

## STEFAN GOLDSCHMIDT und KRISHNA K. GUPTA

## Zur Racemisierung bei Peptidsynthesen

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München

(Eingegangen am 1. März 1965)

Die Racemisierung bei der Synthese von Z-Glycyl-L-phenylalanyl-L-alanin nach der Phosphorazo(PA)-Methode läßt sich vermeiden, wenn man PA-L-Phe-L-Ala-Ester mit Z-Gly kuppelt. Analoges gilt für die PA-Synthese von Z-Glycyl-L-alanyl-L-phenylalanin. Bei Verwendung der Anhydridmethode zum Aufbau des erstgenannten Tripeptids tritt Racemisierung nur auf, wenn man das Äthoxycarbonylanhydrid aus Z-Gly-L-Phe-OH mit L-Ala-Ester kuppelt.

Der Frage nach der Racemisierung im Verlauf der Synthese optisch aktiver Peptide kommt eine ausschlaggebende Bedeutung zu, die in Veröffentlichungen wiederholt Ausdruck gefunden hat<sup>1)</sup>. GRASSMANN und Mitarbb. haben vor einiger Zeit berichtet<sup>2)</sup>, daß bei der Synthese von Benzyloxycarbonyl(Z)-glycyl-L-phenylalanyl-L-alanin (I) aus Z-Glycyl-L-phenylalanin und der Phosphorazo(PA)-Verbindung VI des Alanin-methylesters<sup>3)</sup> in größerem Umfang Racemisierung eintritt. Da aus der genannten Untersuchung nicht klar hervorging, bei welcher Stufe der Synthese die Racemisierung eintritt (Angaben über den Drehwert des reinen Z-Tripeptidesters fehlen z. B.), haben wir die Grassmannschen Versuche wiederholt.

Zuerst stellten wir fest, daß die optisch reinste Fraktion von I nach Veresterung mit Diazomethan den Methylester IV vom Schmp. 122–124° und  $[\alpha]_D^{25}$ : –22.4° gab, der bei erneuter Verseifung I mit  $[\alpha]_D^{25}$ : –10.4° und Schmp. 152° (162°)<sup>4)</sup> lieferte, womit sichergestellt war, daß die Verseifung des Esters IV ohne Racemisierung verläuft<sup>5)</sup>. Im übrigen konnten wir die Ergebnisse von GRASSMANN und Mitarbb. bestätigen.

Uns interessierte weiterhin, ob die Erfahrungen der genannten Autoren erhalten bleiben, wenn man a) das aus Chlorameisensäure-äthylester und Z-Glycyl-L-phenylalanin gebildete Anhydrid VII mit L-Alanin-methylester kuppelt (Reaktionsschema 1, Weg C<sub>1</sub>) oder wenn man b) nach der PA-Methode Z-Glycin mit PA-L-Phenylalanyl-L-alanin-methylester umsetzt (Schema 1, Weg A). Im ersten Fall ließ sich bei IV<sub>C<sub>1</sub></sub><sup>\*)</sup> und I<sub>C<sub>1</sub></sub> eine partielle Racemisierung nachweisen. Dagegen erhielt man im Fall b) den

\*) Die Indices geben die Wege an, auf denen die betreffenden Verbindungen gewonnen wurden (s. Reaktionsschemata).

1) z. B. G. T. YOUNG und Mitarbb., J. chem. Soc. [London] 1960, 3902; 1963, 881, 5807; 1964, 3701. — Zusammenfassungen: TH. WIELAND und H. DETERMANN, Angew. Chem. 75, 549 [1963]; Angew. Chem. internat. Edit. 2, 358 [1963]; N. F. ALBERTSON, Org. Reactions XII, S. 168, John Wiley & Sons Inc., London 1962. — G. T. YOUNG, Collect. Czechoslov. chem. Commun. 19, 386 [1954].

2) W. GRASSMANN, E. WÜNSCH und H. RIEDEL, Chem. Ber. 91, 455 [1958].

3) ST. GOLDSCHMIDT und H. LAUTENSCHLAGER, Liebigs Ann. Chem. 580, 68 [1953].

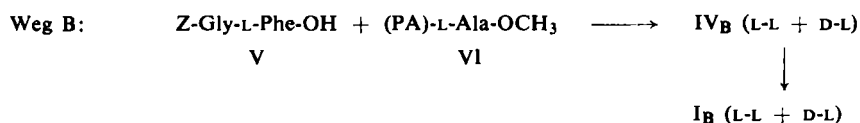
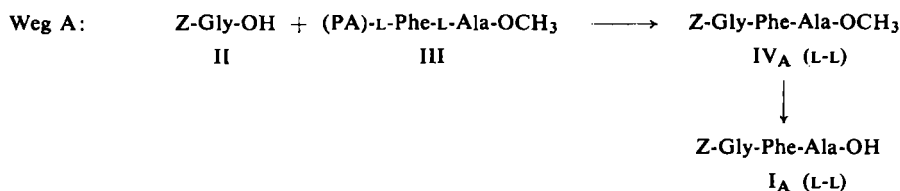
4) Wir haben wiederholt festgestellt, daß Fraktionen von I zunächst bei etwa 152° fast völlig schmolzen. Nach Abkühlen bis zur Erstarrung erhöhte sich bei erneutem Erhitzen der Schmp. auf 161–162°. Eine Änderung der optischen Drehung trat hierbei nicht auf.

5) Die Ergebnisse dieser Versuche verdanken wir der geschickten Mitarbeit von Herrn Dr. B. KOLB.

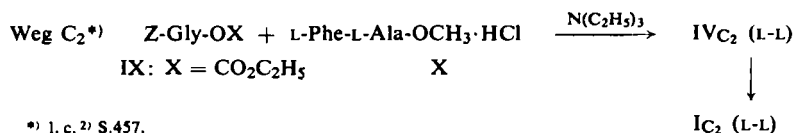
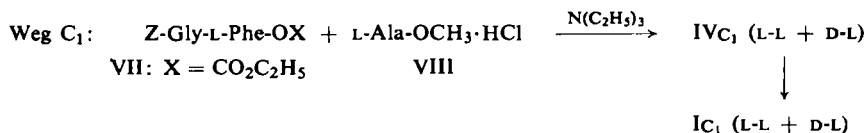
optisch reinen Ester IV<sub>A</sub> und ebensolches Z-Tripeptid I<sub>A</sub>. Auch die sorgfältige Fraktionierung von I<sub>A</sub> ergab ausschließlich kristallisierte Fraktionen mit  $[\alpha]_D^{25} -10.4^\circ$ . Aus unseren Versuchen folgt einmal, daß die Bereitung von PA-Aminosäure- und -Peptidestern unter Erhaltung der optischen Reinheit verläuft, zum anderen, daß die Synthese von I auch nach der PA-Methode ohne Racemisierung möglich ist, wenn man eine Z-Aminosäure mit einem PA-Dipeptidester umsetzt. Dagegen tritt auch bei der Anhydridmethode Racemisierung ein, wenn man das Z-Dipeptidanhydrid mit einem Aminosäureester reagieren läßt.

#### Reaktionsschema 1. Synthese von Z-Gly-L-Phe-L-Ala-OH (I)

##### PA-Methode



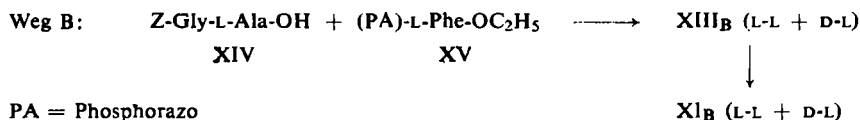
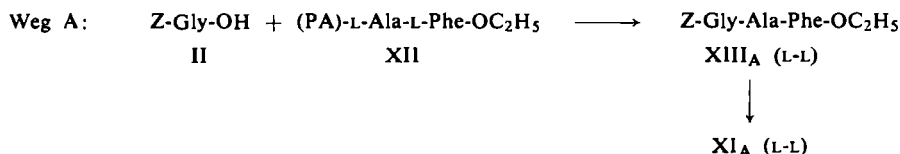
##### Anhydridmethode



\*<sup>1</sup>) l. c.<sup>2</sup>) S. 457.

#### Reaktionsschema 2. Synthese von Z-Gly-L-Ala-L-Phe-OH (XI)

##### PA-Methode



PA = Phosphorazo

Z = Benzyloxycarbonyl

Weiterhin untersuchten wir, ob Racemisierungen auch auftreten, wenn eine andere Aminosäure als das besonders empfindliche L-Phenylalanin das Carboxylende eines Z-Peptids bildet. Wir haben deshalb unter Vertauschung von Phenylalanin und Alanin nach der PA-Methode auf den beiden Wegen A und B Z-Glycyl-L-alanyl-L-phenylalanin (XI) bzw. dessen Äthylester XIII aufgebaut (Reaktionsschema 2). Auf Weg A werden optisch reines XIII<sub>A</sub> und XI<sub>A</sub> erhalten, während auf Weg B ebenso wie bei IV und I Teilracemisierung auftritt. Für die Anwendung der PA-Methode zum Aufbau höherer Peptide darf man aus unseren Versuchen ableiten, daß man zur Bildung des Peptids stets eine Z-Aminosäure mit einem PA-Peptidester umsetzen muß, wenn eine partielle Racemisierung vermieden werden soll.

#### Optische Aktivitäten von Z-Gly-L-Phe-L-Ala-OY

			Eigene Messungen		GRASSMANN et al. 2)	
			Schmp.	$[\alpha]_D$	Schmp.	$[\alpha]_D$
<i>PA-Methode</i>						
Weg A	IV <sub>A</sub>	(Y = CH <sub>3</sub> )	122–124°	–22.4°	—	—
	I <sub>A</sub>	(Y = H)	164–165°	–10.4°	—	—
Weg B	IV <sub>B</sub>	(Y = CH <sub>3</sub> )	117–119°	–13° bis –16°	*)	*)
	I <sub>B</sub>	(Y = H)	1. Frakt. 150–151°	–10.8°	1) 152°	–5.6°
			2. Frakt. 107–110°	+ 6.1°	2) 108–109°	+8.6°
<i>Anhydridmethode</i>						
Weg C <sub>1</sub>	IV <sub>C<sub>1</sub></sub>	(Y = CH <sub>3</sub> )	106–108°	–14.7°	—	—
	I <sub>C<sub>1</sub></sub>	(Y = H)	1. Frakt. 165–166°	– 7.9°	—	—
			6. Frakt. Öl	+ 3.8°		
Weg C <sub>2</sub> **)	IV <sub>C<sub>2</sub></sub>	(Y = CH <sub>3</sub> )	—	—	124–125°	*)
	I <sub>C<sub>2</sub></sub>	(Y = H)	—	—	165–166°	–8.6°

\*) Werte nicht angegeben.    \*\*) 1. c. 2) S. 457.

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT und dem FONDS DER CHEMISCHEN INDUSTRIE sind wir für die Unterstützung der vorliegenden Arbeit zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

#### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

*Ausgangsmaterialien:* L-Alanin-methylester-hydrochlorid, Schmp. 110.5–111° (Lit.<sup>2)</sup>: 109 bis 110°),  $[\alpha]_D^{25}$ : +5.8° (c = 2.94 in Methanol). — L-Phenylalanin-äthylester-hydrochlorid, Schmp. 154–155° (Lit.<sup>6)</sup>: 154°). — Z-L-Phenylalanin, Schmp. 87.5–88° (Lit.<sup>2)</sup>: 86.5–87.5°). — Z-L-Alanin, Schmp. 83–84° (Lit.<sup>7)</sup>: 84°).

##### Phosphorazoverbindungen (PA-Verbindungen)

Zur Lösung von 10 mMol Aminosäure- bzw. Peptidesterhydrochlorid in sorgfältig getrocknetem Pyridin (15–30 ccm) tropft man bei –40° 5 mMol Phosphortrichlorid unter Rühren, das man schließlich 15 Min. bei Raumtemperatur fortsetzt. Dann wird erneut auf –40° gekühlt, eine Lösung von 10 mMol Z-Aminosäure bzw. Z-Peptid in 8–15 ccm Pyridin inner-

<sup>6)</sup> G. LOSSE und A. JESCHKEIT, Chem. Ber. 90, 1275 [1957].

<sup>7)</sup> H. WERBIN und A. D. McLAREN, J. Amer. chem. Soc. 73, 501 [1951].

halb von 10 Min. zugetropft und noch 15 Min. bei  $-40^\circ$  und 2 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt, wobei ein zuerst entstandener farbloser Niederschlag allmählich verschwindet. Man erhitzt dann langsam auf  $75-85^\circ$  und hält 6 Stdn. auf dieser Temperatur. Einen eventuell noch vorhandenen Niederschlag trennt man durch Filtrieren oder Abgießen ab und entfernt das Pyridin i. Vak. Der Rückstand wird, wie beschrieben, aufgearbeitet<sup>8)</sup>.

1) *Z-L-Phenylalanyl-L-alanin-methylester*: Durch Kupplung der PA-Verbindung aus 18 mMol *L-Alanin-methylester-hydrochlorid* und 0.88 ccm  $PCl_3$  in 15 ccm Pyridin mit *Z-Phenylalanin* (18 mMol) in 15 ccm Pyridin. Ausb. 5.58 g (81 %), Schmp.  $129-130^\circ$ , aus Methanol/Wasser Schmp.  $130-131^\circ$  (Lit.<sup>2)</sup>:  $130-131^\circ$ .

2) *Z-L-Phenylalanyl-L-alanin*: 2.5 ccm *n NaOH* wurden zu 0.90 g *Z-L-Phe-L-Ala-OCH<sub>3</sub>* in 10 ccm Aceton während 3 Stdn. bei Raumtemperatur unter Rühren getropft und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach Lösen des Rückstandes in Wasser wurde filtriert, das Filtrat angesäuert (pH 2) und mit Essigester ausgeschüttelt. Aus Essigester/Petroläther farblose Kristalle (82 %), Schmp.  $165^\circ$  (Lit.<sup>2)</sup>:  $165^\circ$ .

3) *L-Phenylalanyl-L-alanin-methylester-hydrochlorid (X)*: Aus 2.69 g *Z-L-Phe-L-Ala-OCH<sub>3</sub>* in 160 ccm Methanol und 1.4 ccm *5n HCl* durch Hydrieren über Pd/Tierkohle (10-proz.) wie üblich. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde i. Vak. zur Trockne gebracht und der hygroscopische Rückstand (1.75 g) direkt weiter umgesetzt.

4) *Z-Glycyl-L-phenylalanin-äthylester*: Die PA-Verbindung aus 2.29 g *L-Phenylalanin-äthylester-hydrochlorid* in 20 ccm Pyridin und 0.44 ccm  $PCl_3$  wurde mit 2.1 g *Z-Glycin* in 10 ccm Pyridin gekuppelt. Das ölige Reaktionsprodukt (2.97 g = 77 %) wurde direkt weiter umgesetzt.

5) *Z-Glycyl-L-phenylalanin (V)*: Aus 2.97 g *Z-Gly-L-Phe-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>* in 30 ccm Dioxan und 8.25 ccm *n NaOH* wie unter 2). Das Rohprodukt wurde in Essigester gelöst, mit  $NaHCO_3$ -Lösung extrahiert, die wäßr. Schicht angesäuert, mit Essigester ausgeschüttelt und der Essigester i. Vak. abgedampft. Aus Essigester/Äther 2.10 g, Schmp.  $125-126^\circ$  (Lit.:  $125^\circ$ <sup>2)</sup>,  $123^\circ$ <sup>7)</sup>,  $127^\circ$ <sup>9)</sup>),  $[\alpha]_D^{25}$ :  $+37^\circ$  ( $c = 2.0$  in Aceton) (Lit.<sup>9)</sup>:  $+36.5^\circ$ ).

#### 6) *Z-Glycyl-L-phenylalanyl-L-alanin-methylester (IV)*

a) *PA-Methode, Weg A (IV<sub>A</sub>)*: Durch Kupplung der PA-Verbindung III aus 1.98 g *L-Phenylalanyl-L-alanin-methylester-hydrochlorid (X)* in 30 ccm Pyridin und 0.308 ccm  $PCl_3$  mit 1.49 g *Z-Glycin* in 15 ccm Pyridin (langsam Zutropfen). Die Essigesterlösung des *Z-Tripeptidesters IV<sub>A</sub>* wurde auf etwa 40 ccm eingengt. Nach Kühlen und Anreiben wurden 1.81 g sternförmige Nadeln erhalten. Schmp.  $122-124^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-22.4^\circ$ ,  $[\alpha]_{546}^{25}$ :  $-27.9^\circ$  ( $c = 2.09$  in Aceton). — Die Mutterlauge gab nach erneuter Konzentrierung, Zugabe von Petroläther und Kühlen 0.236 g Nadeln vom Schmp.  $121.5-123^\circ$ ,  $[\alpha]_{546}^{24}$ :  $-28.4^\circ$ . Deren Mutterlauge gab weitere 0.256 g *IV<sub>A</sub>*. Gesamtausb. 66.5 %. Umlösen der ersten Fraktion aus 30 ccm Essigester erhöhte den Schmp. auf  $124-125^\circ$ ,  $[\alpha]_{546}^{24}$ :  $-30.1^\circ$  ( $c = 2.06$  in Aceton) (Lit.<sup>2)</sup>: nicht angegeben).

$C_{23}H_{27}N_3O_6$  (441.5) Ber. C 62.57 H 6.16 N 9.52 Gef. C 62.85 H 6.37 N 9.51

*Anmerkung*: Die Synthese von IV wurde mehrfach wiederholt. Kristallisiert konnte IV nur erhalten werden, wenn *Z-Glycin* nicht auf einmal, sondern in Lösung, wie oben beschrieben, langsam zugetropft wurde.

b) *Z-Glycyl-L-phenylalanyl-L-alanin (I)*: Aus der zweiten Fraktion von *IV<sub>A</sub>*, 30 ccm Aceton und 1.59 ccm *n NaOH*. Vor der Aufarbeitung wurde 3 Stdn. bei Raumtemperatur weiter

<sup>8)</sup> z. B. ST. GOLDSCHMIDT und G. ROSCULET, Chem. Ber. 93, 2391 [1960].

<sup>9)</sup> G. W. ANDERSON und F. M. CALLAHAN, J. Amer. chem. Soc. 82, 3359 [1960].

geführt. Aus Essigester erhielt man als 1. Frakt. 0.338 g, Schmp. 164–165.5°,  $[\alpha]_{546}^{23}$ : –10.75°,  $[\alpha]_D^{25}$ : –10.1° und als 2. Frakt. 0.247 g, Schmp. 163–164.5°,  $[\alpha]_{546}^{23}$ : –10.8° ( $c = 2.0$  in Methanol).

$C_{22}H_{25}N_3O_6$  (427.5) Ber. C 61.81 H 5.90 N 9.83 Gef. C 61.31 H 6.04 N 9.83

c) *IV nach Weg B, PA-Methode (IV<sub>B</sub>)*: Durch Kupplung der *PA-Verbindung VI* aus 0.698 g *L-Alanin-methylester-hydrochlorid* in 15 ccm Pyridin und 0.22 ccm  $PCl_3$  mit 1.786 g *Z-Glycyl-L-phenylalanin (V)* in 15 ccm Pyridin. Die Essigesterlösung von *IV<sub>B</sub>* wurde i. Vak. zur Trockne verdampft. Der ölige Rückstand (1.313 g) kristallisierte aus Essigester: 1. Frakt. 0.420 g, Schmp. 117–119°, 2. Frakt. 0.758 g, Schmp. wie 1. Frakt.,  $[\alpha]_D^{25}$ : –16.1° bzw. –15.9° ( $c = 2.8$  in Aceton) und 3. Frakt. 0.089 g, Schmp. wie 1. und 2. Frakt.

*Papierchromatogramm*: Eine kleine Menge *IV<sub>B</sub>* wurde mit Eisessig/HBr in das Hydrobromid übergeführt und dieses mit Eisessig/Pyridin/Wasser/Essigester (1 : 5 : 3 : 5) entwickelt. Mit Ninhydrin traten 2 Flecken von  $R_F$  0.62 und 0.555 auf (Diastereomere)<sup>10)</sup>.

d) *I durch Verseifung von IV<sub>B</sub>*: Aus 0.718 g *IV<sub>B</sub>* (Schmp. 117–119°,  $[\alpha]_D^{25}$ : –15.9°) und 1.64 ccm  $n NaOH$  wie unter 6b). Die Fraktionierung von *I<sub>B</sub>* (0.648 g) aus Essigester lieferte: 1. Frakt. 0.306 g, Schmp. 150–151°,  $[\alpha]_D^{25}$ : –10.8° ( $c = 3.14$  in Methanol), 2. Frakt. 0.202 g, Schmp. 107–110° (klare Schmelze 135°),  $[\alpha]_D^{25}$ : +6.1° ( $c = 3.14$  in Methanol).

e) *IV nach Weg C<sub>1</sub>, Anhydridmethode (IV<sub>C<sub>1</sub></sub>)*: Eine Lösung von 30 mMol *Z-Gly-L-Phe-OH (V)* in 100 ccm Tetrahydrofuran wurde bei –5° mit 33 mMol *Triäthylamin* und 30 mMol *Chlorameisensäure-äthylester* 15 Min. gerührt (VII). Dann wurde die Suspension von 36 mMol *L-Alanin-methylester-hydrochlorid* in 100 ccm Tetrahydrofuran und 36 mMol *Triäthylamin* zugegeben und 5 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Ungelösten durch Filtrieren wurde i. Vak. zur Trockne gebracht, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Lösung mit 10-proz. Natriumcarbonatlösung, 2*n* HCl und Wasser gewaschen und getrocknet. Nach Einengen i. Vak. und Kühlen erhielt man 10.65 g (80.4%) kristallinen *Z-Tripeptidester IV<sub>C<sub>1</sub></sub>*, Schmp. 106–108° (Sint. 102°),  $[\alpha]_D^{25}$ : –14.7° ( $c = 5.01$  in Aceton).

f) *I durch Verseifung von IV<sub>C<sub>1</sub></sub>*: Aus 8.83 g *IV<sub>C<sub>1</sub></sub>* mit 22.0 ccm  $n NaOH$  wie oben. Die Fraktionierung von *I<sub>C<sub>1</sub></sub>* aus Essigester ergab: 1. Frakt. 1.1 g vom Schmp. 165–166° (Sintern 163°),  $[\alpha]_D^{25}$ : –7.9°,  $[\alpha]_{546}^{26}$ : –9.4° ( $c = 3.9$  in Methanol), 2. Frakt. 3.45 g, Schmp. 164–166° (Sintern 163°),  $[\alpha]_D^{25}$ : –8.3°,  $[\alpha]_{546}^{27}$ : –9.1° ( $c$  wie 1. Frakt.), 3. Frakt. 1.06 g, Schmp. 152–153.5° (161°),  $[\alpha]_D^{25}$ : –7.5°, 4. Frakt. 0.276 g, Schmp. 149.5° (nach Erstarren erneuter Schmp. 156 bis 157°),  $[\alpha]_D^{25}$ : –8.2°, 5. Frakt. 0.456 g, Schmp. 148–150°,  $[\alpha]_D^{25}$ : –2.5°, 6. Frakt. 2.0 g erstarren des Öl,  $[\alpha]_D^{25}$ : +3.8°.

7) *Z-Glycyl-L-alanin-methylester*: Die *PA-Verbindung* aus 2.78 g *L-Alanin-methylester-hydrochlorid* in 15 ccm Pyridin und 0.88 ccm  $PCl_3$  wurde mit 4.18 g *Z-Glycin* gekuppelt. Ausb. 4.10 g *Z-Dipeptidester* als nicht kristallisierendes Öl.

8) *Z-Gly-L-Ala-OH (XIV)*: Aus *Z-Gly-L-Ala-OCH<sub>3</sub>* (4.1 g) durch Verseifung in 40 ccm Dioxan mit 14.5 ccm  $n NaOH$ . Nach Kristallisation aus Essigester 3.4 g (87%) *XIV* vom Schmp. 130–131° (Lit.: 133°<sup>11)</sup>, 147–153°<sup>12)</sup>, 183–185°<sup>9)</sup>).  $[\alpha]_D^{25}$ : –9.1° ( $c = 4.0$  in Äthanol) (Lit.:  $[\alpha]_D^{25}$ : –9.5°<sup>7)</sup>, –9.3°<sup>13)</sup>).

<sup>10)</sup> E. TASCHNER, T. SOKOLWSKA, J. F. BIERNAT, A. CHIMIAK, C. WASIELEWSKI und B. RZESZOTARSKA, Liebigs Ann. Chem. **663**, 197 [1963]; Peptides (Proceedings V. European Symposium Oxford 1962), S. 109, 113. Pergamon Press, Oxford 1963.

<sup>11)</sup> D. W. CLAYTON, J. A. FARRINGTON, G. W. KENNER und J. M. TURNER, J. chem. Soc. [London] **1957**, 1398.

<sup>12)</sup> F. WEYGAND und W. STEGLICH, Chem. Ber. **93**, 2983 [1960].

<sup>13)</sup> L. HESLINGER und J. F. ARENS, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **76**, 982 [1957].

9) *Z-Glycyl-L-alanyl-L-phenylalanin-äthylester (XIII)*

a) *PA-Methode, Weg B (XIII<sub>B</sub>)*: Durch Kupplung der *PA-Verbindung XV* aus 4.58 g *L-Phenylalanin-äthylester-hydrochlorid* in 30 ccm Pyridin und 0.88 ccm  $PCl_3$  mit 5.62 g *Z-Glycyl-L-alanin (XIV)*, gelöst in 30 ccm Pyridin. Rohausb. 6.78 g (74.5%) *Z-Tripeptidester XIII<sub>B</sub>*, der aus Essigester/Petroläther fraktioniert wurde. 1. Frakt. 3.39 g, Schmp. 122–123° (Sintern 120.5°),  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-24.4^\circ$ , 2. Frakt. 2.35 g, Schmp. 108–109° (114°),  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-3.21^\circ$ , 3. Frakt. 0.47 g, Schmp. 104–106° (114°),  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-2.2^\circ$ , 4. Frakt. 0.43 g, Schmp. 104–106° (114°),  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-1.96^\circ$ , 5. Frakt. 0.140 g nicht kristallisierender Rest ( $c = 2.15, 0.79, 0.78$  und  $0.75$  in Methanol).

$C_{24}H_{29}N_3O_6$  (455.5) Ber. C 63.28 H 6.42 N 9.23 Gef. C 63.29 H 6.56 N 9.20

b) *Z-Glycyl-L-alanyl-L-phenylalanin (XI) durch Verseifung von XIII<sub>B</sub>*: Aus 2.27 g *XIII<sub>B</sub>*, 1. Frakt., in 30 ccm Dioxan mit 5.50 ccm *n NaOH* als Öl, das aus Essigester kristallisierte (*XI<sub>B</sub>*). 1. Frakt. 1.4 g, Schmp. 163–164° (Sintern 162°),  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-19.81^\circ$ , 2. Frakt. 0.128 g, Schmp. 150.5–152°,  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-15.5^\circ$  ( $c = 1.91$  in Methanol).

$C_{22}H_{25}N_3O_6$  (427.5) Ber. C 61.81 H 5.90 N 9.83 Gef. C 61.63 H 5.95 N 9.83

c) *Z-L-Alanyl-L-phenylalanin-äthylester*: Durch Kupplung der *PA-Verbindung XV* aus 2.29 g *L-Phenylalanin-äthylester-hydrochlorid* in 25 ccm Pyridin und 0.44 ccm  $PCl_3$  mit 2.23 g *Z-L-Alanin* in 10 ccm Pyridin. Rohprodukt: 3.663 g Kristalle vom Schmp. 90–91°, aus Essigester Schmp. 91–92° (Lit.<sup>9)</sup>: 90.5–91.5°).

d) *L-Alanyl-L-phenylalanin-äthylester-hydrochlorid*: Aus 1.92 g *Z-L-Ala-L-Phe-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>* in 150 ccm Methanol und 1 ccm 5*n HCl* durch Hydrieren wie unter 3). Nach Abfiltrieren des Katalysators und Einengen verblieben 1.50 g des hygroskopischen *Hydrochlorids*.

e) *XIII nach Weg A, PA-Methode (XIII<sub>A</sub>)*: Aus 1.50 g *L-Ala-L-Phe-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>·HCl* in 20 ccm Pyridin und 0.22 ccm  $PCl_3$  durch Kupplung mit 1.45 g *Z-Glycin* in 20 ccm Pyridin. Rohprodukt 1.94 g Öl, das aus Essigester Kristalle vom Schmp. 119–120° gab. Misch-Schmp. mit Frakt. 1 aus 9a) 120–122°, Ausb. 90%.

$C_{24}H_{29}N_3O_6$  (455.5) Ber. C 63.28 H 6.42 N 9.23 Gef. C 63.49 H 6.40 N 9.16

f) *XI durch Verseifung von XIII<sub>A</sub>*: Aus *XIII<sub>A</sub>* (1.13 g) in 20 ccm Dioxan mit 2.8 ccm *n NaOH*, Rohprodukt zunächst ölig, aus Essigester kristallisiert. 1. Frakt. 0.320 g, Schmp. 160–161°,  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-20.58^\circ$ , 2. und 3. Frakt. 0.105 und 0.297 g vom Schmp. 158–159°,  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-20.51$  und  $20.34^\circ$  ( $c = 1.93$  in Methanol), 4. Frakt. 0.126 g ölig, mit Kristallen durchgesetzter Rückstand, der nicht weiter aufgearbeitet wurde.

[91/65]