

Synthesen biologisch wirksamer Peptide

Von JOHANNES MEIENHOFER*

Deutsches Wollforschungsinstitut an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen

Summary

The synthesis of higher peptides can be achieved by stepwise lengthening of the peptide chain by one amino acid at a time or by fragment condensation or by a combination of the two procedures. Four amine protecting groups have found general application e.g. the carbobenzoxy, *p*-toluenesulfonyl, triphenylmethyl and *t*-butyloxycarbonyl substituents. Alkyl, benzyl and *t*-butyl esters, protected hydrazides and the carbonamide group proved to be useful carboxy protecting substituents. The four efficient coupling procedures, the azide, carbodiimide, mixed anhydride, and nitrophenylester syntheses have been discussed considering five criteria: racemisation, side reactions, isolation, yield, and the time required. Five syntheses serving as examples have been outlined in simple schemes. 190 syntheses of biologically active higher peptides have been compiled in five tables.

1. Einleitung**

Seit der ersten Synthese des Hypophysenhormons Oxytocin durch DU VIGNEAUD im Jahre 1954¹ sind viele höhere Peptide² synthetisiert worden, von denen die überwiegende Mehrzahl gleiche oder ähnliche Aminosäuresequenzen aufweisen, wie sie in Hormonen, Antibiotika und anderen Wirkstoffen vorkommen (Tabelle 1).

1958 ist in dieser Zeitschrift von R. SCHWYZER, Basel, über die Synthese von Polypeptidwirkstoffen zusammenfassend berichtet worden⁹⁷. Verschiedene Gründe und Ziele gaben seither Anlaß für viele weitere Synthesen, z. B.:

1. Bestätigung der durch Sequenzanalyse ermittelten Strukturen. Oxytocin, Lysin-Vasopressin, Angiotensin I und II, α -MSH, Bradykinin, Kallidin, Eledoisin und Gramicidin S sind mit voller biologischer Wirksamkeit synthetisiert worden (Tabelle 1).
2. Aufklärung der Zusammenhänge zwischen Konstitution und biologischer Wirksamkeit und Spezifität. Dazu hat z. B. DU VIGNEAUD systematisch zahlreiche Analoge, Homologe und Derivate von Oxytocin und Vasopressin synthetisiert (Tabellen 2 und 3).
3. Änderung der Wirksamkeit oder der Spezifität durch Variation der natürlichen Strukturen. Diese pharmakologisch interessante Arbeitsrichtung hat z. B. BOISSONNAS¹²⁶ zur Synthese modifizierter Oxytocine

(Tabelle 2), Vasopressine (Tabelle 3) und Kinine¹³⁵ (Tabelle 4) sowie SCHWYZER zur Synthese modifizierter Angiotensine (Tabelle 5) angeregt.

4. Wirtschaftliche Gründe. Die Synthese von Oxytocin z. B. ist für die pharmazeutische Industrie gegenwärtig schon wirtschaftlicher als die Isolierung.
5. Die Synthese von Proteinen ist ein zukünftiges Ziel. In drei Instituten¹⁵⁴ wird an der Synthese des Insulins gearbeitet.

Im folgenden werden nur diejenigen Verfahren besprochen, die sich bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt als leistungsfähig genug für solche Synthesen erwiesen haben. Ihre Anwendung wird anhand von fünf Synthesen in übersichtlichen Schemata erläutert. Für eingehende Studien sei auf die Aufsätze in Tabelle 6 verwiesen.

* Erweiterte Fassung von Vorträgen in: Hormone Research Laboratory, University of California, Berkeley (USA) (2. Juni 1960); CSIRO-Wool Research Laboratories, Melbourne (Australien) (13. September 1960); Department of Chemistry, National Taiwan University, Taipei (Formosa) (10. November 1960); Institute for Protein Research, Osaka University (Japan) (15. November 1960); Department of Medical Chemistry, Kyoto University (Japan) (28. November 1960); Faculty of Science, Tokyo Metropolitan University (Japan) (1. Dezember 1960); Department of Chemistry, Indian Institute of Science, Bangalore (Indien) (1. Februar 1961); Department of Chemistry, Delhi University (Indien) (27. Februar 1961); Farbenfabriken Bayer AG (30. Mai 1961 und 6. Juli 1962); Chemisches Institut, Tierärztliche Hochschule Hannover (5. Juni 1961); Chemisches Kolloquium, Technische Hochschule Aachen (2. November 1961).

** Verwendete Abkürzungen: Aminosäuresymbole nach E. BRAND und J. T. EDSALL, *Annu. Rev. Biochem.* 16 (1947) 224 und Beschluß auf dem 5. Europäischen Peptidsymposium in Oxford, September 1962 (Cit = Citrullin, Ile = Isoleucin, Sar = Sarkosin), außerdem A = Angiotensin, Ac = Acetyl (HOAc = Eisessig), ACTH = Adrenocorticotropes Hormon, Ät = Äthyl (OÄt = Äthylester, ÄtOH = Äthanol, Ät₃N = Triäthylamin), Alk = Alkyl, AVP = Arginin-Vasopressin, BOC = *t*-Butyloxycarbonyl, Br = Bradykinin, BZL = Benzyl (OBZL = Benzylester, BZL·Cl = Benzylchlorid), ONB = *p*-Nitrobenzylester, Bu = Butyl (OBu^t = *t*-Butylester, *n*-BuOH = *n*-Butanol), DCC = Dicyclohexylcarbodiimid, DCH = N,N'-Dicyclohexylharnstoff, DMF = Dimethylformamid, I.E. = Internationale Einheiten, LAP = Leucinaminopeptidase, LVP = Lysin-Vasopressin, Me = Methyl (OMe = Methylester), MSH = Melanophorenstimulierendes Hormon, O = Oxytocin, ONP = *p*-Nitrophenylester, THF = Tetrahydrofuran, Tos = *p*-Toluolsulfonyl, TRI = Triphenylmethyl, USP = United States Pharmacopeia Einheiten, Z = Carbobenzoxy.

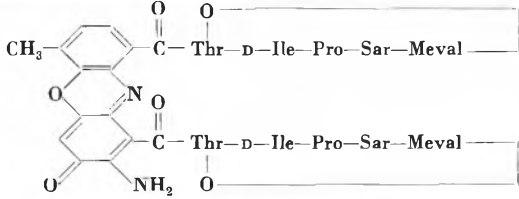
Streptogenin aktive Peptide	<p>H-Ser-His-Leu-Val-Glu-OH (Thr) (Phe) H-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-OH H-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-OH H-Leu-Cys-Leu-Val-Glu-OH H-Leu-Cys-Leu-Val-Glu-OH</p>	<p>H-Ser-Gly-Gly-Gly-Glu-OH H-Cys-His-Leu-Val-Glu-OH H-Cys-His-Leu-Val-Glu-OH</p>	1956	<p>WOOLLEY u. a. 1956⁵⁸, 1958^{59,60}, 1960⁶¹ OKAWA 1958⁶²</p>
Insulin	<p style="text-align: center;">NH₂ (Ser) NH₂ NH₂ NH₂</p> <p>H-Gly-Ile-Val-Glu-Glu-Cys-Cys-Ala-Gly-Val-Cys-Ser-Leu-Tyr-Glu-Leu-Glu-Asp-Tyr-Cys-Asp-OH A 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21</p> <p style="text-align: center;">NH₂ NH₂</p> <p>H-Phe-Val-Asp-Glu-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu- B 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 -Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Ala-OH 22 23 24 25 26 27 28 29 30</p>	<p>Teilsequenzen: B10-14, 17-22 A 7-11 A 8-11 B23-29 B 1-8, 14-18, 23-30 B13-20 B13-30 A1-4, 5-9, 12-16, 13-21, 17-21 B1-5, 6-12, 7-19, 13-20, 21-30 B7-12, 23-30</p>	<p>WOOLLEY u. a. 1956⁵⁸, 1960⁶¹ MACLAREN u. a. 1958⁶³ COHEN u. a. 1958⁶⁴ CARPENTER u. a. 1960⁶⁵ ZAHN u. a. 1960⁶⁶, 1961⁶⁷, 1962⁶⁸ MEIENHOFER u. a. 1962⁶⁹ SCHNABEL 1962⁷⁰ KATSOYANNIS u. a. 1961⁷¹⁻⁷³, 1962^{74,75}, HUANG u. a. 1962^{76,77}</p>	
Gramicidin S Analoge Homologe	<p>→Val → Orn → Leu → D-Phe → Pro Pro ← D-Phe ← Leu ← Orn ← Val←</p>	1956	<p>SCHWYZER u. a. 1956⁷⁸, 1958^{79,80}, 1960⁸¹ WORK u. a. 1950⁸² ERLANGER u. a. 1954⁸³, 1958⁸⁴, 1959^{85,86}</p>	
Tyrocidin A Teilsequenzen	<p>→Val → Orn → Leu → D-Phe → Pro Tyr ← Glu ← Asp ← D-Phe ← Phe←</p>		<p>SCHWYZER u. a. 1959⁸⁷, 1960⁸⁸</p>	
Bacitracin A Teilsequenzen	<p>H-Ile → Cys → Leu → D-Glu → Ile → Lys → D-Orn → Ile NH₂ HO-D-Asp ← Asp ← His ← D-Phe←</p>		<p>CRAIG u. a. 1961⁸⁹</p>	
Polymyxin B Analoge	<p>Ipel → Dab → Thr → Dab → Dab → Dab → D-Phe → Leu Thr ← Dab ← Dab← Ipel = Isopelargonsäure Dab = Diaminobuttersäure</p>		<p>VOGLER u. a. 1960⁹⁰, 1961^{91,92}, 1962⁹³</p>	
Actinomycin C ₃	 <p>(Sar = Sarkosin, N-Methylglycin) (Meval = N-Methylvalin)</p>	1960	<p>BROCKMANN u. a. 1960⁹⁴</p>	
Phalloidin Teilsequenz	<p>→Hypro → Try → Hyleu → Ala Ala ← Cys ← D-Thr←</p>	<p>(Hyleu = γ-Hydroxy- oder γ, δ, -Dihydroxy-L-Leucin)</p>		<p>WIELAND u. a. 1959⁹⁵, 1961⁹⁶</p>

Tabelle 2: Synthetische Analoge, Homologe und Derivate von Oxytocin

Veränderung in Position	Bezeichnung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Autoren
	Oxytocin	H-Cys	Tyr	Ile	Glu	Asp	Cys	Pro	Leu	Gly-NH ₂	Siehe Tabelle 1
1	desamino-O. (1-β-Mercaptopropionsäure-O.)	β-Prop									DU VIGNEAUD u. a. 1960 ⁹⁸
	1-Mercaptoessig-säure-O.	Ac.									DU VIGNEAUD u. a. 1960 ⁹⁹
	D-Cystin-O.	H-D-Cys									DU VIGNEAUD u. a. 1961 ¹⁰⁰ RUDINGER u. a. 1961 ¹⁰¹
	N-Methyl-O.	CH ₃ -Cys									RUDINGER u. a. 1961 ¹⁰¹
	Glycyl-O.	H-Gly-Cys									DU VIGNEAUD u. a. 1960 ¹⁰² RUDINGER u. a. 1961 ¹⁰¹
	Sarcosyl-O.	H-Sar-Cys									RUDINGER u. a. 1961 ¹⁰¹
	Leucylglycylglycyl-O.	H-Leu-Gly-Gly-Cys									RUDINGER u. a. 1961 ¹⁰¹
	1-(Hemi-homo-cystin)-O.	H-homo-Cys									DU VIGNEAUD u. a. 1961 ¹⁰³
	Histidylseryl-O.	H-His-Ser-Cys									BOISSONNAS u. a. 1961 ¹⁰⁴
	Serylhistidyl-O.	H-Ser-His-Cys									
2	Tyrosyltyrosin ² -O.		Tyr-Tyr								BOISSONNAS u. a. 1957 ¹⁰⁵ BEYERMAN u. a. 1960 ¹⁰⁶
	Phenylalanin ² -O.		Phe								DU VIGNEAUD u. a. 1959 ¹⁰⁷ BOISSONNAS u. a. 1959 ¹⁰⁸
	Serin ² -O.		Ser								BOISSONNAS u. a. 1960 ¹⁰⁹
	Leucin ² -O.		Leu								RUDINGER u. a. 1961 ¹⁰¹
	O-Methyl-O.		OMe Tyr								DU VIGNEAUD u. a. 1960 ¹¹⁰ BEYERMAN u. a. 1960 ¹¹¹ RUDINGER u. a. 1961 ¹⁰¹
	p-Fluorphenylalanin ² -O.		F Phe								RUDINGER u. a. 1961 ¹⁰¹
	N-Methyltyrosin ² -O.		Me Tyr								RUDINGER u. a. 1961 ¹⁰¹ BOISSONNAS u. a. 1960 ¹¹²

Tabelle 3: Synthetische Analoge und Derivate der Vasopressine

Veränderung in Position	Bezeichnung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Autoren	
	Lysin-Vasopressin (LVP)	H-Cys	Tyr	Phe	Glu	Asp	Cys	Pro	Lys	Gly-NH ₂	Siehe Tabelle I	
	Arginin-Vasopressin (AVP)				NH ₂	NH ₂			(Arg)			
1	Acetylseryltyrosylseryl-LVP	Ac-Ser-Tyr-Ser-Cys									BOISSONNAS u. a. 1961 ¹⁰⁴	
	Acetylseryltyrosyl-LVP	Ac-Ser-Tyr-Cys										
	Histidylseryl-LVP	H-His-Ser-Cys										
	Serylhistidyl-LVP	H-Ser-His-Cys										
	Acetyl-AVP	Ac-Cys										DU VIGNEAUD u. a. 1958 ¹²⁷
	1-β-Mercaptopropionsäure-LVP (desamino-LVP)	β-Prop										DU VIGNEAUD u. a. 1960 ¹²⁸
2	Phenylalanin ² -LVP		Phe								BOISSONNAS u. a. 1960 ¹¹⁶ DU VIGNEAUD u. a. 1960 ¹²⁹	
	Histidin ² -LVP		His								BOISSONNAS u. a. 1960 ¹⁰⁹	
3	Isoleucin ³ -LVP (Lysin-Vasotocin)			Ile					Lys		BOISSONNAS u. a. 1960 ¹⁵ DU VIGNEAUD u. a. 1961 ¹³⁰	
	Isoleucin ³ -AVP (Arginin-Vasotocin)			Ile					Arg		DU VIGNEAUD u. a. 1958 ^{131,132}	
	(Tyrosyl-tyrosin) ³ -LVP			Tyr-Tyr							BEYERMAN u. a. 1960 ¹³³	
	Tyrosin ³ -LVP			Tyr							BOISSONNAS u. a. 1960 ¹¹⁶	
	Serin ³ -LVP			Ser							BOISSONNAS u. a. 1960 ¹⁰⁹	
	Tryptophan ³ -LVP			Try								
2+3	(Phenylalanin ² -Tyrosin ³)-LVP		Phe	Tyr							BOISSONNAS u. a. 1960 ¹¹⁶	
	(Serin ² -Isoleucin ³)-LVP		Ser	Ile								
	(Serin ² -Histidin ³)-LVP		Ser	His							BOISSONNAS u. a. 1960 ¹⁰⁹	
	(Histidin ² -Serin ³)-LVP		His	Ser								
8	Histidin ⁸ -Vasopressin								His		DU VIGNEAUD u. a. 1958 ¹³²	
	Citrullin ⁸ -Vasopressin								Cit		BODANSZKY u. a. 1962 ¹²⁴	
9	Sarcosin ⁹ -LVP									Sar-NH ₂	DU VIGNEAUD u. a. 1961 ¹³⁴	

Biologische Aktivitäten vgl. BOISSONNAS u. a. 1961¹²⁶

Tabelle 4: Synthetische Analoge von Bradykinin

Veränderung in Position	Bezeichnung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Autoren
	Bradykinin (Br)	H-Arg	Pro	Pro	Gly	Phe	Ser	Pro	Phe	Arg-OH	Siehe Tabelle 1
1	Lysyl-Bradykinin = Kallidin	H-Lys-Arg									NICOLAIDES u. a. 1961 ²⁹ BOISSONNAS u. a. 1962 ³⁰
	Citrullin ¹ -Bradykinin	H-Cit									BODANSZKY u. a. 1962 ¹³⁴
1 + 9	Bis-Diaminobuttersäure ^{1,9} -Br (Dab ¹ -Dab ⁹)-Br	H-Dab								Dab-OH	VOGLER u. a. 1961 ¹³⁶
2 + 4 + 6 + 8	(Phe ² -Ser ⁴ -Gly ⁶ -Pro ⁸)-Br (umgekehrte Reihenfolge)		Phe		Ser		Gly		Pro		VOGLER u. a. 1962 ¹³⁷
3	(des-Pro ³)-Br			×							
3 + 7	(des-Pro ³ -Pro ⁷)-Br			×				×			BOISSONNAS u. a. 1960 ¹³⁸ , 1961 ¹³⁹
3 + 4 + 7	(Gly ³ -Pro ⁴ -des-Pro ⁷)-Br			Gly	Pro			×			
4 + 5 + 7	(Phe ⁴ -Gly ⁵ -des-Pro ⁷)-Br				Phe	Gly		×			
7	(des-Pro ⁷)-Br							×			BOISSONNAS u. a. 1960 ¹³⁸ , 1961 ¹⁴⁰ SCHWYZER u. a. 1960 ¹⁴¹ NICOLAIDES u. a. 1960 ¹⁴²

Tabelle 5: Synthetische Analoge, Homologe und Derivate der Angiotensine I und II

Veränderung in Position	Bezeichnung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Autoren
	Angiotensin I (AI)	(OH) (NH ₂) H-Asp	Arg	Val	Tyr	Val	His	Pro	Phe	His	Leu-OH	Siehe Tabelle 1
	Val ⁵ \ Angiotensin II Ile ⁵ / (Val ⁵ -A II, Ile ⁵ -A II)	(OH) (NH ₂) H-Asp	Arg	Val	Tyr	(Val) Ile	His	Pro	Phe-OH	×	×	
1	Glycin ¹ -Val ⁵ -A II	H-Gly				Val				×	×	SCHWYZER u. a. 1961 ¹⁴³
	Arginin ¹ -Ile ⁵ -A II	H-Arg				Ile				×	×	PAGE u. a. 1961 ¹⁴⁴
	β-Asparaginsäure ¹ -Val ⁵ -A II	OH β-Asp				Val				×	×	SCHWYZER u. a. 1962 ¹⁴⁵
	(des-Asp ¹)-Val ⁵ -A II	×				Val				×	×	SCHWYZER u. a. 1961 ¹⁴⁶
	(des-Asp ¹)-Ile ⁵ -A II	×				Ile				×	×	PAGE u. a. 1961 ¹⁴⁴
2	Nitroarginin ² -Val ⁵ -A II	NH ₂ H-Asp	NO ₂ Arg			Val				×	×	SCHWYZER u. a. 1961 ¹⁴⁷
	Ornithin ² -Val ⁵ -A II	(OH) (NH ₂) H-Asp	Orn			Val				×	×	SCHWYZER u. a. 1961 ¹⁴³
	Histidin ² -Ile ⁵ -A II	OH H-Asp	His			Ile				×	×	THEODOROPOULOS 1962 ¹⁴⁸
1 + 2	des-(Asp ¹ -Arg ²)-Val ⁵ -A II	×	×			Val				×	×	SCHWYZER u. a. 1961 ¹⁴⁶
	des-(Asp ¹ -Arg ²)-Ile ⁵ -A II	×	×			Ile				×	×	PAGE u. a. 1961 ¹⁴⁴
	[(des-Asp ¹)-His ²]-Ile ⁵ -A II	×	H-His			Ile				×	×	THEODOROPOULOS u. a. 1960 ¹⁴⁹
3	Leucin ³ -Val ⁵ -A II	NH ₂ H-Asp		Leu		Val				×	×	SCHWYZER u. a. 1961 ¹⁵⁰
	Leucin ³ -Ile ⁵ -A II	(OH) (NH ₂) H-Asp		Leu		Ile				×	×	SCHWYZER u. a. 1957 ¹⁵¹ , 1958 ⁹⁷
1 + 2 + 3	des-(Asp ¹ -Arg ² -Val ³)-Ile ⁵ -A II	×	×	×		Ile				×	×	PAGE u. a. 1961 ¹⁴⁴
	[(des-Asp ¹)-Val ² -Tyr ³]-Ile ⁵ -A II	×	H-Val	Tyr		Ile				×	×	HOLLY u. a. 1961 ¹⁵²

4	Phenylalanin ⁴ -Val ⁵ -A II	(OH) (NH ₂) H-Asp		Phe	Val			×	×		SCHWYZER u. a. 1961 ¹⁴³
	Tyrosyltyrosin ⁴ -Val ⁵ -A II	(OH) (NH ₂) H-Asp		Tyr-Tyr	Val			×	×		SCHWYZER u. a. 1961 ¹⁴⁶
1 + 2 + 4	[des-(Asp ¹ -Arg ²)-Phe ⁴]-Ile ⁵ -A II	×	×	Phe	Ile			×	×		PAGE u. a. 1961 ¹⁴⁴
	[des-(Asp ¹ -Arg ²)-Ala ⁴]-Ile ⁵ -A II	×	×	Ala	Ile			×	×		
5	Leucin ⁵ -A II	(OH) (NH ₂) H-Asp			Leu			×	×		SCHWYZER u. a. 1957 ¹⁵¹ , 1958 ⁹⁷ , 1961 ¹⁵⁰
2 + 5	Lysin ² -Leucin ⁵ -A II	NH ₂ H-Asp	Lys		Leu			×	×		
8	(Phe ⁸ -OMe)-Val ⁵ -A II	NH ₂ H-Asp			Val		Phe-OMe	×	×		SCHWYZER u. a. 1961 ¹⁴⁷
	(Phe ⁸ -amid)-Val ⁵ -A II	NH ₂ H-Asp			Val		Phe-NH ₂	×	×		
	(p-Brom-Phe ⁸)-Val ⁵ -A II	(OH) (NH ₂) H-Asp			Val		Br Phe	×	×		SCHWYZER u. a. 1961 ¹⁵⁰
	(des-Phe ⁸)-Val ⁵ -A II	NH ₂ H-Asp			Val	Pro-OH		×	×	×	SCHWYZER u. a. 1961 ¹⁴⁶
	D-Phenylalanin ⁸ -Val ⁵ -A I	OH H-Asp			Val		D-Phe	His	Leu		GUTTMANN 1961 ²⁴
	Alanin ⁸ -Ile ⁵ -A II	OH H-Asp			Ile		Ala	×	×		PAGE u. a. 1961 ¹⁴⁴
	1 + 8	[(des-Asp ¹)-D-Phe ⁸]-Ile ⁵ -A II	×			Ile		D-Phe	×	×	
1 + 2 + 6 + 8	(Z-OBZL-Asp ¹ -Nitro-Arg ² - im BZL-His ⁶ -Phe ⁸ -OMe)-Ile ⁵ -A II	OBZL Z-Asp	NO ₂ Arg		Ile	BZL His		Phe-OMe	×	×	MAZUR 1962 ¹⁵³
9 + 10	(Pro ⁹ -Phe ¹⁰)-Val ⁵ -A I	(OH) (NH ₂) H-Asp			Val			Pro	Phe		SCHWYZER 1961 ¹⁵⁰
10	Leucinamid ¹⁰ -Val ⁵ -A I	NH ₂ H-Asp			Val				Leu-NH ₂		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Biologische Aktivitäten vgl. R. SCHWYZER 1961¹⁵⁰ und I. H. PAGE u. a. 1961¹⁴⁴

Tabelle 6: Zusammenfassende Abhandlungen über Peptidsynthese

Autoren	Literaturstelle	Jahr	Sprache	Zitate	Bemerkungen
J. S. FRUTON	<i>Adv. Protein Chem.</i> 5, 1	1949	englisch	305	Peptidtabellen (vollständig bis 1948)
W. GRASSMANN und E. WÜNSCH	<i>Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe</i> , Springer-Verlag, Wien, Bd. 13, S. 444	1956	deutsch	480	
H. D. SPRINGALL und H. D. LAW	<i>Quart. Rev.</i> 10, 230	1956	englisch	180	
M. GOODMAN und G. W. KENNER	<i>Adv. Protein Chem.</i> 12, 465	1957	englisch	452	Peptidtabellen (unvollständig bis 1956)
A. H. COOK und G. HARRIS	<i>Progr. Org. Chem.</i> 4, 140	1958	englisch	484	
R. SCHWYZER	<i>Chimia</i> 12, 53	1958	deutsch	75	Syntheseschemata
T. WIELAND und B. HEINKE	<i>Angew. Chem.</i> 63, 7 66, 507 69, 362 71, 417	1951 1954 1957 1959	deutsch	—	
J. P. GREENSTEIN und M. WINITZ	<i>Chemistry of the Amino Acids</i> , J. WILEY & Sons, Inc., New York/London, Band 2	1961	englisch	1056	Peptidtabellen (bis 1958)
E. BRICAS	<i>Bull. Soc. Chim. France</i> , S. 2001	1961	französisch	174	Neueste Methoden (bis April 1961)
R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, B. BERDE und H. KONZETT	<i>Experientia</i> 17, 377	1961	englisch	—	Biologische Aktivitäten modifizierter Oxytocine und Vasopressine
N. F. ALBERTSON	<i>Organic Reactions</i> , J. Wiley & Sons, Inc., London/New York, Band 12, S. 157	1962	englisch	538	Peptidsynthese mit gemischten Anhydriden

2. Die Methodik der Peptidsynthese

Die Synthese von Peptidbindungen erfolgt in drei Stufen (Abb. 1).

1. *Stufe*: Darstellung geschützter Aminosäuren. Durch zeitweise Substitution an den Amino- oder Carboxylgruppen mit sogenannten Schutzgruppen lenkt man die Verknüpfung zur gewünschten Sequenz¹⁵⁵ und hebt zugleich den Zwitterionenzustand der Aminosäuren auf. Für saure Aminosäuren, wie Glutamin- und Asparaginsäure, werden zusätzliche Carboxylschutzgruppen; für basische, wie Lysin und Arginin, zusätzliche Aminschutzgruppen¹⁵⁶; für andere polyfunktionelle Aminosäuren, wie Cystein, Tyrosin oder Serin, spezielle Schutzgruppen benötigt. An die Schutzgruppen stellt man folgende Ansprüche: 1. Bei der Einführung in die Aminosäuren darf keine Razemisierung eintreten. 2. Sie müssen unter den Bedingungen der Peptidsynthese stabil sein.

2. *Stufe*: Knüpfung der Peptidbindung. Dazu werden die Carboxylgruppen N-geschützter Aminosäuren oder Peptide in Form von Estern oder gemischten Anhydriden aktiviert¹⁵⁷. Die Aminkomponente greift am positivierten Carbonyl-C-Atom in einer Additions-Eliminierungs-Reaktion an¹⁵⁸. Zur Beurteilung der Brauchbarkeit einer Aktivierungsmethode sind fünf Kriterien maßgebend:

1. *Vermeidung von Razemisierung* am α -C-Atom der an der Peptidknüpfung beteiligten Aminosäuren. Der Mechanismus derartiger Razemisierungserscheinungen ist noch nicht einwandfrei geklärt¹⁵⁹⁻¹⁶¹. Experimentell ist die Razemisierung ein ständiges Hemmnis. Bei allen Aktivierungsverfahren mit Ausnahme der Azidmethode

und mit Ausnahme der Knüpfung von Prolylbindungen kann die aktivierte Aminosäure razemisiert werden¹⁶²⁻¹⁶⁵. Zur Prüfung der Razemisierungstendenz wurden mehrere Tests entwickelt¹⁶⁵⁻¹⁶⁸. Es gibt aber noch kein direktes Verfahren, mit dem man bei einer beliebigen Peptidknüpfung im Verlauf einer größeren Peptidsynthese eine teilweise Razemisierung feststellen könnte, vielmehr ist man auf zeitraubende indirekte Methoden angewiesen, wie z. B. Darstellung des gleichen Peptids auf verschiedenen Wegen, enzymatischen Abbau nach Entfernung der Schutzgruppen^{18, 163, 169-171}, Untersuchung von Totalhydrolysaten mit Aminosäureoxydasen^{18, 172, 173} oder spezifischen Bakterien. Die Entfernung unerwünschter Diastereomere ist oft schwierig, da die Löslichkeitsunterschiede mit zunehmender Kettenlänge verschwindend gering werden.

2. *Vermeidung von Nebenreaktionen*.

3. *Die Isolierung des Peptids* und Abtrennung von den übrigen Reaktionsprodukten muß einfach sein, denn es mangelt an einwandfreien Reinheitskriterien für höhere Peptide, für deren Charakterisierung Schmelzpunkt, Elementaranalyse, optische Drehung oder Spektren nur geringen Wert haben¹⁶⁹. Statt dessen müssen zeitraubende Aminosäure-¹⁷⁴ oder Endgruppenanalyse¹⁷⁵ angewendet werden. Ein sehr empfindliches Reinheitskriterium, die biologische Wirksamkeit, bleibt auf natürliche Peptidwirkstoffe beschränkt, bei denen die Übereinstimmung zwischen synthetischem und Naturprodukt in Maß und Spezifität ihrer Aktivität ein eindeutiger Beweis für eine gelungene Synthese ist^{1, 138, 141, 142}. Die Reinigung höherer Peptidderivate ist durch den Mangel einwandfreier Reinheitskriterien und die gewöhnlich schlechte

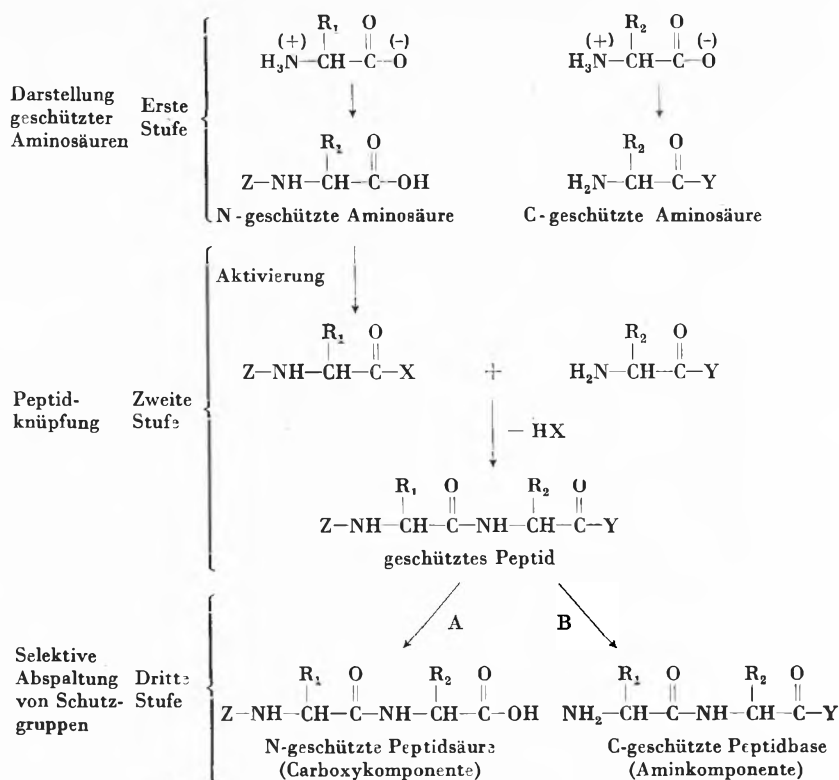


Abb. 1. Allgemeiner Verlauf einer Peptidsynthese

Kristallisationsfähigkeit sehr erschwert. Für amorphe Produkte ist man auf vielstufige Reinigungsverfahren, wie Gegenstromverteilung und Chromatographie, angewiesen. Man sollte jedoch keine Mühe scheuen, um Kristallisation zu erzielen. Mehrfaches Umkristallisieren etwa bis zur konstanten optischen Drehung ist als Reinigungsverfahren in Einfachheit und Wirksamkeit der Chromatographie oder Gegenstromverteilung meist überlegen. Die Kristallisation einer möglichst großen Zahl von Zwischenstufen ist von großer Bedeutung für eine erfolgreiche Synthese (Beispiel 1). In den letzten Jahren sind tatsächlich viele höhere Peptidderivate kristallisiert erhalten worden^{4, 8, 13, 14, 24, 28, 41, 45, 49, 65, 67, 83-85, 152}.

4. Die *Ausbeute* soll hoch sein, da sonst bei derart vielstufigen Synthesen zu große Mengen kostspieliger Aminosäuren benötigt werden.

5. Die *Dauer* einer Synthesestufe soll zwei bis drei Tage nicht überschreiten.

Infolge dieser hohen Anforderungen haben sich bisher nur vier Methoden als leistungsfähig genug zum Aufbau höherer Peptide erwiesen, nämlich die Azid-, Carbodiimid-, gemischte Anhydrid- und Nitrophenylestersynthese (siehe Abschnitt 4).

3. *Stufe*: An die selektive Abspaltung der Schutzgruppen werden folgende Anforderungen gestellt: 1. Die abzuspaltenden Schutzgruppen sollen quantitativ entfernt werden, die anderen quantitativ erhalten bleiben. 2. Auch empfindliche Peptidbindungen¹⁷⁶ sollen völlig intakt bleiben. 3. Razemisierung darf nicht erfolgen.

Die Zahl der bewährten Schutzgruppen ist klein (Abschnitt 3).

Ein höheres Peptid wird durch vielfache alternierende Wiederholung der Stufen 2 und 3 aufgebaut. Man verwendet zwei Aufbauverfahren: die «gliedweise Kettenverlängerung»⁴ (Abb. 3) und die «Fragmentenkondensation»⁷¹ (Abb. 4). Bei der gliedweisen Kettenverlängerung wird die Peptidkette von einem Ende (meist C-Ende) her um jeweils eine Aminosäure verlängert. Das Verfahren hat sich jüngst bei Synthesen von Oxytocin⁴, Lysin-Vasopressin¹⁴ (Beispiel 1) und Bradykinin²⁸ ausgezeichnet bewährt. Beim Lysin-Vasopressin¹⁴ wurden bei achtmaliger Peptidknüpfung 55% Ausbeute¹⁷⁷ erzielt, d.h. im Durchschnitt 92,5% pro Peptidbindung. Damit würde man z.B. bei einer Synthese der Ribonuclease mit 124 Aminosäureresten nur 0,01% Ausbeute erreichen. Bei derart großen Molekülen wird man zur Erzielung optimaler Ausbeuten die gliedweise Kettenverlängerung zum Aufbau geeigneter Zwischenstücke mit dem klassischen Verfahren der Fragmentenkondensation zum Zusammenfügen der Zwischenstücke kombinieren müssen¹⁷⁸. Die Planung einer größeren Synthese und die Aufteilung in geeignete Fragmente kann man jedoch beim gegenwärtigen Stand der Methodik nicht im Hinblick auf optimale Ausbeuten vornehmen. In erster Linie muß man experimentelle Gesichtspunkte berücksichtigen, und zwar Wahl der zweckmäßigsten Schutzgruppen (Abschnitt 3) und der jeweils vorteilhaftesten Aktivierungsmethoden sowie Vermeidung von Razemisierung (Abschnitt 4).

3. Allgemein verwendete Schutzgruppen

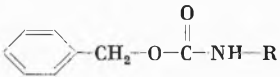
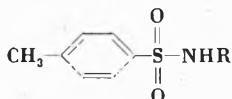
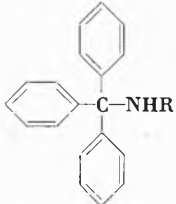
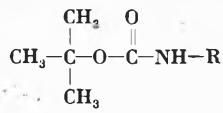
A. Aminschutzgruppen

Für die reversible Blockierung der Aminogruppe haben sich vier Schutzgruppen besonders bewährt, nämlich die Carbobenzoxygruppe¹⁷⁹, *p*-Toluolsulfonyl-(Tosyl-)gruppe¹⁸⁰, Triphenylmethyl-(Trityl-)gruppe¹⁸¹ und *t*-Butyloxycarbonylgruppe^{182,183}. In Tabelle 7 sind die

Reagenzien zu deren Einführung in Aminosäuren und die Spaltungsbedingungen zusammengestellt.

1. Die Carbobenzoxygruppe¹⁷⁹ wird am häufigsten verwendet. In Carbobenzoxyaminosäuren in α -Stellung übt sie eine hervorragende Schutzwirkung gegen Raze-misierung aus²²³. Die Abspaltung durch katalytische Hydrierung (1c) mit Pd-Schwarz¹⁸⁸ in Alkohol, Eis-essig oder Dimethylformamid^{148,224} kann man durch

Tabelle 7: Aminschutzgruppen. Substitutions- und Spaltungsmethoden

Schutzgruppe Formel (Natur)	Verwandte Abkürzung	Einführung in Aminosäuren und Peptide	Zitat	Abspaltung	Zitat
Carbobenzoxygruppe  (Urethan)	Z	1. Carbobenzoxychlorid (SCHOTTEN-BAUMANN) 2. Benzyl- <i>p</i> -nitrophenyl- carbonat 3. Benzylalkohol + Isocyan- fettsäureester	179,184,185 186 186	1. Katalytische Hydrierung 2. Bromwasserstoff: a) in Eisessig bei 20°(10 Min. bis 2 Std.) b) in Nitromethan c) in Tetrachlorkohlenstoff d) in Dioxan e) in Trifluoressigsäure f) flüssig bei -67°C 3. Natrium in flüssigem Ammoniak 4. Konzentrierte Salzsäure bei 37° bzw. bei 60° 5. Phosphoniumjodid/Jodwasserstoff in Eisessig 6. Alkoholische Salzsäure 7. <i>p</i> -Toluolsulfonsäure in Eisessig, Benzol, Toluol 8. Siedende Trifluoressigsäure, 20 bis 40 Min. 9. Salzsäure in Chloroform 10. Triäthylsilan/PdCl ₂ , 3 Std. bei 108°	179,187-189 35,190-194 195 196 191,197 35,36,194 198 199 58,200 201,202 203-205 62 206 207,208 209
<i>p</i> -Toluolsulfonylgruppe  (Sulfonamid)	Tos	Tosylchlorid	210	1. Natrium in flüssigem Ammoniak 2. Phosphoniumjodid/Jodwasserstoff 3. Bromwasserstoff + Phenol in Eisessig	211 180 212
Triphenylmethylgruppe  (Alkylamin)	TRI	1. Aminosäure + TRI·Cl + Ät ₂ NH 2. Aminosäure- bzw. Peptid- alkylester + TRI·Cl + Ät ₃ N (+ Verseifung) 3. Aminosäurebenzylester + TRI·Cl + Ät ₃ N (+ partielle Hydrierung)	213 170,181,214, 215,216,217 218	1. Katalytische Hydrierung 2. Salzsäure: a) 1-2-n in Alkohol oder Aceton, 1 Min. bei 100° oder mehrere Min. bei 20° b) 0,2-n in Eisessig, 5 Min. bei 50° oder 100° 3. Verdünnte wäßrige Essigsäure: a) 50prozentig, 2 Min. bei 100° b) 75prozentig, 30 Min. bei 30°	213 213,215,219 43,215 213,214 217
<i>t</i> -Butyloxycarbonylgruppe  (Urethan)	BOC	1. <i>t</i> -Butyl- <i>p</i> -nitrophenyl- carbonat 2. <i>t</i> -Butyloxycarbonylazid 3. <i>t</i> -Butanol + Isocyanfett- säureester	183,217 220,221 182,183,194	1. Trifluoressigsäure (wasserfrei) 1 Stunde bei 25° 2. Salzsäure: a) 2-n, 30 Min. bei 25° b) konzentriert, wenige Sek. bei 25° c) 1,33-n in Eisessig, 20 Min. bei 30° d) in Essigester e) 2-3-n HCl in Dioxan, 45 Min. bei 20° f) 1,8-n in Methanol, 1 Stunde bei 20° 3. Bromwasserstoff a) in Diäthylphosphit, 1 Min. bei 30° b) in Eisessig, wenige Sek. bei 20°	41,217 217 217 182 222 24 219 183 183

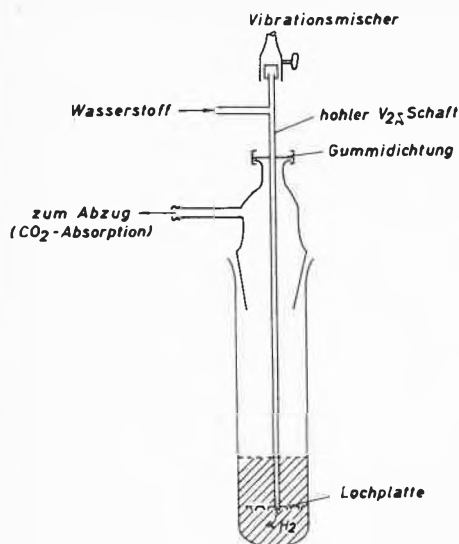


Abb. 2. Hydrierapparatur mit Vibrationsrührer

moderne Vibrationsrührer²²⁵ erheblich beschleunigen (Abb. 2).

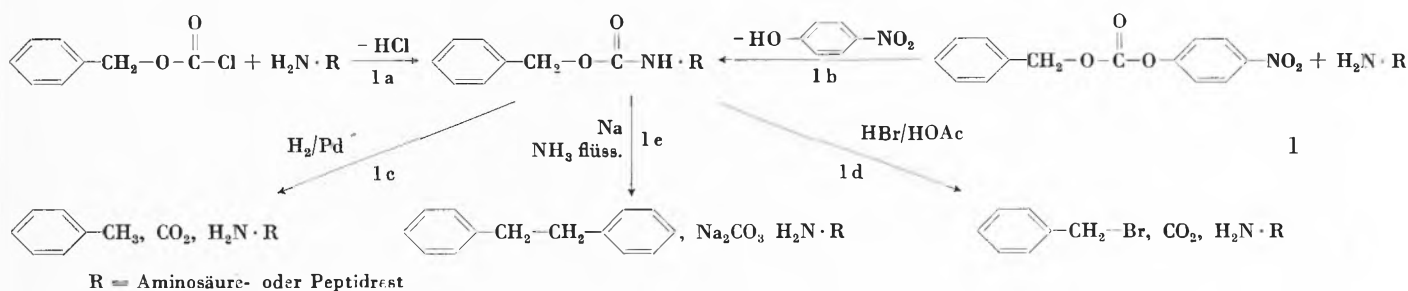
Bei Carbobenzoxydipeptidestern ist der Zusatz von Mineralsäure (HCl) notwendig, um durch Bildung des Ammoniumions Ringschluß zum Dioxopiperazin zu vermeiden, sonst genügt ein Tropfen Eisessig. Bei cystin- und cysteinhaltigen Peptiden versagt die Hydrogenolyse²⁰⁰. Von den acidolytischen Verfahren wird gewöhnlich die Ausführung mit Bromwasserstoff in Eisessig¹⁹⁰⁻¹⁹³ (1 d) angewendet. Unerwünschte Nebenreaktionen lassen sich unter modifizierten Bedingungen vermeiden (Tabelle 8).

Tabelle 8: Nebenreaktionen und deren Umgehung bei der Entfernung der Carbobenzoxygruppe mit HBr in Eisessig

Peptid enthält	Nebenreaktionen	Umgehung	Zitat
Serin	O-Acetylierung	HBr in Trifluoressigsäure	35, 36, 194
Tryptophan	Abbau	Zusatz von Diäthylphosphit	35, 170
Methionin	S-Benzilyerung	Zusatz von Methyläthylsulfid HBr in Trifluoressigsäure	35, 195 226
Nitroarginin	Teilweise Abspaltung der Nitrogruppe	Flüssige HBr (-67°C)	198
Estergruppen	Teilweise Verseifung	-	227, 228

über fünf Minuten konstante Blaufärbung das Ende der Reaktion anzeigt. Das Ammoniak läßt sich durch Gefriertrocknung im Wasserstrahlvakuum entfernen, wobei das Reaktionsprodukt als lockeres Pulver zurückbleibt¹³. Auf folgende Nebenreaktionen ist zu achten: Methonin wird entmethylt^{35, 231-233}. Threonin wird erst nach vier Stunden in geringem Maße angegriffen²³⁴. Spaltung der Lys-Pro-Bindung wurde beobachtet^{5c, 71}.

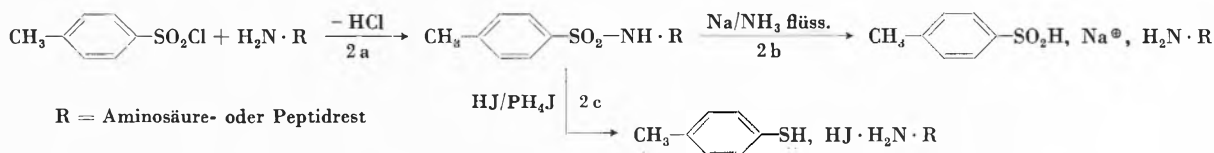
2. Die *p*-Toluolsulfonylgruppe¹⁸⁰ wird gewöhnlich mit Natrium in flüssigem Ammoniak²¹¹ durch Reduktion zur Sulfin säurestufe²³⁵ (Verbrauch von 2 Na^{13, 211}) abgespalten (2b). Bei α -Tosyl-aminosäuren eignet sich die Carbo-diimidmethode zur Knüpfung der Peptidbindung am besten. Infolge des induktiven Effektes der Tosylgruppe sind nämlich α -Tosylaminosäurechloride und -azide, insbesondere von Leucin und Valin, in wäßrigem Alkali zersezlich²³⁶, die gemischte Anhydridmethode gelingt nur



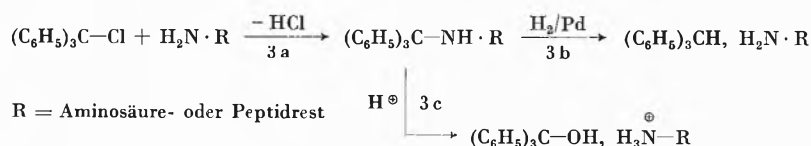
Es empfiehlt sich, nur absolut reinen und farblosen Bromwasserstoff in gereinigtem Eisessig zu verwenden²²⁹ und die Peptidderivate zuerst in Eisessig klar zu lösen und mit 4-n HBr/Eisessig auf 2-n einzustellen.

Die Spaltung mit Natrium in flüssigem Ammoniak^{199, 230} am Siedepunkt (-33,4°C) (1 e) führt man durch langsame Zugabe kleiner Mengen Natrium durch, bis eine

mit Pivaloylchlorid und Pyridin^{237, 238}, und einheitliche kristallisierte Nitrophenylester konnten von α -Tosylaminosäuren bisher nicht dargestellt werden²³⁹. Bei der Verwendung von Tosylpeptiden oder von seitenketten-tosylierten Aminosäuren, wie $N\epsilon$ -Tosyllysin²⁴⁰ oder N_g -Tosylarginin^{38, 241} (Beispiel 2) stört die Tosylgruppe nicht.

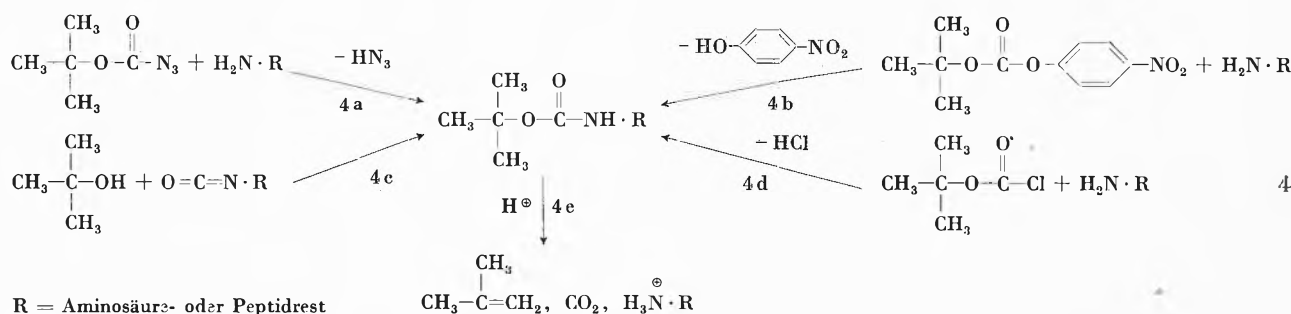


3. Die *Triphenylmethylgruppe*^{181,214,216} hat sich wegen ihrer schonenden Abspaltbarkeit durch verdünnte Säuren (3c) oder durch katalytische Hydrierung (3b) gut bewährt. In α -Trityl-Aminosäuren ist die Aktivierbarkeit der Carboxylgruppe durch sterische Hinderung vermindert, so daß z. B. bei gemischten Anhydriden die Reaktion mit der Aminkomponente zum Urethan dirigiert wird²¹³. Die Carbodiimidmethode eignet sich am besten²¹⁸. In Tritylpeptiden oder seitenketten-tritylierten Aminosäuren tritt keine sterische Hinderung auf^{170,213,218,242}. Oxytocin wurde unter ausschließlicher Verwendung der Tritylgruppe als Amin- und Mercaptanschutzgruppe synthetisiert⁸.



3

4. Die *t-Butyloxycarbonylgruppe*^{182,183} läßt sich säurekatalytisch in milder Weise entfernen (4e), wobei nur flüchtige Nebenprodukte (Isobutylen, CO₂) entstehen. Die Einführung in Aminosäuren und Peptide über das *t*-Butyloxycarbonylazid^{220,221} (4a) ist noch unbefriedigend, bedeutet aber schon einen wesentlichen Fortschritt gegenüber dem vorher verwendeten unbeständigen *t*-Butyloxycarbonylchlorid^{183,243} (4d), dem Phenyl- und dem *p*-Nitrophenylcarbonat¹⁸³ (4b) oder die entsprechenden Isocyanfettsäureester²⁴⁴⁻²⁴⁶ und *t*-Butanol^{182,194} (4c).



4

oder Tetrachlorkohlenstoff entfernen und verwendet als Katalysatoren meist Benzol- oder *p*-Toluolsulfonsäure (Tabelle 9). Peptide lassen sich leichter verestern^{270,271}, bisweilen quantitativ mit Benzylalkohol und HCl²⁹¹. Benzyl- und *p*-Nitrobenzylester lassen sich durch katalytische Hydrierung, mit Natrium in flüssigem Ammoniak oder durch alkalische Verseifung spalten. Die Nitrobenzylester sind gegenüber Bromwasserstoff in Eisessig stabil²⁴⁹ und werden bisweilen den dabei teilweise spaltbaren Benzylestern^{192,227,228,280,292} vorgezogen.

3. Die *t*-Butylester lassen sich säurekatalytisch sehr schonend spalten²⁹³, z. B. mit Trifluoressigsäure bei 20° in wenigen Minuten^{49,50}. Sie sind gegenüber alkalischer

Verseifung genügend stabil, um selektive Hydrolyse und Hydrazinolyse gleichzeitig vorhandener Methyl- und Äthyl-^{49,50} oder Benzylester²⁹⁴ zu ermöglichen. Sie sind zugänglich durch Veresterung mit Isobutylen und Schwefelsäure unter Druck oder durch Umesterung mit *t*-Butylacetat und Perchlorsäure (Tabelle 9).

4. *Substituierte Hydrazide* werden nach Abspaltung des Substituenten zur Azidsynthese eingesetzt. Man verwendet Carbobenzoxy-²⁸⁷, Trityl-^{288,289} und *t*-Butyloxycarbonylhydrazide^{26,88}, letztere ausgehend vom *t*-Butylcarbazat²²¹.

B. Carboxylschutzgruppen

Folgende Substituenten werden verwendet: Methyl- und Äthylester²⁴⁷, Benzyl-²⁴⁸ und *p*-Nitrobenzylester²⁴⁹, *t*-Butylester^{250,251}, substituierte Hydrazide und Carbonamid (Tabelle 9).

1. Die *Methyl-* und *Äthylester* aller Aminosäuren und vieler Peptide sind bekannt²⁴⁷. Die alkalische Verseifung kann bei Peptiden zunehmender Kettenlänge versagen⁴⁴ oder von Peptidspaltung begleitet sein, wie z. B. bei Serinpeptiden^{194,290}.

2. Bei der Darstellung der Aminosäurebenzylester muß man das Wasser durch azeotrope Destillation mit Benzol

5. Die *Carbonamidgruppe* dient zugleich als Schutzgruppe bei Glutamin und Asparagin und bei Peptiden mit C-terminalem Amid, z. B. Oxytocin, Vasopressin, α -MSH, Eleodoisin.

C. Spezielle Seitenkettenschutzgruppen

Die bisher beste Mercaptanschutzgruppe für Cysteinpeptide ist der durch Natrium in flüssigem Ammoniak abspaltbare¹⁹⁹ S-Benzylsubstituent^{118,296,297}. Die S-Tritylgruppe²⁹⁸ wurde bei einer Oxytocinsynthese verwendet⁸. Mit Cystin sind wenige Peptidsynthesen durchgeführt worden^{200,201,270,299-301}. Für eine Insulinsynthese

Tabelle 9: Carboxylschutzgruppen. Substitutions- und Spaltungsmethoden

Schutzgruppe	Verwandte Abkürzung	Einführung in Aminosäuren und Peptide	Zitat	Abspaltung	Zitat
Methylester Äthylester	OMe OÄt	1. Alkohol + Salzsäure 2. Alkohol + SOCl ₂ 3. Diazomethan * 4. Alkohol + Dicyclohexylcarbodiimid + Pyridin * 5. Dialkylsulfid + <i>p</i> -Toluolsulfonsäure	247,252-255 246,256 34,257-260 261,262 263	1. Alkalische Verseifung (NaOH in Aceton, Dioxan, Methanol, Dimethylformamid) 2. Saure Verseifung (HCl in Dioxan) 3. Chymotrypsin-Hydrolyse (Enzym-Substrat 1 : 10 000) 4. Amidbildung (trockenes Ammoniak in abs. Alkohol)	247,255 72,264 265 266-268
Benzylester	OBZL	1. Benzylalkohol + Säure, azeotrope Destillation: a) Benzolsulfonsäure/Benzol b) Salzsäure/Benzol c) Polyphosphorsäure d) <i>p</i> -Toluolsulfonsäure/Benzol e) Benzolsulfonsäure/CCl ₄ f) Sulfurylchlorid/Tetrachloräthan * 2. Diazotoluol * 3. Dibenzylsulfid + <i>p</i> -Toluolsulfonsäure	248 269-271 272 273,274 63,275 276 277 263	1. Katalytische Hydrierung 2. Bromwasserstoff in Eisessig, 2 Std. bei 50 bis 70 ° 3. Natrium in flüssigem Ammoniak 4. Alkalische Verseifung 5. Amidbildung	278,279 191,280 281 201,249,282 266,267
<i>p</i> -Nitrobenzylester	ONB	1. <i>p</i> -Nitrobenzylchlorid (-bromid) Triäthylamin * 2. <i>p</i> -Nitrobenzylalkohol + Benzolsulfonsäure/CCl ₄	87,249,283 275	1. Katalytische Hydrierung 2. Alkalische Verseifung	87,249,284 87
<i>t</i> -Butylester	OBu ^t	1. Isobutylen + H ₂ SO ₄ a) Aminosäuren b) Acylaminosäuren 2. <i>t</i> -Butylacetat + HClO ₄ a) Aminosäuren b) Acylaminosäuren	250 251 285 286	1. Wasserfreie Trifluoressigsäure wenige Minuten bei 20 ° 2. Bromwasserstoff in Eisessig 3. <i>p</i> -Toluolsulfonsäure	49,50 250,251 251
Substituierte Hydrazide		Allgemeine Methoden der Peptidknüpfung mit: a) Carbobenzoylhydrazid -N ₂ H ₂ -Z b) <i>t</i> -Butyloxycarbonylhydrazid -N ₂ H ₂ -BOC c) Tritylhydrazid -N ₂ H ₂ -TRI	Carbobenzoylhydrazin * <i>t</i> -Butylcarbazat * Tritylhydrazin *	287 26,88 288,289	Siehe unter Abspaltung von N-Schutzgruppen in Tabelle 7
Carbonamid	-NH ₂	1. Esteraminolyse 2. Allgemeine Methoden der Peptidknüpfung + Ammoniak *	266-268	Keine	

* nur mit N-geschützten Aminosäure- bzw. Peptidderivaten

würden weitere selektive Mercaptanschutzgruppen benötigt³⁰². Synthesebedingungen mit ungeschützten Seitenkettenfunktionen sind für Histidin³⁰³, Serin und Threonin³⁰⁴ sowie Tyrosin³⁰⁴ ausgearbeitet worden. Bisweilen benutzt man N_{im}-Benzyl-^{211,305}, N_{im}-Trityl-^{214,215} oder N_{im}-Carbobenzoylhistidinderivate^{307,308}, O-Benzylserin^{197,308,309} und O-Benzyl-³¹⁰, O-Trityl-²¹⁸ oder O-Carbobenzoyltyrosinderivate³¹¹. Die Guanidogruppe des Arginins kann außer durch die besprochenen Aminschutzgruppen (Z³¹², Tos^{38,241}) auch durch die Nitrogruppe^{313,314} oder durch Protonisierung³¹⁵ geschützt werden.

D. Wahl der geeignetsten Schutzgruppen

Bei der Planung einer Synthese setzt man die Schutzgruppen so ein, daß die erforderlichen Teilpeptide in einheitlicher Form dargestellt werden können. Vom Endprodukt sollten im Idealfall alle Schutzgruppen mit einer einzigen schonenden Operation entfernt werden können. Zur Erleichterung einer solchen Auswahl sind in Tabelle 10 die Stabilitäten der besprochen Schutzgruppen gegenüber den gebräuchlichen Spaltungsverfahren unter Standardbedingungen zusammengestellt.

Tabelle 10: Stabilität und Abspaltung der Schutzgruppen unter Standardbedingungen

	Abspaltungsreaktion					
	Katalytische Hydrierung H ₂ /Pd	Reduktion mit Na in flüss. NH ₃ Na/flüss. NH ₃	Acidolytische Spaltung			Alkalische Verseifung NaOH
			HBr/Eisessig	CF ₃ COOH	verd. Essigsäure	
N-Schutzgruppen:						
N-Carbobenzyloxy	+	+	+	—	—	—
N- <i>p</i> -Toluolsulfonyl	—	+	—	—	—	—
N-Triphenylmethyl	+	+	+	+	+	—
N- <i>t</i> -Butyloxycarbonyl	—	—	+	+	—	—
C-Schutzgruppen:						
Methyl-, Äthylester	—	×	—	—	—	+
Benzylester	+	+	+	—	—	+
<i>p</i> -Nitrobenzylester	+	—	—	—	—	+
<i>t</i> -Butylester	—	—	+	+	—	—
Amid	—	—	—	—	—	×
Andere Schutzgruppen:						
S-Benzylgruppe	×	+	—	—	—	—
O-Benzyläther	+	+	+	—	—	—

+ abspaltbar — stabil × unverträglich (Nebenreaktionen)

4. Die leistungsfähigen Methoden zur Knüpfung der Peptidbindung

Die vier für höhere Peptide bewährten Synthesemethoden werden im Hinblick auf die fünf Kriterien: Razemisierung, Nebenreaktionen, Aufarbeitung, Ausbeute und Dauer besprochen.

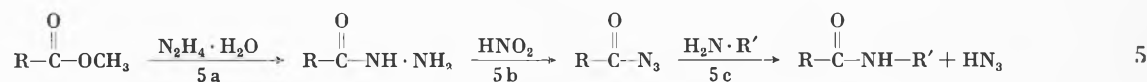
A. Die *Azidmethode*³¹⁶ verläuft über zwei Stufen.

1. Stufe: Darstellung der meist kristallinen N-geschützten Aminosäure- oder Peptidhydrazide aus einem entsprechenden Ester mit Hydrazinhydrat in Alkohol^{63, 316} oder Dimethylformamid⁶⁹ (5a).

2. Stufe: Umsetzung des in verdünnter Salzsäure gelösten Hydrazids mit Nitrit zum Azid (5b), das man in Äthylacetat oder nach Isolierung des festen Azids^{12, 25, 34, 50, 88, 317} in Dimethylformamid mit der Aminkomponente reagieren läßt (5c).

reaktionen weitgehend zurückgedrängt. Die *Aufarbeitung* wäre beim quantitativen Verlauf sehr einfach, da nur gasförmige Stickstoffwasserstoffsäure als Nebenprodukt entsteht. Unumgesetzte Ausgangskomponenten entfernt man durch Waschen des Reaktionsproduktes in Äthylacetat mit verd. Salzsäure und Hydrogencarbonatlösung. Die infolge von Nebenreaktionen entstandenen unerwünschten Produkte sind oft nur schwierig abzutrennen³¹⁷. Die *Ausbeuten* liegen meist zwischen 30% und 70%, die *Dauer* beträgt vier bis sechs Tage, einschließlich der Hydraziddarstellung (einen bis drei Tage).

B. Die *Carbodiimidmethode*³²⁹ wurde für Peptidsynthesen zuerst von SHEEHAN und HESS angewendet^{330, 331}. Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) wird fast ausschließlich verwendet. Man fügt es zu einer auf 0° gekühlten¹⁶⁷ möglichst konzentrierten³³² Lösung der Carboxyl- und



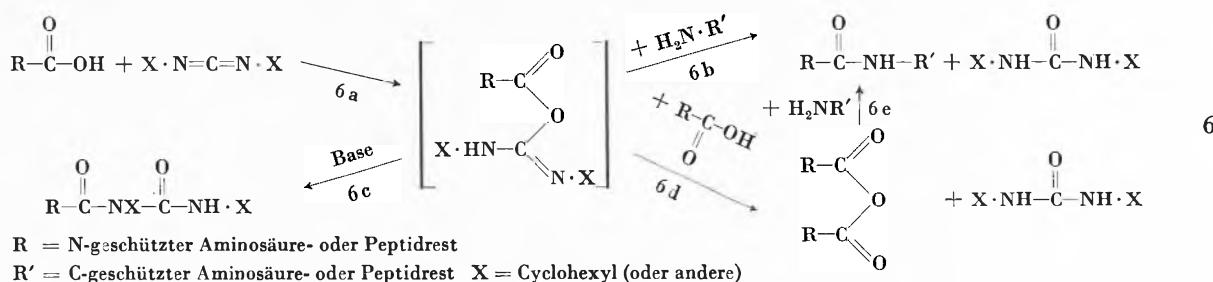
R = N-geschützter Aminosäure- oder Peptidrest

R' = freier oder C-geschützter Aminosäure- oder Peptidrest

Kriterien: Die Azidmethode ist die einzige, bei der *Razemisierung* bisher noch nicht beobachtet wurde^{162, 164, 165}. Dagegen wurden viele *Nebenreaktionen* gefunden^{318, 319}, z. B.: Amidbildung^{63, 320, 321}, Curtius-Abbau zu Isocyanaten, die Harnstoffe³²²⁻³²⁴ oder Urethane^{325, 326} bilden, Bishydrazidbildung^{290, 303, 327}, Kernnitrierung von Tyrosin³²⁸, Zersetzung von α -Tosylaminosäureaziden²³⁶, Oxydation von S-Benzylcysteinderivaten zu Sulfoxiden³¹⁸. In der Kälte (-10° bis +5°) werden viele Neben-

Aminkomponenten³³³ (6a, b). Man kann auch wasserhaltige Lösungsmittel verwenden^{10, 13, 133, 330}. Das ist ein großer Vorteil bei höheren Peptiden, die in wasserfreien organischen Lösungsmitteln oft sehr schwer löslich sind. Verschiedene Reaktionsmechanismen werden diskutiert (z. B. Reaktionsfolgen 6a b^{332, 334} bzw. 6a d e^{335, 336}).

Kriterien: Die *Razemisierung* läßt sich durch Kühlen auf 0° vor Zugabe des Carbodiimids und bei Verwendung möglichst unpolarer Lösungsmittel^{164, 165, 167} meist auf

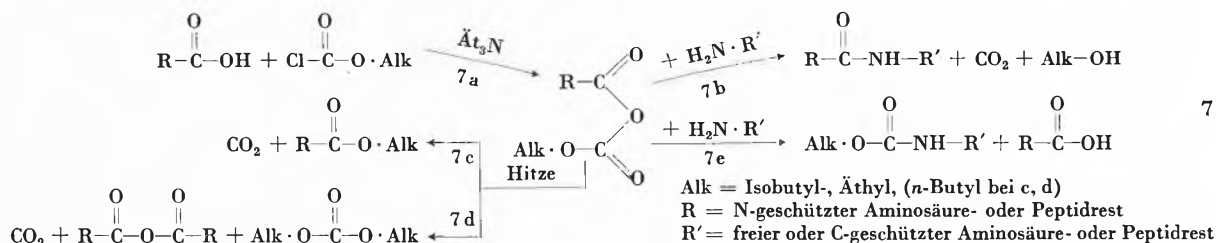


unter 1% halten, erreicht aber manchmal 30%¹⁸ bis 50%²⁷¹. Eine oft sehr störende *Nebenreaktion* ist die Bildung von N-Acyldicyclohexylharnstoffen (6c)^{58, 165, 331, 337-339}, die nicht mehr acylierend reagieren³³⁴ und sich schlecht abtrennen lassen. In Acetonitril soll diese Nebenreaktion zurückgedrängt sein^{194, 331}. Bei der Aktivierung von Asparagin- und Glutaminderivaten wurde teilweise Dehydratisierung der Carbonamidgruppen zu Nitrilen beobachtet^{340, 341}. Die *Aufarbeitung* ist bei leichtlöslichen kleinen Peptiden sehr einfach, da der schwerlösliche Dicyclohexylharnstoff (DCH) meist nahezu quantitativ auskristallisiert. Schwerlösliche höhere Peptide reinigt man durch wiederholtes Waschen mit siedendem Methanol. Die völlige Entfernung von DCH ist meist mühsam. Mit modifizierten Carbodiimiden^{16, 78, 342, 343}, die lösliche Harnstoffderivate bilden, läßt sich diese Schwierigkeit vermeiden. Die Ausbeuten liegen zwischen 30% und 80%, die *Dauer* beträgt zwei bis vier Tage.

C. Die *gemischte Anhydridmethode*^{343a}. Von den verschiedenen Hilfssäuren (Carbonsäuren^{344, 345}, Schwefelsäure^{166, 346}, Phosphorsäureester^{196, 347-349}) haben sich die Kohlensäurehalbester³⁵⁰⁻³⁵² am besten bewährt. Man läßt die Lösung³⁵³ der N-geschützten Aminosäuren oder

^{164, 165, 354}. Daher knüpft man in höheren Peptiden möglichst nur Glycyl- oder Prolylbindungen über gemischte Anhydride. In Tetrahydrofuran ist die Razemisierungsgefahr am kleinsten. *Nebenreaktionen* der Aminkomponente mit der Hilfssäure^{237, 355} zum Urethan (7e) wurden bei α -Trityl-²¹⁸ und α -Tosylaminosäuren²³⁸ beobachtet. Die thermische Zersetzung von Carbonyl-carboxy-anhydriden einesteils zum Ester (7c), anderenteils zum symmetrischen Anhydrid und Dialkylcarbonat (7d) wurde an Benzoesäure-*n*-butyloxycarbonyl-anhydrid kinetisch gemessen³⁵⁶. Bei Glycin wurde N-Acyamidbildung beobachtet³⁵⁷. Die *Aufarbeitung* ist einfach, da nur flüchtige Nebenprodukte (CO₂, Isobutanol bzw. Äthanol) entstehen. Die *Ausbeuten* betragen 40% bis 95% und die *Dauer* einen Tag. Die gemischte Anhydridmethode erfordert somit den geringsten Zeitaufwand

D. Die *Nitrophenylestermethode*. Von den zahlreichen aktivierten Estern^{260, 283, 358-367} haben sich die *p*-Nitrophenylester³⁵⁹ aus folgenden Gründen am besten bewährt: 1. Sie sind in guten Ausbeuten durch Umsetzung von Carbobenzoylamino-säuren^{4, 262, 368, 369} oder -peptiden^{47, 365, 370} und *p*-Nitrophenol mit Dicyclohexylcarbodiimid zugänglich, vgl. auch^{370, 371}. 2. Die Carbobenzoyl-



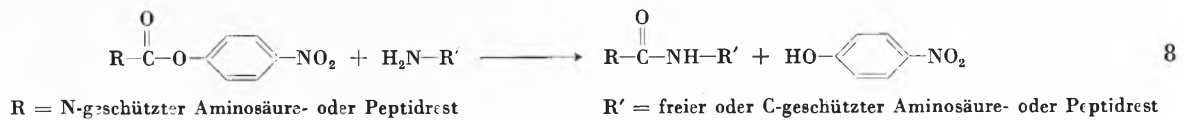
Peptide in Gegenwart von Triäthylamin 10 bis 15 Minuten bei -5° bis -10°C mit Chlorameisensäureisobutylester³⁵² oder -äthylester³⁵¹ reagieren (7a) und gibt dann die Aminkomponente zu (7b).

Kriterien: Die *Razemisierung* ist bei der Aktivierung von Peptiden oft sehr hoch und manchmal vollständig⁸³,

aminosäure-*p*-nitrophenylester sind wohldefinierte kristalline Substanzen und bei Raumtemperatur im Dunkeln unbegrenzt haltbar. 3. Sie sind ohne zusätzliche Manipulation für eine Peptidsynthese einsatzfähig. In Tabelle 11 sind die bekannten Nitrophenylester aufgeführt.

Tabelle 11: *p*-Nitrophenylester geschützter L-Aminosäuren

Geschützte Aminosäure	Formel Abkürzung	Schmelz- punkt	Optische Drehung (α) _D α°	Drehung (α) _D $T(^{\circ}\text{C})$	c	Lösungsmittel	Zitat
Carbobenzoxy-L-alanin-	Z·Ala·ONP CN (β)	79–79,5	–38,0	25	1,4	Äthylacetat	372
Carbobenzoxy- β -cyano-L-alanin-	Z·Ala·ONP	136–137	–81,8	20	2	Aceton	373
Acetyl- β -alanin-	Ac- β -Ala·ONP	111–113					374
Benzoyl- β -alanin	Bz- β -Ala·ONP	163–164					374
Phthaloyl- β -alanin	Phth- β -Ala·ONP	210–212					374
Phthaloyl- γ -aminobuttersäure	(Z) ₂	131–132					374
Tri-Carbobenzoxy-L-arginin-	Z·Arg·ONP Tos	126–127					142
N $_{\alpha}$ -Carbobenzoxy-N $_{\epsilon}$ -tosyl-L-arginin-	Z·Arg·ONP NH ₂	50–60	–13,5	23	1,2	DMF	27
Carbobenzoxy-L-asparagin-	Z·Asp·ONP OBZL	165–166	–31,5	20	2	DMF	4
N-Carbobenzoxy- β -O-benzyl-L-asparaginsäure-	Z·Asp·ONP	76	–16,6	22	1	DMF	24
N $_{\alpha}$ -Carbobenzoxy-L-citrullin-	Z·Cit·ONP BZL	163–165	–19	20	1	DMF	124
N-Carbobenzoxy-S-benzyl-L-cystein-	Z·Cys·ONP NBZL	93–94	–43	20	2	DMF	4,360,364,372
N-Carbobenzoxy-S- <i>p</i> -nitrobenzyl-L-cystein-	Z·Cys·ONP NH ₂	105–107	–39,8	28	1,03	DMF	73
Carbobenzoxy-L-glutamin-	Z·Glu·ONP OBZL	155–156	–24	20	2	DMF	4
Carbobenzoxy- γ -O-benzyl-L-glutaminsäure-	Z·Glu·ONP OMe	111	–20,4	25	3,2	Äthylacetat	372
Carbobenzoxy- γ -O-methyl-L-glutaminsäure-	Z·Glu·ONP ONP	108	–33,8	25,5	2	DMF	375,376
Carbobenzoxy- α -O-benzyl-L-glutaminsäure- γ -	Z·Glu·OBZL ONP	66–67	–28,2	22	0,55	ÄtOH	376
Carbobenzoxy- α -S-äthyl-L-glutaminsäure- γ -	Z·Glu·SÄt	98–99	–22,4	25	1,02	95% HOAc	377
Carbobenzoxy-glycin-	Z·Gly·ONP Z	124–125	–	–	–	–	364
Dicarbobenzoxy-L-histidin-	Z·His·ONP BZL	109–110					378
Carbobenzoxy-S-Benzyl-L-homocystein-	Z·homo Cys·ONP	74,5–75,5	–35,8	20,5	1,23	MeOH	103
Carbobenzoxy-L-isoleucin-	Z·Ile·ONP	60–62	–15,5	20	2	DMF	4
Carbobenzoxy-L-leucin-	Z·Leu·ONP Tos	95	–33,5	20	2	DMF	4,364
N $_{\alpha}$ -Carbobenzoxy-N $_{\epsilon}$ -tosyl-L-lysin-	Z·Lys·ONP BOC	109–110	–16,5	20	2	DMF	14
N $_{\alpha}$ -Carbobenzoxy-N $_{\epsilon}$ - <i>t</i> -Butyloxycarbonyl-L-lysin-	Z·Lys·ONP Z	88–91	–14,8	26	1,13	Aceton	217
Dicarbobenzoxy-L-lysin-	Z·Lys·ONP	63	–19	21	1	DMF	30
Carbobenzoxy-L-phenylalanin-	Z·Phe·ONP	126–126,5	–24,7	20	2	DMF	107,372
Carbobenzoxy-L-prolin-	Z·Pro·ONP BZL	94–96	–68	20	2	DMF	4,372
Carbobenzoxy-O-benzyl-L-serin-	Z·Ser·ONP	55–57	–12	20	2	DMF	124
Carbobenzoxy-L-tryptophan-	Z·Try·ONP	103–105	–4,3	25	2	DMF	378
N-Carbobenzoxy-L-tyrosin-	Z·Tyr·ONP BZL	158–159	–16,3 –8,1	27	1 1	Aceton Aceton	379 365
N-Carbobenzoxy-O-benzyl-L-tyrosin-	Z·Tyr·ONP Z	148–150	–9	20	2	DMF	4
N,O-Dicarbobenzoxy-L-tyrosin-	Z·Tyr·ONP	135–137	–10,5	26	2	Aceton	365
Carbobenzoxy-L-valin-	Z·Val·ONP	63	–24,4	20	2	DMF	364



Die Aminolyse zum Peptid bei Raumtemperatur (8)³⁸⁰ wird durch Eisessig (5 bis 10 Mol-%) katalysiert^{362,381}.

Kriterien: In Synthesen mit gliedweiser Kettenverlängerung konnte bisher keine merkliche *Razemisierung* von Carbobenzoxyaminosäure-*p*-nitrophenylestern festgestellt werden^{4,14,28,375}, in 2prozentiger Lösung in Dimethylformamid bei 20° in Gegenwart von 1% Triäthylamin können sie jedoch *razemisieren*³⁸². Katalytische Mengen Eisessig sind bei Nitrophenylestersynthesen auch aus diesem Grunde empfehlenswert. Bei der Darstellung von N-geschützten Peptid-*p*-nitrophenylestern wurde teilweise oder vollständige *Razemisierung*

nicht ausschließlich mit einer Methode synthetisieren. Für den Erfolg ist eine detaillierte Planung erforderlich, in der die jeweils geeignetsten Schutzgruppen und Methoden kombiniert werden. Die Aufteilung der Sequenz in Fragmente erfolgt bevorzugt an Glycyl- und Prolylbindungen, bei deren Knüpfung keine *Razemisierung* eintritt. Falls eine vorhergeplante Operation versagt, sollte man ohne großen Material- und Zeitverlust eine andere Reaktionsfolge ausführen können. Für eine solche Auswahl kann die vergleichende Bewertung der Methoden in Tabelle 13 anhand der besprochenen Kriterien (Tabelle 12) als Anhalt dienen.

Tabelle 12: Kriterien zur Bewertung der Peptidsynthesemethoden

Kriterien	Azidmethode	Dicyclohexylcarbodiimidmethode	Gemischte Anhydridmethode	Nitrophenylestermethode
Razemisierung	Keine	Bis zu 50% (bei 0°C arbeiten, möglichst unpolare Lösungsmittel)	Bis zu 100% (in THF arbeiten)	Gering (Überschuß Triäthylamin vermeiden)
Nebenreaktionen	Amidbildung, Isocyanat (Curtius-Abbau), Harnstoffe, Urethane, Bis-Hydrazide, Nitrierung, Thioätheroxydation, Zersetzung von Tosyl-Aminosäure-Azid	N-Acylharnstoffe, Nitrilbildung aus Carbonamiden	Zersetzung bei Temperaturen über +5°C, Reaktion mit der Hilfssäure, N-Acylamidbildung (bei Glycin)	Keine (bei Z-Aminosäure-über +5°C, Reaktion mit der Nitrophenylestern)
Aufarbeitung	HN ₃ entweicht gasförmig	Schwerlöslicher Dicyclohexylharnstoff kristallisiert aus, Auskochen schwerlöslicher Peptide mit Methanol	CO ₂ entweicht Isobutanol } = flüchtig Äthanol }	Nitrophenolentfernung: Auswaschen des Peptides mit Bicarbonat oder Ammoniak, Umfällen aus DMF/Äther bzw. DMF/Wasser, Auskochen mit Äther, Aluminiumoxydsäule
Ausbeute (in %)	30 bis 70	30 bis 80	40 bis 95	50 bis 100
Dauer (Tage)	4 bis 6	2 bis 4	1	2 bis 3

beobachtet^{365,370,383}. *Nebenreaktionen* wurden mit Carbobenzoxyaminosäure-*p*-nitrophenylestern bisher nicht beobachtet, während aus einigen Carbobenzoxydipeptid-*p*-nitrophenylestern durch intra- und intermolekulare N-Acylamidbildung Dioxopiperazine entstehen können³⁸⁴. Bei der *Aufarbeitung* ist es oft mühsam, das *p*-Nitrophenol völlig zu entfernen. Aus vollständig geschützten Peptiden lassen sich letzte Spuren beim Passieren einer Säule aus neutralem Aluminiumoxyd entfernen. Die *Ausbeuten* sind ausgezeichnet (50 bis 100%) und die *Dauer* einer Synthese beträgt zwei bis drei Tage.

Die besprochenen Kriterien sind in Tabelle 12 zusammengestellt.

E. Anwendungsbereich, Vorteile und Grenzen der vier Methoden. Höhere Peptide kann man im allgemeinen

Azid- und Carbodiimidmethode eignen sich besonders für die Fragmentenkondensation, Nitrophenylester- und

Tabelle 13: Vergleichende Bewertung der Peptidsynthesemethoden

Kriterien	Azid	Carbodiimid	Gemischtes Anhydrid	Nitrophenylester
Optische Reinheit	++	-	--	+
Einheitliche Reaktion	--	-	+	++
Aufarbeitung	++	-	+	--
Ausbeute	--	-	+	++
Dauer	--	-	++	+
Sehr gut	++, +, -, --	ungünstig		

gemischte Anhydridmethode für die gliedweise Kettenverlängerung. α -Carbobenzoxyminosäuren sind dafür wegen minimaler Razemisierungsgefahr am geeignetsten. Azid-, gemischte Anhydrid- und Nitrophenylestersynthese erlauben den Einsatz von Aminkomponenten mit freier Carboxylgruppe. Razemisierungsfrei verläuft nur die Azidsynthese. Sie ist die wertvollste Methode zur Darstellung konformativ einheitlicher höherer Peptide. Große Nachteile sind dabei geringe Ausbeuten und Löslichkeitsprobleme. Frei von Nebenreaktionen scheint die gliedweise Nitrophenylestermethode zu sein, die auch die besten Ausbeuten liefert. Die Aufarbeitung ist gewöhnlich bei der Carbodiimid- und der Nitrophenylestermethode am mühsamsten, dafür ist bei beiden das Ansetzen der Reaktion sehr einfach. In kürzester Zeit arbeitet die gemischte Anhydridsynthese, bei der aber die starke Razemisierungstendenz und Löslichkeitsschwierigkeiten nachteilig sind.

Es gibt bisher keine ideale Methode, und die Suche nach neuen Aktivierungsverfahren (vgl. ³⁸⁵) und Schutzgruppen (vgl. ³⁸⁶) ist weiterhin sehr aktuell.

5. Ausgewählte Synthesebeispiele

An fünf Synthesen wird gezeigt, wie die Schutzgruppen und Methoden in verschiedener Weise kombiniert werden können. Die Aufzeichnung in übersichtlichen Syntheseschemata^{44, 78} hat sich als sehr zweckmäßig erwiesen. Zusätzlich zu den physikalischen Daten in der Darstellungsart nach SCHWYZER^{48, 78} (kristalline Produkte sind stark unterstrichen) sind in den Abbildungen 3 bis 7 die Reaktionsbedingungen, die Lösungsmittel (in eckigen Klammern) und die Ausbeuten angegeben. Der Verlauf der Synthesen ist in den Schemata ersichtlich. Die Synthesen weisen folgende Besonderheiten auf:

Beispiel 1, Abb. 3. Bei dieser Synthese des *Lysin-Vasopressins*¹⁴ durch gliedweise Kettenverlängerung um je eine Aminosäure ausschließlich mit der Nitrophenylestermethode wurde die Schutzwirkung der Carbobenzoxygruppe in α -Stellung gegen Razemisierung ausgenutzt und die bislang höchste Durchschnittsausbeute pro Peptidknüpfung (92,8%) beim Aufbau eines Peptids dieser Länge erzielt. Alle Zwischenstufen konnten kristallin isoliert werden. Das umkristallisierte geschützte Nonapeptid lieferte nach Abspaltung der Schutzgruppen direkt ein hochaktives Präparat (83prozentig), das durch Chromatographie am Kationenaustauscher Amberlite IRC-50 im Gramm-Maßstab das vollaktive Hormon ergab.

Die Beispiele 2 bis 4 zeigen, wie an gleichen Sequenzen die Fragmentenkondensation in verschiedener Weise angewendet wurde.

Beispiel 2, Abb. 4. Bei dieser Synthese der *ACTH-Sequenz 1-19*^{46, 47} wurde die Unterteilung in Fragmente zur Umgehung der Razemisierungsgefahr bei deren Verknüpfung zweimal an Glycylbindungen (10/11 und 14/15)

vorgenommen und das N-terminale Fragment 1-4 mit der Azidmethode eingebaut. Als selektive Aminschutzgruppen dienten der Carbobenzoxysubstituent für die α -Aminogruppen, der Tosylsubstituent für die ϵ -Aminogruppe des Lysins und die Guanidogruppe des Arginins sowie der Benzylsubstituent für den Imidazolkern des Histidins. Alle vier besprochenen Synthesemethoden wurden angewendet. Amorphe Zwischenprodukte wurden durch Gegenstromverteilung gereinigt. Mit dieser Synthese gelang es zum ersten Mal, ein Präparat mit adrenocorticotroper Wirksamkeit (etwa 40% vom ACTH) darzustellen.

Beispiel 3, Abb. 5. Diese Synthese der *ACTH-Sequenz 1-10*⁵⁰ ist ein Teil einer eleganten Synthese des Tetracontapeptids ACTH-1-24^{49, 386}, des größten bisher synthetisierten Peptids. Neben dem Carbobenzoxysubstituenten für die α -Aminogruppen und dem Nitrosobstituenten für die Guanidogruppe des Arginins sowie der Methylestergruppe fanden die säurekatalytisch in sehr milder Weise abspaltbaren *t*-Butyloxycarbonylgruppe und *t*-Butylester Verwendung. Das geschützte Dekapeptid wurde kristallin isoliert und eignet sich mit dem C-terminalen Glycin vorzüglich zur Verknüpfung mit den Fragmenten 11-19 bzw. 11-24³⁸⁶.

Beispiel 4, Abb. 6. Bei dieser α -MSH-Synthese³⁵ wurde der Tritylsubstituent als Aminschutzgruppe neben dem Carbobenzoxy- und dem *t*-Butyloxycarbonylsubstituent verwendet. Die Guanidogruppe des Arginins blieb während der ganzen Synthese durch Protonisierung blockiert. Die Carbodiimid- und die Azidmethode wurden verwendet. Die konformativ einheitliche amorphe Zwischenprodukte wurde durch die vollständige Spaltbarkeit mit Leucinaminopeptidase (LAP) nachgewiesen.

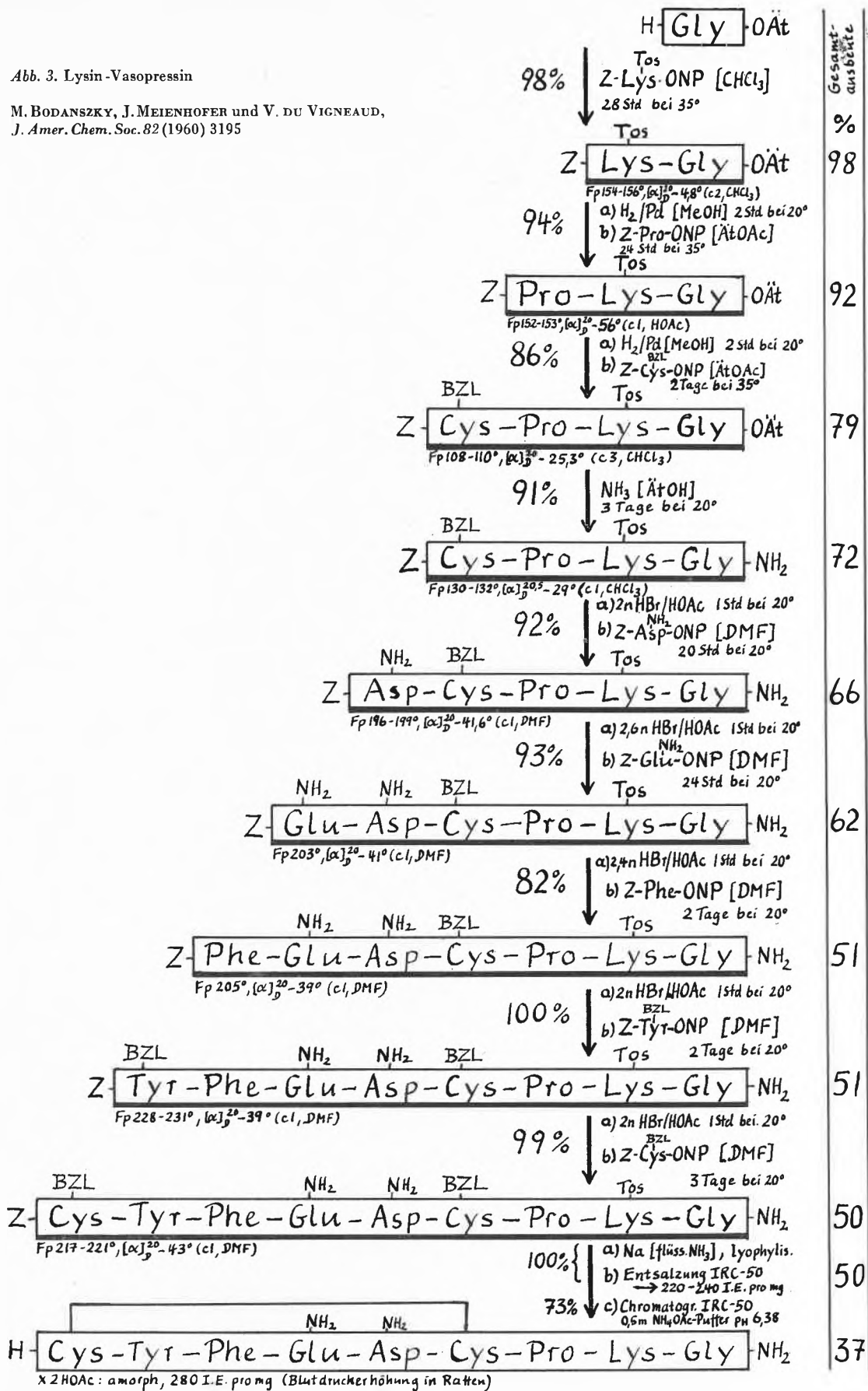
Beispiel 5, Abb. 7. Das *Glutamin⁵-N ϵ -formyllysin¹¹- α -MSH*³⁴ wurde mittels der Carbodiimid-, gemischten Anhydrid- und Azidmethode synthetisiert, wobei zweimal in fester Form isolierte Azide Verwendung fanden. Der zum Schutz der ϵ -Aminogruppe des Lysins verwendete Formylsubstituent hat im allgemeinen wenig Anwendung gefunden, da er schwierig abzuspalten ist, vgl. ^{52, 277, 387}. Die Gegenstromverteilung diente häufig zur Reinigung von Zwischenprodukten. Die konformativ einheitliche der Peptidderivate wurde nach Entfernung der Schutzgruppen mit Leucinaminopeptidase geprüft. Das Derivat wies die gleiche Aktivität auf wie natürliches α -MSH.

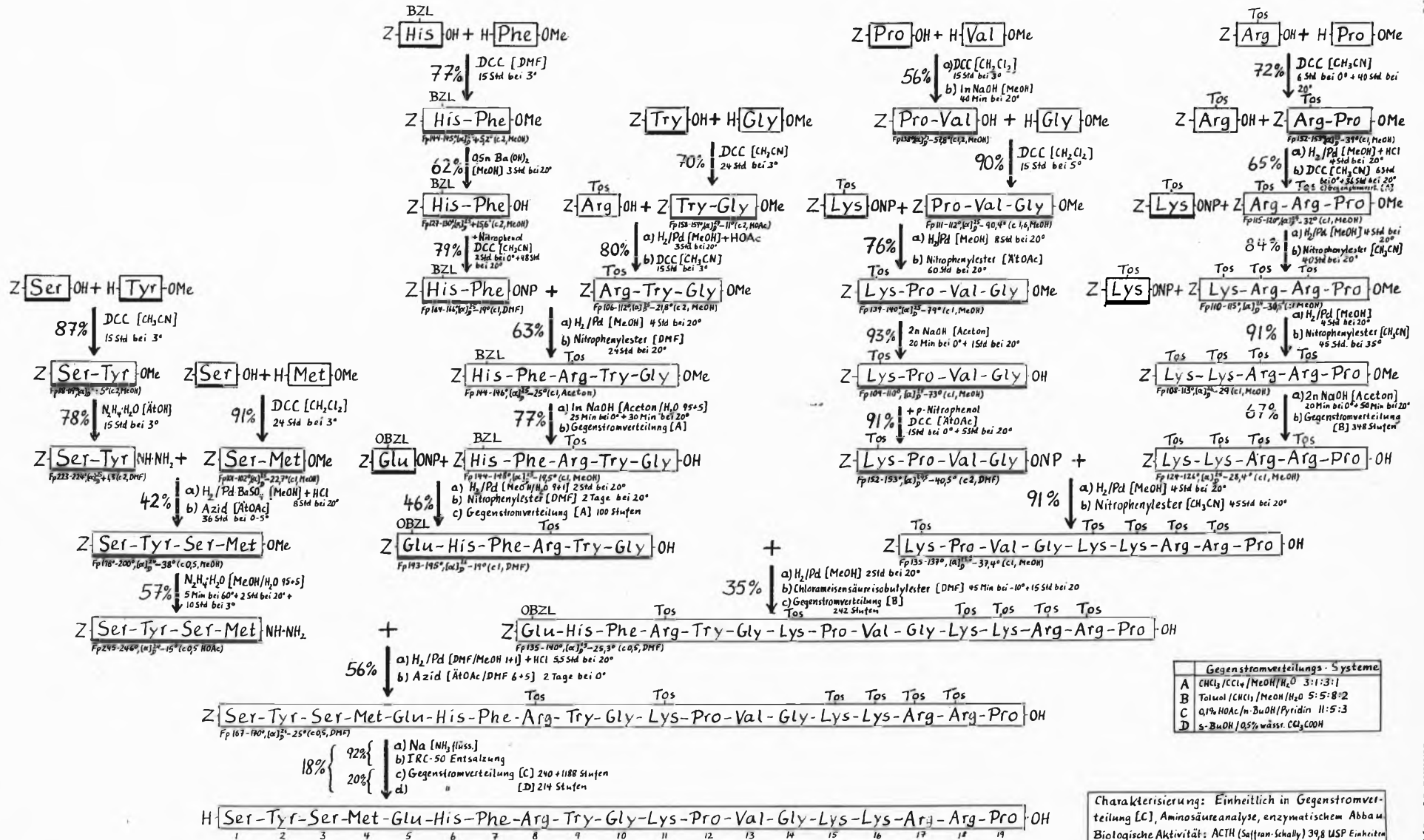
Diese Auswahl von Beispielen sollte dazu dienen, einen Einblick in Problematik und Möglichkeiten der heutigen Peptidsyntheseforschung zu geben. Obgleich die Schwierigkeiten mit wachsender Kettenlänge gewaltig zunehmen, sind mit den gegenwärtig verfügbaren Methoden viele weitere erfolgreiche Synthesen von Peptidwirkstoffen und möglicherweise auch von kleinen Proteinmolekülen zu erwarten.

Dem Bundeswirtschaftsministerium und der AIF wird für die Unterstützung der Arbeiten auf dem Peptidgebiet (J 399) gedankt.

Abb. 3. Lysin-Vasopressin

M. BODANSZKY, J. MEIENHOFER und V. DU VIGNEAUD,
J. Amer. Chem. Soc. 82 (1960) 3195

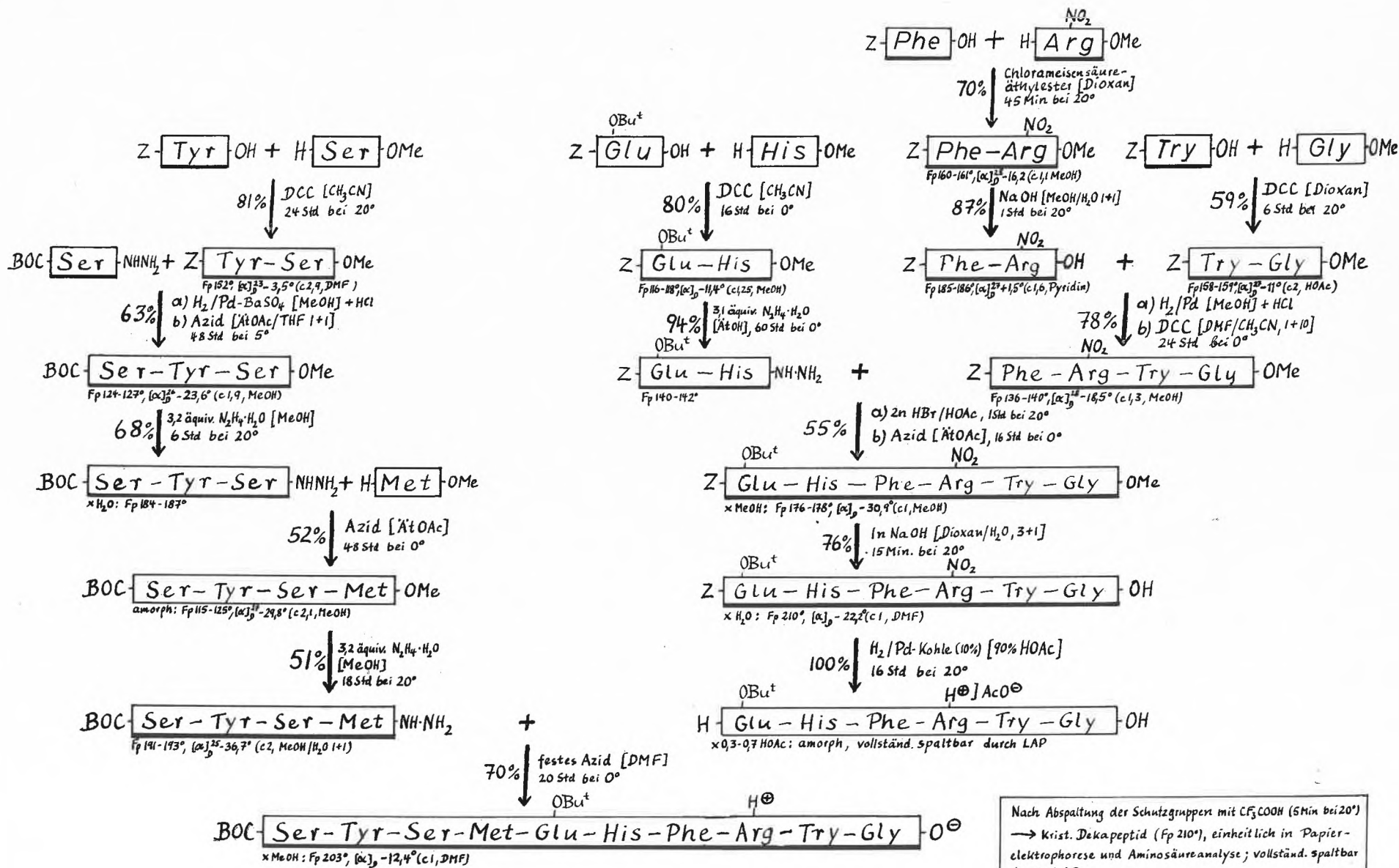




Gegenstromverteilungs-Systeme	
A	CHCl ₃ /CCl ₄ /MeOH/H ₂ O 3:1:3:1
B	Toluol/CHCl ₃ /MeOH/H ₂ O 5:5:8:2
C	0,1% HOAc/n-BuOH/Pyridin 11:5:3
D	s-BuOH/0,5% wässr. CaCl ₂ COOH

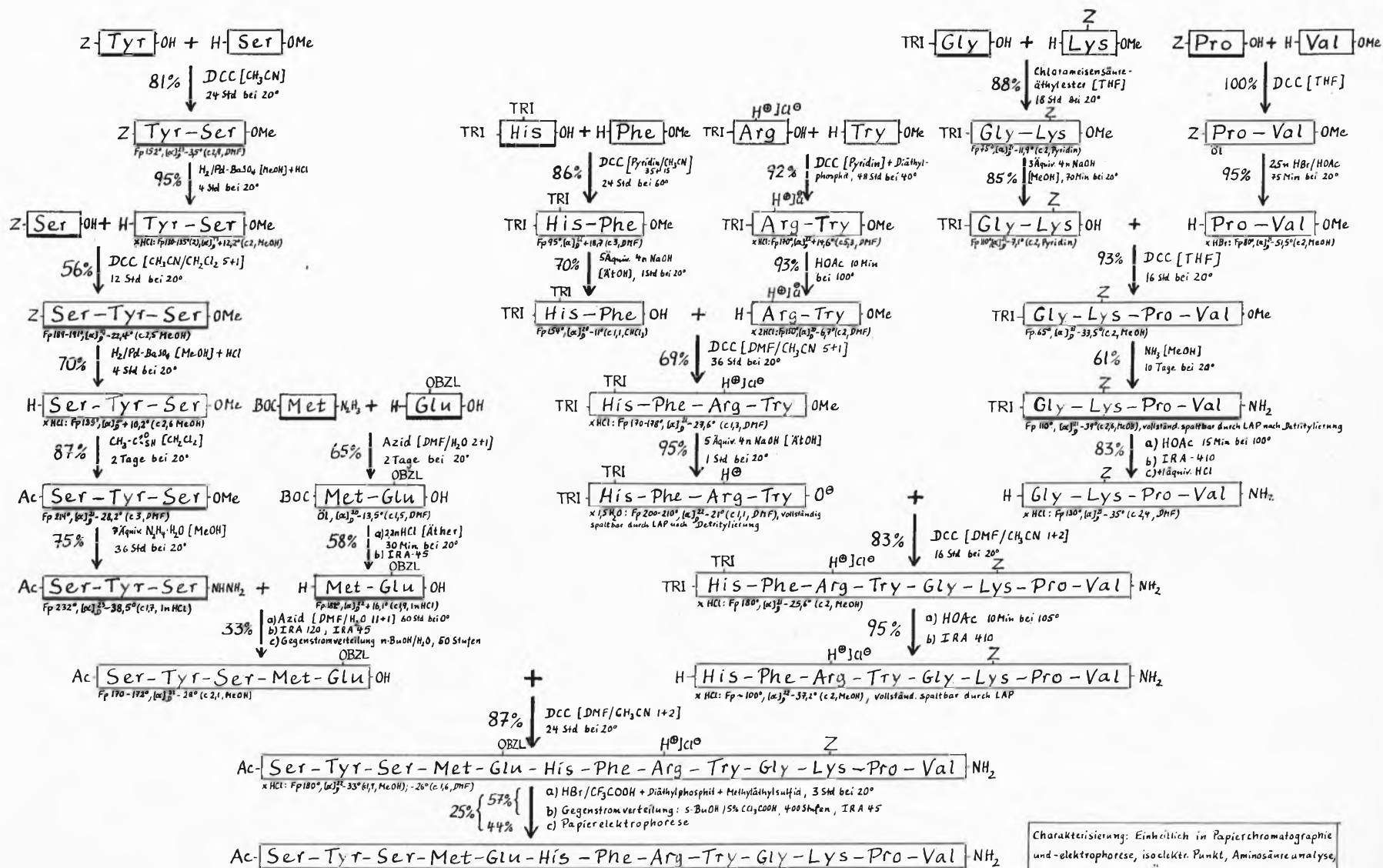
Charakterisierung: Einheitlich in Gegenstromverteilung [C], Aminosäureanalyse, enzymatischem Abbau
 Biologische Aktivität: ACTH (Saffran-Schaly) 39,8 USP Einheiten intravenös, 34,6 USP Einheiten pro mg
 Ascorbinsäure-Abscheidung: Subcutan 74 USP Einheiten

Abb. 4. ACTH-Teilsequenz 1-19
 C. H. LI, J. MEIENHOFER, E. SCHNABEL, D. CHUNG, T.-B. LO und J. RAMACHANDRAN, J. Amer. Chem. Soc. 83 (1961) 4449



Nach Abspaltung der Schutzgruppen mit CF₃COOH (5 Min bei 20°)
 → Krist. Dekapeptid (Fp 210°), einheitlich in Papier-
 elektrophorese und Aminosäureanalyse; vollständ. spaltbar
 durch LAP.

Abb. 5. ACTH-Teilsequenz 1-10
 R. SCHWYZER und H. KAPPELER, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 1991



Charakterisierung: Eindeutig in Papierchromatographie und -elektrophorese, isoelektr. Punkt, Aminosäureanalyse, enzymatischer Abbau. Übereinstimmung der biologischen Aktivität mit dem Naturprodukt

Abb. 6. α -MSH (Schwein)S. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS, *Helv. Chim. Acta* 42 (1959) 1257

Literatur

- 1 V. DU VIGNEAUD, C. RESSLER, J. M. SWAN, C. W. ROBERTS und P. G. KATSOYANNIS, *J. Amer. Chem. Soc.* 76 (1954) 3115; vgl. auch V. DU VIGNEAUD, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 88 (1960) 537.
- 2 Unter höheren Peptiden sollen solche mit definierter Aminosäuresequenz vom Hexapeptid aufwärts verstanden werden. E. FISCHER hat schon 1907 ein Octadekapeptid der Sequenz $H \cdot Leu \cdot (Gly)_3 \cdot Leu \cdot (Gly)_3 \cdot Leu \cdot (Gly)_3 \cdot OH$ (3 L) synthetisiert, das jedoch zur Hälfte aus Polyglycin bestand, vgl. *Ber. dtsch. Chem. Ges.* 40 (1907) 1754.
- 3 M. BODANSZKY und V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. Chem. Soc.* 81 (1959) 2504.
- 4 M. BODANSZKY und V. DU VIGNEAUD, *ibid.* 81 (1959) 5688.
- 5 R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD und J. P. WALLER, *Helv. Chim. Acta* 38 (1955) 1491.
- 6 M. BODANSZKY, M. SZELKE, E. TÖMÖRKENY und E. WEISZ, unveröffentlicht, vgl. L. GYMERMEK und G. FEKETE, *Experientia* 11 (1955) 238.
- 7 J. RUDINGER, J. HONZL und M. ZAORAL, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 21 (1956) 202.
- 8 L. VELLUZ, G. AMIARD, J. BARTOS, B. GOFFINET und R. HEYMÉS, *Bull. Soc. Chim. France* 1956, 1464.
- 9 C. H. BEYERMAN, J. S. BONTEKOE und A. C. KOCH, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 78 (1959) 935.
- 10 V. DU VIGNEAUD, M. F. BARTLETT und A. JÖHL, *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 5572.
- 11 V. DU VIGNEAUD, D. T. GISH, P. G. KATSOYANNIS und G. P. HESS, *ibid.* 80 (1958) 3355.
- 12 R. O. STUDER und V. DU VIGNEAUD, *ibid.* 82 (1960) 1499.
- 13 J. MEIENHOFER und V. DU VIGNEAUD, *ibid.* 82 (1960) 2279.
- 14 M. BODANSZKY, J. MEIENHOFER und V. DU VIGNEAUD, *ibid.* 82 (1960) 3195.
- 15 R. A. BOISSONNAS und R. L. HUGUENIN, *Helv. Chim. Acta* 43 (1960) 182.
- 16 W. RITTEL, B. ISELIN, H. KAPPELER, B. RINIKER und R. SCHWYZER, *ibid.* 40 (1957) 614.
- 17 R. SCHWYZER, B. ISELIN, H. KAPPELER, B. RINIKER, W. RITTEL und H. ZUBER, *ibid.* 41 (1958) 1287.
- 18 B. RINIKER und R. SCHWYZER, *ibid.* 44 (1961) 658.
- 19 H. SCHWARZ, F. M. BUMPUS und I. H. PAGE, *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 5697; vgl. auch Lit. 265.
- 20 K. ARAKAWA und F. M. BUMPUS, *ibid.* 83 (1961) 728.
- 21 R. PAUL und G. W. ANDERSON, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 88 (1960) 676; *J. Org. Chem.* 27 (1962) 2094.
- 22 R. SCHWYZER, B. ISELIN, H. KAPPELER, B. RINIKER, W. RITTEL und H. ZUBER, *Helv. Chim. Acta* 41 (1958) 1273.
- 23 E. WÜNSCH, *Angew. Chem.* 71 (1959) 743.
- 24 S. GUTTMANN, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 721.
- 25 L. T. SKEGGS jr., K. E. LENTZ, J. R. KAHN und N. P. SHUMWAY, *J. Exper. Med.* 108 (1958) 283.
- 26 R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN und P.-A. JAQUENOUD, *Helv. Chim. Acta* 43 (1960) 1349.
- 27 S. GUTTMANN, J. PLESS und R. A. BOISSONNAS, *ibid.* 45 (1962) 170.
- 28 E. D. NICOLAIDES und H. A. DE WALD, *J. Org. Chem.* 26 (1961) 3872.
- 29 E. D. NICOLAIDES und H. A. DE WALD, *Biochim. Biophys. Res. Comm.* 6 (1961) 210.
- 30 J. PLESS, E. STÜRMER, S. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS, *Helv. Chim. Acta* 45 (1962) 394.
- 31 E. SANDRIN und R. A. BOISSONNAS, *Experientia* 18 (1962) 59.
- 32 K. HOFMANN, M. E. WOOLNER, H. YAJIMA, G. SPÜHLER, T. A. THOMPSON und E. T. SCHWARTZ, *J. Amer. Chem. Soc.* 80 (1958) 6458.
- 33 K. HOFMANN, H. YAJIMA und E. T. SCHWARTZ, *Biochim. Biophys. Acta* 36 (1959) 252.
- 34 K. HOFMANN, H. YAJIMA und E. T. SCHWARTZ, *J. Amer. Chem. Soc.* 82 (1960) 3732.
- 35 S. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS, *Helv. Chim. Acta* 42 (1959) 1257.
- 36 S. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS, *Experientia* 17 (1961) 265.
- 37 C. H. LI, E. SCHNABEL und D. CHUNG, *J. Amer. Chem. Soc.* 82 (1960) 2062.
- 38 E. SCHNABEL und C. H. LI, *ibid.* 82 (1960) 4576.
- 39 C. H. LI, E. SCHNABEL, D. CHUNG und T.-B. LO, *Nature* 189 (1961) 143.
- 40 R. SCHWYZER, H. KAPPELER, B. ISELIN, W. RITTEL und H. ZUBER, *Helv. Chim. Acta* 42 (1959) 1702.
- 41 H. KAPPELER und R. SCHWYZER, *ibid.* 43 (1960) 1453.
- 42 H. KAPPELER und R. SCHWYZER, *Experientia* 16 (1960) 415.
- 43 H. KAPPELER, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 476.
- 44 R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, J.-P. WALLER und P.-A. JAQUENOUD, *Experientia* 12 (1956) 446.
- 45 R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD, E. SANDRIN und J.-P. WALLER, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 123.
- 46 C. H. LI, J. MEIENHOFER, E. SCHNABEL, D. CHUNG, T.-B. LO und J. RAMACHANDRAN, *J. Amer. Chem. Soc.* 82 (1960) 5760.
- 47 C. H. LI, J. MEIENHOFER, E. SCHNABEL, D. CHUNG, T.-B. LO und J. RAMACHANDRAN, *ibid.* 83 (1961) 4449.
- 47a C. H. LI, D. CHUNG, J. RAMACHANDRAN und B. GORUP, *ibid.* 84 (1962) 2460.
- 48 R. SCHWYZER, W. RITTEL, H. KAPPELER und B. ISELIN, *Angew. Chem.* 72 (1960) 915.
- 49 H. KAPPELER und R. SCHWYZER, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 1136.
- 50 R. SCHWYZER und H. KAPPELER, *ibid.* 44 (1961) 1991.
- 51 K. HOFMANN, H. YAJIMA, N. YANAIHARA, T.-Y. LIU und S. LANDE, *J. Amer. Chem. Soc.* 83 (1961) 487.
- 52 K. HOFMANN und H. YAJIMA, *ibid.* 83 (1961) 2289.
- 53 K. HOFMANN, T.-Y. LIU, H. YAJIMA, N. YANAIHARA und S. LANDE, *ibid.* 83 (1961) 2294.
- 54 K. HOFMANN, T.-Y. LIU, H. YAJIMA, N. YANAIHARA, C. YANAIHARA und J. L. HUMES, *ibid.* 84 (1962) 1054.
- 54a K. MEDZIHRADESKY, V. BRUCKNER, M. KAJTÁR, M. LÖW, S. BAJUSZ und L. KISFALUDY, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 30 (1962) 105; S. BAJUSZ, K. LÉNÁRD, L. KISFALUDY, K. MEDZIHRADESKY und V. BRUCKNER, *ibid.* 30 (1962) 239; L. KISFALUDY, S. DUALSZKY, K. MEDZIHRADESKY, S. BAJUSZ und V. BRUCKNER, *ibid.* 30 (1962) 473.
- 55 E. SCHRÖDER und H. GIBIAN, *Liebigs Ann. Chem.* 649 (1961) 168; *Z. Naturforsch.* 15b (1960) 814.
- 56 H. J. PANNEMAN, A. F. MARX und J. F. ARENS, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 78 (1959) 487.
- 57 G. W. OERTEL, *Angew. Chem.* 70 (1958) 51.
- 58 R. B. MERRIFIELD und D. W. WOOLLEY, *J. Amer. Chem. Soc.* 78 (1956) 4646.
- 59 R. B. MERRIFIELD und D. W. WOOLLEY, *ibid.* 80 (1958) 6635.
- 60 R. B. MERRIFIELD, *J. Biol. Chem.* 232 (1958) 43.
- 61 G. L. TRITSCH und D. W. WOOLLEY, *J. Amer. Chem. Soc.* 82 (1960) 2787.
- 62 K. OKAWA, *Bull. Chem. Soc. Jap.* 31 (1958) 88.
- 63 J. A. MACLAREN, W. E. SAVIGE und J. M. SWAN, *Austral. J. Chem.* 11 (1958) 345.
- 64 G. F. HOLLAND und L. A. COHEN, *J. Amer. Chem. Soc.* 80 (1958) 3765.
- 65 J. E. SHIELDS und F. H. CARPENTER, *ibid.* 83 (1961) 3066.
- 66 H. ZAHN und N. H. LA FRANCE, *Liebigs Ann. Chem.* 630 (1960) 37.
- 67 J. KUNDE und H. ZAHN, *ibid.* 646 (1961) 137.
- 68 H. ZAHN und R. ZABEL, *ibid.*, im Druck.
- 69 D. GILLESSEN, E. SCHNABEL und J. MEIENHOFER, *ibid.*, im Druck.
- 70 E. SCHNABEL, *ibid.*, im Druck.
- 71 P. G. KATSOYANNIS, *J. Polymer Sci.* 49 (1961) 51.
- 72 P. G. KATSOYANNIS, *J. Amer. Chem. Soc.* 83 (1961) 4053.
- 73 P. G. KATSOYANNIS und K. SUZUKI, *ibid.* 83 (1961) 4057.
- 74 P. G. KATSOYANNIS und K. SUZUKI, *ibid.* 84 (1962) 1420.
- 75 P. G. KATSOYANNIS, *Chem. Eng. News* 40/27 (1962) 37.
- 76 L. KE, Y. KUNG, W. HUANG, K. CHI und C. NIU, *Scientia Sinica* 11 (1962) 337.
- 77 W. HUANG, C. YANG, K. WANG und C. NIU, *ibid.* 11 (1962) 499.
- 78 R. SCHWYZER und P. SIEBER, *Helv. Chim. Acta* 40 (1957) 624.
- 79 R. SCHWYZER und P. SIEBER, *ibid.* 41 (1958) 1582.
- 80 R. SCHWYZER und P. SIEBER, *ibid.* 41 (1958) 2186.
- 81 R. SCHWYZER und P. SIEBER, *ibid.* 43 (1960) 1910.
- 82 J. I. HARRIS und T. S. WORK, *Biochem. J.* 46 (1950) 196, 582.
- 83 B. F. ERLANGER, H. SACHS und E. BRAND, *J. Amer. Chem. Soc.* 76 (1954) 1806.
- 84 B. F. ERLANGER, W. V. CURRAN und N. KOKOWSKY, *ibid.* 80 (1958) 1128.
- 85 B. F. ERLANGER, W. V. CURRAN und N. KOKOWSKY, *ibid.* 81 (1959) 3051.
- 86 B. F. ERLANGER, W. V. CURRAN und N. KOKOWSKY, *ibid.* 81 (1959) 3055.

- 87 R. SCHWYZER und P. SIEBER, *Helv. Chim. Acta* 42 (1959) 972.
 88 R. SCHWYZER, E. SURBECK-WEGMANN und H. DIETRICH, *Chimia* 14 (1960) 366.
 89 W. STOFFEL und L. C. CRAIG, *J. Amer. Chem. Soc.* 83 (1961) 145.
 90 K. VOGLER, R. O. STUDER, W. LERGIER und P. LANZ, *Helv. Chim. Acta* 43 (1960) 1751.
 91 K. VOGLER, R. O. STUDER, P. LANZ, W. LERGIER und E. BÖHNI, *Experientia* 17 (1961) 223.
 92 R. O. STUDER, K. VOGLER und W. LERGIER, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 131.
 93 R. O. STUDER und K. VOGLER, *ibid.* 45 (1962) 819.
 94 H. BROCKMANN und H. LACKNER, *Naturwiss.* 10 (1960) 230.
 95 T. WIELAND, K. FRETER und E. GROSS, *Liebigs Ann. Chem.* 626 (1959) 154.
 96 T. WIELAND, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 919.
 97 R. SCHWYZER, *Chimia* 12 (1958) 53.
 98 V. DU VIGNEAUD, G. WINESTOCK, V. V. S. MURTI, D. B. HOPE und R. D. KIMBROUGH jr., *J. Biol. Chem.* 235 (1960) PC 64; D. B. HOPE, V. V. S. MURTI und V. DU VIGNEAUD, *ibid.* 237 (1962) 1563.
 99 D. JARVIS und V. DU VIGNEAUD, unveröffentlicht zitiert in Lit. 98.
 100 G. WINESTOCK und V. DU VIGNEAUD, unveröffentlicht.
 101 K. JOST, J. RUDINGER und F. SORM, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 26 (1961) 2496.
 102 V. DU VIGNEAUD, P. S. FITT, M. BODANSZKY und M. O'CONNELL, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 104 (1960) 653.
 103 D. JARVIS, M. BODANSZKY und V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. Chem. Soc.* 83 (1961) 4780.
 104 S. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS, *Chimia* 15 (1961) 575.
 105 S. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD und R. A. BOISSONNAS, *Naturwiss.* 44 (1957) 632.
 106 H. C. BEYERMAN, J. S. BONTEKOE und A. C. KOCH, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 79 (1960) 105.
 107 M. BODANSZKY und V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. Chem. Soc.* 81 (1959) 6072.
 108 P.-A. JAQUENOUD und R. A. BOISSONNAS, *Helv. Chim. Acta* 42 (1959) 788.
 109 S. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS, *ibid.* 43 (1960) 200.
 110 H. D. LAW und V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. Chem. Soc.* 82 (1960) 4579.
 111 H. C. BEYERMAN, J. S. BONTEKOE und A. C. KOCH, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 79 (1960) 1034, 1039, 1044, 1050.
 112 R. L. HUGUENIN und R. A. BOISSONNAS, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 213.
 113 R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD und J.-P. WALLER, *ibid.* 39 (1956) 1421.
 114 P. G. KATSOYANNIS, *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 109.
 115 J. RUDINGER, J. HONZL und M. ZAORAL, *Chem. Listy* 50 (1956) 825; *Coll. Czech. Chem. Comm.* 21 (1956) 770.
 116 R. A. BOISSONNAS und S. GUTTMANN, *Helv. Chim. Acta* 43 (1960) 190; B. BERDE, H. WEIDMANN und A. CERLETTI, *Helv. Physiol. Acta* 19 (1961) 285.
 117 C. RESSLER und V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 4511.
 118 C. RESSLER und J. R. RACHELE, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 98 (1958) 170.
 119 W. B. LUTZ, C. RESSLER, D. E. NETTLETON jr. und V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. Chem. Soc.* 81 (1959) 167.
 120 C. RESSLER, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 92 (1956) 725.
 121 B. ISELIN und M. FEURER, vgl. Lit. 97.
 122 P.-A. JAQUENOUD und R. A. BOISSONNAS, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 113.
 123 V. DU VIGNEAUD, C. H. SCHNEIDER, J. E. STOFFER, V. V. S. MURTI, J. P. AROSAR und G. WINESTOCK, *J. Amer. Chem. Soc.* 84 (1962) 409.
 124 M. BODANSZKY, M. A. ODETTI, B. RUBIN, J. J. PIALA, J. T. SHEEHAN und C. A. BIRKHIMER, *Nature* 194 (1962) 485.
 125 W. D. CASH, L. M. MAHAFFEY, A. S. BUCK, D. E. NETTLETON jr., C. ROMAS und V. DU VIGNEAUD, *J. Med. Pharmaceut. Chem.* 5 (1962) 413.
 126 R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, B. BERDE und H. KONZETT, *Experientia* 17 (1961) 377.
 127 W. D. CASH, R. O. STUDER und V. DU VIGNEAUD, unveröffentlicht, vgl. Lit. 118.
 128 V. DU VIGNEAUD, unveröffentlicht, vgl. Lit. 98.
 129 J. MEIENHOFER und V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. Chem. Soc.* 82 (1960) 6336.
 130 R. D. KIMBROUGH jr. und V. DU VIGNEAUD, *J. Biol. Chem.* 236 (1961) 778.
 131 P. G. KATSOYANNIS und V. DU VIGNEAUD, *ibid.* 233 (1958) 1352.
 132 P. G. KATSOYANNIS und V. DU VIGNEAUD, *Arch. Biochem. Biophysics* 78 (1958) 555.
 133 H. C. BEYERMAN und J. S. BONTEKOE, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 79 (1960) 1165.
 134 J. MEIENHOFER und V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. Chem. Soc.* 83 (1961) 142.
 135 E. WERLE, *Angew. Chem.* 73 (1961) 689; H. O. J. COLLIER, *Actualités Pharmacol.* 14 (1961) 53.
 136 K. VOGLER, R. O. STUDER und W. LERGIER, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 1495.
 137 K. VOGLER, P. LANZ und W. LERGIER, *ibid.* 45 (1962) 561.
 138 R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD, H. KONZETT und E. STÜRMER, *Experientia* 16 (1960) 326.
 139 S. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 1713.
 140 R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN und P.-A. JAQUENOUD, *ibid.* 43 (1960) 1481.
 141 R. SCHWYZER, W. RITTEL, P. SIEBER, H. KAPPELER und H. ZUBER, *ibid.* 43 (1960) 1130.
 142 E. D. NICOLAIDES, H. A. DE WALD, P. G. SHORLEY und H. O. J. COLLIER, *Nature* 187 (1960) 773.
 143 B. RINIKER und R. SCHWYZER, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 677.
 144 F. M. BUMPUS, P. A. KHAIRALLAH, K. ARAKAWA, I. H. PAGE und R. R. SMEBY, *Biochim. Biophys. Acta* 46 (1961) 38; I. H. PAGE und F. M. BUMPUS, *Physiol. Rev.* 41 (1961) 331.
 145 B. RINIKER, H. BRUNNER und R. SCHWYZER, *Angew. Chem.* 74 (1962) 469; R. SCHWYZER, *Circulation* 25 (1962) 175.
 146 B. RINIKER und R. SCHWYZER, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 685.
 147 B. RINIKER und R. SCHWYZER, *ibid.* 44 (1961) 674.
 148 D. THEODOROPOULOS, *Nature* 194 (1962) 283.
 149 D. THEODOROPOULOS und J. GAZOPOULOS, *J. Chem. Soc.* 1960, 3861.
 150 R. SCHWYZER, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 667.
 151 R. SCHWYZER, B. ISELIN, H. KAPPELER, B. RINIKER, W. RITTEL und H. ZUBER, *Chimia* 11 (1957) 335.
 152 E. WALTON, J. O. RODIN, C. H. STAMMER und F. W. HOLLY, *J. Org. Chem.* 26 (1961) 1657.
 153 R. H. MAZUR, *Canad. J. Chem.* 40 (1962) 1098.
 154 a P. G. KATSOYANNIS und Mitarbeiter, Pittsburgh (USA).
 b J. MEIENHOFER, E. SCHNABEL, H. ZAHN und Mitarbeiter, Aachen (Deutschland).
 c L. T. TSOW, W. HUANG und Mitarbeiter, Shanghai (China).
 155 Sequenzspezifische Synthesen mit nicht selektiv blockierten Aminosäurederivaten, z. B. N-Carboxyanhydriden, sind bei kleineren Peptiden in speziellen Fällen gelungen, vgl. E. KAT-CHALSKI und M. SELA, *Adv. Prot. Chem.* 13 (1958) 244.
 156 J. RUDINGER, *Record Chem. Progr.* 23 (1962) 3.
 157 Methoden zur sogenannten N-Aktivierung siehe S. GOLDSCHMIDT, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 24 (1959) 15.
 158 M. L. BENDER, *Chem. Rev.* 60 (1960) 53.
 159 V. DU VIGNEAUD und C. E. MEYER, *J. Biol. Chem.* 99 (1932) 143.
 160 R. SCHWYZER, *Record Chem. Progr.* 20 (1959) 147.
 161 M. BRENNER, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 24 (1959) 47 (Diskussionsbeitrag).
 162 M. B. NORTH und G. T. YOUNG, *Chem. & Ind.* 1955, 1597.
 163 H. SCHWARZ und F. M. BUMPUS, *J. Amer. Chem. Soc.* 81 (1959) 890.
 164 G. T. YOUNG, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 24 (1959) 39.
 165 N. A. SMART, G. T. YOUNG und M. W. WILLIAMS, *J. Chem. Soc.* 1960, 3902.
 166 D. W. CLAYTON, J. A. FARRINGTON, G. W. KENNER und J. M. TURNER, *ibid.* 1951, 1398.
 167 G. W. ANDERSON und F. M. CALLAHAN, *J. Amer. Chem. Soc.* 80 (1958) 2902.
 168 F. WEYGAND, *Chimia* 14 (1960) 378; *Angew. Chem.*, im Druck.
 169 K. HOFMANN, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 88 (1960) 689.
 170 R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, R. C. HUGUENIN, P. A. JAQUENOUD und E. SANDRIN, *Helv. Chim. Acta* 41 (1958) 1867.
 171 H. ZUBER, *Chimia* 14 (1960) 405.
 172 D. S. ROBINSON, S. M. BIRNBAUM und J. P. GREENSTEIN, *J. Biol. Chem.* 202 (1953) 1.
 173 J. P. GREENSTEIN und M. WINITZ, *The Chemistry of the Amino Acids*, J. Wiley & Sons, Inc., New York/London 1960, Band 2, S. 1254 ff.

- 174 S. MOORE, D. H. SPACKMAN und W. H. STEIN, *Anal. Chem.* 30 (1958) 1185.
- 175 F. SANGER, *Adv. Prot. Chem.* 7 (1952) 1; G. BRAUNITZER, *Angew. Chem.* 69 (1957) 189.
- 176 Die Stabilität von Peptidbindungen hängt von der Natur der beteiligten Aminosäuren ab, vgl. M. RAWITSCHER, I. WADSÖ und J. M. STURTEVANT, *J. Amer. Chem. Soc.* 83 (1961) 3180.
- 177 Gesamtausbeuten werden gewöhnlich auf die C-terminale Aminosäure bezogen.
- 178 B. GASTAMBEDE, *Bull. Soc. Chim. France* 1959, 1180.
- 179 M. BERGMANN und L. ZERVAS, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 65 B (1932) 1192.
- 180 R. SCHÖNHEIMER, *Z. physiol. Chem.* 154 (1926) 203.
- 181 B. HELFERICH, L. MOOG und A. JÜNGER, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 58 (1925) 872.
- 182 F. C. MCKAY und N. F. ALBERTSON, *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 4686.
- 183 G. W. ANDERSON und A. C. MCGREGOR, *ibid.* 79 (1957) 6180.
- 184 B. F. ERLANGER und E. BRAND, *ibid.* 73 (1951) 3508.
- 185 Lit. 173, S. 887ff.
- 186 Praktisch wenig verwendet, vgl. aber Lit. 291.
- 187 Lit. 173, S. 1189ff.
- 188 R. WILLSTÄTTER und E. WALDSCHMIDT-LEITZ, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 54 (1921) 128.
- 189 R. KUHN und H. J. HAAS, *Angew. Chem.* 67 (1955) 785.
- 190 G. W. ANDERSON, J. BLODINGER und A. D. WELCHER, *J. Amer. Chem. Soc.* 74 (1952) 5309.
- 191 D. BEN-ISHAI und A. BERGER, *J. Org. Chem.* 17 (1952) 1564.
- 192 D. BEN-ISHAI, *ibid.* 19 (1954) 62.
- 193 R. A. BOISSONNAS und G. PREITNER, *Helv. Chim. Acta* 36 (1953) 875.
- 194 S. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS, *ibid.* 41 (1958) 1852.
- 195 N. F. ALBERTSON und F. C. MCKAY, *J. Amer. Chem. Soc.* 75 (1953) 5323.
- 196 A. KATCHALSKI und M. PAECHT, *ibid.* 76 (1954) 6042.
- 197 K. OKAWA, *Bull. Chem. Soc. Jap.* 30 (1957) 976.
- 198 H. ZAHN und R. FAHNENSTICH, *Liebigs Ann. Chem.*, im Druck; W. HAAS, Dissertation, Aachen 1960.
- 199 R. H. SIFFERD und V. DU VIGNEAUD, *J. Biol. Chem.* 108 (1935) 753.
- 200 J. WHITE, *ibid.* 106 (1934) 141.
- 201 C. R. HARRINGTON und T. H. MEAD, *Biochem. J.* 29 (1935) 1602.
- 202 E. WALDSCHMIDT-LEITZ und K. KÜHN, *Chem. Ber.* 84 (1951) 381.
- 203 A. W. BARKDOLL und F. W. ROSS, *J. Amer. Chem. Soc.* 66 (1944) 951.
- 204 S. GOLDSCHMIDT und C. JUTZ, *Chem. Ber.* 86 (1953) 1116.
- 205 O. GAWRON und F. DRAUS, *J. Org. Chem.* 23 (1958) 1040.
- 206 F. WEYGAND und W. STEGLICH, *Z. Naturforsch.* 14b (1959) 472.
- 207 G. D. FASMAN, M. IDELSON und E. R. BLOUT, *J. Amer. Chem. Soc.* 83 (1961) 709.
- 208 G. HARRIS und J. C. MACWILLIAM, *J. Chem. Soc.* 1961, 2053.
- 209 L. BIRKOFER, E. BIERWIRTH und A. RITTER, *Chem. Ber.* 94 (1961) 821.
- 210 E. FISCHER, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 48 (1915) 93.
- 211 V. DU VIGNEAUD und O. K. BEHRENS, *J. Biol. Chem.* 117 (1937) 27.
- 212 K. PODUSKA, J. RUDINGER und F. SORM, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 20 (1955) 1174.
- 213 L. ZERVAS und D. THEODOROPoulos, *J. Amer. Chem. Soc.* 78 (1956) 1359; B. BEZAS und L. ZERVAS, *ibid.* 83 (1961) 719.
- 214 G. AMIARD, R. HEYMÈS und L. VELLUZ, *Bull. Soc. Chim. France* 1955, 191, 1283, 1464; 1956, 97, 698; *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 78 (1959) 523.
- 215 G. AMIARD und B. GOFFINET, *Bull. Soc. Chim. France* 1957, 1133.
- 216 A. HILLMANN-ELIES, G. HILLMANN und H. JATZKEWITZ, *Z. Naturforsch.* 8b (1953) 445.
- 217 R. SCHWYZER und W. RITTEL, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 159.
- 218 G. C. STELAKATOS, D. M. THEODOROPoulos und L. ZERVAS, *J. Amer. Chem. Soc.* 81 (1959) 2884.
- 219 E. KLIEGER und H. GIBIAN, *Liebigs Ann. Chem.* 649 (1961) 183.
- 220 R. SCHWYZER, P. SIEBER und H. KAPPELER, *Helv. Chim. Acta* 42 (1959) 2622.
- 221 L. A. CARPINO, *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 98, 4427, 81 (1959) 955, 82 (1960) 2725.
- 222 B. ISELIN und R. SCHWYZER, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 1690.
- 223 G. C. STELAKATOS, *J. Amer. Chem. Soc.* 83 (1961) 4222.
- 224 D. THEODOROPoulos, *Acta Chem. Scand.* 12 (1958) 2043; *J. Org. Chem.* 21 (1956) 1550.
- 225 Vibro-Mischer, Sartorius-Werke AG, Göttingen.
- 226 C. DEKKER und J. S. FRUTON, *J. Biol. Chem.* 173 (1948) 471.
- 227 I. KISFALUDY, S. DUALSZKY und J. BAYER, *Chimia* 14 (1960) 368.
- 228 J. BAYER, S. DUALSZKY und L. KISFALUDY, *J. Chromatogr.* 6 (1961) 155.
- 229 Lit. 9; S. 941.
- 230 V. DU VIGNEAUD und W. I. PATTERSON, *J. Biol. Chem.* 109 (1935) 97.
- 231 J. A. STEKOL, *J. Biol. Chem.* 140 (1941) 827.
- 232 C. A. DEKKER, S. P. TAYLOR und J. S. FRUTON, *ibid.* 180 (1949) 155.
- 233 M. BRENNER und R. W. PFISTER, *Helv. Chim. Acta* 34 (1951) 2085.
- 234 H. SCHÜSSLER, Deutsches Wollforschungsinstitut, T. H. Aachen, unveröffentlicht.
- 235 K. JOST und J. RUDINGER, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 26 (1961) 2345.
- 236 A. F. BEECHAM, *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 3257, 3262.
- 237 M. ZAORAL, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 24 (1959) 33, 27 (1962) 1273.
- 238 M. ZAORAL und J. RUDINGER, *ibid.* 26 (1961) 2316.
- 239 C. BERSE, T. MASSIAH und L. PICHE, *J. Org. Chem.* 26 (1961) 4514.
- 240 R. ROESKE, F. H. C. STEWART, R. J. STEDMAN und V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. Chem. Soc.* 78 (1956) 5883.
- 241 R. SCHWYZER und C. H. LI, *Nature* 182 (1958) 1669.
- 242 B. ISELIN, *Arch. Biochem. Biophysics* 78 (1958) 532.
- 243 A. R. CHOPPIN und J. W. ROGERS, *J. Amer. Chem. Soc.* 70 (1948) 2967.
- 244 W. SIEFKEN, *Liebigs Ann. Chem.* 562 (1949) 105.
- 245 S. GOLDSCHMIDT und M. WICK, *ibid.* 575 (1952) 217.
- 246 W. J. HUMPHLETT und C. V. WILSON, *J. Org. Chem.* 26 (1961) 2507.
- 247 Lit. 173, S. 925ff.
- 248 H. K. MILLER und H. WAELSCH, *J. Amer. Chem. Soc.* 74 (1952) 1092.
- 249 H. SCHWARZ und K. ARAKAWA, *ibid.* 81 (1959) 5691.
- 250 R. ROESKE, *Chem. & Ind.* 1959, 1121.
- 251 G. W. ANDERSON und F. M. CALLAHAN, *J. Amer. Chem. Soc.* 82 (1960) 3359; *Chimia* 14 (1960) 371.
- 252 T. CURTIUS und F. GÖBEL, *J. prakt. Chem.* (2) 37 (1888) 150.
- 253 E. FISCHER, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 34 (1901) 436.
- 254 R. L. M. SYNGE, *Biochem. J.* 42 (1948) 99.
- 255 T. WIELAND u. a., *Methoden der organischen Chemie* (Houben-Weyl), Verlag Thieme, Stuttgart 1958, Band 11/2, S. 355.
- 256 M. BRENNER und W. HUBER, *Helv. Chim. Acta* 36 (1953) 1114.
- 257 J. HERZIG und K. LANDSTEINER, *Biochem. Z.* 61 (1914) 463, 105 (1920) 11.
- 258 R. KUHN und W. BRYDOWNNA, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 70 (1937) 1333.
- 259 H. HÖRMANN, W. GRASSMANN, E. WÜNSCH und H. PRELLER, *Chem. Ber.* 89 (1956) 933.
- 260 B. ISELIN und R. SCHWYZER, *Helv. Chim. Acta* 39 (1956) 57.
- 261 H. HENECKA, *Methoden der organischen Chemie* (Houben-Weyl), Verlag Thieme, Stuttgart 1952, Band 8, S. 521.
- 262 M. ROTHE und F. W. KUNITZ, *Liebigs Ann. Chem.* 609 (1957) 88.
- 263 J. M. THEOBALD, M. W. WILLIAMS und G. T. YOUNG, *Chimia* 14 (1960) 371.
- 264 J. R. VAUGHAN jr. und J. A. EICHLER, *J. Amer. Chem. Soc.* 76 (1954) 2474.
- 265 E. WALTON, J. O. RODIN, C. H. STAMMER und F. W. HOLLY, *J. Org. Chem.* 27 (1962) 2255.
- 266 Lit. 255, S. 359.
- 267 Lit. 173, S. 1110.
- 268 J. S. FRUTON und M. BERGMANN, *J. Biol. Chem.* 145 (1942) 253.
- 269 H. SACHS und E. BRAND, *J. Amer. Chem. Soc.* 75 (1953) 4610.
- 270 C. RESSLER und V. DU VIGNEAUD, *ibid.* 76 (1954) 3107.
- 271 K. HOFMANN, M. E. WOOLNER, G. SPÜHLER und E. T. SCHWARTZ, *ibid.* 80 (1958) 1486.
- 272 B. F. ERLANGER und R. M. HALL, *ibid.* 76 (1954) 5781.
- 273 J. D. CIPERA und R. V. V. NICHOLLS, *Chem. & Ind.* 1955, 16.
- 274 L. ZERVAS, M. WINITZ und J. P. GREENSTEIN, *J. Org. Chem.* 22 (1957) 1515.
- 275 J. E. SHIELDS, W. H. MCGREGOR und F. H. CARPENTER, *ibid.* 26 (1961) 1491.
- 276 E. TASCHNER und C. WASIELEWSKI, *Liebigs Ann. Chem.* 640 (1961) 139.

- 277 E. SONDHEIMER und R. J. SEMERARO, *J. Org. Chem.* 26 (1961) 1847.
- 278 M. BERGMANN, L. ZERVAS und W. F. ROSS, *J. Biol. Chem.* 111 (1935) 245.
- 279 P. C. CROFTS, J. H. H. MARKES und H. N. RYDON, *J. Chem. Soc.* 1959, 3610.
- 280 M. SELA und R. ARNON, *J. Amer. Chem. Soc.* 82 (1960) 2626.
- 281 C. W. ROBERTS, *ibid.* 76 (1954) 6203.
- 282 K. HOFMANN, T. A. THOMPSON, M. E. WOOLNER, G. SPÜHLER, H. YAJIMA, J. D. CIPERA und E. T. SCHWARTZ, *ibid.* 82 (1960) 3721.
- 283 R. SCHWYZER, B. ISELIN und M. FEURER, *Helv. Chim. Acta* 38 (1955) 69.
- 284 F. H. CARPENTER und D. T. GISH, *J. Amer. Chem. Soc.* 74 (1952) 3818.
- 285 E. TASCHNER, A. CHIMIAK, B. BATOR und T. SOKOLOWSKA, *Liebigs Ann. Chem.* 646 (1961) 134.
- 286 E. TASCHNER, C. WASIELEWSKI und J. F. BIERNAT, *ibid.* 646 (1961) 119.
- 287 K. HOFMANN, M. Z. MAGEE und A. LINDENMANN, *J. Amer. Chem. Soc.* 72 (1950) 2814; K. HOFMANN, A. LINDENMANN, M. Z. MAGEE und N. H. KHAN, *ibid.* 74 (1952) 470.
- 288 F. WEYGAND und W. STEGLICH, *Chem. Ber.* 92 (1959) 313.
- 289 B. HEGEDÜS, *Angew. Chem.* 71 (1959) 702.
- 290 J. I. HARRIS und J. S. FRUTON, *J. Biol. Chem.* 191 (1951) 143.
- 291 H. ZAHN und H. R. FALKENBURG, *Liebigs Ann. Chem.* 636 (1960) 117.
- 292 R. HÄUSSLER, *Chimia* 14 (1960) 369.
- 293 A. VOLLMAR und M. S. DUNN, *J. Org. Chem.* 25 (1960) 387.
- 294 R. SCHWYZER und H. DIETRICH, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 2003.
- 295 W. KLEE und M. BRENNER, *ibid.* 44 (1961) 2151.
- 296 V. DU VIGNEAUD, L. F. AUDDRIETH und H. S. LORING, *J. Amer. Chem. Soc.* 52 (1930) 4500.
- 297 J. L. WOOD und V. DU VIGNEAUD, *J. Biol. Chem.* 130 (1939) 109.
- 298 G. AMIARD, R. HEYMÉS und L. VELLUZ, *Bull. Soc. Chim. France* 1956, 698.
- 299 H. S. LORING und V. DU VIGNEAUD, *J. Biol. Chem.* 111 (1935) 385.
- 300 J. P. GREENSTEIN, *ibid.* 118 (1937) 321, 124 (1938) 255.
- 301 F. W. HOLLY, F. W. PEEL, E. L. LUZ und K. FOLKERS, *J. Amer. Chem. Soc.* 74 (1952) 4539.
- 302 L. ZERVAS und I. PHOTAKI, *Chimia* 14 (1960) 375.
- 303 F. SCHNEIDER, *Z. physiol. Chem.* 320 (1960) 82, 321 (1960) 38.
- 304 Lit. 173, S. 1049.
- 305 E. BRICAS und C. NICOT-GUTTON, *Bull. Soc. Chim. France* 1960, 466.
- 306 A. PATCHORNIK, A. BERGER und E. KATCHALSKI, *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 6416.
- 307 S. AKABORI, K. OKAWA und F. SAKIYAMA, *Nature* 181 (1958) 772.
- 308 K. OKAWA, *Bull. Chem. Soc. Japan* 29 (1956) 486, 488.
- 309 W. GRASSMANN, E. WÜNSCH, P. DEUFEL und A. ZWICK, *Chem. Ber.* 91 (1958) 538.
- 310 E. WÜNSCH, G. FRIES und A. ZWICK, *ibid.* 91 (1958) 542.
- 311 E. KATCHALSKI und M. SELA, *J. Amer. Chem. Soc.* 75 (1953) 5284.
- 312 L. ZERVAS, T. T. OTANI, M. WINITZ und J. P. GREENSTEIN, *ibid.* 81 (1959) 2878.
- 313 M. BERGMANN, L. ZERVAS und H. RINKE, *Z. physiol. Chem.* 224 (1934) 40.
- 314 K. HOFMANN, W. D. PECKHAM und A. RHEINER, *J. Amer. Chem. Soc.* 78 (1956) 238.
- 315 D. T. GISH und F. H. CARPENTER, *ibid.* 75 (1953) 5872.
- 316 T. CURTIUS, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 35 (1902) 3226.
- 317 K. HOFMANN, T. A. THOMPSON, H. YAJIMA, E. T. SCHWARTZ und H. INOUE, *J. Amer. Chem. Soc.* 82 (1960) 3715.
- 318 J. HONZL und J. RUDINGER, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 26 (1961) 2333.
- 319 E. SCHNABEL, *Liebigs Ann. Chem.*, im Druck.
- 320 V. PRELOG und P. WIELAND, *Helv. Chim. Acta* 29 (1956) 1128.
- 321 B. HEGEDÜS, *ibid.* 31 (1948) 737.
- 322 J. W. HINMAN, E. L. CARON und H. N. CHRISTENSEN, *J. Amer. Chem. Soc.* 72 (1950) 1620.
- 323 M. A. NYMANN und R. M. HERBST, *J. Org. Chem.* 15 (1950) 108.
- 324 E. DYER und S. SHYLUK, *ibid.* 26 (1961) 1321.
- 325 M. BERGMANN und L. ZERVAS, *J. Biol. Chem.* 113 (1936) 341.
- 326 J. S. FRUTON, *ibid.* 146 (1942) 463.
- 327 H. ZAHN und E. SCHNABEL, *Liebigs Ann. Chem.* 605 (1957) 212.
- 328 E. SCHNABEL und H. ZAHN, *Mh. Chem.* 88 (1957) 646.
- 329 H. G. KHORANA, *Chem. Rev.* 53 (1953) 145.
- 330 J. C. SHEEHAN und G. P. HESS, *J. Amer. Chem. Soc.* 77 (1955) 1067.
- 331 J. C. SHEEHAN, M. GOODMAN und G. P. HESS, *ibid.* 78 (1956) 1367.
- 332 M. SMITH, J. G. MOFFAT und H. G. KHORANA, *J. Amer. Chem. Soc.* 80 (1958) 6204.
- 333 Geeignete Lösungsmittel: Tetrahydrofuran, Acetonitril, Methylenchlorid, Äthylacetat, Dimethylformamid, Dioxan.
- 334 H. G. KHORANA, *Chem. & Ind.* 1955, 1087.
- 335 I. MURAMATSU und A. HAGITANI, *J. Chem. Soc. Japan* 80 (1959) 1497.
- 336 H. ZAHN und H. SCHÜSSLER, *Chem. Ber.* 95 (1962) 1076.
- 337 H. ZAHN und F. DIEHL, *Z. Naturforsch.* 12b (1957) 85; *Angew. Chem.* 69 (1957) 135.
- 338 B. HELFERICH und H. BÖSHAGEN, *Chem. Ber.* 92 (1959) 2813.
- 339 A. BUZAS, C. EGNELL und P. FRÉON, *C. R. Acad. Sci.* 252 (1961) 896.
- 340 D. T. GISH, P. G. KATSOYANNIS, G. P. HESS und R. J. STEDMAN, *J. Amer. Chem. Soc.* 78 (1956) 5954.
- 341 C. RESSLER, *ibid.* 78 (1956) 5956; C. RESSLER und H. RATZKIN, *J. Org. Chem.* 26 (1961) 3356.
- 342 J. C. SHEEHAN und J. J. HLAVKA, *ibid.* 21 (1956) 439; *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 4528.
- 343 J. C. SHEEHAN, P. A. CRUICKSHANK und G. L. BOSHAERT, *J. Org. Chem.* 26 (1961) 2525.
- 343a N. F. ALBERTSON, *Synthesis of Peptides with Mixed Anhydrides, in Organic Reactions*, J. Wiley & Sons, Inc., London/New York 1962, Band 12, S. 157 (538 Zitate).
- 344 T. WIELAND, W. KERN und R. SEHRING, *Liebigs Ann. Chem.* 569 (1950) 117, 122.
- 345 J. R. VAUGHAN jr. und R. L. OSATO, *J. Amer. Chem. Soc.* 73 (1951) 5553.
- 346 G. W. KENNER und R. J. STEDMAN, *J. Chem. Soc.* (1952) 2069.
- 347 H. CHANTRENNE, *Nature* 160 (1947) 603, 164 (1949) 576; *Biophysica Acta* 2 (1948) 286, 4 (1950) 484.
- 348 J. C. SHEEHAN und V. S. FRANK, *J. Amer. Chem. Soc.* 72 (1950) 1312.
- 349 A. COSMATOS, I. PHOTAKI und L. ZERVAS, *Chem. Ber.* 94 (1961) 2644.
- 350 T. WIELAND und H. BERNHARD, *Liebigs Ann. Chem.* 572 (1951) 190.
- 351 R. A. BOISSONNAS, *Helv. Chim. Acta* 34 (1951) 874.
- 352 J. R. VAUGHAN jr. und R. L. OSATO, *J. Amer. Chem. Soc.* 74 (1952) 676.
- 353 Geeignete Lösungsmittel: Tetrahydrofuran, Dioxan, Toluol, Chloroform, Dimethylformamid.
- 354 J. R. VAUGHAN jr., *J. Amer. Chem. Soc.* 74 (1952) 6137; J. R. VAUGHAN jr. und J. A. EICHLER, *ibid.* 75 (1953) 5556.
- 355 A. R. EMERY und V. GOLD, *J. Chem. Soc.* 1950, 1443.
- 356 E. J. LONGOSZ und D. S. TARBELL, *J. Org. Chem.* 26 (1961) 2161.
- 357 K. D. KOPPLE und R. J. RENICK, *ibid.* 23 (1958) 1565.
- 358 T. WIELAND, W. SCHÄFER und E. BOKELMANN, *Liebigs Ann. Chem.* 573 (1951) 99; T. WIELAND und W. SCHÄFER, *ibid.* 576 (1952) 20, 104; T. WIELAND und H. BERNHARD, *ibid.* 582 (1953) 218.
- 359 M. BODANSZKY, *Nature* 175 (1955) 685; *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 10 (1957) 335.
- 360 M. BODANSZKY, M. SZELKE, E. TÖMÖRKENY und E. WEISZ, *ibid.* 11 (1957) 179; *Chem. & Ind.* 1955, 1517.
- 361 R. SCHWYZER, M. FEURER, B. ISELIN und H. KÄGI, *Helv. Chim. Acta* 38 (1955) 80.
- 362 R. SCHWYZER, M. FEURER und B. ISELIN, *ibid.* 38 (1955) 83, 1508.
- 363 R. SCHWYZER, B. ISELIN, W. RITTEL und P. SIEBER, *ibid.* 39 (1956) 872.
- 364 B. ISELIN, W. RITTEL, P. SIEBER und R. SCHWYZER, *ibid.* 40 (1957) 373.
- 365 B. ISELIN und R. SCHWYZER, *ibid.* 43 (1960) 1760.
- 366 J. A. FARRINGTON, G. W. KENNER und J. M. TURNER, *Chem. & Ind.* 1955, 601.
- 367 J. A. FARRINGTON, P. J. HEXTALL, G. W. KENNER und J. M. TURNER, *J. Chem. Soc.* 1957, 1407.
- 368 D. F. ELLIOT und D. W. RUSSELL, *Biochem. J.* 66 (1957) 49p.
- 369 M. ROTHE und F. W. KUNITZ, *Chem. Techn.* 9 (1957) 59; *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 18 (1959) 449.
- 370 K. LÜBKE und E. SCHRÖDER, *Z. Naturforsch.* 16b (1961) 765.
- 371 Darstellung aus Z-Aminosäure + Di-p-nitrophenylsulfid + Pyridin: Lit. 363; aus Tri-p-nitrophenylphosphit + Pyridin + Z-Aminosäure: Lit. 262, 364, 368, 372; + Z-Dipeptid: Lit. 383.

- 372 M. GOODMAN und K. C. STUEBEN, *J. Amer. Chem. Soc.* 81 (1959) 3980.
- 373 B. LIBEREK, *Chem. & Ind.* 1961, 987.
- 374 G. BAILIN und A. LUKTON, *J. Org. Chem.* 27 (1962) 684.
- 375 M. GOODMAN, E. E. SCHMITT und D. A. YPHANTIS, *J. Amer. Chem. Soc.* 84 (1962) 1283.
- 376 G. LOSSE, J. JESCHKEIT und W. LANGENBECK, *Z. Chem.* 1 (1961) 279.
- 377 E. KIEGER und H. GIBIAN, *Liebigs Ann. Chem.* 651 (1962) 194.
- 378 J. MEIENHOFER, unveröffentlicht.
- 379 C. J. MARTIN, J. GOLUBOW und A. E. AXELROD, *J. Biol. Chem.* 234 (1959) 294, 1718.
- 380 Geeignete Lösungsmittel: Äthylacetat, Acetonitril, Dimethylformamid, Chloroform.
- 381 P. HARGITAY und A. HUBERT, Publikation in Vorbereitung; Dissertation A. HUBERT, Universität Lüttich, 1958/59.
- 382 M. BODANSZKY und C. A. BIRKHIMER, *Chimia* 14 (1960) 368.
- 383 S. GUTTMANN, *Chimia* 14 (1960) 368.
- 384 M. GOODMAN und K. C. STUEBEN, *J. Amer. Chem. Soc.* 84 (1962) 1279.
- 385 E. BRICAS, *Bull. Soc. Chim. France* 1961, 2001.
- 386 R. SCHWYZER, in *Protides of the Biological Fluids*, Elsevier Publishing Co., Amsterdam 1961, S. 27.
- 387 G. LOSSE und W. ZÖNNCHEN, *Liebigs Ann. Chem.* 636 (1960) 140.