

Zur Synthese von Peptiden mit Eigenschaften des Human-Proinsulin-C-Peptids (hC-Peptid), III<sup>1)</sup>

## Darstellung der Sequenzen 14–17 und 9–13 des Human-Proinsulin-C-Peptids

Rolf Geiger\* und Alexander Volk

Farbwerke Hoechst AG, vormals Meister Lucius & Brüning,  
D-6230 Frankfurt-Höchst, Postfach 800320

Eingegangen am 12. September 1972

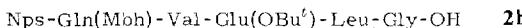
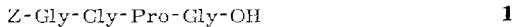
Die Synthese von Z-Gly-Gly-Pro-Gly-OH (*N*<sup>α</sup>-Benzylloxycarbonyl-Human-Proinsulin-C-Peptid-(14-17)-tetrapeptid), von Z-Glu(OBu<sup>t</sup>)-Val-Gln-Leu-Gly-OH (*N*<sup>α</sup>-Benzylloxycarbonyl-C<sup>γ9</sup>-*tert*-butoxy-[Glu<sup>9</sup>, Gln<sup>11</sup>]Human-Proinsulin-C-Peptid-(9-13)-pentapeptid) und von Nps-Gln(Mbh)-Val-Glu(OBu<sup>t</sup>)-Leu-Gly-OH (*N*<sup>α</sup>-2-Nitrophenylsulfenyl-C<sup>γ9</sup>-4,4'-dimethoxybenzhydryl-C<sup>γ11</sup>-*tert*-butoxy-Human-Proinsulin-C-Peptid-(9-13)-pentapeptid) wird beschrieben.

**Notes on the Synthesis of Peptides with the Properties of Human Proinsulin C-Peptide (hC-Peptid), III<sup>1)</sup>**

### Synthesis of the Sequences 14–17 and 9–13 of Human Proinsulin C-Peptide

The syntheses of Z-Gly-Gly-Pro-Gly-OH (*N*<sup>α</sup>-benzylloxycarbonyl-human proinsulin C-peptide-(14-17)-tetrapeptide) and of Z-Glu(OBu<sup>t</sup>)-Val-Gln-Leu-Gly-OH (*N*<sup>α</sup>-benzylloxycarbonyl-C<sup>γ9</sup>-*t*-butoxy-[Glu<sup>9</sup>, Gln<sup>11</sup>]human proinsulin C-peptide-(9-13)-pentapeptide) and of Nps-Gln(Mbh)-Val-Glu(OBu<sup>t</sup>)-Leu-Gly-OH (*N*<sup>α</sup>-2-nitrophenylsulfenyl-C<sup>γ9</sup>-4,4'-dimethoxybenzhydryl-C<sup>γ11</sup>-*t*-butoxy-human proinsulin C-peptide-(9-13)-pentapeptide) are described.

Im Rahmen der Synthese von Peptiden mit Eigenschaften des Human-C-Peptids<sup>1–3)</sup> wurden die geschützten Sequenzen 14–17 (1) und 9–13 (2a bzw. 2b) dargestellt.



Alle drei Peptide wurden stufenweise vom Carboxyende her aufgebaut, bei 1 und 2a mit Glycin-*tert*-butylester, bei 2b mit Glycin-methylester beginnend.

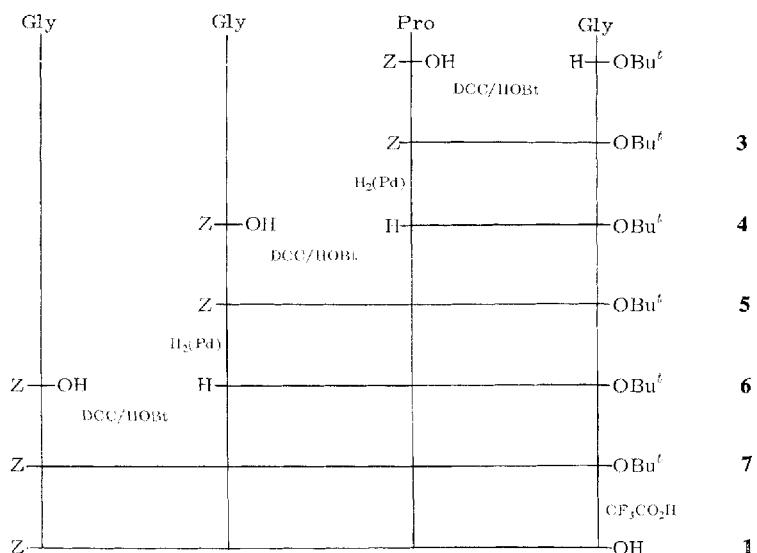
Bei der Synthese von 1 nach Schema 1 wurde erst auf der Stufe des Tripeptids ein kristallisiertes Derivat erhalten; bis dahin mußten die ölichen Reaktionsprodukte durch ihr chromatographisches Verhalten charakterisiert werden.

<sup>1)</sup> II. Mitteil.: W. König, Chem. Ber. 106, 193 (1973), vorstehend.

<sup>2)</sup> R. Geiger, G. Jäger, W. König und G. Treuth, Chem. Ber. 106, 188 (1973).

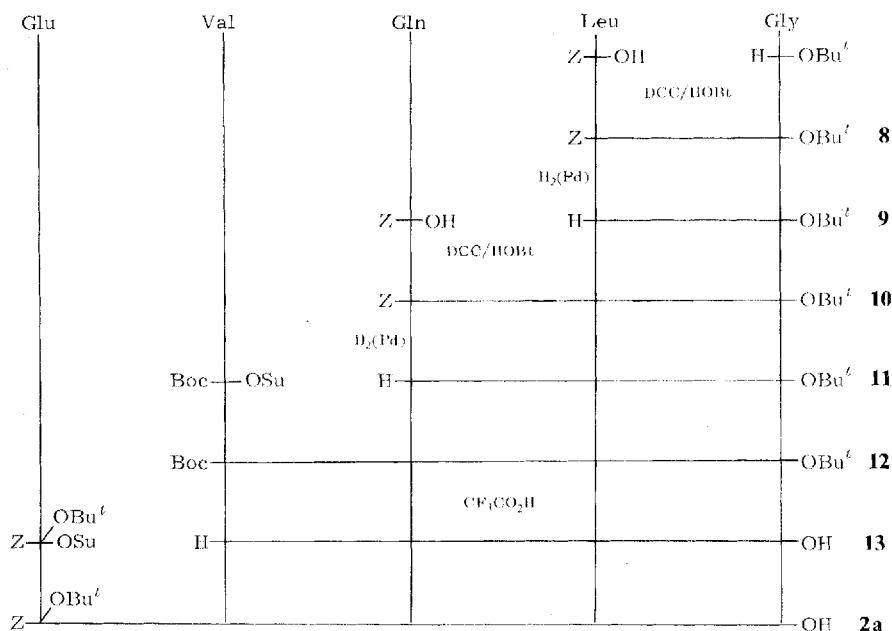
<sup>3)</sup> Abkürzungen entsprechen dem Vorschlag der IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature; vgl. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 348, 245, 256, 262 (1967). Weitere Abkürzungen siehe experimenteller Teil.

Schema 1. Synthese der geschützten Sequenz 14-17 (1)



Das Pentapeptid **2a** entspricht nicht der korrekten Sequenz 9—13 des Human-C-Peptids, da aufgrund eines früheren Strukturvorschlags<sup>4)</sup> die Positionen 9 und 11 noch miteinander vertauscht sind. Die Synthese folgte Schema 2.

Schema 2. Synthese der geschützten Sequenz 9-13 (2a)

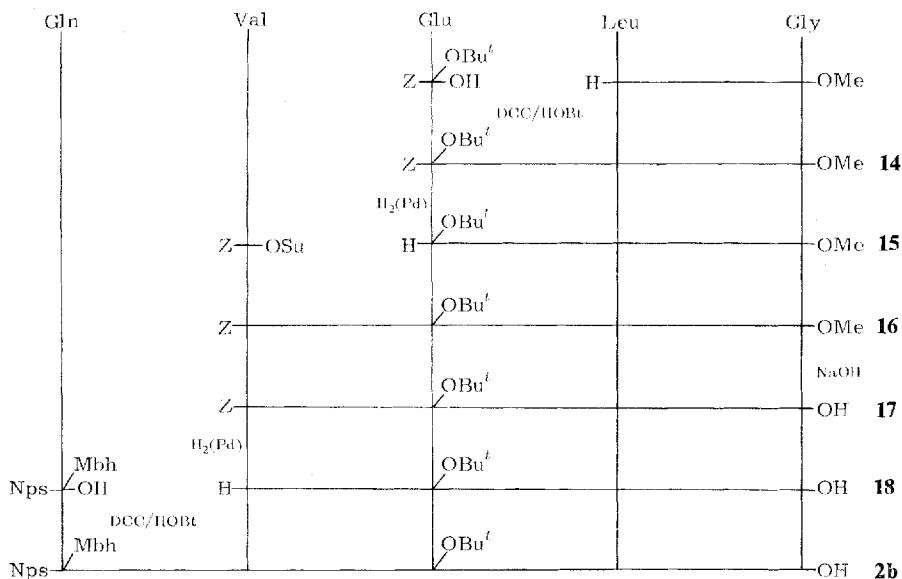


<sup>4)</sup> P. E. Oyer, S. Cho und D. F. Steiner, Federat. Proc. **29**, 533 (1970).

Bis zur Tripeptidstufe wurde der Benzyloxycarbonyl-Rest als  $N^{\alpha}$ -Schutzgruppe verwendet, das Tetrapeptid **12** war durch den  $N^{\alpha}$ -*tert*-Butoxycarbonyl-Rest und *tert*-Butylester geschützt. Die *tert*-Butoxycarbonyl-Gruppe wurde zusammen mit dem *tert*-Butylester durch Trifluoressigsäure abgespalten, das freie Tetrapeptid mit Z-Glu-(OBu<sup>t</sup>)-OSu<sup>5)</sup> zu **2a** umgesetzt.

Die Synthese der korrekten, mit den entsprechenden Schutzgruppen versehenen Sequenz 9-13 (**2b**) ist in Schema 3 dargestellt. Von dem bekannten Leucyl-glycin-methylester<sup>6)</sup> ausgehend, wurde stufenweise das Tetrapeptid **16** aufgebaut. Nach alkalischer Verseifung des Methylesters und katalytischer Hydrierung wurde Nps-Gln-(Mbh)-OH<sup>7)</sup> nach Voraktivierung mit Dicyclohexylcarbodiimid und 1-Hydroxybenzotriazol<sup>8)</sup> aufgesetzt.

Schema 3. Synthese der geschützten Sequenz 9-13 (**2b**)



## Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden in offenen Kapillaren bestimmt und sind nicht korrigiert. Die Drehwerte wurden im lichtelektrischen Polarimeter der Fa. Perkin-Elmer, Modell 141, gemessen, die chromatographische Reinheit auf Dünnschichtplatten der Fa. E. Merck (Silicagel) in folgenden Laufmitteln geprüft:

<sup>5)</sup> R. Zabel und H. Zahn, Z. Naturforsch. **20b**, 650 (1965).

<sup>6)</sup> H. Determann, O. Zipp und Th. Wieland, Liebigs Ann. Chem. **651**, 172 (1962).

<sup>7)</sup> W. König und R. Geiger, Chem. Ber. **103**, 2041 (1970).

<sup>8)</sup> W. König und R. Geiger, Chem. Ber. **103**, 788 (1970).

A Methyläthylketon/Pyridin/Wasser/Essigsäure (70 : 15 : 15 : 2), B n-Butanol/Essigsäure/Wasser (6 : 2 : 2), C n-Heptan/Pyridin/*tert*-Butylalkohol (5 : 1 : 1).

Die Aminosäure-Analyse wurde nach 24 stdg. Hydrolyse mit 6N HCl (bei 120°) mit einem Beckman-Aminosäure-Analysator vorgenommen.

Abkürzungen:

OSu	<i>N</i> -Hydroxysuccinimidester	Mbh	4,4'-Dimethoxybenzhydryl
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid	HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl	Nps	2-Nitrophenylsulfenyl
<i>R<sub>F</sub></i> (A)	<i>R<sub>F</sub></i> -Wert im System A.		

1. *Benzoyloxycarbonyl-glycyl-glycyl-L-prolyl-glycin* (**1**)

a) *Benzoyloxycarbonyl-L-prolyl-glycin-tert-butylester* (**3**): 25.8 g (0.1 mol) Z-Pro-OH, 27 g (0.2 mol) HOBt und 13.1 g (0.1 mol) H-Gly-OBu<sup>t</sup> in 120 ml Tetrahydrofuran werden bei -3° mit 21 g (0.1 mol) DCC versetzt. Man röhrt 1 h bei 0° und über Nacht bei Raumtemp., destilliert nach Abfiltrieren des Dicyclohexylharnstoffs das Lösungsmittel i. Vak. ab, nimmt den Rückstand in Essigester auf und wäscht die Lösung nacheinander mit 5 proz. KHSO<sub>4</sub>-Lösung<sup>9)</sup>, gesätt. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser, trocknet über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und destilliert den Essigester i. Vak. ab. Ausb. 32.7 g (86%). Die Verbindung bleibt ölig. DC: Rein in System A und C.

C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (362.4) Ber. C 62.96 H 7.23 N 7.73 Gef. C 63.4 H 7.4 N 7.5

b) *L-Prolyl-glycin-tert-butylester · HCl* (**4**): 32.0 g **3** werden in 200 ml Methanol in Anwesenheit von Palladium katalytisch hydriert, wobei unter Zutropfen von 1N methanol. HCl mit Hilfe eines Autotitratoren pH 4.0 eingehalten wird. Dann filtriert man vom Katalysator ab, engt die Lösung i. Vak. ein und trocknet den ölichen Rückstand über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> und KOH. Ausb. 23.3 g. DC: *R<sub>F</sub>*(A) = 0.72 × **3**<sup>10)</sup>.

c) *Benzoyloxycarbonyl-glycyl-L-prolyl-glycin-tert-butylester* (**5**): Zu einer Lösung von 18.5 g (85 mmol) Z-Gly-OH, 23.0 g (87 mmol) **4** und 11.5 g (85 mmol) HOBt in einer Mischung von 100 ml Tetrahydrofuran und 100 ml DMF gibt man bei 0° 11.2 ml (87 mmol) *N*-Äthylmorpholin und 18.6 g (90 mmol) DCC und röhrt 4 h bei Raumtemp. Man filtriert Dicyclohexylharnstoff ab, bringt das Filtrat i. Vak. zur Trockene und arbeitet wie unter a) auf. Ausb. 35 g Öl, das zur Reinigung in Essigester gelöst und über eine Säule von Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Woelm, Akt.-Stufe I) gegeben wird. Ausb. nach Abdestillieren des Essigesters 29.7 g farbloses Öl (83%). DC: Rein in System A.

d) *Glycyl-L-prolyl-glycin-tert-butylester · HCl* (**6**): 29.4 g (70 mmol) **5** werden in 200 ml Methanol analog b) katalytisch hydriert. Das nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels erhaltene Öl wird beim Digerieren mit Äther fest. Ausb. quantitativ. DC: *R<sub>F</sub>*(A) = 0.37 × **5**.

e) *Benzoyloxycarbonyl-glycyl-glycyl-L-prolyl-glycin-tert-butylester* (**7**): Die Lösung von 22.9 g (71 mmol) **6** in 100 ml DMF wird mit 9.15 ml (71 mmol) *N*-Äthylmorpholin, 15.5 g (71 mmol) Z-Gly-OH und 19.3 g (142 mmol) HOBt versetzt. Bei 0° gibt man 15.5 g (75 mmol) DCC in 50 ml DMF zu und läßt über Nacht bei Raumtemp. stehen. Man arbeitet nach a) auf und erhält 25.2 g (74.5%) **7** vom Schmp. 105–107°. [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> : -55.9° (c = 1, in Methanol). DC: Rein in System A und B.

C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> (476.5) Ber. C 58.00 H 6.78 N 11.78 Gef. C 57.8 H 6.9 N 11.8

f) *Benzoyloxycarbonyl-glycyl-glycyl-L-prolyl-glycin* (**1**): 23.8 g (50 mmol) **7** werden 30 min in 70 ml wasserfreier Trifluoressigsäure bei 35° geröhrt. Dann destilliert man die Trifluoressigsäure i. Vak. ab und digeriert den Rückstand mehrmals mit Äther, ehe er abfiltriert und

<sup>9)</sup> R. Spangenbergs, P. Thamm und E. Wünsch, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **352**, 655 (1971).

<sup>10)</sup> *R<sub>F</sub>*-Wert, bezogen auf *R<sub>F</sub>* von **3** = 1.00.

mit Äther gewaschen wird. Man kristallisiert aus Äthanol um und erhält 18.5 g (88%) **1** vom Schmp. 151–153°. DC: Rein in System A.  $[\alpha]_D^{25} : -70.0^\circ$  ( $c = 1$ , in Methanol).

$C_{19}H_{24}N_4O_7$  (420.4) Ber. C 54.22 H 5.76 N 13.31 Gef. C 53.8 H 5.8 N 13.6

2. *Benzylloxycarbonyl-L-glutamyl(γ-tert-butylester)-L-valyl-L-glutaminyl-L-leucyl-glycin* (**2a**)

a) *Benzylloxycarbonyl-L-leucyl-glycin-tert-butylester* (**8**): Zu 26.5 g (0.1 mol) Z-Leu-OH, 13.1 g (0.1 mol) H-Gly-OBu<sup>t</sup> und 27 g (0.2 mol) HOBT in 250 ml Tetrahydrofuran gibt man bei 0° eine Lösung von 22.0 g (0.107 mol) DCC in 50 ml Tetrahydrofuran. Man röhrt 1 h bei 0° und 3 h bei Raumtemp., filtriert vom Dicyclohexylharnstoff ab und bringt das Filtrat i. Vak. zur Trockene. Der Rückstand wird nach Beispiel 1. a) aufgearbeitet. Man erhält 36 g (96%) **8** als Öl. DC: Nahezu rein in System A und C, enthält noch eine kleine Menge Dicyclohexylharnstoff als Verunreinigung.

b) *L-Leucyl-glycin-tert-butylester·HCl* (**9**): 34 g (90 mmol) **8** werden analog Beispiel 1. b) in 200 ml Methanol katalytisch hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators und Abdestillieren des Methanols i. Vak. erhält man 25.5 g **9** (Ausb. quantitativ) als hellgelbes Öl. DC: Rein in System A und B.

c) *Benzylloxycarbonyl-L-glutaminyl-L-leucyl-glycin-tert-butylester* (**10**): Zur Lösung von 25.5 g (90 mmol) **9**, 28.0 g (0.1 mol) Z-Gln-OH, 11.5 ml (90 mmol) *N*-Äthylmorpholin und 27.0 g (0.2 mol) HOBT in 200 ml DMF gibt man bei 0° 22.3 g (0.11 mol) DCC in 30 ml DMF zu, röhrt 1 h bei 0° und 15 h bei Raumtemp., filtriert vom Dicyclohexylharnstoff ab und bringt das Filtrat i. Vak. zur Trockene. Der Rückstand wird bis zur Verfestigung mit Tetrahydrofuran digeriert. Die feste, trockene Masse wird nacheinander mit 5proz. KHSO<sub>4</sub>-Lösung, gesätt. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser digeriert und bei 1 Torr über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Ausb. 36.6 g (78%), Schmp. 191–193°,  $[\alpha]_D^{25} : -37.6^\circ$  ( $c = 1$ , in Methanol).

$C_{25}H_{38}N_4O_7$  (506.6) Ber. C 59.20 H 7.55 N 11.05 Gef. C 59.9 H 7.6 N 11.2

d) *L-Glutaminyl-L-leucyl-glycin-tert-butylester·HCl* (**11**): 22.0 g **10** werden nach Beispiel 1. b) katalytisch hydriert. Das zunächst ölige Reaktionsprodukt wird beim Verreiben mit Äther fest. Ausb. 17.8 g (quantitativ). DC: Rein in System A und B.

e) *tert-Butoxycarbonyl-L-valyl-L-glutaminyl-L-leucyl-glycin-tert-butylester* (**12**): Zu einer Lösung von 17.6 g (43 mmol) **11** in 100 ml DMF gibt man 5.5 ml (43 mmol) *N*-Äthylmorpholin und 14.7 g (47 mmol) Boc-Val-OSu<sup>11)</sup> und röhrt über Nacht bei Raumtemp. Dann wird das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert und der Rückstand nacheinander mit Wasser, 5proz. KHSO<sub>4</sub>-Lösung (0°), gesätt. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser digeriert, i. Vak. über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet und aus Isopropylalkohol umkristallisiert. Ausb. 19.3 g (79%) **12** vom Schmp. 239°. DC: Rein in System A.  $[\alpha]_D^{25} : -53.2^\circ$  ( $c = 1$ , in Methanol).

$C_{27}H_{49}N_5O_8$  (571.7) Ber. C 56.72 H 8.64 N 12.26 Gef. C 56.6 H 8.4 N 12.2

f) *L-Valyl-L-glutaminyl-L-leucyl-glycin·CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H* (**13**): 11.42 g **12** werden bei Raumtemp. 1 h in 30 ml Trifluoressigsäure geröhrt. Man destilliert die Trifluoressigsäure i. Vak. ab, verreibt den Rückstand gründlich mit Äther und dekantiert. Der Rückstand wird bei 1 Torr über KOH getrocknet. Ausb. 10.6 g (quantitativ). DC: Rein in System A.

g) *Benzylloxycarbonyl-L-glutamyl(γ-tert-butylester)-L-valyl-L-glutaminyl-L-leucyl-glycin* (**2a**): Man versetzt die Lösung von 10.6 g (20 mmol) **13** in 100 ml DMF/ Pyridin (1:1) mit 2.56 ml (20 mmol) *N*-Äthylmorpholin und 9.5 g (21.8 mmol) Z-Glu(OBu<sup>t</sup>)-OSu<sup>5)</sup>, gibt nach 2 h nochmals 1.28 ml (10 mmol) *N*-Äthylmorpholin zu und röhrt 15 h bei Raumtemp. Man destilliert

<sup>11)</sup> G. W. Anderson, J. E. Zimmerman und F. M. Callahan, J. Amer. chem. Soc. **86**, 1839 (1964).

dann die Lösungsmittel i. Vak. ab, verreibt den Rückstand mit Äther, 5proz.  $\text{KHSO}_4$ -Lösung (0°), gesätt.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und Wasser und kocht nach dem Trocknen mit wenig Isopropylalkohol aus. Nach Abkühlen filtriert man das schwerlösliche Produkt auf einer Nutsche ab, wäscht mit wenig Isopropylalkohol und Äther und trocknet bei 1 Torr und 70° über  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Ausb. 8.6 g (58%) **2a** vom Schmp. 255–256° (Zers.),  $[\alpha]_D^{23}$ : +33.3° ( $c = 1$ , in Essigsäure).

$\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{N}_6\text{O}_{11 \cdot 1/2} \text{H}_2\text{O}$  (743.8) Ber. C 56.47 H 7.45 N 11.26 Gef. C 56.4 H 7.4 N 11.5

3. *2-Nitrophenoxyphenylsulfenyl-N<sup>2</sup>-(4,4'-dimethoxybenzhydryl)-L-glutaminyl-L-valyl-L-glutamyl-( $\gamma$ -tert-butylester)-L-leucyl-glycin (2b)*

a) *Benzoyloxycarbonyl-L-glutamyl-( $\gamma$ -tert-butylester)-L-leucyl-glycin-methylester (14)*: Zu einer Lösung von 67.4 g (0.2 mol) Z-Glu(OBu<sup>t</sup>)-OH, 47.8 g (0.2 mol) H-Leu-Gly-OMe·HCl<sup>6</sup>, 27.0 g (0.2 mol) HOBT und 25.6 ml (0.2 mol) *N*-Äthylmorpholin in 400 ml DMF gibt man bei 0° 44.6 g (0.22 mol) DCC in 100 ml DMF. Man röhrt über Nacht bei Raumtemp., entfernt den Dicyclohexylharnstoff und destilliert DMF bei 1 Torr ab. Der Rückstand wird nach Beispiel 1. a) aufgearbeitet. Das gereinigte Produkt kristallisiert aus Äther. Ausb. 46.2 g (85%), Schmp. 144°,  $[\alpha]_D^{20}$ : −38.8° ( $c = 1$ , in Methanol).

$\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_8$  (521.6) Ber. C 59.95 H 7.54 N 8.05 Gef. C 60.4 H 7.4 N 8.1

b) *L-Glutamyl-( $\gamma$ -tert-butylester)-L-leucyl-glycin-methylester (15)*: 69 g **14** werden in 250 ml Methanol in Gegenwart von Palladium unter Durchleiten von Wasserstoff bis zum Aufhören der  $\text{CO}_2$ -Entwicklung katalytisch hydriert. Man filtriert vom Katalysator ab und bringt das Filtrat i. Vak. zur Trockene. Ausb. 52 g Öl (quantitativ). DC: Rein in System A und B.

c) *Benzoyloxycarbonyl-L-valyl-L-glutamyl-( $\gamma$ -tert-butylester)-L-leucyl-glycin-methylester (16)*: Eine Lösung von 38.8 g (0.1 mol) **15** und 36.5 g (0.105 mol) Z-Val-OSu<sup>11</sup> in 450 ml DMF wird über Nacht gerührt. Dann destilliert man das Lösungsmittel i. Vak. ab und arbeitet nach Beispiel 1. a) weiter. Das Produkt kristallisiert aus Äther. Ausb. 54.4 g (87.5%), Schmp. 174–175°.  $[\alpha]_D^{23}$ : −49.2° ( $c = 1$ , in Methanol).

$\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_9$  (620.7) Ber. C 59.98 H 7.78 N 9.10 Gef. C 59.6 H 7.8 N 9.3

d) *Benzoyloxycarbonyl-L-valyl-L-glutamyl-( $\gamma$ -tert-butylester)-L-leucyl-glycin (17)*: Zu einer Lösung von 55.8 g (90 mmol) **16** in einer Mischung aus 300 ml Dioxan und 100 ml Wasser tropft man innerhalb 30 min. unter Rühren 97 ml 1N NaOH ein, röhrt nach beendeter Zugabe noch 30 min. und gibt dann 7 ml 1N HCl zu und destilliert das Dioxan i. Vak. ab. Der halbfeste Rückstand wird zwischen 2 l Essigester und 200 ml Wasser verteilt. Man läßt bei 0–2° 90 ml 1N HCl unter Rühren zutropfen, trennt die Essigesterphase ab, wäscht sie mit Wasser, trocknet über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und destilliert den Essigester i. Vak. ab. Umkristallisieren aus 180 ml Essigester ergibt 38.8 g (64%) **17**. Schmp. 151–152°.

$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_9$  (606.7) Ber. C 59.42 H 7.64 N 9.23 Gef. C 59.3 H 7.7 N 8.9

e) *L-Valyl-L-glutamyl-( $\gamma$ -tert-butylester)-L-leucyl-glycin (18)*: 30.3 g (50 mmol) **17** werden in 300 ml 90proz. Essigsäure an Palladium unter Durchleiten von Wasserstoff bis zur Beendigung der  $\text{CO}_2$ -Entwicklung katalytisch hydriert. Man filtriert vom Katalysator ab, engt auf ein kleines Vol. ein, füllt mit Äther, suspendiert den Niederschlag in 200 ml Wasser, stellt das pH mit 1N NaOH auf 7, filtriert den Niederschlag ab, wäscht ihn mit Wasser und trocknet i. Vak. über  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Ausb. 17.1 g (72%).  $[\alpha]_D^{23}$ : −20.5° ( $c = 1$ , in 90proz. Essigsäure). DC: Rein in System A.

f) *2-Nitrophenoxyphenylsulfenyl-N<sup>2</sup>-(4,4'-dimethoxybenzhydryl)-L-glutaminyl-L-valyl-L-glutamyl-( $\gamma$ -tert-butylester)-L-leucyl-glycin (2b)*: Die Lösung von 5.61 g (11 mmol) Nps-Gln(Mbh)-OH (hergestellt aus dem Dicyclohexylammoniumsalz<sup>7</sup>) durch Verteilen zwischen Essigester und

2N Citronensäure bei 0°, Trocknen der Essigesterlösung über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen) und 1.48 g (11 mmol) HOBt in 25 ml DMF wird bei 0° mit 2.27 g (11 mmol) DCC versetzt und 2 h bei 0° aufbewahrt. Dann filtriert man vom Dicyclohexylharnstoff ab und vereinigt die Lösung mit der Suspension von 4.72 g (10 mmol) **18** in 30 ml DMF/Phosphorsäure-tris(dimethylamid) (1:1), gibt 1.28 ml (10 mmol) *N*-Äthylmorpholin zu und röhrt über Nacht bei Raumtemp. Dann destilliert man das DMF bei 1 Torr ab und verreibt den Rückstand mit einer Lösung von  $\text{KHSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$  (50 ± 100 g/l). Das gelbe Produkt wird abfiltriert, mit  $\text{KHSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$ -Lösung und Wasser gewaschen und bei 1 Torr über  $\text{P}_2\text{O}_5$  und KOH getrocknet. Zur weiteren Reinigung wird aus 70 ml Äthanol umkristallisiert, wobei nicht alles in Lösung geht. Ausb. 4.87 g. Man reinigt nochmals durch Lösen in Methanol, Abfiltrieren von etwas Ungleistem und Abdestillieren des Lösungsmittels i. Vak. Der Rückstand wird mit Äther verrieben und i. Vak. über  $\text{P}_2\text{O}_5$  getrocknet. Ausb. 3.52 g (36%).  $[\alpha]_D^{22} = -41.5^\circ$  ( $c = 1$ , in Methanol).

$\text{C}_{48}\text{H}_{65}\text{N}_7\text{O}_{13}\text{S}$  (980.1) Ber. C 58.80 H 6.68 N 10.00 S 3.27  
Gef. C 57.9 H 6.6 N 9.8 S 3.0

Aminosäureanalyse: Glu 1.86, Gly 1.00, Val 0.99, Leu 0.99.

[344/72]