

## Eine neue Totalsynthese von Methionin-Enkephalin

A New Improved Synthesis of Methionine-enkephalin

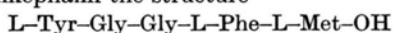
WOLFGANG VOELTER, HUBERT KALBACHER  
und EMANUEL PIETRIK

Chemisches Institut der Universität Tübingen

(Z. Naturforsch. **31b**, 1015–1016 [1976]; eingegangen am 30. April 1976)

Enkephalin, Peptide Synthesis,  
„Endogenous Opiate“

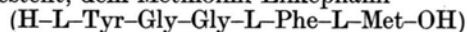
A new improved synthesis of methionine-enkephalin is described. For methionine-enkephalin the structure



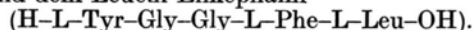
has been suggested most recently. The peptide is synthesized from Boc-Gly-Gly-OH, H-L-Phe-OMe, Boc-L-Tyr(OH) and H-L-Met-OMe by means of "classical" methods.

Ende letzten Jahres haben HUGHES *et al.*<sup>1</sup> die Strukturen für Enkephalin publiziert. Durch Aminosäureanalyse, Edman-Abbau und Massen-

spektrometrie konnte gezeigt werden, daß das „endogene Opiat“ Enkephalin aus 2 Pentapeptiden besteht, dem Methionin-Enkephalin



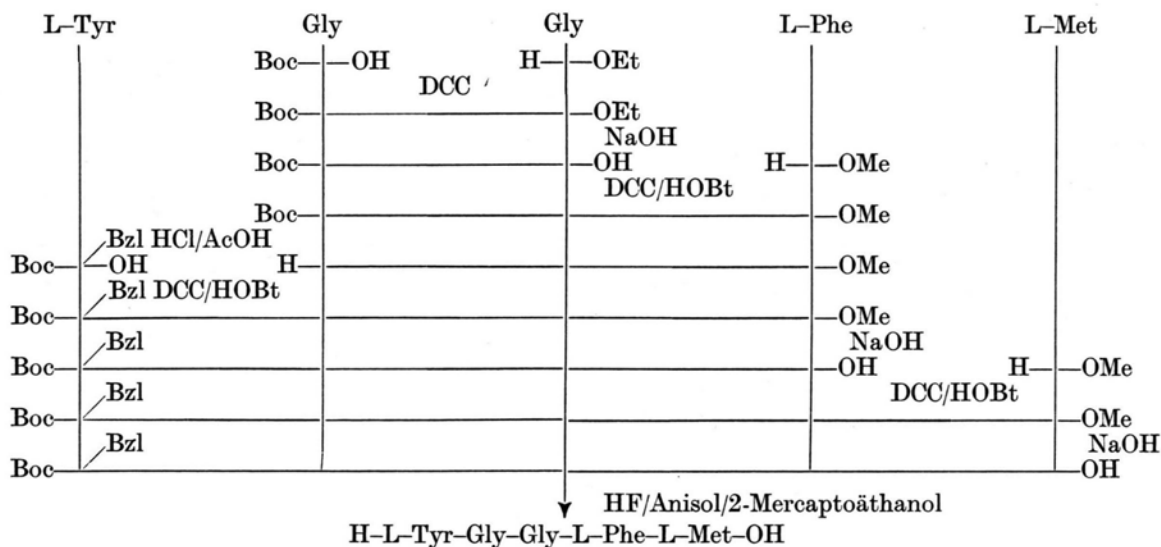
und dem Leucin-Enkephalin



Eine Totalsynthese von Methionin-Enkephalin ist vor kurzem publiziert worden<sup>2</sup>. Da das Methionin-Enkephalin auf Grund seiner physiologischen Eigenschaften von eminenter Bedeutung für die Medizin und Biologie werden dürfte, haben wir uns entschlossen, diese Verbindung auf einem neuen verbesserten Weg herzustellen. Das hier beschriebene Syntheseprodukt sollte außerdem zur Überprüfung des bisher beschriebenen Peptids<sup>2</sup> dienen.

Zur Darstellung von Methionin-Enkephalin werden folgende Aminosäurederivate hergestellt: *tert*-Butyloxycarbonyl-glycin (Schmp. 88–89 °C)<sup>3</sup>, das Hydrochlorid des Glycinäthylesters (Schmp. 144 °C)<sup>4</sup>, das Hydrochlorid des L-Phenylalaninmethylesters (Schmp. 160–161 °C,  $[\alpha]_D + 27,3^\circ$ ,  $c = 1$ , CH<sub>3</sub>COOH)<sup>5</sup>, das Hydrochlorid des L-Methioninmethylesters (Schmp. 153–155 °C,  $[\alpha]_D + 27,1^\circ$ ,  $c = 1$ , H<sub>2</sub>O)<sup>6</sup> und *tert*-Butyloxycarbonyl-benzyl-L-tyrosin (Schmp. 107–109 °C,  $[\alpha]_D + 16,3^\circ$ ,  $c = 1$ , CH<sub>3</sub>OH)<sup>7</sup>.

Das folgende Syntheschema verdeutlicht die eingeschlagene Strategie zur Darstellung des Pentapeptids:



Der geschützte Äthylester (Schmp. 60–62 °C) wird in einer Ausbeute von 83% der Theorie erhalten und in Methanol/Wasser (8:2) mit 1 N NaOH zur freien Säure (Schmp. 125–127 °C) verseift. Die Verseifung verläuft mit 73-proz. Ausbeute der Theorie.

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. WOLFGANG VOELTER, Auf der Morgenstelle, D-7400 Tübingen.

*tert*-Butyloxycarbonyl-glycyl-glycin wird anschließend mit Dicyclohexylcarbodiimid unter Zusatz von 1-Hydroxybenzotriazol an L-Phenylalaninmethylester mit 84-proz. Ausbeute der Theorie gekuppelt. *tert*-Butyloxycarbonyl-glycyl-glycyl-L-phenylalaninmethylester schmilzt bei 121 bis 122 °C ( $[\alpha]_D + 38,7^\circ$ ,  $c = 1,25$ , CH<sub>3</sub>COOH).

Abspaltung der Boc-Gruppe mit 1,2 N Salzsäure (in Eisessig) liefert das Hydrochlorid des Glycyl-

glycyl-L-phenylalaninmethylesters (Schmp. 182 bis 183 °C,  $[\alpha]_D + 47,0^\circ$ ,  $c=1$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). Dieser Schritt verläuft mit 83-proz. Ausbeute der Theorie.

*tert*-Butyloxycarbonyl-benzyl-L-tyrosyl-glycyl-glycyl-L-phenylalaninmethylester wird durch Reaktion von *tert*-Butyloxycarbonyl-benzyl-L-tyrosin mit Glycyl-glycyl-L-phenylalaninmethylester hergestellt (Ausbeute 49% der Theorie, Schmp. 108 bis 110 °C,  $[\alpha]_D + 26,3^\circ$ ,  $c=1$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). Die Verseifung zur freien Säure

Boc-L-Tyr(Bzl)-Gly-Gly-L-Phe-OH erfolgt mit 72-proz. Ausbeute der Theorie; sie hat einen Schmp. von 95–96 °C und einen Drehwert von  $[\alpha]_D + 34,3^\circ$  ( $c=0,95$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).

Die Vorstufe von Methionin-Enkephalin (Boc-L-Tyr(Bzl)-Gly-Gly-L-Phe-L-Met-OH) wird durch eine DCC-Kupplung (Reaktionsausbeute 73%) und anschließende Verseifung in Methanol/Wasser (8:2) (Reaktionsausbeute 67%) erhalten.

Durch Abspaltung des *tert*-Butyloxycarbonyl- und Benzylrestes mit Fluorwasserstoff in Gegenwart von Anisol und 2-Mercaptoäthanol wird das endogene Opiat Methionin-Enkephalin in 45-proz. Rohausbeute erhalten.

Nach Reinigung über eine LH-20-Säule mit Methanol/Wasser (95:5) erhält man ein Produkt, welches bei 195 °C unter Zersetzung schmilzt und einen Drehwert von  $[\alpha]_D 31,2^\circ$  ( $c=1$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) hat.

<sup>1</sup> J. HUGHES, T. W. SMITH, H. W. KOSTERLITZ, L. A. FOTHERGILL, B. A. MORGAN und H. R. MORRIS, *Nature* **258**, 577 [1975].

<sup>2</sup> W. VOELTER, C. BÜRVENICH, H. HORN, H. KALBACHER und E. PIETRIK, *Angew. Chem. Int. Ed.* **15**, 297 [1976].

<sup>3</sup> G. W. ANDERSON und A. C. MCGREGOR, *J. Amer. Chem. Soc.* **79**, 6180 [1957].

<sup>4</sup> R. W. CHAMBERS und F. M. CARPENTER, *J. Amer. Chem. Soc.* **77**, 1522 [1955].

<sup>5</sup> H. SCHWARZ, F. M. BUMPUS und I. H. PAGE, *J. Amer. Chem. Soc.* **79**, 5697 [1957].

<sup>6</sup> M. BRENNER und R. W. PFISTER, *Helv. Chim. Acta* **34**, 2085 [1951].

<sup>7</sup> T. NAGASAWA, K. KUROIWA, K. NARITA und Y. ISOWA, *Bull. Chem. Soc. Jap.* **46**, 1269 [1973].