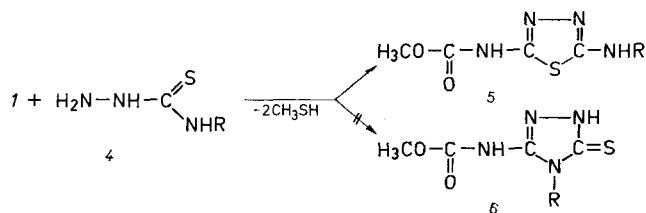


benachbarten N—H-Protons erklärt werden kann. Eine entsprechende Kopplung ist nur in den 2-Alkyl(bzw. Aryl)amino-5-carbomethoxyamino-1,3,4-thiadiazolen (**5**) möglich. Zusätzliche Entschwefelungsversuche mit frisch zubereitetem Quecksilberoxid gelangen nicht. Im gleichen Sinne ist auch die Tatsache zu werten, daß wegen der sterischen Hinderung des Restes R eine Reaktion am Schwefel gegenüber dem N¹ begünstigt ist.



Die IR-Spektren der Verbindungen **5** sind denen von **3** weitgehend ähnlich. Die Carbonylbande erscheint zwischen 1700 und 1740 cm⁻¹ in Abhängigkeit von den Substituenten R. Die Ringschwingungen finden sich als komplexe, sehr intensive Banden zwischen 1500 und 1600 cm⁻¹. Die Methoxygruppe erscheint als sehr lagekonstante Bande um 1255 cm⁻¹.

Tabelle 1 Dargestellte 2-Alkylthio-5-carbomethoxyamino-1,3,4-thiadiazole (**3**)¹⁾

Verbindung	R	Schmp. in °C	Ausbeute in %
3a	CH ₃ —	186–187	85
3b	C ₆ H ₅ —CH ₂ —	155	87

¹⁾ Die Ergebnisse der Elementaranalyse entsprechen in den üblichen Fehlergrenzen den berechneten.

Tabelle 2 Dargestellte 2-Alkyl(bzw. Aryl)amino-5-carbomethoxyamino-1,3,4-thiadiazole (**5**)¹⁾

Verbindung	R	Schmp. in °C	Ausbeute in %
5a	CH ₃ —	202	82
5b	C ₂ H ₅ —	181–182	85
5c	n-C ₃ H ₇ —	155	60
5d	n-C ₄ H ₉ —	150–151	65
5e	i-C ₄ H ₉ —	129–130	61
5f	C ₆ H ₁₁ —	188	84
5g	4-Cl—C ₆ H ₄ —CH ₂ —	160–161	76
5h	C ₆ H ₅ —	232	78

¹⁾ s. Tab. 1, Fußnote

Arbeitsvorschriften

Darstellung der 2-Alkylthio-5-carbomethoxyamino-1,3,4-thiadiazole (3): 0,02 mol **1** werden mit der äquivalenten Menge **2** in 50 ml Ethanol bis zum Ende der Mercaptanentwicklung gekocht. Die nach dem Einengen der Reaktionslösung kristallisierenden Produkte werden aus DMF/Wasser umkristallisiert.

Darstellung der 2-Alkyl(bzw. Aryl)amino-5-carbomethoxyamino-1,3,4-thiadiazole (5): 0,02 mol **1** werden mit 0,02 mol **4** bis zum Ende der Mercaptanentwicklung in 75 ml Ethanol gekocht. Nach dem Abkühlen der Reaktionslösung kristallisieren die Thiadiazole **5** aus der Lösung aus. Die Mutterlauge enthält nur noch geringe Mengen Produkt. Man saugt die Kristalle ab und kristallisiert sie aus DMF/Wasser um.

Literatur

[1] Evers, R.; Fischer, E.; Pulkenat, M.: Z. Chem. **20** (1980) 371

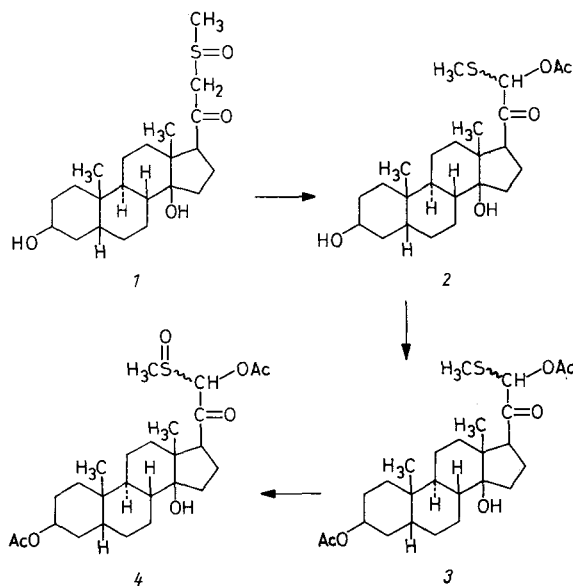
Rainer Evers, Eberhard Fischer und Marianne Pulkenat, Sektion Chemie, Wilhelm-Pieck-Universität Rostock, DDR-2500 Rostock, Buchbinderstraße 9

eingegangen am 2. Mai 1980

ZCM 6692

Zur Pummerer-Umlagerung von 3β,14-Dihydroxy-21-methylsulfinyl-5β,14β-pregnan-20-on¹⁾

Das als Schlüsselverbindung für die Synthese von Cardenolid-Analogen benötigte β-Ketosulfoxid **1** [2] reagiert bei Einwirkung einer äquimolaren Menge Acetanhydrid in Pyridin primär im Sinne einer Pummerer-Umlagerung zu **2**. Erst ein Überschuß an Acetanhydrid bewirkt die Acetylierung der 3β-OH-Gruppe unter



Bildung von **3**. Die Pummerer-Umlagerung verläuft also schneller als die O-Acetylierung in 3-Stellung. Dieses Ergebnis überrascht insofern, da ein analoges 14α-H-Steroidyl-β-ketosulfoxid mit überschüssigem Acetanhydrid in Pyridin in 3-Stellung O-acetyliert werden konnte, ohne daß dabei die 21-Methylsulfinylgruppe eine Umlagerung erfährt [3]. Wie das NMR-Spektrum zeigt, ist die Verbindung **3** an C₂₁ sterisch einheitlich; weder das 21-Protonensignal noch das Signal der 21-Thiomethylgruppe sind aufgespalten. Der Thioether **3** läßt sich mit m-Chlorperbenzoesäure [4] in praktisch quantitativer Ausbeute zum α-Acetoxy-β-ketosulfoxid **4** oxydieren. Die Oxydation führt, bezogen auf das asymmetrische Schwefelatom, zu einer sterisch einheitlichen Verbindung, wie die Singulets des Protons an C₂₁ und der 21-Methylsulfinylgruppe zeigen. Die Verbindungen **2**, **3** und **4** stellen geeignete Ausgangsverbindungen für die Synthese weiterer Cardenolid-analoger γ-Steroidyl-butenolide dar (vgl. 2. Mitt. [2]).

Experimentelles

Die Schmelzpunkte (korr. Werte) wurden mit dem Mikro-Schmelzpunktapparat Boëtius bestimmt. Die ¹H-NMR-Spektren (δ-Werte in ppm) wurden in CDCl₃ und Verwendung von TMS als interner Standard mit einem KRH 100 (Zentrum für wissenschaftlichen Gerätebau der AdW der DDR) und die Massenspektren mit dem Massenspektrometer MS 902 S (AEI, Manchester) aufgenommen.

3β,14-Dihydroxy-21ξ-methylthio-20-oxo-5β,14β-pregnan-21-yl-acetat (2) und 14-Hydroxy-21ξ-methylthio-20-oxo-5β,14β-pregnan-3β,21-diol-diacetat (3): 30 mg (0,075 mmol) **1** wurden in 0,5 ml Pyridin mit 0,0075 ml (0,075 mmol) Acetanhydrid versetzt und 16 h bei Raumtemperatur stehengelassen. (Dünnschichtchromatographisch sind nach dieser Zeit nur **2** und **1** nachzuweisen.) Danach wurden weitere 0,01 ml (0,1 mmol) Acetanhydrid zugegeben. Nach insgesamt 44 h wurde der Ansatz mit Dichlormethan aufgenommen, mit 5%iger KHCO₃-Lösung und gesättigter NH₄Cl-Lösung neutral gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand durch präparative DC aufgetrennt und lieferte 18 mg (55% d. Th.) **2** sowie 12 mg (33% d. Th.) **3**.

2: Schmp. 158–160°C (Zers., Aceton–n-Hexan); MS: M⁺ gef. 438,2438, M⁺ ber. 438,2440 für C₂₄H₃₈O₅S.

¹⁾ 5. Mitteilung über Partialsynthesen von Cardenoliden und Cardenolid-Analogen; 4. Mitteilung vgl. [1].

3: Schmp. 177–182°C (Aceton-n-Hexan); NMR: 1,98 und 2,02 (2s, 3 β - und 21-Acetoxy), 2,21 (s, 21-SCH₃), 5,76 (s, 21-H); MS: M⁺ = 480, M⁺ – H₂O gef. 462,2432, M⁺ – H₂O ber. 462,2441 für C₂₅H₃₈O₉S.

14-Hydroxy-21 ξ -methylsulfinyl-20-oxo-5 β ,14 β -pregnan-3 β ,21-diol-diacetat (4): 100 mg (0,21 mmol) 3 wurden in 5 ml Dichlormethan mit 50 mg 90%iger (0,25 mmol) m-Chlorperbenzoesäure versetzt und 1 h bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach dem Waschen mit 0,1 N KHCO₃-Lösung und Wasser und Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum wurden 105 mg (100% d. Th.) reines kristallines 4 erhalten. Schmp. 183–186°C (Zers., Aceton-n-Hexan); NMR: 2,03 (s, 3 β -Acetoxy), 2,30 (s, 21-Acetoxy), 2,60 (s, 21-SOCH₃), 6,21 (s, 21-H); MS: 494 = M⁺ – 2H gef. 494,2292, M⁺ – 2H ber. 494,2238 für C₂₆H₃₈O₇S.

Literatur

- [1] Theil, F.; Lindig, C.; Repke, K.: Z. Chem. **20** (1980) 372
- [2] Theil, F.; Lindig, C.; Repke, K.: J. prakt. Chem., im Druck
- [3] Bartlett, P. A.: J. Amer. chem. Soc. **98** (1976) 3305
- [4] Lavielle, S.; Bory, S.; Moreau, B.; Luche, M. J.; Marquet, A.: J. Amer. chem. Soc. **100** (1978) 1558

Fritz Theil, Claus Lindig und Kurt Repke, Zentralinstitut für Molekularbiologie, Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin der Akademie der Wissenschaften der DDR, 1115 Berlin-Buch

eingegangen am 7. April 1980

ZCM 6672

Synthesen N-terminaler Pentapeptidfragmente der Insulin-A-Kette

Zum Aufbau der Insulin-A-Kette wird N-terminal häufig das Fragment A1–5 verwendet. Das C-terminal freie Pentapeptid, das am günstigsten N^α-Boc¹⁾ – und an der Glutaminsäure als γ -tert-Butylester geschützt wird, kann man aus Glutamin über Salzkuppelungen entweder durch C-terminale Verlängerung der bekannten Tetrapeptidsäure 1 [2] oder stufenweise durch Kupplung mit aktivierten Estern der Amino-säuren [3], [4] herstellen.

Wir synthetisierten 3 im Zusammenhang mit der Synthese einer [Ala¹²]-Schafinsulin-A-Kette mit präformiertem Disulfidring [5] aus der Tetrapeptidsäure 1 und Glutamin nach der MA-Methode in 67%iger Ausbeute. Die Pentapeptidsäure 3 zeigt jedoch nur eine sehr geringe Löslichkeit in DMF, so daß wir für die A-Kettensynthese die Pentapeptidsäure mit dem Mbh-Schutz an der Seitenkette des Glutamins darstellten. Dieses Pentapeptidfragment 5 wurde bereits von König [6] für eine A-Kettensynthese verwendet und durch Fragmentkondensation aus Boc-Gly-Ile-OH und H-Val-Glu(OBut)-Gln(Mbh)-OH nach dem DCCI/HOObt-Voraktivierungsverfahren [7] gewonnen. Wir verwendeten zunächst analog zur Darstellung von 3 die C-terminale Verlängerung von 1 mit H-Gln(Mbh)-OH nach der MA-Methode und erhielten 5 in 50%iger Ausbeute. Erwartungsgemäß zeigte die am Glutamin mit dem Mbh-Rest geschützte Pentapeptidsäure 5 eine weit bessere Löslichkeit in DMF.

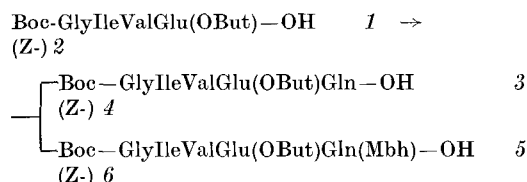


Bild 1

¹⁾ Nomenklatur und Abkürzungen nach [1]; weitere Abkürzungen: Boc- = tert-Butyloxycarbonyl-, Z- = Benzyloxycarbonyl-, Mbh = 4,4'-Dimethoxybenzhydryl-, HOObt = 3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-1,2,3-benzotriazin-, HONB = N-Hydroxy-5-norbornen-2,3-dicarbonsäureimid, HOSu = N-Hydroxysuccinimid, DMF = Dimethylformamid, NMM = N-Methylmorpholin

Wesentlich höhere Ausbeuten wurden bei der Voraktivierung von 1 mit DCCI/HONB [8] erhalten, während die Voraktivierung mit DCCI/HOObt zu einem teilweise racemisierten Produkt führte (vgl. [9]). Der löslichkeitsverbessernde Einfluß des Glutamin-Mbh-Schutzes wurde auch beim Vergleich der N^α-Z-geschützten Pentapeptidsäuren 4 und 6 beobachtet, die wir durch C-terminale Verlängerung der Z-geschützten Tetrapeptidsäure 2 über MA-Kuppelungen darstellten.

Auf Grund guter Erfahrungen mit den ONB-Estern, insbesondere bei der Synthese C-terminal freier Peptide, synthetisierten wir 5 auch unter ausschließlicher Verwendung dieses Verfahrens. Im Gegensatz zu den von anderen Autoren [3], [4] durchgeführten Synthesen unter Verwendung von OSu-Estern verliefen die Kuppelungen mit etwa 1,2 Äquivalenten der ohne Isolierung einsetzbaren ONB-Ester schneller und ergaben auf allen Stufen die Peptide in hohen Ausbeuten. Zur Beseitigung des geringen Überschusses an aktiviertem Ester wurde dieser mit N-(2-Aminoethyl)morpholin in ein säurelösliches Derivat überführt, so daß in Verbindung mit der Wasserlöslichkeit des HONB die Reinigung der Peptide keine Schwierigkeiten bereitete.

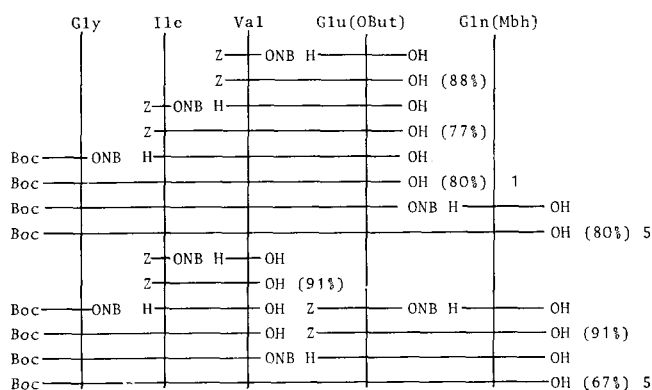


Bild 2

Experimentelles

Boc(Z-)-GlyIleValGlu(OBut)Gln-OH (3; 4) und Boc(Z-)-GlyIleValGlu(OBut)Gln(Mbh)-OH (5; 6)

a) nach dem Mischanhydridverfahren: Zu einer Lösung von 1 mmol Boc(Z-)-GlyIleValGlu(OBut)-OH (1 [2] bzw. 2 [10]) und 0,11 ml (1 mmol) NMM in 20 ml DMF wurden bei –15°C 0,095 ml (1 mmol) Chlorkohlensäureisobutylester gegeben und 10 Min. bei dieser Temperatur gehalten. Dann wurden 2 mmol Glutamin bzw. H-Gln(Mbh)-OH in 12 ml Wasser unter Kühlung dazu gegeben, 2 h bei 0°C gerührt, langsam auf Raumtemperatur erwärmt und der Ansatz in 200 ml 0,1 N Zitronensäure eingerührt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus DMF/Essigester umgefällt.

Für die Dünnschichtchromatographie wurden Fertigplatten Kieselgel G (Merck) verwendet, in einigen besonders gekennzeichneten Fällen auch Silufol-Platten (Kavalier, ČSSR). Die Abkürzungen der Laufmittelsysteme vgl. in [9].

Boc-GlyIleValGlu(OBut)Gln-OH (3) [2]:
67%; Schmp. 198–199°C; [α]_D²⁰ –13,7° (DMF);
R_f 0,7 (BEW)

Z-GlyIleValGlu(OBut)Gln-OH (4):
42%; Schmp. 200–202°C; [α]_D²⁰ –11,6° (DMF);
R_f 0,81 (BEW), 0,38 (SBN)

Boc-GlyIleValGlu(OBut)Gln(Mbh)-OH (5) [5]:
49%; Schmp. 238–240°C; [α]_D²⁷ –9,3° (DMF)
R_f 0,9 (BEW), 0,6 (SBN)

Z-GlyIleValGlu(OBut)Gln(Mbh)-OH (6):
48%; Schmp. 223–225°C; R_f 0,87 (BEW),
0,9 (SBN)

b) durch ONB-Ester-Salzkuppelungen: 1 mmol der Aminokomponente wurden in 30 ml Dioxan/Wasser (1:1) unter Zusatz von 2 mmol NaHCO₃ gelöst bzw. suspendiert und dazu 15 ml einer Dioxanlösung von 1,1–1,2 mmol des ONB-Esters der Carboxyl-