

# Synthese und massenspektrometrische Untersuchungen von arginin-haltigen Peptiden

WOLFGANG VOELTER, CLAUS ENGELFRIED UND STEFAN FUCHS

*Chemisches Institut der Universität, D-7400 Tübingen (West Germany).  
Auf der Morgenstelle 18*

(Received 12th December 1978)

Synthesis and Mass Spectroscopic Investigations of Arginine-Containing Peptides.

**Summary:** Syntheses by conventional methods for the 3 peptides L-Arg-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>, Gly-L-Leu-L-Arg-OH and Gly-L-Leu-L-Arg-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> are described. The most important results of the mass spectroscopic investigations on these compounds are discussed.

**Summary:** Es werden neue klassische Synthesen für die Peptide L-Arg-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>, Gly-L-Arg-OH und Gly-L-Leu-L-Arg-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> beschrieben. Die wichtigsten Ergebnisse der massenspektrometrischen Untersuchungen der synthetisierten Verbindungen werden diskutiert.

Viele biologisch aktive Peptide, wie Vasopressin, LH-RH, Glucagon, Angiotensin, Bradykinin etc., enthalten Arginin. Bei der Synthese von Peptiden nach Merrifield erhält man mit Fehlsequenzen und Rumpfsequenzen verunreinigte Produkte<sup>1-3</sup>, deren Reinisolierung nach den derzeitigen Trennmethode nur mit großem Aufwand möglich ist. Aus diesen Gründen kommen "Merrifield"-Peptide für die medizinische Anwendung heute nur in begrenztem Ausmaß zum Einsatz. Auch die biologischen Tests von "Festphasen"-Peptiden sind daher nur von beschränkter Aussagekraft.

In dieser Arbeit möchten wir die klassischen Synthesen einiger argininhaltiger Peptide beschreiben, außerdem werden Massenspektren diskutiert und als Strukturbeweis herangezogen.

## Synthese des Tripeptids L-Arginyl-L-prolyl-glycinamid

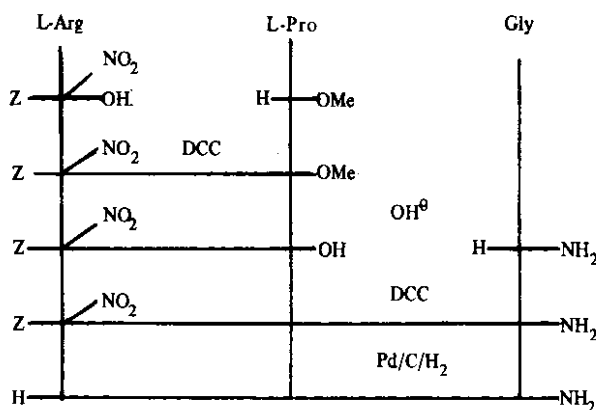
Die Synthese geht aus Schema I hervor.

Durch Kupplung von Z-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-OH mit L-Pro-OMe wird zunächst der geschützte Dipeptidester Z-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-L-Pro-OMe erhalten. Nach Verseifen und Umsetzen mit Gly-NH<sub>2</sub> wird das geschützte Tripeptidamid durch katalytische Hydrierung in bromwasserstoffsaurer Lösung von seinen Schutzgruppen befreit.

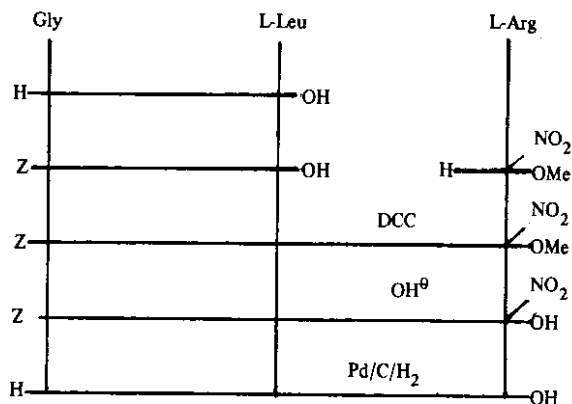
## Synthese des Tripeptids Glycyl-L-leucyl-L-arginin

Die Synthese geht aus Schema II hervor.

Zur Synthese des Dipeptids Glycyl-L-leucin dient die Methode nach E. Fischer<sup>4</sup>. Dabei wird zunächst aus Leu-OH und Chloracetylchlorid das Chloracetyl-L-leucin hergestellt, welches durch Umsetzen mit Ammoniak<sup>4</sup> zum Gly-L-Leu-OH überführt wird.



Syntheschema 1: Darstellung des Peptids L-Arg-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>.



Syntheschema 2: Darstellung des Peptids Gly-L-Leu-L-Arg-OH.

Durch Carbobenzyloxichlorid wird das N-terminale Ende des Glycins geschützt und diese Dipetidsäure mit L-Arg(NO<sub>2</sub>)-OMe nach der DCC-Methode zum Tripeptidester gekuppelt. Durch alkalische Verseifung und anschließende katalytische Hydrierung in salzsaurer Lösung erhält man das gewünschte Endprodukt.

#### Synthese des Pentapeptids Glycyl-L-leucyl-L-arginyl-L-prolyl-glycin

Die Darstellung dieses Peptids ist in dem Syntheschema III angegeben. Das Tripeptid Z-Gly-Lleu-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-OH wird, wie oben beschrieben, hergestellt. Das Dipeptid Z-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> wird durch katalytische Hydrierung in essigsaurer Lösung von der Schutzgruppe befreit und mit der Tripeptidsäure Z-Gly-L-Leu-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-OH nach der DCC-Methode zum geschützten Pentapeptid gekuppelt. Durch Hydrierung in HCl-saurer Lösung wird das gewünschte Endprodukt erhalten.

#### Massenspektrometrische Untersuchungen an den beschriebenen Teilsequenzen und dem Endprodukt

Die freien Peptide werden als N-Trifluoracetyl (TFA)-Peptidmethylester eingesetzt, nachdem sie zuvor mit MeOH/HCl in die entsprechenden Ester überführt werden.

Die argininhaltigen Peptide werden wegen zu geringer Flüchtigkeit zuvor in die entsprechenden Ornithinpeptide<sup>5</sup> überführt. Durch ein- oder zweimaliges Aufbrechen entlang der Peptidbindungen bilden sich die

herangezogen werden. Tabelle 1 gibt die m/e-Werte der Fragmentionen für die hier in Betracht kommenden Aminosäuren Gly, Pro, Leu und Orn an. Durch Abspaltung der Seitengruppen aus den Primär- und Sekundärfragmenten entstehen weitere Fragmentionen. In der Leu-Seitenkette spaltet sich bevorzugt nach einem McLafferty-Mechanismus<sup>6</sup> iso-Buten ab.

Das Massenspektrum des Tripeptidamids L-Arg-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> wird in Abbildung 2 gezeigt. Allerdings muß zunächst das Arginin ins Ornithin überführt werden, sodaß zur massenspektrometrischen Untersuchung das TFA-L-Orn (TFA)-L-Pro-Gly-OMe herangezogen wird. Die wichtigsten Fragmentionen sind in Tabelle 2 interpretiert.

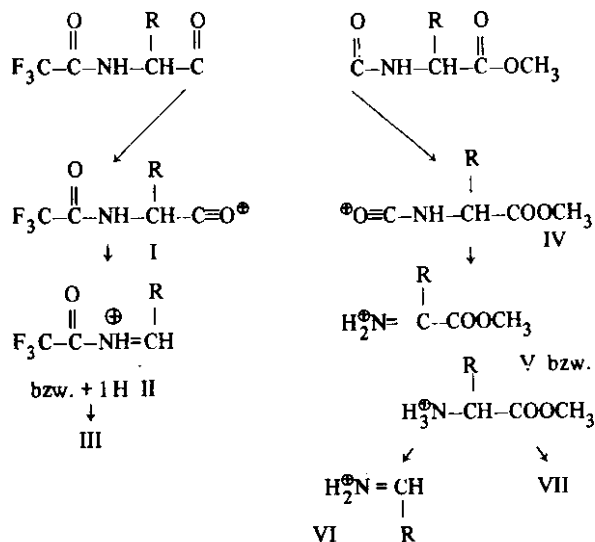
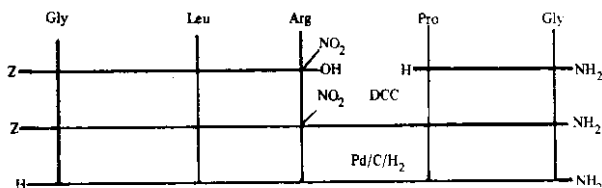


Abbildung 1. Fragmentionen, die aus N- und C-terminalen Aminosäuren aus den TFA-Peptidestern entstehen.



Syntheschema III: Darstellung des Peptids Gly-L-Leu-L-Arg-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>

sog. Primär- und Sekundärfragmente (Pf bzw. Sf). Die Fragmentierungen der einzelnen Peptide sind als Strukturformeln beschrieben (Abb. 1). Die beiden terminalen Aminosäurereste reagieren nach der in Abbildung 1 angegebenen Weise und bilden die Fragmentionen I-VII (Tab. 1), die auch zur Sequenzbestimmung von Peptiden

Tabelle 1. m/e-Werte der Fragmentionen (<sup>a</sup>Werte in Klammern besitzen nur schwache Intensität)

| Aminosäure | m/e-Werte der Fragmentionen |     |     |                    |                |     |     |
|------------|-----------------------------|-----|-----|--------------------|----------------|-----|-----|
|            | I (N-terminal)              | II  | III | IV                 | V (C-terminal) | VI  | VII |
| Gly        | —                           | 126 | —   | —                  | (88)           | 30  | —   |
| Pro        | 194                         | 166 | 69  | (156) <sup>a</sup> | 128            | 70  | —   |
|            |                             | 167 | 139 | —                  | 130            | —   | —   |
| Leu        | —                           | 182 | 69  | —                  | 144            | 86  | —   |
|            |                             | 183 | 140 | —                  | 146            | —   | —   |
| Orn        | —                           | 279 | 166 | 269                | 241            | 183 | 166 |
|            |                             | 280 | 167 | —                  | 243            | —   | —   |

Tabelle 2. Interpretation der wichtigsten Fragmenten von TFA-L-Orn (TFA)-L-Pro-Gly-OMe

| m/e                                     | Interpretation                              |
|---|---|
| 492                                     | Molekülpeak                                 |
| 69, 97, 279                             | Primärfragmente<br>(vgl. Abb. 2)            |
| 307, 376, 404,<br>461, 423, 213,<br>185 |   |
| 166, 167                                | vgl. Tab. 1, S. 6                           |
| 279, 307, 322                           | Sekundärfragmente<br>(vgl. Abb. 2)          |
| 380                                     | M - CF <sub>3</sub> CO-                     |
| 182                                     | Sf 279 - CF <sub>3</sub> CO-                |
| 224                                     | Sf 322 - CF <sub>3</sub> CO- H <sup>⊕</sup> |
| 70                                      | Prolinkörper H <sup>⊕</sup>                 |

Für die massenspektroskopische Untersuchung des Tripeptids Gly-L-Leu-L-Arg-OH gelten gleiche Bedingungen wie für das Tripeptidamid L-Arg-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>. Die wichtigsten Fragmenten für TFA-Gly-L-Leu-L-Orn (TFA)-OMe sind in Tabelle 3 interpretiert.

Auch das Pentapeptid Gly-L-Leu-L-Arg-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> wird in gleicher Weise massenspektrometrisch untersucht. Das Massenspektrum ist in Abbildung 4 gezeigt und die wichtigsten Fragmenten sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

### Experimenteller Teil

Die angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert; sie werden in Kapillaren mit einem Schmelzpunktbestimmungsapparat Monoskop IV nach Dr. Tottoli der Fa. Büchi, Schweiz, gemessen.

Zur Bestimmung der Drehwerte wird ein Digitalpolarimeter OLD 5 der Fa. Zeiss, Oberkochen, verwendet. Die auf die Na-D-Linie bezogenen Werte werden durch Extrapolation bestimmt und haben eine Toleranz von  $\pm (0,6 - 1,0^\circ)$ . Sämtliche Aminosäuren (für biochemische Zwecke) sind Produkte der Fa. E. Merck, Darmstadt. Die Reinheit der Zwischenprodukte wird durch Dünnschichtchromatographie (DC-Fertigplatten, Kieselgel F 254, E. Merck, Darmstadt) und spektroskopische Methoden überprüft.

Die Massenspektren werden an einem LKB 9000 der Fa. LKB Produkter AB, Stockholm, bei 70 eV Ionisierungsspannung, 3,5 kV Beschleunigungsspannung, 200°C Ionenquellentemperatur entweder im Direktinlaß (DI/MS) oder mit vorgeschaltetem Gaschromatographen (GC/MS) (3m Glassäule mit 3% OV 17 auf Chromosorb WAW) aufgenommen.

Tabelle 3. Interpretation der wichtigsten Fragmenten von TFA-Gly-L-Leu-L-Orn (TFA)-OMe

| m/e                                 | Interpretation  |
|-------------------------------------|---|
| 506                                 | Molekülpeak   |
| 69, 112, 126, 239,<br>267, 269, 339 | Primärfragmente<br>(vgl. Abb. 3)  |
| 127, 166, 183<br>183, 241, 243      | vgl. Tab. 1, S. 6   |
| 493                                 | M - CH <sub>3</sub> -   |
| 452                                 | M - iso-Buten   |
| 424                                 | Pf 439 - CH <sub>3</sub> -  |
| 380                                 | Sf (vgl. Abb. 3)  |
| 365                                 | Sf 380 - CH <sub>3</sub> -  |
| 337                                 | Sf 380 - (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH-  |
| 324                                 | Sf 380 - iso-Buten  |
| 311                                 | M - CF <sub>3</sub> CONH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -<br>-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH-CH <sub>2</sub> -      |
| 295                                 | Sf 352 - (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH-CH <sub>2</sub> -   |
| 240                                 | Pf 282 - Propen   |
| 197                                 | Pf 239 - Propen   |
| 155                                 | Sf 170 - CH <sub>3</sub> -  |
| 141                                 | Sf 352 - CH <sub>3</sub> CONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -<br>-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH-CH <sub>2</sub> - |
| 99                                  | Sf 142 - (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH-CH <sub>2</sub> -   |
| 86                                  | Sf 142 - iso-Buten  |

Tabelle 4. Interpretation der wichtigsten Fragmenten von TFA-Gly-L-Leu-L-Orn (TFA)-L-Pro-Gly-OMe

| m/e                                       | Interpretation   |
|---|--|
| 662                                       | Molekülpeak  |
| 69, 126, 239<br>449, 477, 546<br>574, 631 | Primärfragmente<br>(vgl. Abb. 4)                         |
| 307, 420, 477                             | Sekundärfragmente<br>(vgl. Abb. 4)                       |
| 647                                       | M - CH <sub>3</sub> -                                    |
| 605                                       | M - (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH-CH <sub>2</sub> - |
| 534                                       | Pf 631 - CF <sub>3</sub> CO-                             |
| 550                                       | M - CF <sub>3</sub> CO- -CH <sub>3</sub> -               |
| 528                                       | M - CF <sub>3</sub> -iso-Buten <sup>+</sup> H            |

*Prolyl-glycinamid (Acetat, L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>, HAc)*

1,50 g (4,9 mMol) Z-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> werden in 30 ml MeOH/30 ml H<sub>2</sub>O gelöst und nach Zusatz von 1,0 ml (17,5 mMol) Eisessig und 300 mg Pd/C hydriert.

Das Filtrat der Reaktionslösung wird eingedampft und der verbliebene farblose Sirup nach Trocknen über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i.V. aus 60 ml MeOH abs. und 500 ml Äther abs. bei -25°C umkristallisiert. Ausbeute: 0,97 g (86 % d. Th.) Schmp. 122-125°C,  $[\alpha]_D^{20} = -21,3^{\circ}$  (c=1,015; H<sub>2</sub>O). Elementaranalyse: Ber. C 46,76 H 7,41 N 18,17, C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. HAc.Gef. C 46,63 H 7,50 N 18,09. (231,26).

*Carbobenzoxy-glycyl-leucyl-nitroargininmethylester (Z-Gly-L-Leu-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-OMe)*

161 g (5,0 mMol) Z-Gly-L-Leu-OH und 0,50 g (5,0 mMol) N-Methylmorpholin werden in 35 ml abs. THF gelöst. Unter Kühlung werden 0,68 g (5,0 mMol) Chlorameisensäureisobutylester auf einmal zugegeben. Danach werden 1,35 g (5,0 mMol) Arg(NO<sub>2</sub>)-OMe.HCl und 0,51 g (5,0 mMol) N(Et)<sub>3</sub> in 20 ml DMF zugetropft. Nach 5-minütigem Rühren wird das Filtrat der Reaktionslösung eingedampft und das verbleibende gelbe Öl in 100 ml Essigester gelöst. Die organische Phase wird mit 2n Citronensäurelösung, 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und anschließend mit Wasser gewaschen. Ausbeute: (halbfester, farbloser Rückstand nach Trocknen über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i.V.): 2,40 g 89 % d.Th. Umkristallisationsversuche aus EE/PA, EE/A und EE/c-Hexan verliefen erfolglos. Elementaranalyse: Ber. C 51,39 H 6,56 N 18,24, C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>N<sub>7</sub>O<sub>8</sub> (537,57) Gef. C 51,45 H 6,47 N 18,12.

*Carbobenzoxy-glycyl-leucyl-nitroarginin (Z-Gly-L-Leu-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-OH)*

4,50 g (8,35 mMol) Z-Gly-L-Leu-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-OMe werden in 100 ml Aceton/Wasser (6:4) gelöst und nach Zugabe von 8,3 ml 1n NaOH (pH 10) 4 Stunden gerührt. Das Aceton der Reaktionslösung wird verdampft und die verbleibende wässrige Lösung mit 1N-HCl auf pH3 angesäuert. Das dabei ausgefallene Öl wird mit Essigester extrahiert. Nach Einengen der Essigesterlösung verbleibt ein farbloser, halbfester Rückstand, der aus heißem Wasser umkristallisiert wird. Beim Abkühlen der Lösung fällt eine weiße Substanz aus, die abfiltriert und i.V. über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet wird. Ausbeute: 3,16 g (72 % d.Th.), Schmelzbereich 85-110°C, ab 150°C schäumt die Verbindung auf. Elementaranalyse: Ber. C 50,47 H 6,35 N 18,73 C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>N<sub>7</sub>O<sub>8</sub> (523,54) Gef. C 50,39 H 6,46 N 18,65.

*Glycyl-L-leucyl-L-arginin (Dihydrochlorid-Hydrat, Gly-L-Leu-L-Arg-OH. 2HCl. H<sub>2</sub>O)*

700 mg (1,34 mMol) Z-Gly-L-Leu-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-OH werden in 60 ml MeOH/H<sub>2</sub>O (4:2) gelöst und nach Zusatz von 300 mg Pd/C und 1ml 1n-HCl 6 Stunden hydriert. Das Filtrat der Reaktionslösung wird eingengt wobei ein glasiger Rückstand zurückbleibt. Ausbeute: 440 mg (75 % d.Th.). Die Substanz wird über Sephadex G-10 (Elutionsmittel Wasser) gereinigt. Die Verbindung zeigt keinen definierten Schmp. Elementaranalyse: Ber. C 38,62 H 7,4 N 19,30 Cl 16,29 C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>. 2HCl. H<sub>2</sub>O. Gef. C 38,75 H 7,51 N 19,19 Cl 16,41. (435,26).

*Carbobenzoxy-L-nitroarginyl-L-prolyl-glycinamid, Z-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>*

2 g (3,72 mMol) Z-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-L-Pro-OH, und 0,37 g (5,0 mMol) Gly-NH<sub>2</sub> werden in 50 ml DMF gelöst. Dieser Lösung werden 0,81 g (6mMol) HOBt und 1,25 g (6,0 mMol) DCC zugefügt. Es wird 1 Stunde unter Eiskühlung und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abfiltrieren des ausgefallenen Harnstoffs wird die Lösung im Vakuum eingengt und der anfallende Sirup in 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung aufgeschlämmt. Diese Mischung wird mit Essigester extrahiert. Die Essigesterphase enthält den größten Teil der Verunreinigungen und werden verworfen. Die wässrige Phase wird mit einer Mischung von Essigester und Aceton (4:1) extrahiert. Die organische Phase wird eingedampft, der Rückstand in absolutem Äthanol aufgenommen und das gewünschte Produkt mit Petroläther gefällt. Nach Trocknen über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> erhält man eine weiße Substanz. Ausbeute: 1,5 g (80 % d.Th.), Schmelzbereich: 75-110°C,  $[\alpha]_D^{25} = -22,7^{\circ}$  (c=1,0, DMF) Elementaranalyse: Ber. C 49,80 H 5,97 N 22,12 C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub> (506,52) Gef. C 49,95 H 5,88 N 21,98.

*L-Arginyl-L-prolyl-glycinamid (Dihydrobromid-Hydrat, L-Arg-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>. 2HBr.H<sub>2</sub>O).*

506 mg (1,0 mMol) Z-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> werden in 50 ml MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1) gelöst und nach Zusatz von HBr (pH 2) und 200 mg Pd/C 12 Stunden hydriert. Das Filtrat der Reaktionslösung wird eingedampft, der Rückstand unter Erwärmen in 30 ml abs. EtOH/ abs. MeOH (1:1) gelöst und durch Zugabe von abs. Äther gefällt. Ausbeute: 415 mg (82 % d.Th.) Die Verbindung besitzt keinen definierten Schmelzpunkt. Elementaranalyse: Ber. C 30,78 H 5,76 N 19,33 Br. 31,51 C<sub>13</sub>H<sub>29</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub> 2 HBr.H<sub>2</sub>O. Gef. C 30,62 H 5,84 N 19,27 Br. 31,65. (507,24).

*Carbobenzoxy-glycyl-L-leucyl-L-nitroarginyl-L-prolyl-glycinamid (Z-Gly-L-Leu-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>)*

1,7 g (3,35 mMol) Z-Gly-L-Leu-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-OH,

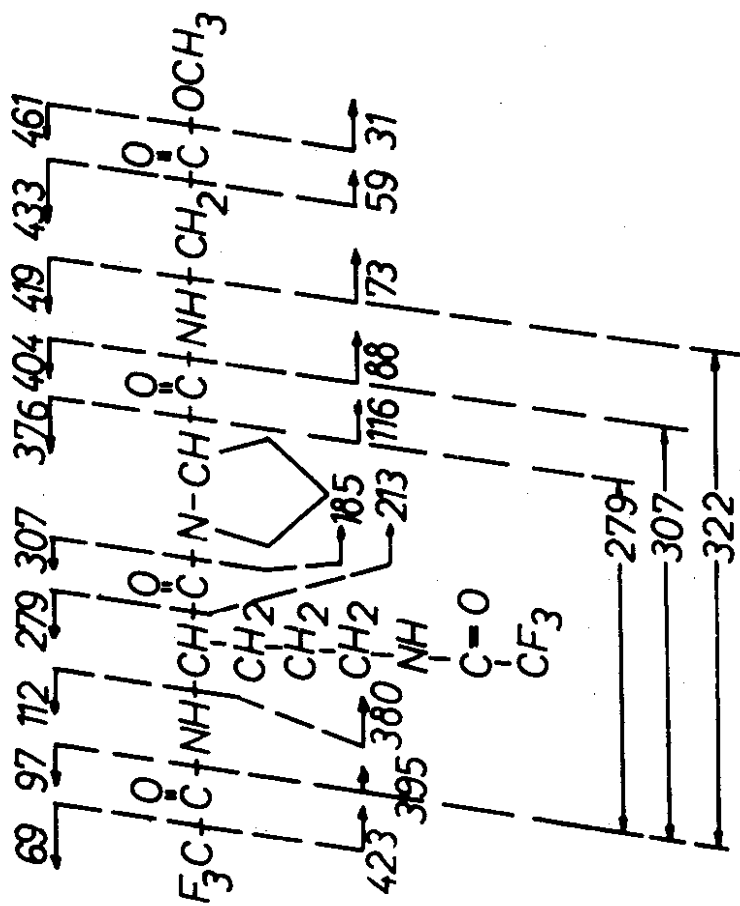
0,81 g (3,50 mMol) L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> und 0,67 g (5,0 mMol) HOBt werden in 50 ml DMF gelöst und auf 0°C gekühlt. Man fügt dieser Lösung 0,35 g (3,5 mMol) N-Methylmorpholin und 1,03 g (5,0 mMol) DCC hinzu. Man läßt 1 Stunde bei 0°C and 24 Stunden bei Raumtemperatur rühren. Nach beendeter Reaktionszeit wird vom ausgefallenen N,N'-Dicyclohexylharnstoff abfiltriert und das DMF im Vakuum abgezogen. Der Rückstand wird in Methanol/H<sub>2</sub>O (6:4) aufgenommen und das gewünschte Endprodukt durch Säulenchromatographie an Sephadex G-10 erhalten (Fließmittel MeOH/H<sub>2</sub>O = 6:4). Ausbeute: 1,22 g (54,0 % d.Th.), Schmelzbereich 100-170°C. Elementaranalyse: Ber. C 51,47 H 6,55 N 20,70 C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>N<sub>10</sub>O<sub>9</sub>: (676,73) Gef. C, 51,55 H 6,39 N 20,61.

*Glycyl-L-leucyl-L-arginyl-L-prolyl-glycinamid (Dihydrochloridhydrat, Gly-L-Leu-L-Arg-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>·2HCl·H<sub>2</sub>O).*

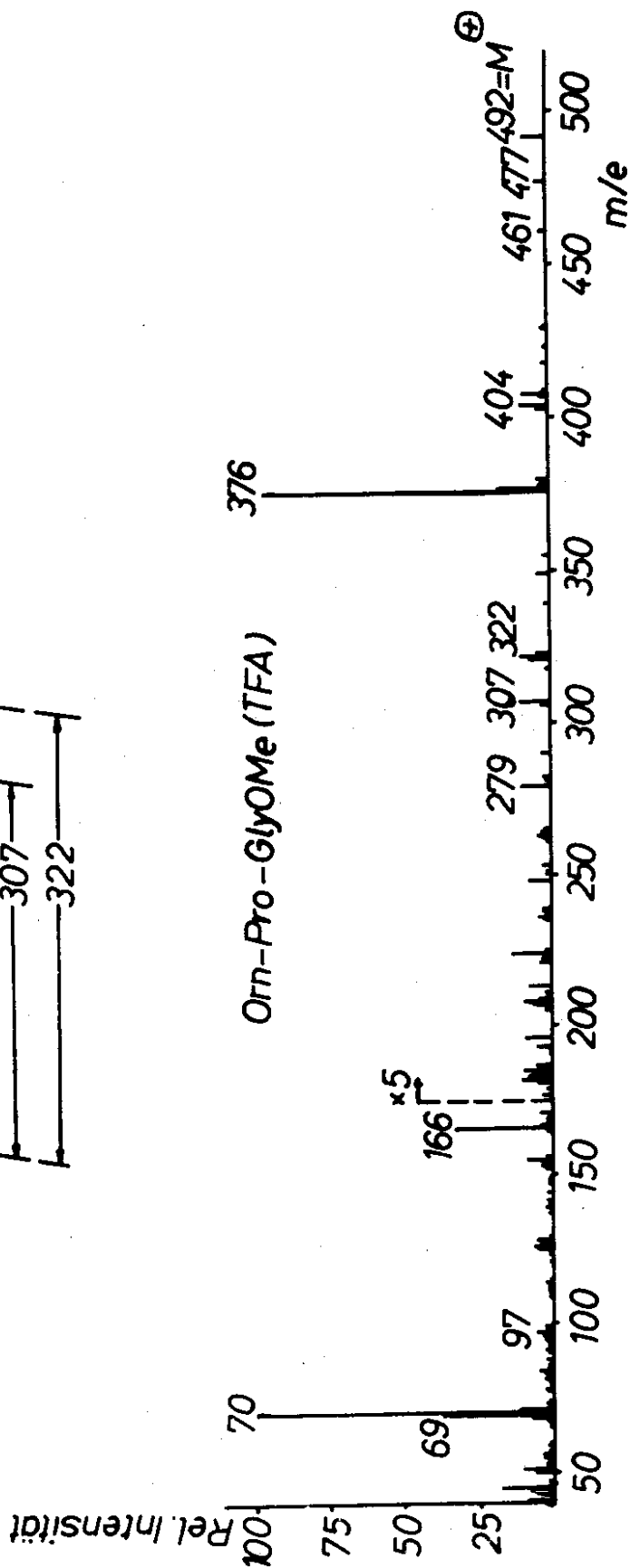
1,50 mg (0,22 mMol) Z-Gly-L-Leu-L-Arg(NO<sub>2</sub>)-L-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> werden in 50 ml H<sub>2</sub>O/ MeOH (1:1) glöst und nach Zugabe von 3 ml 1n HCl (pH 2) und 100 mg Pd/C 6 h hydriert. Nach Einengen des Filtrats der Reaktionslösung verbleibt eine halb feste Substanz. Durch säulenchromatographische Reinigung an Sephadex G-10 (Elutionsmittel Wasser) kann die Verbindung erhalten werden. Ausbeute: 80 mg (62 % d.Th.). Die Verbindung besitzt keinen definierten Schmelzpunkt. Elementaranalyse: Ber. C 42,86 H 7,36 N 21,42 Cl 12,05 C<sub>21</sub> N<sub>9</sub>O<sub>5</sub>·2HCl·H<sub>2</sub>O (588,53).Gef. C 42,71 H 7,29 N 2 Cl 12,11.

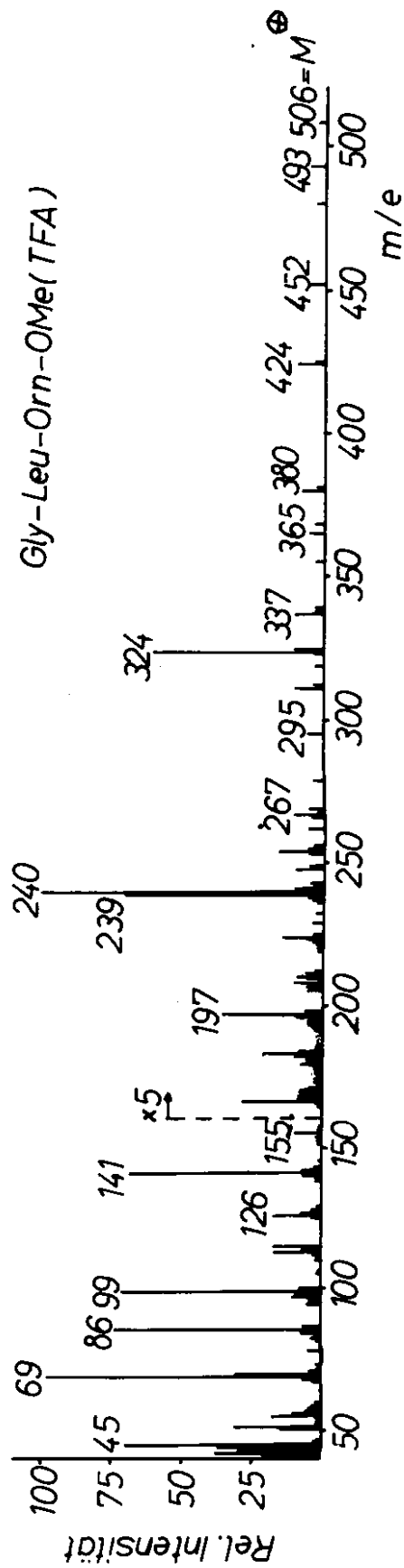
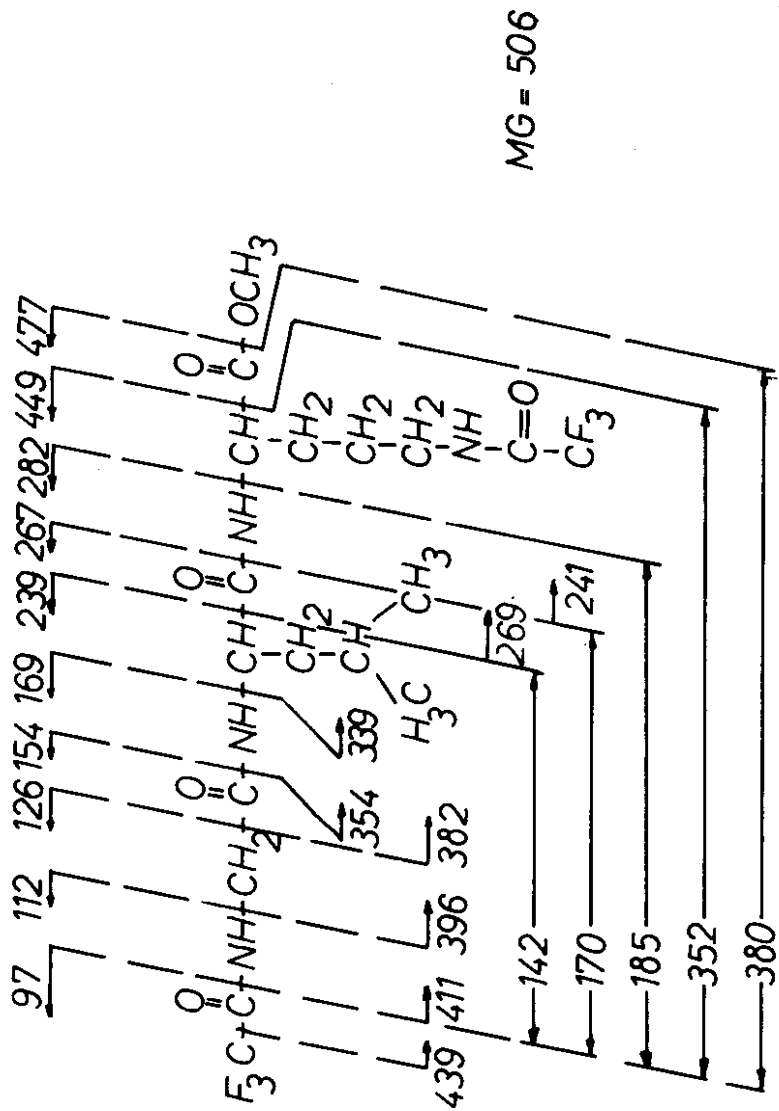
Tabelle 5. Schmelzpunkte und Drehwerte synthetischer Zwischenstufen und deren Vergleich mit Literaturwerten

| Verbindung  | Schmp. gef.<br>°C | Schm. Lit.<br>°C  | $[\alpha]_D^{20}$ , gef.                        | $[\alpha]$ , Lit.  |
|---|-------------------|---|---|--|
| L-Pro-OMe·HCl <sup>7)</sup>                         | 45                |   | -32,7° (c=1, H <sub>2</sub> O)                  |  |
| Gly-NH <sub>2</sub> ·HCl <sup>8)</sup>              | 64-66             | 67-68 <sup>8)</sup>   |   |  |
| L-Leu-chloracetyl <sup>4)</sup>                     | 131-135           | 136 korr. <sup>4)</sup>   | -15° (c=1, 22, EtOH)                            | -14,5° (c=0,27 g auf 3, 12.g Lsg.) <sup>4)</sup>                                 |
| Gly-L-Leu-OH <sup>4,9)</sup>                        | 235-239           | 234-242 korr. <sup>4)</sup><br>225 <sup>9)</sup>                          | -37° (c=1, H <sub>2</sub> O)                    | -35° (c=0, 18 auf 4,13 g wässr. Lsg.) <sup>4)</sup>                              |
| Z-L-Pro-Gly-NH <sub>2</sub> <sup>10,11)</sup>       | 144               | 120 <sup>11)</sup>  | -41,9° (c=0,619, MeOH)<br>-28,9° (c=0,797, DMF) | -30,2° (c=1, DMF) <sup>11)</sup>   |
| Z-L-Pro-OH <sup>12)</sup>                           | 75-76             | 77 <sup>12)</sup>   | -40,6° (c=1,94, EtOH)                           | -40,6° (c=2, EtOH) <sup>12)</sup>  |
| L-Arg(NO <sub>2</sub> )-OH <sup>13,14)</sup>        | 251               | 252-254 <sup>13)</sup><br>251-252 <sup>14)</sup>                          | +22,3° (c=1,056, EtOH)                          | +23,4° (c=4,12, 2n HCl) <sup>13)</sup><br>+24,3° (c=4,12, 2n HCl) <sup>14)</sup> |
| Z-L-Arg(NO <sub>2</sub> )-OH <sup>13)</sup>         | 130-134           | 132-134 <sup>13)</sup>  | -2,4° (c=2,045, MeOH)                           | -3,5° (c=2, MeOH) <sup>13)</sup>   |
| Z-L-Arg-(NO <sub>2</sub> )-L-Pro-PMe <sup>13)</sup> | 156-157           | 159-160 <sup>13)</sup>  | -49,8° (c=0,538, MeOH)                          | -53° (c=2, MeOH) <sup>13)</sup>  |
| Z-L-Arg(NO <sub>2</sub> )-L-Pro-OH <sup>13)</sup>   | 112-115           | 124-126 <sup>13)</sup><br>(TFA-haltig)                                    | -25,4° (c=0,893, DMF)                           | -28,8° (c=1, DMF TFA-haltig) <sup>13)</sup>                                      |
| L-Arg(NO <sub>2</sub> )-OMe <sup>13)</sup>          | 158               | 157-158 <sup>13)</sup>  | +14,5° (c=1,15, MeOH)                           | +14,7° (c=3, MeOH) <sup>13)</sup>  |
| Z-Gly-L-Leu-OH <sup>15,16,17)</sup>                 | 100-102           | 134-136 <sup>15)</sup><br>130-133 <sup>16)</sup><br>104-106 <sup>7)</sup> | -9,5° (c=1,532, EtOH)                           | -10,2° (c=4, EtOH) <sup>15)</sup>  |



MG=492







## Literaturverzeichnis

1. E. Bayer, *Chemie für Labor und Betrieb*, 1969, 193.
2. E. Bayer, H. Hagenmaier, G. Jung, W. Parr, H. Eckstein, P. Hunziker, und R.E. Sievers, *Peptides* 1971, 65.
3. W. Voelter, K. Zech und N. Grubhofer, *Z. Naturforsch.* **28b**, 625 (1973).
4. E. Fischer und J. Steingroerer, *Ann. Chem.* **365**, 167 (1909).
5. W. König, W. Löffler, W.H. Meyer und R. Uhmann, *Chem. Ber.* **106**, 823 (1973).
6. T. Weygand, A. Prox, H.H. Fessel und K.K. Sun, *Z. Naturforsch.* **29b**, 1169 (1965).
7. P.S. Yan und M.M. Rising, *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 1806 (1954).
8. P.S. Yang und M.M. Rising, *J. Am. Chem. Soc.* **53**, 3183 (1931).
9. A. Cosmatos, I. Photaki und L. Zervas, *Chem. Ber.* **94**, 2654 (1961).
10. M. Bodansky und V. du Vigneaud, *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 5690 (1958).
11. P.-A. Jaquenoud und R.A. Boissonnas, *Helv. Chim. Acta* **45 (II)**, 1468 (1962).
12. W. Grassmann und E. Wunsch, *Chem. Ber.* **91**, 462 (1957).
13. H. Gibian und E. Schröder, *Ann. Chem.* **642**, 145 (1961).
14. K. Hofmann, W.D. Peckham und A. Rheiner, *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 238 (1955).
15. G. Losse und H. Weddige, *Ann. Chem.* **646**, 147 (1960).
16. F. Weygand und W. Steglich, *Chem. Ber.* **93**, 2997 (1960).
17. H.R. Kricheldorf, *Synthesis* 1970, 593.