

(D) **iso-Butylchlorocarbonate** iso-Butyl alcohol (b. p. 107~108°C) 1 に対し COCl₂ 1.3 の割合で -70°C, 3.5 時間反応させて合成した。

(E) **Carbobenzoxy-L-leucine** の合成 L-Leucine 131 g (1 mol) を 4N-NaOH 250 ml と水 200 ml とに溶解し -5°C 附近に冷却する。carbobenzoxychloride 240 g (1.2 mol) と 4N-NaOH 250 ml を 7 等分し冷却しながら交互に加え且つ、充分攪伴振とうを繰り返す。反応液を ether で 3 回抽出洗滌する。6N-HCl で pH 2 に調整し, ether で 3 回抽出する (約 2,500 ml) ether 層を 10% NaHCO₃ で 3 回再抽出を行なう。再び 6N-HCl で pH 2 に調整する。次いで約 2,500 ml の ether で抽出を繰り返し, ether 層を水で洗滌し, 無水 MgSO₄ で乾燥 (一夜放置) し, ether を完全に除去した油状物質が Cbz-L-leucine である。収率は 84% であった。

(F) **混合酸無水物法によるペプチドの合成** 一般的に alkyl-chlorocarbonate を用いた混合酸無水物法の反応様式は Fig. 1 に示した通りである。

H₂NCHR₃COOR₄ は 18 種のアミノ酸のメチルエステル又はエチルエステルを示した。

本報では 0.1 mol 反応を主として実施したので、代表的例として carbobenzoxy-L-leucyl-L-isoleucine methylester の合成について詳記する。

Carbobenzoxy-L-leucine 26.5 g (0.1 mol) に CHCl₃

100 ml を加えて溶解し, -5°C で triethylamine 10.1 g (13.9 ml) を加える。一方 isobutylchlorocarbonate 14.5 g を加え -10°C で 30 分間攪拌し更に, toluene を 100 ml を加える。L-isoleucine methylester hydrochloride 18.2 g を CHCl₃ に溶解し -5°C で triethylamine 10.1 g (13.9 ml) を加えたものを, 約 20 分かって前記の混合液中にゆっくり加えて反応させ, 冷蔵庫内に, 一夜放置して反応を完結させた。

反応液を水, 稀 HCl, 水, 稀 NaHCO₃ 溶液, 水で洗滌し, 無水 MgSO₄ を加えて一夜脱水する。脱水後 CHCl₃, toluene を減圧濃縮により除き, 石油ベンゼンを加え, 結晶を析出させた。本報告における実験は, 特記せざる限りこの方法により合成した。

Carbobenzoxy-L-leucyl-L-isoleucine methylester は E. L. Smith 等⁶⁾ により合成が試みられ, 遂に結晶化できなかった化合物で著者により初めて結晶化した化合物である。

(G) **Saponification** 試料 0.01 mol を 50 ml のメタノール又はアセトンに溶解し, 1N-NaOH 10 ml を加えて, 室温でマグネティックスターラーで攪伴しながら 60~120 分で反応を完了する。反応後稀 HCl で酸性とし, 減圧濃縮により, 有機溶媒を除去し, 酢酸エチルで抽出する。5% NaHCO₃ に転溶し, 稀 HCl で酸性とし, さらに, 酢酸エチルで抽出を行ない, 一度水洗して,

Table I. Carbobenzoxy (Z) Peptide Esters Prepared

| Compound | Recrystallization Solvent | Formula | Analysis | | | | | |
|------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------|------|-------|---------|------|-------|
| | | | % Calcd. | | | % Found | | |
| | | | C | H | N | C | H | N |
| Z-Leu-Gly-OEt | Heat EtOH | C ₁₈ H ₂₆ O ₅ N ₂ | 61.70 | 7.47 | 7.99 | 61.61 | 7.40 | 7.94 |
| Z-Leu-Ala-OMe | EtOAc-pet. benzine | C ₁₈ H ₂₆ O ₅ N ₂ | 61.70 | 7.49 | 7.99 | 61.64 | 7.41 | 7.92 |
| Z-Leu-Val-OMe | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Z-Leu-Leu-OMe | EtOAc-pet. benzine | C ₂₁ H ₃₂ O ₅ N ₂ | 64.26 | 8.22 | 7.14 | 64.41 | 8.15 | 6.89 |
| Z-Leu-Ileu-OMe | " | C ₂₁ H ₃₂ O ₅ N ₂ | 64.26 | 8.22 | 7.14 | 64.60 | 8.18 | 6.96 |
| Z-Leu-Asp (OEt) ₂ | " | C ₂₃ H ₃₂ O ₇ N ₂ | 60.53 | 7.39 | 6.42 | 60.47 | 7.42 | 6.50 |
| Z-Leu-Glu (OEt) ₂ | " | C ₂₃ H ₃₄ O ₇ N ₂ | 61.31 | 7.61 | 6.22 | 61.13 | 7.55 | 6.32 |
| Z-Leu-Ser-OMe | Heat EtOAc | C ₁₈ H ₂₆ O ₆ N ₂ | 59.00 | 7.15 | 7.65 | 58.98 | 7.19 | 7.48 |
| Z-Leu-Thr-OMe | EtOAc-pet. benzine | C ₁₉ H ₂₈ O ₆ N ₂ | 59.98 | 7.42 | 7.36 | 60.20 | 7.40 | 7.33 |
| Z-L-Met-OEt | " | C ₂₁ H ₃₂ O ₅ N ₂ | 59.41 | 7.60 | 6.60 | 59.56 | 7.57 | 6.58 |
| Z-Leu-CyS (Bz)-OMe | MeOH-H ₂ O | C ₂₅ H ₃₂ O ₅ N ₂ S | 63.54 | 6.83 | 5.94 | 63.54 | 6.80 | 5.80 |
| Z-Leu-Phe-OMe | " | C ₂₅ H ₃₂ N ₂ O ₅ | 67.58 | 7.09 | 6.57 | 67.51 | 7.05 | 6.53 |
| Z-Leu-Tyr-OMe | EtOAc-pet. benzine | C ₂₄ H ₃₀ O ₅ N ₂ | 65.14 | 68.3 | 6.33 | 65.21 | 6.86 | 6.03 |
| Z-Leu-Try-OMe | MeOH-H ₂ O | C ₂₆ H ₃₁ O ₅ N ₃ | 67.09 | 6.71 | 9.03 | 67.04 | 6.73 | 9.08 |
| Z-Leu-Lys (Z)-OMe | EtOH-H ₂ O | C ₂₉ H ₃₉ N ₇ O ₃ | 64.30 | 7.26 | 7.76 | 64.54 | 7.29 | 7.54 |
| Z-Leu-His-OMe | " | C ₂₁ H ₂₈ N ₅ O ₄ | 60.56 | 6.78 | 13.45 | 60.68 | 6.84 | 12.72 |

赤塚：混合酸無水物法によるロイシルジペプチドの合成

無水 $MgSO_4$ を加えて一夜乾燥する。 $MgSO_4$ を濾去し、
 醋酸エチルを減圧で除去し結晶化する。

(H) Hydrogenolysis 試料 0.01 mol を methanol
 100 ml に溶解し、水 5~10 ml を加える。PdCl₂ 活性炭

Table II. Carbobenzoxy (Z) Peptide Esters Prepared

| Compound | Yield % | M. P. °C | $[\alpha]_D$ | <i>t</i> | <i>c</i> | Solvent |
|------------------------------|---------|----------|--------------|----------|----------|---------|
| Z-Leu-Gly-OEt | 87 | 102 | -26 | 25 | 5.0 | EtOH |
| Z-Leu-Ala-OMe | 82 | 93~93 | -48.5 | 20 | 1.0 | MeOH |
| Z-Leu-Val-OMe | 74 | oil | — | — | — | — |
| Z-Leu-Leu-OMe | 81 | 99~100 | -41.2 | 23 | 5.0 | MeOH |
| Z-Leu-Ileu-OMe | 54 | 73~74 | -29.2 | 21 | 1.5 | // |
| Z-Leu-Asp (OEt) ₂ | 69 | 107~108 | -26.4 | 18 | 2.8 | // |
| Z-Leu-Glu (OEt) ₂ | 57 | 75~76 | -29.4 | // | 3.1 | // |
| Z-Leu-Ser-OMe | 74 | 121~122 | -20.2 | // | 3.0 | // |
| Z-Leu-Thr-OMe | 70 | 99~100 | -21.9 | // | 3.2 | // |
| Z-Leu-Met-OMe | 69 | 82~83 | -35.7 | 21 | 2.3 | // |
| Z-Leu-Cys (Bz)-OMe | 87 | 103~150 | -51.4 | 20 | 4.9 | // |
| Z-Leu-Phe-OMe | 79 | 91~92 | -25.2 | 18 | 3.2 | // |
| Z-Leu-Tyr-OMe | 24 | 102~105 | -16.6 | 20 | 2.9 | // |
| Z-Leu-Try-OMe | 76 | 115~116 | -15.2 | 18 | 2.0 | // |
| Z-Leu-Lys (Z)-OMe | 84 | 85~86 | -20.5 | 21 | 3.0 | // |
| Z-Leu-His-OMe | 56 | 147~148 | -23.3 | 20 | 3.0 | // |

Table III. Carbobenzoxy (Z) Peptide Esters Prepared

| Compound | Yield % | M. P. °C | $[\alpha]_D$ | <i>t</i> °C | <i>c</i> | Solvent |
|----------------------------------------------------------------|---------|-------------|--------------|-------------|----------|---------|
| Z-Leu-Gly-OH | 86 | 113~114 | -29.1 | 19 | 2.0 | MeOH |
| Z-LeuAla-OH | 88 | 152~153 | -28.3 | 24 | 3.0 | // |
| Z-Leu-Val-OH | 43 | 111~112 | -19.4 | 17 | 2.4 | // |
| Z-Leu-Leu-OH | 90 | 118 | -30.7 | 18 | 3.0 | // |
| Z-Leu-Ileu-OH | 90 | 101~102 | -15.3 | 21 | 3.2 | // |
| Z-Leu-Asp $\begin{matrix} \text{OH} \\ \text{OH} \end{matrix}$ | 71 | | | | | |
| Z-Leu-Glu $\begin{matrix} \text{OH} \\ \text{OH} \end{matrix}$ | 89 | 150~152 | | | | |
| Z-Leu-Ser-OH | 83 | 56~59 | | | | |
| Z-Leu-Thr-OH | 70 | 76~77 | -9.6 | 21 | 2.8 | MeOH |
| Z-Leu-Met-OH | 82 | 135.5~136.5 | -24.3 | 21 | 2.8 | // |
| Z-Leu-CyS (Bz)-OH | 66 | 158.5~159.5 | -48.5 | 22 | 2.3 | // |
| Z-Leu-Phe-OH | 83 | 123.5~124 | -10.0 | 22 | 2.7 | // |
| Z-Leu-Tyr-OH | 72 | 75~80 | -1.9 | 18 | 3.6 | // |
| Z-Leu-Try-OH | 80 | 168~168.5 | -6.6 | 18 | 3.0 | // |
| Z-Leu-Lys (Z)-OH | 85 | 105 | -8.6 | 21 | 2.8 | // |
| Z-Leu-His-OH | 59 | 115 | +11.3 | 21 | 3.1 | // |

約1gを加え、醋酸4~5滴を加えてから、水素ガスを通してながら1~2時間マグネティックスターラーで攪拌する。反応終了後、反応液をセライトで濾過し、熱水で洗滌後、濾液を濃縮し、アルコールかアセトンを加えて結晶化する。

なお、脱 carbobenzoxy 法として、主として PdCl₂ 活性炭を用いたが carbobenzoxy-L-leucyl-s-benzylcysteine の場合は、HBr-acetic acid を用いた。

3. 実験結果

実験結果は第I表~第IV表に示した。

(1) 第I表および第II表について

第I表および第II表の結果から明らかなように16種の carbobenzoxy peptide ester の合成にはほぼ満足すべき好結果を得た。しかしながら、carbobenzoxy-Leu-Arg-OMe および Carbobenzoxy-Leu-Pro-OMe の合成は M. A. 法では成功しなかった。carbobenzoxy-Leu-Val-OMe は結晶化せず油状物質として収量を求めた。

この物質はケン化して carbobenzoxy-Leu-Val-OH として簡単に結晶化できるのでこの段階で元素分析を行った。C₁₉H₂₈O₆N₂ (分子式) 計算値は C, 62.62, H, 7.74, N, 7.69 に対し実験値は C, 62.75, H, 7.81, N, 7.49 であった。

Carbobenzoxy Leu-Ileu-OMe は E. L. Smith 等⁵⁾ により結晶化ができないと報告されているが収率は54%で余りよくないが M. A. 法で結晶化に成功した。

酸性アミノ酸エステルとの反応の場合 ethyl ester の場合のみ好結果を得た。同様な結果は carbobenzoxy-Leu-Tyr-OMe の場合にもみられ、methylester との反応では収率24%と極めて低い値を示したが ethylester との反応では82%の好収率で得られた。

Carbobenzoxy-Leu-Tyr-OEt は M. P. 114~115°C で元素分析の結果は分子式 C₂₅H₃₂O₆N₂, 計算値 C, 65.77, H, 7.07, N, 6.14 で実験値 C, 65.68, H, 7.20, N, 6.25 であった。

Vaughan 等⁶⁾ は本法により carbobenzoxy-Leu-Leu-OMe (71%), carbobenzoxy-Leu-Tyr-OEt (63%) 等を合成した報告があり、また G. W. Anderson 等⁶⁾ は car-

Table IV. Peptides Prepared

| Compound | Yield % | $[\alpha]_D$ | <i>t</i> °C | <i>c</i> | Solvent |
|----------------------------------------------------------------|---------|--------------|-------------|----------|------------------|
| H-Leu-Gly-OH | 76 | +37.3 | 21 | 1.5 | N HCl |
| H-Leu-Ala-OH | 79 | -4.2 | 23 | 3.1 | N HCl |
| H-Leu-Val-OH | 77 | +12.3 | 23 | 1.0 | N HCl |
| H-Leu-Leu-OH | 85 | -12.7 | 21 | 1.1 | N NaOH |
| H-Leu-Ileu-OH | 70 | +24.0 | 20 | 3.0 | N HCl |
| H-Leu-Asp $\begin{matrix} \text{OH} \\ \text{OH} \end{matrix}$ | 33 | +11.4 | 20 | 2.8 | " |
| H-Leu-Glu $\begin{matrix} \text{OH} \\ \text{OH} \end{matrix}$ | 20 | +7.7 | 20 | 3.0 | " |
| H-Leu-Ser-OH | 50 | +31.0 | 24 | 2.0 | H ₂ O |
| H-Leu-Thr-OH | 60 | +18.2 | 21 | 2.2 | " |
| H-Leu-Met-OH | 20 | | | | |
| H-Leu-CyS (Bz)-OH | 84 | -15.2 | 20 | 3.1 | N HCl |
| H-Leu-Phe-OH | 76 | +12.4 | 22 | 1.0 | H ₂ O |
| H-Leu-Tyr-OH | 60 | +19.7 | 21 | 1.0 | " |
| H-Leu-Try-OH | 68 | +2.6 | 20 | 1.7 | N HCl |
| H-Leu-Lys-OH | 50 | | | | |
| H-Leu-His-OH | 60 | +31 | 22 | 4.0 | H ₂ O |

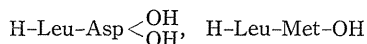
bobenzoxy-Leu-Gly-OEt (80%) を合成した報告がある。

第 III 表について

第 III 表の結果は 2.-(G) により NaOH でケン化を行い、結晶化し、収量, M.P. $[\alpha]_D$ を求めた結果である。この結果はほぼ満足すべき結果を得た。

第 IV 表について

第 IV 表の結果は 2.-(H) の方法により dipeptide を合成し収率, M.P. $[\alpha]_D$ を求めた結果である。



の収率の悪い結果を除いてはほぼ満足すべき結果を得た。

本研究に遂行するに当り御指導を載きました赤堀四郎先生、泉美治先生に深謝致します、また実験に協力され

た下西康嗣博士、伊藤民生博士、清井令子、井上すみ子、田中清江の諸氏に心から謝意を表します。

4. 文 献

- 1) Greenstein, J. P. and M. Winitz: Chemistry of the Amino Acids, John Wiley & Sons., Inc. II, 978 (1961)
- 2) Vaughan, J. R.: J. Am. Chem. Soc., **73**, 3547 (1951)
Vaughan, J. R. and R. L. Osato: *ibid.*, **74**, 676 (1952)
- 3) Boissonas, R. A.: *Helv. Chem. Acta*, **34**, 874 (1951)
- 4) Wieland, T. and H. Bernhard: *Ann.*, **572**, 190 (1951)
- 5) Smith, E. L., D. H. Spackman and W. J. Polglase: *J. Biom. Chem.*, **199**, 801 (1951)
- 6) Anderson, G. W., J. Blodinger and A. D. Welcher: *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 5309 (1952)

Summary

In order to investigate further specificity and mechanism of the metal activation of the enzyme, *Aspergillus* dipeptidase, a large number of L-leucylpeptides were required.

In the synthetic study, sixteen L-leucyl-L-amino acids except L-leucyl-L-arginine and L-leucyl-L-proline were synthesized by the mixed carboxylic-carbonic acid anhydride method.

The preparation and properties of sixteen dipeptides and dipeptide derivatives were described.