

Wolfgang König, Rolf Geiger und Walter Siedel

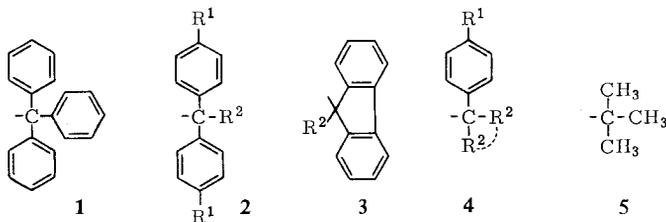
Neue *S*-Schutzgruppen für Cystein

Aus den Farbwerken Hoechst AG, vormals Meister Lucius & Brüning, Frankfurt a. M.-Höchst
(Eingegangen am 23. August 1967)

Verschiedene *S*-tert.-Aralkyl-Derivate des Cysteins (**4a–g**, **2a**, **b**, **3a**, **11**, **12**) wurden hergestellt. Sie lassen sich in bekannter Weise in Esterhydrochloride, in *N*-Benzyloxycarbonyl-, *N*-tert.-Butyloxycarbonyl- und *N*-Phthalyl-Verbindungen und deren aktivierte Ester, z. B. 4-Nitro-phenylester, überführen. Aus diesen Verbindungen können nach bekannten Methoden Peptide erhalten werden. Die selektive Entfernung der *N*-Schutzgruppen mittels HCl/Eisessig, HBr/Eisessig oder Hydrazin ist möglich. Die neuen *S*-Schutzgruppen sind auch gegen Alkali und Amine stabil; ihre Abspaltung gelingt mit siedender Trifluoressigsäure auch ohne Zusatz eines Kationen bindenden Reagens wie Anisol.

Während der Tritylrest als *S*-Schutzgruppe wegen seiner leichten Abspaltbarkeit durch Säuren^{1–4}), Silber- und Quecksilbersalze^{1,5,6}) sowie durch Jod⁷) bisher in größerem Umfang zur Synthese cysteinhaltiger Peptide verwendet wurde, ist der *S*-tert.-Butylrest sehr stabil^{8,9}) und als *S*-Schutzgruppe bei Peptidsynthesen ungeeignet.

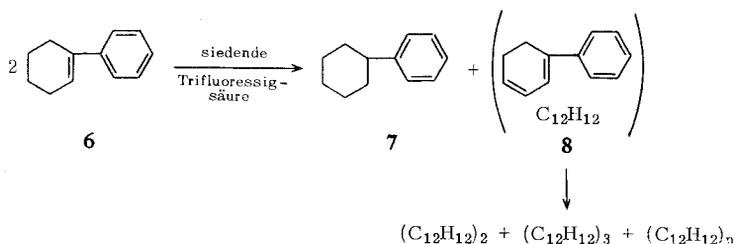
Wir prüften nun das Verhalten einiger tert.-Aralkyl-Reste, die im Hinblick auf ihre Konstitution zwischen dem Trityl- (**1**) und tert.-Butylrest (**5**) einzuordnen sind.



$R^1 = H, CH_3$ oder CH_3O , $R^2 =$ Alkylrest, wobei zwei Reste R^2 zu einem Cycloalkylrest verbunden sein können.

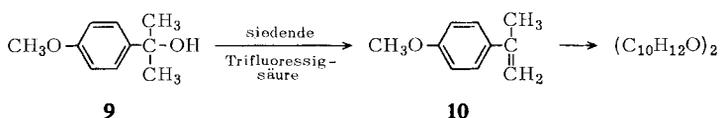
- 1) L. Zervas und I. Photaki, J. Amer. chem. Soc. **84**, 3887 (1962).
- 2) R. W. Hanson und H. D. Law, J. chem. Soc. [London] **1965**, 7285.
- 3) G. Amiard, R. Heymès und L. Velluz, Bull. Soc. Chim. France **23**, 698 (1956).
- 4) L. Velluz, G. Amiard, J. Bartos, B. Goffinet und R. Heymès, Bull. Soc. Chim. France **23**, 1464 (1956).
- 5) L. Zervas, I. Photaki, A. Cosmatos und D. Borovas, J. Amer. chem. Soc. **87**, 4922 (1965).
- 6) F. I. Carroll, H. M. Dickson und M. E. Wall, J. org. Chemistry **30**, 33 (1965).
- 7) D. S. Tarbell und D. P. Harnish, J. Amer. chem. Soc. **74**, 1862 (1952).
- 8) F. M. Callahan, G. W. Anderson, R. Paul und J. E. Zimmermann, J. Amer. chem. Soc. **85**, 201 (1963).
- 9) A. Chimiak, Proc. 5th Europ. Peptid Symp. 1962 (London), S. 37, Pergamon Press 1963 (Oxford, London, New York, Paris).

kochender Trifluoressigsäure zunächst disproportioniert. Die entstandene ungesättigte Verbindung $C_{12}H_{12}$ (**8**) dimerisiert (Massenpeak 312) und trimerisiert (Massenpeak 468).



Auch der bei der Destillation zurückbleibende harzige Rückstand zeigte im Massenspektrum die charakteristischen Peaks bei 312 und 468. Offensichtlich ist der Rückstand im wesentlichen Trimerisat. Das osmometrisch ermittelte durchschnittliche Molekulargewicht von 512 weist aber darauf hin, daß ein Teil noch höher polymerisiert ist. Im Dimerisat und Trimerisat ist spektroskopisch (IR und NMR) keine Doppelbindung mehr festzustellen. Die Verteilung von aromatischen Protonen zu Alkylprotonen ist 5 : 7.

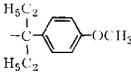
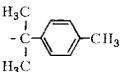
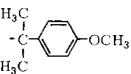
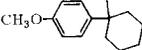
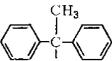
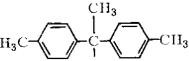
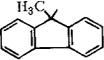
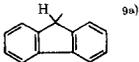
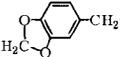
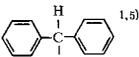
Bei Schutzgruppen, die nach der Abspaltung nicht disproportionieren können, muß die Polymerisation des entstehenden Olefins auf einem anderen Wege verlaufen. Nach Erhitzen von Dimethyl-[4-methoxy-phenyl]-carbinol (**9**) in Trifluoressigsäure wurde aus dem Reaktionsgemisch eine bei 170–175°/0.2 Torr siedende Fraktion mit 64% Ausbeute erhalten, die sich gaschromatographisch in fünf Komponenten auftrennen ließ. Das Massenspektrum der Hauptfraktion (84%) ergab das Molekulargewicht 296. Das entspricht einem Dimeren des 2-[4-Methoxy-phenyl]-propylens (**10**). Das NMR-Spektrum der Rohsubstanz ist sehr kompliziert und läßt für das Dimere keine symmetrische Struktur zu.



Da sich bei der Abspaltung der tert.-Aralkyl-Schutzgruppen in siedender Trifluoressigsäure das Gleichgewicht rasch einstellt, entscheidet die Polymerisationsgeschwindigkeit über die für die völlige Abspaltung erforderliche Reaktionszeit. Tab. 1 gibt die papierchromatographisch ermittelten Abspaltungszeiten in siedender Trifluoressigsäure wieder.

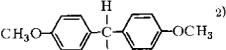
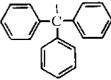
Neben der Trifluoressigsäure spalten auch andere starke organische Säuren, wie Trichloressigsäure oder organische Sulfonsäuren in Ameisensäure, in der Hitze die neuen *S*-Schutzgruppen ab. Tab. 2 zeigt die Abspaltung der *S*-Schutzgruppe von *S*-[1-(*p*-Methoxy-phenyl)-cyclohexyl]-L-cystein (*S*-MPCH-L-Cystein) (**4g**) mit verschiedenen organischen Säuren.

Tab. 1. S-Schutzgruppenabspaltung von Cysteinderivaten in kochender Trifluoressigsäure (Abspaltungszeit papierchromatographisch bestimmt)

Nr.	R für R-S-CH ₂ -CH-CO ₂ H NH ₂	Abspaltung (Min.)	Bemerkungen
4a	 = PCH	120	Nach 1 Stde. sind noch Spuren Ausgangssubstanz zu sehen. Präparativ konnte jedoch schon nach 1 Stde. keine Ausgangssubstanz zurückgewonnen werden.
4b		120	Nach 1 Stde. nur noch Spuren vorhanden.
4c		45	Schon nach 10 Min. nur noch Spuren. Präparativ konnte nach 40 Min. keine Ausgangssubstanz zurückgewonnen werden.
4d		30	Präparativ konnte nach 15 Min. keine Ausgangssubstanz zurückgewonnen werden.
4e		30	Präparativ konnte nach 15 Min. keine Ausgangssubstanz zurückgewonnen werden.
4f		5-15	Nach 5 Min. noch geringe Spuren. Bildet bei der Abspaltung ein in organischen Lösungsmitteln schwerlösliches, dunkles Polymerisat.
4g	 = MPCH	5	Vergleiche Tab. 2
11		momentan	Schon mit kalter Trifluoressigsäure momentane Abspaltung.
2a			Nach 2 Std. noch wenig Ausgangssubstanz vorhanden. Präparativ wurden nach 1 Stde. 17% und nach 15 Min. 36% Ausgangssubstanz zurückgewonnen.
2b		60	Nach 2 Std. noch geringe Spuren vorhanden. Nach 30 Min. präparativ keine Ausgangssubstanz isolierbar. Nach 15 Min. konnte nur in Spuren Ausgangssubstanz zurückgewonnen werden.
3a			Nach 2 Std. nur mäßige Abspaltung. Präparativ konnten nach 30 Min. 87% der Ausgangssubstanz zurückgewonnen werden.
	 9a)		Praktisch nicht abspaltbar.
12		120	Nach 2 Std. noch geringe Spuren. Präparativ konnte nach 2 Std. keine Ausgangssubstanz zurückgewonnen werden.
	 1,5)		Nach 2 Std. noch keine Abspaltung feststellbar. Mit Anisol-Zusatz dagegen in 15-30 Min. völlige Abspaltung.

9a) Wurde als N-Benzoyloxycarbonyl-Verbindung eingesetzt.

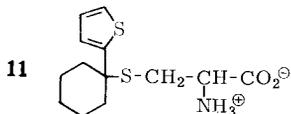
Tab. 1 (Fortsetzung)

Nr.	R für R-S-CH ₂ -CH(NH ₂)-CO ₂ H	Abspaltung (Min.)	Bemerkungen
		120	Nach 2 Stdn. noch geringe Spuren. Mit Anisol-Zusatz ist die Abspaltung nach ca. 10 Min. vollständig.
1			Nach 2 Stdn. nur Spuren abgespalten. Auch mit Anisol- oder Phenol-Zusatz nach 2 Stdn. nur Spuren abgespalten. Nach 30 Min. (mit Phenol Zusatz) konnten präparativ 69% <i>S</i> -Trityl-L-cystein zurückgewonnen werden.

Tab. 2. Abspaltung der *S*-Schutzgruppe von *S*-MPCH-L-Cystein (4g) mit verschiedenen organischen Säuren (papierchromatographisch nachgewiesen)

Organische Säure	Temp.	Abspaltungszeit (Min.)
Trifluoressigsäure	70°	5
Ameisensäure/ <i>p</i> -Toluolsulfonsäure (4 : 1)	100°	5
Ameisensäure/ <i>p</i> -Toluolsulfonsäure (4 : 1)	70°	15
Trichloressigsäure	80°	Nach 60 Min. ca. 80% Spaltung

Eine weitere Steigerung der Reaktionsfähigkeit ist durch Einführung des 1- α -Thienyl-cyclohexylrestes möglich. Diese Schutzgruppe wird schon von kalter Trifluoressigsäure augenblicklich abgespalten. Das *S*-[1- α -Thienyl-cyclohexyl]-L-cystein (**11**) ist jedoch gegen HCl/Eisessig, HBr/Eisessig und gegen Alkali ebenfalls unbeständig. Aufgrund dieser Eigenschaften ist die Verwendung des Thienyl-cyclohexylrestes als *S*-Schutzgruppe in der Peptidchemie nicht zu empfehlen.



Neben diesen tertiären Schutzgruppen untersuchten wir auch Vertreter der Benzyl- und Benzhydryl-Schutzgruppen. Aus *N*-Benzyloxycarbonyl-L-cystein¹⁰⁾ stellten wir mit 9-Brom-fluoren¹¹⁾ das *N*-Benzyloxycarbonyl-*S*-[fluorenyl-(9)]-L-cystein her. Der Fluorenyl-Rest ist jedoch gegenüber Säuren sehr stabil.

Auch der *S*-[3.4-Methylenedioxy-benzyl]-Rest wird von siedender Trifluoressigsäure nur schwer abgespalten. Zwar konnte nach zweistündigem Kochen kein Ausgangs-

¹⁰⁾ W. O. Foye und M. Verderame, J. Amer. pharmac. Assoc. **46**, 273 (1957).

¹¹⁾ G. Wittig und G. Felletschin, Liebigs Ann. Chem. **555**, 133 (1943).

material mehr zurückgewonnen werden, doch zeigte das Papierchromatogramm noch immer Reste der Ausgangsverbindung. Auch Anisol-Zusatz brachte keine Verbesserung: nach 30 Minuten Kochen in Trifluoressigsäure wurden noch 14% Ausgangsverbindung isoliert.

S-Benzhydryl-L-cystein^{1,5,12)} ist in siedender Trifluoressigsäure auch nach zwei Stunden noch unverändert; die Abspaltung des Diphenylmethylrestes ist jedoch nach Anisol-Zusatz in 15–30 Min. beendet.

Dieser Unterschied zwischen der Benzhydrylgruppe und z. B. **4g** legt den Versuch nahe, die Schutzgruppe von **4g** in Gegenwart einer die Benzhydrylgruppe enthaltenden Verbindung mit siedender Trifluoressigsäure selektiv zu entfernen. Dies ist jedoch nicht möglich, da das bei der Abspaltung entstehende 4-Methoxy-phenylcyclohexen und dessen Umwandlungsprodukte ähnlich Anisol oder Phenol als Kationenfänger wirken und die gleichzeitige Abspaltung der Benzhydrylgruppe ermöglichen.

S-[4,4'-Dimethoxy-benzhydryl]-L-cystein²⁾ spaltet in siedender Trifluoressigsäure die *S*-Schutzgruppe wesentlich schneller ab als *S*-Benzhydryl-L-cystein. Ohne Zusatz von Kationenfängern war die Schutzgruppe schon nach 2 Stunden praktisch völlig abgespalten. Mit Anisol-Zusatz war die Spaltung nach 10 Minuten vollständig. Hergestellt wurde die Verbindung in Anlehnung an *Hiskey*¹²⁾ aus 4,4'-Dimethoxy-benzhydrol und Cysteinhydrochlorid unter BF₃-Katalyse.

Von den *S*-tert.-Aralkyl-cysteinen lassen sich in bekannter Weise die Methylesterhydrochloride¹³⁾, die *N*-Benzyloxycarbonyl-¹⁴⁾, *N*-tert.-Butyloxycarbonyl-¹⁵⁾ und *N*-Phthalylverbindungen¹⁶⁾ und daraus aktivierte Ester wie 4-Nitro-phenylester¹⁷⁾ herstellen. Die Verbindungen wurden teils kristallisiert, teils ölig oder amorph erhalten. Aus den *N*-tert.-Butyloxycarbonyl- und den *N*-Benzyloxycarbonyl-Verbindungen lassen sich gut kristallisierende Cyclohexylammoniumsalze herstellen, während die Dicyclohexylammoniumsalze nicht oder nur schlecht kristallisieren. *N*-tert.-Butyloxycarbonyl-*S*-[4,4'-dimethoxy-benzhydryl]-L-cystein²⁾ verhält sich ähnlich.

Aus dem amorphen *S*-MPCH-L-Cystein-methylester-hydrochlorid wurde mit *N*-Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanin nach der Methode der gemischten Anhydride¹⁸⁾ der *N*-Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-*S*-MPCH-L-cystein-methylester mit 90% Ausbeute hergestellt. Aus dem öligen Ester wurde ein kristallisiertes Hydrazid erhalten, das als Ausgangsprodukt für weitere Peptidsynthesen nach der Azidmethode¹⁹⁾ dienen kann.

Das Tripeptid L-Leucyl-L-cysteinyl-glycin wurde nach folgendem Schema aufgebaut und nach Oxydation mit Jod als Bis-[L-leucyl-L-cystinyl]-bis-glycin isoliert.

12) *R. G. Hiskey* und *J. B. Adams jr.*, *J. org. Chemistry* **30**, 1340 (1956).

13) *M. Brenner* und *W. Huber*, *Helv. chim. Acta* **36**, 1109 (1953).

14) *M. Bergmann* und *L. Zervas*, *Chem. Ber.* **65**, 1192 (1932).

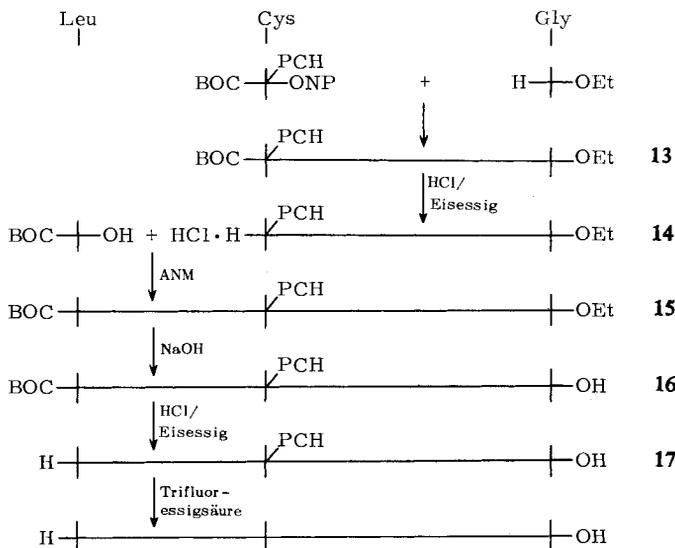
15) *R. Schwyzer*, *P. Sieber* und *H. Kappeler*, *Helv. chim. Acta* **42**, 2622 (1959).

16) *D. A. Kidd* und *F. E. King*, *Nature* [London] **162**, 776 (1948).

17) *M. Bodanszky*, *Nature* [London] **175**, 685 (1955).

18) *Th. Wieland* und *H. Bernhard*, *Liebigs Ann. Chem.* **572**, 190 (1951); *R. A. Boissonnas*, *Helv. chim. Acta* **34**, 874 (1951); *J. R. Vaughan jr.*, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 1389 (1951).

19) *T. Curtius*, *Chem. Ber.* **35**, 3226 (1902).



BOC = tert.-Butyloxycarbonyl-; ONP = 4-Nitro-phenylester; OEt = Äthylester; PCH = 1-Phenyl-cyclohexyl-; ANM = Anhydridmethode

Außer durch HCl/Eisessig läßt sich die *N*-tert.-Butyloxycarbonyl-Gruppe auch durch BF_3 -Diäthylätherat in Eisessig selektiv in Anwesenheit der *S*-[1-Phenyl-cyclohexyl]-Schutzgruppe, abspalten. Bei Verwendung von **4g** macht sich die erhöhte Säureempfindlichkeit auch gegenüber HCl/Eisessig und HBr/Eisessig bemerkbar. Es empfiehlt sich in diesem Fall, das im sauren Medium auftretende Gleichgewicht durch Zusatz von 1-[4-Methoxy-phenyl]-cyclohexanol-(1) in Richtung der *S*-MPCH-Verbindung zu verschieben.

Beschreibung der Versuche

Allgemeine Herstellung der tert.-Aralkyl-L-cysteine (siehe Tab. 1 und 3)

A) *Mit BF_3 -Katalyse*: 1.57 g wasserfreies *L*-Cysteinhydrochlorid²⁰⁾ (10 mMol) suspendiert man in 10 ccm Eisessig und gibt dazu etwa 15 mMol des entsprechenden *Carbinols* oder *Olefin*s sowie 2.1 ccm BF_3 -Diäthylätherat (15 mMol). Es wird 1–2 Stdn. bei Raumtemp. gerührt, wobei sich alles klar löst. Anschließend engt man im Rotationsverdampfer bei 40° Badtemp. ein. Der ölige Rückstand wird in Essigester gelöst. Durch Schütteln mit gesätt. Natriumacetatlösung fällt das *S*-geschützte *Cysteinderivat* aus, das abgesaugt und mit Wasser und Aceton gut gewaschen wird.

B) *Mit HBr-Katalyse*: 1.21 g *L*-Cystein (10 mMol) und 15 mMol des entsprechenden *Carbinols* oder *Olefin*s suspendiert man in 20 ccm Eisessig, gibt dazu 7.5 ccm konz. *HBr*/Eisessig-Lösung und rührt 30–60 Min. bei Raumtemp. Es entsteht eine klare Lösung, die im Rotationsverdampfer eingengt wird. Nun wird wie bei A) aufgearbeitet.

4a und **4g** lassen sich gut aus 70proz. Äthanol umkristallisieren. Die verwendeten *Carbinole* waren alle durch Grignard-Synthese gut herstellbar (vgl. Tab. 4).

²⁰⁾ M. Bergmann und G. Michalis, Chem. Ber. **63**, 987 (1930).

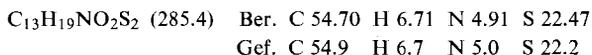
Tab. 3. Physikalische Daten und Analysen der dargestellten *S*-geschützten Cystein-Verbindungen

-L-cystein	Ausb. ^{a)} (%)	Schmp.	[α] _D ²⁰ ^{b)}	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analysen			
					C	H	N	S
<i>S</i> -[1-Phenyl- cyclohexyl]- (4a)	78 (A)	190°	+22.75°	C ₁₅ H ₂₁ NO ₂ S (279.4)	Ber. 64.48 Gef. 64.2	7.58 7.6	5.01 5.3	11.47 11.7
<i>S</i> -[<i>p</i> -Methoxy- α,α - diäthyl-benzyl]- (4b)	65 (A) 90 (B)	198°	+30.7°	C ₁₅ H ₂₃ NO ₃ S (297.4)	Ber. 60.58 Gef. 60.5	7.80 7.9	4.71 4.8	10.78 10.7
<i>S</i> -[1-Phenyl- cycloheptyl]- (4c)	51 (A)	184°	+18.3°	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂ S (293.4)	Ber. 65.49 Gef. 65.1	7.90 7.9	4.77 4.8	10.93 10.8
<i>S</i> -[α,α - <i>p</i> -Trimethyl- benzyl]- (4d)	32 (A)	172°	+17.0°	C ₁₃ H ₁₉ NO ₂ S (253.4)	Ber. 61.61 Gef. 62.2	7.56 7.8	5.53 5.3	12.65 12.4
<i>S</i> -[<i>p</i> -Methoxy- α,α - dimethyl-benzyl]- (4e)	87 (A) 98 (B)	177°	+29.65°	C ₁₃ H ₁₉ NO ₃ S·0.25 H ₂ O (273.9)	Ber. 57.00 Gef. 57.1	7.17 7.4	5.11 5.3	11.70 11.6
<i>S</i> -[1-Phenyl- cyclopentyl]- (4f)	90 (A)	190— 200°	+18.5°	C ₁₄ H ₁₉ NO ₂ S·0.25 H ₂ O (269.9)	Ber. 62.29 Gef. 61.9	7.28 7.4	5.19 5.4	11.88 11.8
<i>S</i> -[1-(<i>p</i> -Methoxy- phenyl)-cyclohexyl]- (4g)	85 (B)	185°	+22.75°	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃ S·0.5 H ₂ O (318.4)	Ber. 60.35 Gef. 60.4	7.60 7.4	4.40 4.2	10.07 10.1
<i>S</i> -[α -Methyl- benzhydryl]- (2a)	55 (A)	178°	+34.0°	C ₁₇ H ₁₉ NO ₂ S·0.5 H ₂ O (310.4)	Ber. 65.78 Gef. 65.6	6.49 6.5	4.51 4.7	10.33 10.4
<i>S</i> -[α - <i>p</i> , <i>p'</i> -Trimethyl- benzhydryl]- (2b)	43 (A)	193°	—	C ₁₉ H ₂₃ NO ₂ S (329.5)	Nicht analysenrein. Die Substanz war Cystin-haltig			
<i>S</i> -[9-Methyl- fluorenyl-(9)]- (3a)	99 (A)	178°	+50.5°	C ₁₇ H ₁₇ NO ₂ S·0.5 H ₂ O (308.4)	Ber. 66.20 Gef. 66.6	5.88 5.5	4.54 4.4	10.40 9.5
<i>S</i> -Piperonyl- (12)	71 (A)	199°	−85.7°	C ₁₁ H ₁₃ NO ₄ S·0.5 H ₂ O (264.3)	Ber. 49.98 Gef. 49.4	5.34 5.3	5.30 5.1	12.13 12.0

a) (A) und (B) beziehen sich auf die allgemeinen Vorschriften zur Herstellung der tert.-Aralkyl-L-cysteine.

b) $c = 2$, in 0.1 *n* äthanol. Salzsäure.

S-[1- α -Thienyl-cyclohexyl]-L-cystein (**11**): Zur Lösung von 15.7 g Cysteinhydrochlorid²⁰⁾ (0.1 Mol) in einer Mischung aus 75 ccm Eisessig und 14 ccm BF₃-Diäthylätherat (0.1 Mol), läßt man bei Raumtemp. unter Rühren langsam eine Lösung von 20 g α -Thienyl-cyclohexyl-carbinol (0.11 Mol) in 60 ccm Eisessig tropfen, läßt anschließend noch 1 Stde. bei Raumtemp. rühren und engt bei 40° im Rotationsverdampfer ein. Nach Aufarbeitung wie bei Vorschrift A), Ausb. 21.5 g (75%). Die Substanz läßt sich mit großem Verlust aus viel heißem Dimethylformamid umkristallisieren: Schmp. 185—187°.



Erhitzt man mit Dimethylformamid über 100°, so entsteht eine klare Lösung, die kein **11** mehr enthält. Die neu entstandenen Produkte wurden nicht weiter untersucht.

Abspaltungsversuche der S-Schutzgruppen mit Trifluoressigsäure und Wiedergewinnung der Ausgangssubstanz (siehe Tab. 1): Das *S*-geschützte L-Cystein wird mit Trifluoressigsäure unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wird i. Vak. eingengt und der Rückstand zwischen Essigester und Natriumacetatlösung verteilt. Ungespaltene Material fällt aus. Es wird abgesaugt und mit Wasser und Aceton gewaschen.

L-Cystin aus *S*-[1-(*p*-Methoxy-phenyl)-cyclohexyl]-L-cystein (*S*-MPCH-Cys) (**4g**): 930 mg **4g** (2.5 mMol) werden 10 Min. mit 10 ccm Trifluoressigsäure gekocht. Anschließend wird i. Vak. eingengt. Der Rückstand wird zwischen Wasser und Essigester verteilt, die saure wäßr. Phase mit $\frac{1}{10}$ *n* Jod-Lösung titriert (Verbrauch 24.25 ccm) und überschüss. Jod mit Natriumthiosulfatlösung reduziert. Nun wird zur Trockene eingengt, der Rückstand mit Natriumacetatlösung verrieben und das schwerlösliche Cystin abgesaugt. Ausb. 217 mg (72%), Schmp. 242°, [α]_D²⁰: −187.5° ($c = 2$, in *n* HCl). Aus Cystein durch Jodoxydation hergestelltes Cystin hatte [α]_D²⁰: −189° ($c = 2$, in *n* HCl).

Tab. 4. Daten der verwendeten Carbinole

Carbinol	Schmp.	Sdp. (Torr)	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analysen		Bemerkung	
				C	H		
1-Phenyl-cyclohexanol-(1)	62° 61° ^{a)}	153° ^{a)} (20)	C ₁₂ H ₁₆ O (176.2)			Aus Petroläther kristallisiert	
Diäthyl-[4-methoxyphenyl]-carbinol		100— 110° (0.2)	C ₁₂ H ₁₈ O ₂ (194.3)	Ber. Gef.	74.19 74.1	9.34 9.2	
1-Phenyl-cycloheptanol-(1)	32° ^{b)}	102° (0.05) 120— 129° ^{b)} (0.8)	C ₁₃ H ₁₈ O (190.3)	Ber. Gef.	82.05 82.6	9.54 9.5	
Dimethyl- <i>p</i> -tolyl-carbinol		67° (0.6)	C ₁₀ H ₁₄ O (150.2)	Ber. Gef.	79.96 79.5	9.39 9.4	
Dimethyl-[4-methoxyphenyl]-carbinol		90— 92° (0.2)	C ₁₀ H ₁₄ O ₂ (166.2)	Ber. Gef.	72.23 72.0	8.49 8.4	
1-Phenyl-cyclopentanol-(1)		81° (0.3) 115— 118° ^{c)} (10) 121° ^{d)} (6)	C ₁₁ H ₁₄ O (162.2)	Ber. Gef.	81.44 81.8	8.70 8.7	
1-[4-Methoxy-phenyl]-cyclohexanol-(1)	39° 35° ^{b)}	133— 140° (0.15) 136— 142° ^{b)} (0.4)	C ₁₃ H ₁₈ O ₂ (206.3)	Ber. Gef.*) Gef.**)	75.69 76.3 75.9	8.79 8.8 9.0	Das erhaltene Öl ist ein Gemisch aus Carbinol und dem durch Wasserabspaltung entstandenen Olefin. Nach längerer Zeit scheiden sich aus dem Öl große Kristalle des Carbinols aus.
1- α -Thienyl-cyclohexanol-(1)		110— 120° (0.45)	C ₁₀ H ₁₄ OS (182.3)	Ber. Gef.	65.90 67.4	7.74 8.3	Die Analyse zeigt, daß neben Carbinol etwa 20% Olefin entstanden sind.
α -Methyl-benzhydrol	82° 80— 81° ^{e)}		C ₁₄ H ₁₄ O (198.3)				Aus Petroläther kristallisiert.
α ,4,4'-Trimethyl-benzhydrol	dickes Öl		C ₁₆ H ₁₈ O (226.3)				Das Öl wurde nicht weiter gereinigt und als solches eingesetzt.
9-Methyl-fluorenol-(9)	174— 174.5° ^{f)}		C ₁₄ H ₁₂ O (196.2)				Aus Benzol kristallisiert.

^{a)} P. Sabatier und A. Mailhe, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 138, 1322 (1904).

^{b)} K. Stach und W. Winter, Arzneimittelforsch. 12, 25 (1962).

^{c)} N. D. Zelinsky, Ber. deutsch. chem. Ges. 58, 2760 (1925).

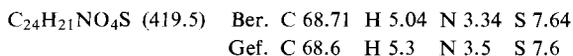
^{d)} L. F. Fieser und J. Szmuszkovicz, J. Amer. chem. Soc. 70, 3352 (1948).

^{e)} M. Tieffeneau, Ann. Chim. et Phys. 10, 359 (1907).

^{f)} F. Ullmann und R. v. Wursterberger, Ber. deutsch. chem. Ges. 38, 4107 (1905).

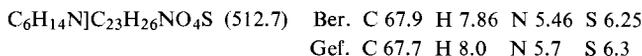
N-Benzyloxycarbonyl-*S*-[fluorenyl-(9)]-*L*-cystein: Zu einer Lösung von 2.5 g *N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-cystein¹⁰⁾ (10 mMol) in 15 ccm absol. Tetrahydrofuran gibt man 1 g Triäthylamin und 4.9 g 9-Brom-fluoren¹¹⁾ (20 mMol). Nun wird 3 Stdn. bei Raumtemp. gerührt, anschließend das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert, der Rückstand zwischen Essigester und 2*n* HCl verteilt, die Essigesterphase einmal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingeeengt. Den öligen Rückstand kocht man zweimal mit *n*-Hexan aus,

wobei die Substanz kristallisiert. Ausb. 3.6 g (86%), Schmp. 129–130°. Aus Essigester/Hexan Schmp. 132–133°; $[\alpha]_D^{20}$: -52.75° ($c = 2$, Methanol).

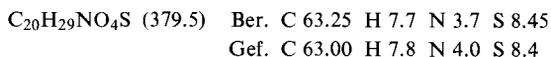


N-Benzoyloxycarbonyl-S-[1-phenyl-cyclohexyl]-L-cystein: Man läßt zu 5.6 g **4a** (20 mMol) in 20 ccm 1*n* NaOH unter Eiskühlung und Rühren gleichzeitig 4 g Chlorameisensäure-benzylester und 11 ccm 2*n* NaOH tropfen. Nach beendeter Zugabe läßt man 1 Stde. bei Raumtemp. rühren und extrahiert die Reaktionsmischung mit Äther. Die wäbr. Phase wird mit 2*n* HCl angesäuert, zweimal mit Essigester extrahiert, der Essigester mit Natriumsulfat getrocknet und eingengt. Rückstand: 8.2 g Öl (99%).

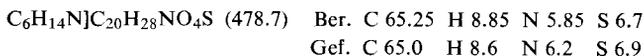
Cyclohexylammoniumsalz: Eine Probe des Öls (vorstehend) wird in Äther mit der äquiv. Menge Cyclohexylamin versetzt. Nach Zugabe von etwas Petroläther fällt das Cyclohexylammoniumsalz aus; Schmp. 154–156° (aus Tetrahydrofuran/Petroläther), $[\alpha]_D^{20}$: -4.83° ($c = 1$, Methanol).



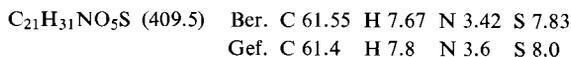
N-tert.-Butyloxycarbonyl-S-[1-phenyl-cyclohexyl]-L-cystein: 5.6 g **4a** (20 mMol) werden in 160 ccm Dioxan und 40 ccm 1*n* NaOH suspendiert. Dazu gibt man 5.7 g Azidoameisensäure-tert.-butylester (40 mMol) und rührt 2 Tage bei Raumtemp. Es entsteht eine klare Lösung. Man engt im Rotationsverdampfer ein, nimmt mit Wasser auf und extrahiert mit Äther. Die wäbr. Phase wird gekühlt und mit 2*n* Citronensäure angesäuert, worauf sofort mit Essigester extrahiert wird. Die Essigesterphase wird getrocknet und eingengt. Der Rückstand kristallisiert durch Verreiben mit Petroläther. Ausb. 5.45 g (72%), Schmp. 133°, $[\alpha]_D^{20}$: -7.19° ($c = 2$, Methanol).



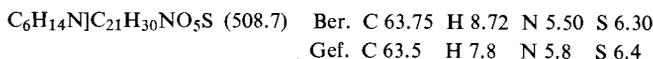
Cyclohexylammoniumsalz: Eine Probe vorstehender Verbindung wird in Äther mit der äquiv. Menge Cyclohexylamin versetzt. Es fällt sofort das Cyclohexylammoniumsalz aus, das sich aus Methanol/Äther gut umkristallisieren läßt. Schmp. 205–208°, $[\alpha]_D^{20}$: $+6.32^\circ$ ($c = 1$, Methanol).



*N-tert.-Butyloxycarbonyl-S-[1-(*p*-methoxy-phenyl)-cyclohexyl]-L-cystein*: Zur Suspension von 35.0 g **4g** (0.113 Mol) in 215 ccm Dioxan und 110 ccm Wasser gibt man 23 g Triäthylamin (0.23 Mol) sowie 34 g Azidoameisensäure-tert.-butylester (0.24 Mol) und rührt 2 Tage bei Raumtemp. Danach wird wie vorstehend aufgearbeitet. Ausb. 31.3 g (69%), Schmp. (aus Dimethylformamid/Wasser) 105–110°, $[\alpha]_D^{20}$: -8.22° ($c = 2$, Methanol).



Cyclohexylammoniumsalz: Eine Probe vorstehender Verbindung wird in Äther mit einer äquiv. Menge Cyclohexylamin versetzt. Es fällt sofort das Cyclohexylammoniumsalz aus, das sich aus Methanol/Äther gut umkristallisieren läßt. Schmp. 195–198°, $[\alpha]_D^{20}$: $+3.15^\circ$ ($c = 1$, Methanol).



S-[1-Phenyl-cyclohexyl]-L-cystein aus *N-tert.-Butyloxycarbonyl-S-[1-phenyl-cyclohexyl]-L-cystein*: Zu 950 mg *N-BOC-S-PCH-Cys* (2.5 mMol) in 10 ccm Eisessig gibt man 0.7 ccm *BF₃-Diäthylätherat* (5 mMol) und läßt 1 Stde. bei Raumtemp. stehen. Die Essigsäure wird i. Vak. abgezogen, der Rückstand zwischen Essigester und Natriumacetatlösung verteilt, die ausfallende kristalline Masse abgesaugt und mit Wasser sowie Aceton gewaschen. Ausb. 541 mg (79%), Schmp. 183°, $[\alpha]_D^{20}$: +21.5° ($c = 2$, in 0.1 *n* äthanol. HCl-Lösung).

S-[1-(p-Methoxy-phenyl)-cyclohexyl]-L-cystein aus *N-tert.-Butyloxycarbonyl-S-[1-(p-methoxy-phenyl)-cyclohexyl]-L-cystein*: Zu 1.02 g *N-BOC-S-MPCH-Cys* (2.5 mMol) und 250 mg *1-[p-Methoxy-phenyl]-cyclohexanol-(1)* (ca. 1.25 mMol) in 10 ccm Eisessig gibt man 0.7 ccm *BF₃-Diäthylätherat* (5 mMol), läßt 1 Stde. bei Raumtemp. stehen und arbeitet wie oben auf. Ausb. 610 mg (79%), Schmp. 175°, $[\alpha]_D^{20}$: +19.6° ($c = 2$, in 0.1 *n* äthanol. HCl-Lösung).

N-tert.-Butyloxycarbonyl-S-[1-phenyl-cyclohexyl]-L-cystein-[4-nitro-phenylester]: Zu 3.8 g *N-tert.-Butyloxycarbonyl-S-[1-phenyl-cyclohexyl]-L-cystein* (10 mMol) und 1.7 g *4-Nitrophenol* in 20 ccm Dimethylformamid gibt man bei 0° die ebenfalls kalte Lösung von 2.2 g *Dicyclohexylcarbodiimid* in wenig Dimethylformamid, läßt 2 Std. bei 0° und 1 Stde. bei Raumtemp. stehen, saugt den ausgeschiedenen Dicyclohexylharnstoff ab und versetzt das Filtrat mit Wasser. Es fällt ein Öl aus, das nach 24stdg. Stehenlassen kristallisiert. Es wird abgesaugt, mit Petroläther verrieben und noch einmal abgesaugt. Ausb. 4.35 g (93%). Aus Dimethylformamid/Wasser Schmp. 89–92°, $[\alpha]_D^{20}$: +1.57° ($c = 2$, Methanol).

$C_{26}H_{32}N_2O_6S$ (500.6) Ber. C 62.38 H 6.44 N 5.60 S 6.40
Gef. C 61.8 H 6.6 N 5.9 S 6.8

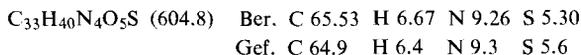
N-Phthalyl-S-[1-(p-methoxy-phenyl)-cyclohexyl]-L-cystein: 6.2 g **4g** (20 mMol), 3 g *Phthalsäureanhydrid* und 0.5 g *Triäthylamin* werden in 150 ccm Toluol 15–30 Min. unter Rückfluß erhitzt. Wenig Ungelöstes wird abfiltriert, das Filtrat eingengt, der Rückstand zwischen 0.5 *n* HCl und Essigester verteilt, die Essigesterphase mit Natriumsulfat getrocknet und eingengt. Über Nacht kristallisiert der mit Petroläther verriebene Rückstand. Ausb. 7.0 g (79%), Schmp. 119°, $[\alpha]_D^{20}$: –31.9° ($c = 2$, Methanol).

$C_{24}H_{25}NO_5S$ (439.5) Ber. C 65.59 H 5.73 N 3.19 S 7.30
Gef. C 65.6 H 6.0 N 3.5 S 7.3

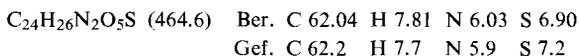
S-[1-(p-Methoxy-phenyl)-cyclohexyl]-L-cystein aus *N-Phthalyl-S-[1-(p-methoxy-phenyl)-cyclohexyl]-L-cystein*: Zu 2.2 g vorstehender Verbindung (5 mMol) in 10 ccm Methanol gibt man ca. 700 mg *Hydrazinhydrat* und erhitzt 30 Min. unter Rückfluß. Dabei fällt ein kristalliner Niederschlag aus. Das Lösungsmittel wird i. Vak. abgezogen und der Niederschlag 30 Min. mit Aceton verrührt. Man saugt vom Unlöslichen ab und verrührt den Niederschlag mit Eisessig. Ungelöstes wird abfiltriert, die Eisessiglösung i. Vak. eingengt und der Rückstand mit Natriumacetatlösung verrieben. Dabei fällt ein kristalliner Niederschlag aus, der abgesaugt und gut mit Wasser sowie Aceton gewaschen wird. Ausb. 1.25 g (80%), Schmp. 181°, $[\alpha]_D^{20}$: +20.35° ($c = 2$, in 0.1 *n* äthanol. HCl-Lösung).

S-[1-(p-Methoxy-phenyl)-cyclohexyl]-L-cystein-methylester-hydrochlorid: Zu 100 ccm *Methanol* gibt man bei –15° tropfenweise 3.9 g *Thionylchlorid*. Nach beendeter Reaktion trägt man portionsweise 9.3 g **4g** (30 mMol) ein, verschließt den Kolben mit einem Calciumchlorid-Rohr und läßt über Nacht bei Raumtemp. stehen. Anderntags wird eingengt, dreimal mit Äther verrieben und der Äther jeweils dekantiert. Den öligen Rückstand trocknet man i. Hochvak. Es entsteht eine amorphe Masse. Ausb. 5 g. R_F 0.805 auf Schlicher und Schüll-Papier Nr. 2043 b in Eisessig/Butanol/Wasser (1 : 4 : 5).

N-Benzoyloxycarbonyl-*L*-phenylalanyl-*S*-[1-(*p*-methoxy-phenyl)-cyclohexyl]-*L*-cystein-hydrazid: Zu 3.0 g *N*-Benzoyloxycarbonyl-*L*-phenylalanin (10 mMol) und 1 g Triäthylamin in 20 ccm absol. Tetrahydrofuran gibt man bei -15° unter Rühren 1.4 g Chlorameisensäure-isobutylester, läßt anschließend noch 10 Min. bei -10 bis -15° rühren und gibt dann 1 g Triäthylamin und 3.6 g *S*-MPCH-Cys-OCH₃·HCl zu. Unter Rühren läßt man langsam auf Raumtemp. kommen, stellt anschließend über Nacht in den Eisschrank, saugt anderntags vom ausgefallenen Triäthylaminhydrochlorid ab, engt das Filtrat ein, nimmt den Rückstand in Essigester auf und schüttelt die Essigesterlösung mit 0.5 *n* HCl, gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser aus, trocknet mit Natriumsulfat und engt ein. Zurück bleiben 5.45 g (90%) eines Öls. Dieses versetzt man in 20 ccm absol. Äthanol mit 1 g Hydrazinhydrat, läßt über Nacht bei Raumtemp. stehen und saugt anderntags von ausgeschiedenen Kristallen ab (3 g). Die Mutterlauge wird eingengt und der Rückstand mit Äther verrieben. Dabei scheidet sich 1 g weitere kristalline Substanz ab. Gesamtausb. 4.0 g (66%, bez. auf *Z*-*L*-Phenylalanin). Aus Dimethylformamid/Wasser oder Eisessig/Wasser Schmp. 146° .



N-tert.-Butyloxycarbonyl-*S*-[1-phenyl-cyclohexyl]-*L*-cysteinyl-glycin-äthylester (13): Zu 11.6 g *N*-tert.-Butyloxycarbonyl-*S*-[1-phenyl-cyclohexyl]-*L*-cystein-[4-nitro-phenylester] (23.2 mMol), gelöst in 25 ccm Tetrahydrofuran, gibt man 2.9 g Glycin-äthylester (27.9 mMol) sowie 1.4 g 1.2.4-Triazol (als Katalysator²¹⁾) und läßt über Nacht bei Raumtemp. stehen. Das Tetrahydrofuran wird i. Vak. abdestilliert, der Rückstand mit Essigester aufgenommen, die Essigesterlösung mit 0.5 *n* HCl, gesätt. Natriumhydrogencarbonat- und Natriumchloridlösung ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet, etwas eingengt und die konzentrierte Essigesterlösung an einer Aluminiumoxidsäule (Woelm neutral) chromatographiert. Nachgewaschen wird mit Essigester. Das 4-Nitro-phenol bleibt dabei auf der Säule. Das Eluat wird zu 8.6 g Öl eingengt, das bald erstarrt (80%), Schmp. $65-67^{\circ}$. Aus Petroläther Schmp. $73-74^{\circ}$.



S-[1-Phenyl-cyclohexyl]-*L*-cysteinyl-glycin-äthylester-hydrochlorid (14): 8.6 g 13 (18.5 mMol) in 20 ccm Eisessig läßt man mit 20 ccm 2 *n* HCl/Eisessig 3 Stdn. bei Raumtemp. stehen, engt ein, verreibt den Rückstand zweimal mit Petroläther, fällt einmal aus Äther/Petroläther um und dekantiert das Lösungsmittelgemisch. Die restlichen Lösungsmittel werden i. Hochvak. abgezogen. Rückstand: 7.65 g Öl, das chromatographisch einheitlich ist (ninhydrinpositiver Fleck bei R_F 0.95, Schleicher u. Schüll-Papier Nr. 2043 b in *n*-Butanol/Eisessig/Pyridin/Wasser 375 : 75 : 250 : 300). Es konnte keine Ausgangssubstanz festgestellt werden.

N-tert.-Butyloxycarbonyl-*L*-leucyl-*S*-[1-phenyl-cyclohexyl]-*L*-cysteinyl-glycin-äthylester (15): Zu 4.6 g *N*-tert.-Butyloxycarbonyl-*L*-leucin (20 mMol) in 20 ccm Tetrahydrofuran und 2 g Triäthylamin läßt man bei -15° unter Rühren 2.8 g Chlorameisensäure-isobutylester in wenig Tetrahydrofuran tropfen, rührt dann 15 Min. bei -10 bis -15° , gibt 1.85 g Triäthylamin und die Lösung von 18.5 mMol 14 in ca. 20 ccm Tetrahydrofuran zu, rührt 1 Stde. bei 0° und stellt über Nacht in den Eisschrank. Anderntags wird i. Vak. eingengt, der Rückstand zwischen Wasser und Essigester verteilt, die Essigesterphase mit 0.5 *n* HCl, gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und eingengt. Ausb. 9.2 g Öl (86%, bez. auf 13).

²¹⁾ H. C. Beyerman und W. Maassen van den Brink, Proc. chem. Soc. [London] 1963, 266.

N-tert.-Butyloxycarbonyl-L-leucyl-S-[1-phenyl-cyclohexyl]-L-cysteinyl-glycin (16): 9.2 g **15** (15.9 mMol) in 30 ccm Methanol und 17.6 ccm *n* NaOH läßt man 2 Std. bei Raumtemp. stehen. Danach wird mit 17.6 ccm *n* HCl neutralisiert, das Methanol i. Vak. abgezogen, mit 2*n* Citronensäure angesäuert, die wäbr. Phase mit Essigester extrahiert, die Essigesterphase einmal mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingeengt. Der Rückstand ist ein Öl, dessen Essigesterlösung mit Natriumhydrogencarbonatlösung ausgeschüttelt wird. Das sich dabei bildende Natriumsalz bleibt dabei in der Essigesterphase. Nach Einengen der organischen Phase bleibt eine amorphe Substanz zurück, deren wäßrige Lösung von wenig Unlöslichem filtriert, gekühlt und mit 2*n* Citronensäure angesäuert wird. Es fällt eine kristalline Substanz aus, die über Phosphorpentoxid wieder amorph wird. Ausb. 7.0 g (80%).

$C_{28}H_{43}N_3O_6S$ (549.7) Ber. C 61.17 H 7.89 N 7.65 S 5.83

Gef. C 61.0 H 7.9 N 7.4 S 5.6

L-Leucyl-S-[1-phenyl-cyclohexyl]-L-cysteinyl-glycin (17): Zu 6.4 g **16** (11.8 mMol) in 10 ccm Eisessig gibt man 20 ccm 2*n* HCl/Eisessig, läßt 90 Min. bei Raumtemp. stehen und engt i. Vak. ein. Der Rückstand wird mit Natriumacetatlösung versetzt, wobei bei pH 5 das *Peptid* ausfällt. Ausb. 5.0 g (95%). Die Substanz ist papierchromatographisch einheitlich: R_F 0.907 auf Schleicher u. Schüll-Papier Nr. 2043 b in *n*-Butanol/Eisessig/Pyridin/Wasser (375 : 75 : 250 : 300). Aus 94proz. Äthanol Schmp. 110°, $[\alpha]_D^{20}$: +7° (*c* = 1, Eisessig).

$C_{23}H_{35}N_3O_4S \cdot 0.5 H_2O$ (458.6) Ber. C 60.23 H 7.91 N 9.17 S 6.99

Gef. C 59.9 H 7.7 N 9.4 S 6.9

Bis-[L-leucyl-L-cystinyl]-bis-glycin: 460 mg **17** werden in 5 ccm Trifluoressigsäure 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt. Die Trifluoressigsäure wird anschließend i. Vak. abdestilliert, der Rückstand in Essigester gelöst, die Essigesterphase zweimal mit Wasser extrahiert und die wäbr. Phase nun mit $1/10$ *n* Jod-Lösung titriert. Überschüss. Jod wird mit einem Tropfen Natriumthiosulfatlösung reduziert. Anschließend wird die saure Lösung mit dem schwach basischen Ionenaustauscher Amberlite IR 4b (in Acetatform) gerührt, bis pH 4–5 erreicht ist, der Austauscher abgesaugt, das Filtrat gefriertrocknet und der Rückstand aus Dimethylformamid/Äther umgefällt. Es entsteht eine amorphe, hygroskopische Substanz. Ausb. 240 mg (86%). Papierchromatographisch ist die Substanz einheitlich: R_F 0.47 auf Schleicher u. Schüll-Papier Nr. 2043 b in *n*-Butanol/Eisessig/Pyridin/Wasser (375 : 75 : 250 : 300).

[380/67]