten lässt, ist gegen HBr/Eisessig und Laugen weitgehend stabil.

p-Chlorbenzylester von N-Carbobenzoxy-aminosäuren werden bei der Abspaltung des Z-Restes mit HBr/Eisessig weniger angegriffen als Benzylester, wie *L. Kisfaludy* und *M. Löw* (Budapest, Ungarn) fanden. Mit 17-proz. HBr/Eisessig ließen sich die Z-Di-p-chlorbenzylester der Asparagin- und Glutaminsäure in über 60-proz. Ausbeute in die Di-p-chlorbenzyl-ester-hydrobromide überführen. Wenn statt HBr/Eisessig 1 N NaOH in Dioxan verwendet wird, erhält man Z-Asparaginsäure- β -p-chlorbenzylester bzw. Z-Glutaminsäure- γ -p-chlorbenzylester in 60- bzw. 33-proz. Ausbeute.

Knüpfung der Peptidbindung, Racemisierung

Von besonderem Interesse für die Peptidchemie sind die von *I. Antonovics*, *S. Beaumont*, *B. O. Handford* und *G. T. Young* (Oxford, England) untersuchten N-Acylaminosäure-1-piperidylester (5).



Sie lassen sich aus den N-Acylaminosäuren und 1-Hydroxypiperidin mit Dicyclohexylcarbodiimid (DCCI) darstellen. Während Z-L-Leu-O-Pip (Pip = Piperidyl) und Gly-OC₂H₅ erst nach 5 Tagen in guter Ausbeute Z-L-Leu-Gly-OC₂H₅ lieferte, wurden nach Zugabe von 1 Mol Eisessig schon in 36 Std. 84 % Dipeptid-Derivat erhalten. Wenn der Glycinester aus dem Hydrochlorid mit wasserhaltigem Natriumacetat freigesetzt wurde, bildeten sich schon nach 2 Std. 85 % Dipeptid-Derivat. In diesen Fällen sowie bei der Synthese von Benzoyl-L-Leu-Gly-OC₂H₅ unter verschiedenen Bedingungen konnte keine Racemisierung festgestellt werden (Nachweisgrenze etwa 2 % DL-Verbindung). Auch bei Verwendung von freiem Glycin und 1 Mol Base in Dioxan/Wasser entstand in hoher Ausbeute optisch reines Benzoyl-L-Leu-Gly. Benzoyl-L-Leu-O-Pip zeigte in Chloroform/Triäthylamin im Gegensatz zum p-Nitrophenylester keine Racemisierung und keine Oxazolonbildung.

Wie *E. Taschner*, *A. Kuziel*, *T. Vajda* und *B. Rzeszotarska* (Danzig) zeigten, bestimmt die Dicyclohexylcarbodiimid-Menge bei der Umsetzung mit Z-Aminosäuren die Art der entstehenden Produkte. Während nach *Schüssler* und *Zahn* [4] mit 1/2 Mol DCCI Z-Aminosäureanhydride entstehen, wurde von den Vortr. bei Verwendung von 1 Mol DCCI in Essigester bei 20 °C neben Dicyclohexylharnstoff (45–100 %) ein Gemisch von N-Acylharnstoff und dem Bis-benzoyloxycarbonyl-diketopiperazin-Derivat (6) erhalten.

E. Taschner, *B. Rzeszotarska* und *A. Kuziel* (Danzig) empfehlen Bromacetonitril an Stelle des üblichen Chloracetonitrils zur Darstellung der Cyanmethylester [5]. Die

[4] *H. Zahn* u. *H. Schüssler*, Chem. Ber. 95, 1076 (1962).

[5] *R. Schwyzer*, *M. Feurer*, *B. Iselin* u. *H. Kägi*, Helv. chim. Acta 38, 80 (1955).

Ester bilden sich schon bei Raumtemperatur und können ohne Isolierung mit Aminosäureestern umgesetzt werden, wobei ein Zusatz von 0,2 Äquiv. Eisessig die Reaktionszeit stark herabsetzt. Die Dipeptid-Derivate (7) und (8) wurden papierchromatographisch auf Racemisierung untersucht (For = Formyl, TFA = Trifluoracetyl, tBu = tert. Butyl).

	Aktivierung mit	DL-Dipeptid [%]
For-L-Val-L-Val-OtBu (7)	CICH ₂ CN	30
	BrCH ₂ CN	<1
TFA-L-Phe-L-Val-OtBu (8)	CICH ₂ CN	40
	BrCH ₂ CN	25
	BrCH ₂ CN + 0,2 Äquiv. Eisessig	<1

Die Ergebnisse werden auf die schnellere Bildung des aktivierte Esters mit BrCH₂CN und auf eine Beschleunigung der Peptidsynthese durch den Eisessig zurückgeführt.

B. Liberek und *A. Michalik* (Danzig) verwendeten Z- β -Cyan-L-alanin zum Studium der Racemisierung bei der Synthese von Z-Dipeptidestern. Während bei der Umsetzung mit Glycin-methylester nach dem p-Nitrophenylester-, DCCI-, Phosphorazo- und Phosphoroxychlorid-Methoden keine Racemisierung auftrat (noch 2 % Racemat nachweisbar), wurde sie bei der Umsetzung des Thiophenylesters in beträchtlichem Maße beobachtet.

Der Racemisierungsgrad ist stark vom Lösungsmittel abhängig. Am höchsten ist er in Dimethylformamid (DMF) und Dimethylsulfoxid, am niedrigsten in Tetrahydrofuran (THF). Der Racemisierungsgrad nimmt mit stärkerer Verdünnung zu. Während *Beyermans* bifunktionelle Katalysatoren [6] in DMF keinen Einfluß haben und Essigsäure den Racemisierungsgrad nur wenig verringert, wird die Racemisierung in Essigester durch 2-Hydroxypyridin oder Essigsäure von 27 auf < 2 % DL-Verbindung gesenkt.

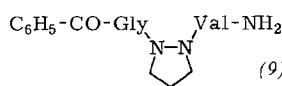
Über Peptidsynthesen in wässriger Lösung ohne Isolierung von intermediären Peptiden berichteten *D. G. Knorre* und *T. N. Shubina* (Nowosibirsk, UdSSR). Bei der Reaktion von Formylaminosäuren mit wasserlöslichen Carbodiimiden in Wasser bildet sich in einem engen pH-Bereich mit einem Optimum bei pH = 5 ein aktivierte Zwischenprodukt (wahrscheinlich O-Acyl-harnstoff). Daneben entsteht ein nicht reaktionsfähiges Produkt, vermutlich der N-Acyl-harnstoff. Nach Zugabe von Aminosäureester bei pH = 7 bilden sich Peptide. Da alle Nebenprodukte mit Ionenaustauschern leicht zu entfernen sind, kann nach Verseifung des Esters das entstandene Formyl-dipeptid ohne Isolierung erneut zur Synthese verwendet werden. Die Methode wurde zum Aufbau einfacher Tetrapeptide benutzt, wobei die Ausbeuten bei jedem Schritt 60–85 % betrugen. Es ist vorteilhaft, mit einem 2- bis 5-fachen Überschuß an Carbodiimid zu arbeiten.

M. Brenner (Basel, Schweiz) studierte die Geschwindigkeit der Aminodiacylhydrazin-Umlagerung [7], bei der z. B. Z-Gly-Gly-NH-NH-Phe aus Z-Gly-Gly-Phe-NH-NH₂ entsteht. Als Katalysatoren wirken nur Säuren, die am gleichen Atom doppelt gebundenen Sauerstoff und eine OH-Gruppe tragen, z. B. Carbonsäuren, Phosphorsäure und Schwefelsäure. Pivalinsäure katalysiert weitaus am besten, dann nimmt die Wirkung in der Reihe Propionsäure, Essigsäure, Ameisensäure ab. Die Umlagerungsgeschwindigkeit ist stark lösungsmittelabhängig. Sie nimmt in der Reihe THF, Dimethoxyäthan, Methanol ab. Außerdem hängt sie stark von der Konstitution ab. Während z. B. Benzoyl-Gly-NHNH-Phe in 10-proz. Propionsäure in THF bei 40 °C schon in 25 min umgelagert wurde, benötigte Z-Val-NHNH-Val unter ähnlichen Bedingungen 40 Tage. Substitution der Hydrazid-

[6] *H. C. Beyerman* u. *W. Maassen van den Brink*, Proc. chem. Soc. (London) 1963, 266.

[7] *M. Brenner* u. *W. Hofer*, Helv. chim. Acta 44, 1794 (1961).

Wasserstoffatome durch Alkylgruppen erhöht die Umlagerungsgeschwindigkeit. Derivate des Typs (9) lagern sich augenblicklich um. Leider läßt sich die freigewordene NH-Gruppe nicht mehr ohne weiteres acylieren.



Neue Ergebnisse über den katalytischen Effekt bifunktioneller Katalysatoren teilten *H. C. Beyerman* und *W. Maassen van den Brink* (Delft, Holland) mit. Bei langsamten Reaktionen, z. B. der Umsetzung von Z-Gly-OCH₂CN mit Cyclohexylamin bei 20 °C, beträgt die Ausbeute an Amid nach 30 min ohne Katalysator 11 %, nach Zusatz von Pyrazol, 1,2,4-Triazol oder 2-Hydroxy-pyridin über 60 %. Ein Gemisch von Phenol und Pyridin zeigte keine Wirkung. Auch bei der Umsetzung von Z-Gly-OCH₃ mit Cyclohexylamin in siedendem Acetonitril erhöhten bifunktionelle Katalysatoren die Ausbeuten an Amid um das 10- bis 12-fache. Bei der Peptidsynthese mit Cyanmethylestern, p-Nitrophenylestern und Vinyl-estern tritt in Gegenwart von 1,2,4-Triazol keine Racemisierung ein, während Imidazol in den meisten Fällen etwas Racemat lieferte.

A. T. Moore und *H. N. Rydon* (Exeter, England) erhielten beim Versuch der Polymerisierung von ε-TFA-Lys-Gly-Glu-(γ-OCH₃)-Gly und ε-TFA-Lys-Gly-Gly-Glu-(γ-OCH₃)-Gly-Gly mit DCCI in DMF als Hauptprodukte die geschützten Octa- bzw. Dodecacyclopeptide. Es wurde damit gezeigt, daß auch bei Peptiden aus einer geraden Anzahl Aminosäuren die dimerisierende Cyclisierung die Hauptreaktion ist. Die Möglichkeit zur antiparallelen Aneinanderlagerung der Ausgangs-peptide scheint also für den Reaktionsverlauf wichtiger zu sein als die Stabilisierung der Endprodukte durch Wasserstoffbrückenbindungen.

Synthese natürlicher Peptide

R. A. Boissonnas und *Ed. Sandrin* (Basel, Schweiz) stellten viele eleodoisinalogane Verbindungen dar und konnten dabei zeigen, daß die C-terminalen Aminosäuren für die biologische Wirkung verantwortlich sind [8]. *K. Lübke* (Berlin) fand, daß bei einer Verkürzung des Eleodoisins vom Aminoende her die Aktivität des Octapeptids (Aminosäuren 4–11) noch ≈ 50 % beträgt, dann aber bis zum Pentapeptid (7–11) rasch abfällt [9].

Über die Synthese von ACTH-Analoga (ACTH = adrenocorticotropes Hormon) trugen *St. Guttmann*, *J. Pless* und *R. A. Boissonnas* (Basel, Schweiz) vor. Sie benutzten zum Schutz der ω-ständigen Gruppen beim Arginin den Tosyl-, beim Lysin den Formylrest, um die Spaltung der Lys-Pro-Bindung bei der Reduktion mit Natrium in flüssigem Ammoniak zu vermeiden. Hierbei wurde jedoch teilweise Spaltung einer Tyr-Pro-Bindung beobachtet. *M. Löw* und *L. Kisfaludy* (Budapest, Ungarn) bauten eine ACTH-Sequenz unter Verwendung von Hydroxysuccinimidestern auf. Als neuartige geschützte Aminosäure-Derivate wurden dabei Z-Asp-(β-OtBu)-OSU, Z-Glu-(γ-OtBu)-OSU, Z-(ε-BOC)-Lys-OSU und Z-(OBz)Tyr-OSU dargestellt (SU = Succinimidyl, BOC = tert. Butyl-oxycarbonyl). Beim Umsatz mit höheren Peptiden nahmen die Reaktionszeiten stark zu. Es wurde dann mit einem Überschuß an Hydroxysuccinimidester

[8] *Ed. Sandrin* u. *R. A. Boissonnas*, *Helv. chim. Acta* 47, 1294 (1964).

[9] Vgl. *E. Schröder* u. *K. Lübke*, *Experientia* 20, 19 (1964).

gearbeitet, der nach Reaktion mit NH₂-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂ leicht durch Lösen in Säure entfernt werden kann.

K. Poduska (Prag, Tschechoslowakei) beschrieb die Synthese der Trypsinsequenz Asp(NH₂)-Ser-Cys-Glu(NH₂)-Gly-Gly-Asp-Ser-Gly-Pro-Val-Val-Cys-Ser-Gly-Lys, die aber nach neuesten Erkenntnissen leicht verändert im Trypsin vorkommt. Der als Zwischenprodukt benötigte Z-Ser(OtBu)-Gly-OCH₃ wurde direkt aus dem Z-Dipeptidester und Isobutylen in Gegenwart von etwas Schwefelsäure dargestellt. Anscheinend gelingt die Verätherung aber nur, wenn Glycin dem Serin benachbart ist [10].

Den Peptidteil des Cytochroms c synthetisierte *D. Theodoropoulos* (Athen, Griechenland). Dabei wurde Try-(imBz)His-Thr-Val-Glu(OBz)₂ nach Verseifen mit 2 Äquiv. Lauge durch Erwärmen mit p-Nitrobenzyl-tosylat und Triäthylamin in Aceton oder DMF in den p-Nitrobenzylester umgewandelt (imBz = Imidazol-N-benzyl). Bei der Synthese glutaminhaltiger Peptide traten als Nebenreaktionen Ringschlüsse zu Pyroglutaminsäure- oder Glutaminsäureimid-Derivaten auf.

Das die Magensaftsekretion auslösende Hormon besteht aus den nahe verwandten Komponenten Gastrin I und II. Beim Gastrin II handelt es sich um ein Heptadecapeptid [11]: pyro-Glu-Gly-Pro-Try-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Tyr-Gly-Try-Met-Asp-Phe-NH₂. Über die Synthese dieses Peptids aus (10), (11) und (12) berichtete *R. C. Sheppard* (Liverpool, England).

pyro Glu-Gly-Pro-Try-Met-OCH₃ (10)

Z-Glu-(OtBu)Glu-(OtBu)Glu-(OtBu)Glu-(OtBu)Glu-(OtBu)-Ala-Tyr-Gly-OCH₃ (11)

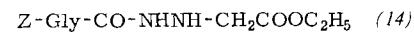
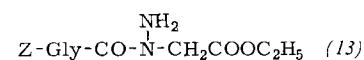
R-Try-Met-Asp-(OtBu)Phe-NH₂ (12).

Nach Abspaltung der Schutzgruppen erwies sich das Peptid als physiologisch voll aktiv, stimmte aber in seinem chemischen und physikalischen Verhalten mit Gastrin I überein. Dieser Widerspruch muß noch geklärt werden.

Spezielle Probleme

Cl. Nicot und *E. Bricas* (Paris, Frankreich) konnten meso-Diaminopimelyl-(D)-L-alanin mit Carbobenzoxychlorid in 47 % Ausbeute selektiv am L-Zentrum der meso-Diaminopimelinsäure schützen. Die Verbindung ist ein brauchbares Zwischenprodukt für die Synthese unsymmetrischer Tripeptide der meso-Diaminopimelinsäure.

Die Acylierung von substituierten Hydrazinen unter Verwendung der in der Peptidchemie gebräuchlichen Methoden untersuchte *H. Niedrich* (Berlin-Buch). Umsetzung von Hydrazinoessigester mit t-Butyloxycarbonyl-p-nitrophenolat ergab ein Gemisch der beiden isomeren BOC-Verbindungen, die



sich durch Destillation trennen ließen. Beide konnten mit Carbobenzoxy-glycin und DCCI an der freien NH-Gruppe acyliert werden; nach Abspalten der Schutzgruppe ergab die eine Verbindung das N-Aminodipeptid (13), die andere das Hydrazinopeptid (14).

[VB 861]

[10] Diskussionsbemerkung von *E. Schröder*.

[11] *R. A. Gregory*, *G. W. Kenner*, *R. C. Sheppard* et al., unveröffentlicht.