

- [32] *F. C. Cooper & M. W. Partridge*, *Org. Synthesis* 36, 64 (1956); vgl. auch *H. Söll* in «*Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie*», Bd. XI/2, S. 39, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1958; *A. J. Speziale & R. C. Freeman*, *J. Amer. chem. Soc.* 82, 909 (1960); *J. S. McKennis & P. A. S. Smith*, *J. org. Chemistry* 37, 4173 (1972).
- [33] *H. Gotthard, R. Huisgen & H. O. Bayer*, *J. Amer. chem. Soc.* 92, 4340 (1970); *Chem. Ber.* 103, 2356, 2368 (1970).
- [34] *H. M. R. Hoffmann*, *Angew. Chem.* 81, 597 (1969).
- [35] *F. W. Fowler* in *A. R. Katritzky & A. J. Boulton's*, «*Advances in Heterocyclic Chemistry*» Vol. 13, p. 45, Academic Press, New York 1971.
- [36] a) *H. O. Bayer, R. Huisgen, R. Knorr & F. C. Schaefer*, *Chem. Ber.* 103, 2581 (1970); b) *R. Huisgen, H. Gotthard, H. O. Bayer & F. C. Schaefer*, *ibid.* 103, 2611 (1970); *R. Huisgen & H. Gotthard*, *ibid.* 103, 2625 (1970).
- [37] *G. Schwarzenbach & E. Felder*, *Helv.* 27, 1044 (1944).
- [38] *W. M. Berestovitskaya, A. S. Sopova & V. V. Perekalin*, *Khim. Geterotsikl. Soedin* 1967, 396 [*Chem. Abstr.* 68, 29501 (1968)].
- [39] *H. O. Larson, T.-C. Ooi, A. K. Q. Siu, K. H. Hollenbeak & F. L. Cue*, *Tetrahedron* 25, 4005 (1969).
- [40] *N. S. Bhacca, L. F. Johnson & J. N. Shoolery*, *NMR.-Spectra Catalog Vol. 1*, Varian Associates 1962.
- [41] *J. Seibl*, «*Massenspektrometrie*», S. 59, Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt 1970.
- [42] *H. M. Frey & R. Walsh*, *Chem. Rev.* 69, 103 (1969).
- [43] *R. S. Atkinson & C. W. Rees*, *J. chem. Soc. (C)* 1969, 778; *A. Mishra, S. N. Rice & W. Lwow-ski*, *J. org. Chemistry* 33, 481 (1968); *H. W. Heine* in *B. S. Thyagarajan's* «*Mechanisms of Molecular Migrations*», Vol. 3, p. 145, Interscience-Wiley, New York 1971; *T. L. Gilchrist, C. W. Rees & E. Stanton*, *J. chem. Soc. (C)* 1971, 3036.
- [44] *G. Bianchi, A. Gamba & R. Gandolfi*, *Tetrahedron* 28, 1601 (1972).
- [45] *F. Texier & R. Carrié*, *Bull. Soc. chim. France* 1972, 2373, 2381.
- [46] *A. Padwa & W. Eisenhardt*, *Chem. Commun.* 1968, 380.
- [47] *E. Schlittler & J. Hohl*, *Helv.* 35, 29 (1952).
- [48] *O. L. Brady & L. Klein*, *J. chem. Soc.* 1927, 888; *A. Hafner*, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 23, 339 (1890).
- [49] *A. I. Vogel*, «*Practical Organic Chemistry*», p. 648, Longmans, London 1967.

136. Die gezielte Synthese offenkettiger asymmetrischer Cystinpeptide mittels thiol-induzierter Fragmentierung von Sulfenylthiocarbonaten. Insulinfragmente mit intakter Disulfidbrücke A²⁰-B¹⁹.^{1) 2)}

von Bruno Kamber

Chemische Forschungslaboratorien der Division Pharma der CIBA-GEIGY AG., Basel

(23. III. 73)

Summary. The thiol-induced fragmentations of sulfenyl thiocarbonates (R-S-S-CO-OCH₃) leading to mixed disulfides was applied to the synthesis of open-chain asymmetrical cystine peptides. Various fragments of insulin containing the disulfide bridge between A²⁰ and B¹⁹ were prepared by this method.

1) Über die hier beschriebenen Ergebnisse wurde am 14. 10. 1972 an der Herbstversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in Luzern vorgetragen.

2) Zu der in dieser Arbeit benützten, abgekürzten Schreibweise für Aminosäuren, Peptide und ihre Derivate siehe [1]; insbesondere bedeuten: Boc = *t*-Butoxycarbonyl; Bu^t = *t*-Butyl; Trt = Trityl; Acm = Acetamidomethyl; OSu = N-Hydroxysuccinimidester; POc = Penta-chlorphenylester; DCCI = Dicyclohexyl-carbodiimid; HOBT = 1-Hydroxybenzotriazol.

It was found that the methoxythiocarbonate derivatives could easily be obtained by treatment of S-trityl- or S-acetamidomethyl- cysteine peptides with methoxycarbonylsulfonyl chloride. The carboxyl groups of these cysteine peptides were either unprotected or protected by the *t*-butyl residue. The amino groups were blocked by *t*-butoxycarbonyl or the trityl group.

The formation of the disulfide bond was effected by fragmenting these methoxythiocarbonate derivatives by the unprotected thiol function of cysteine peptides. The amino groups of these cysteine peptides were either unprotected (amine salts) or masked by the *t*-butoxycarbonyl residue and the *t*-butyl group was used to protect the carboxyl.

It was shown that such open-chain asymmetrical cystine peptides could be used in further condensations.

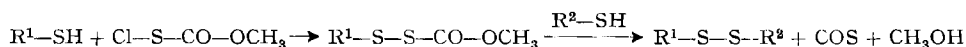
Einleitung. – Bis heute wurden Cystinpeptide in den meisten Fällen über die thiol-geschützten Cysteinpeptide synthetisiert. Die Abspaltung der Thiol-Schutzgruppen und die Oxydation der resultierenden Thiole (Cysteine) zum Disulfid (Cystin) stellten dann die letzten Schritte der Synthese dar. Um bei Peptiden mit mehreren Cystinresten ausschliesslich zu den korrekten Disulfidverknüpfungen zu gelangen, setzt dieses Konzept verschiedene selektiv abspaltbare Thiol-Schutzgruppen voraus.

Kompliziertere Cystinpeptide lassen sich noch auf einem prinzipiell anderen Wege synthetisieren: Die verschiedenen Disulfidbrücken werden getrennt in einem früheren Stadium der Synthese gebildet, wodurch man zu cyclischen oder offenkettigen asymmetrischen Cystinpeptiden gelangt, welche als Fragmente in weiteren Kondensationen eingesetzt werden können. Dieses Vorgehen bedingt, dass die Umwandlung zweier thiol-geschützter Cysteinreste in ein Cystin unter Bedingungen durchzuführen ist, bei welchen die übrigen in der Synthese verwendeten Schutzgruppen nicht angegriffen werden. Diese Forderung erfüllt z. B. die von uns beschriebene Jodoxydation von (geschützten) S-Trityl- und S-Acetamidomethyl-cysteinpeptiden [2] [3]. Wie am Beispiel der Synthese von porcinem und menschlichem Calcitonin [4] [5] sowie von Fragmenten des Insulins [6] gezeigt wurde, lässt sich diese Methode zwanglos in die *tert*-Butyl-Taktik integrieren.

Unter *t*-Butyl-Taktik wird hier folgende Schutzgruppenkombination verstanden: Für den permanenten Schutz werden ausschliesslich Gruppen verwendet, die sich vom *t*-Butylalkohol ableiten, nämlich *t*-Butoxycarbonyl-(Boc), *t*-Butylester (OBu^t) und *t*-Butyläther (Bu^t). Für den temporären Schutz der α -Aminofunktion dienen Benzyloxycarbonyl-(Z), Trityl-(Trt) oder 2-(*p*-Biphenyl)-isopropylloxycarbonyl-(Bpoc) [7], während die α -Carboxylgruppen als Methylester oder in der freien Form (als Salz) eingesetzt werden.

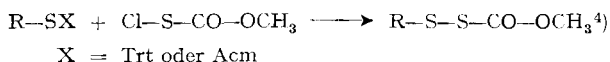
Offenkettige asymmetrische Cystinpeptide werden bei dieser unspezifischen Oxydation ('random oxidation') allerdings immer zusammen mit den beiden symmetrischen in maximal statistischer Ausbeute erhalten. Für die Synthese solcher Peptidfragmente sind deshalb Methoden erwünscht, welche die *gezielte* Bildung einer asymmetrischen Disulfidgruppierung ermöglichen. Das einzige Verfahren, nach dem bis heute auf diese Weise grössere Cystinpeptide hergestellt wurden, ist die von Hiskey *et al.* eingehend untersuchte Dirhodan-Methode [8].

Thiol-induzierte Fragmentierung von Sulfonylthiocarbonaten. – Von Brois *et al.* [9] wurde vor kurzem beschrieben, dass die aus einem Thiol und Methoxycarbonylsulfonylchlorid [10] zugänglichen Sulfonylthiocarbonate mit einem zweiten Thiol das gemischte Disulfid neben Carbonylsulfid und Methanol bilden:



In der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, dass sich diese Reaktionsfolge für die gezielte Synthese von offenkettigen asymmetrischen Cystinpeptiden vorzüglich eignet. Wie oben gefordert, erlaubt die Methode die Anwendung der *t*-Butyl-Taktik. Überraschenderweise erwies sich zudem die erste Stufe, d. h. die Darstellung der Sulphenylthiocarbonate (Scm-Derivate)³⁾ als besonders einfach.

Es zeigte sich nämlich, dass sich diese Derivate nicht nur aus Thiolen, sondern direkt aus Cysteinpeptiden, deren Thiolfunktion durch Trityl [11] oder Acetamidomethyl [12] geschützt sind, gewinnen lassen:



Die Scm-Derivate aller untersuchten Cysteinpeptide erwiesen sich als kristalline und lagerfähige Verbindungen.

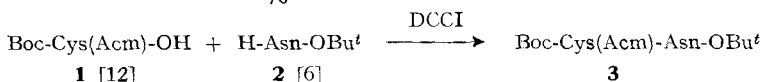
Synthese von Insulinfragmenten im Bereiche der Disulfidbrücke A²⁰-B¹⁹. –

Die Methode wurde anhand der Synthese von Insulinbruchstücken im Bereiche der interchenaren Disulfidbrücke A²⁰-B¹⁹ untersucht. Solche Fragmente hatten wir schon früher durch die unspezifische Jodoxydation von S-Trityl-cysteinpeptiden hergestellt [6]. Wir benutzten diese Reaktion auch hier, um auf einem unabhängigen Wege zu den nach dem neuen Verfahren erhaltenen Cystinpeptiden zu gelangen.

Im folgenden wird zunächst die Synthese der später verwendeten Kettenfragmente beschrieben. Die zwei anschließenden Abschnitte behandeln die Darstellung der Scm-Derivate sowie der geschützten Cysteinpeptide mit freier Thiolseitenkette (Thiolkomponente). Zuletzt wird die selektive Bildung der Disulfidbrücke aus den beiden Komponenten und die Verwendung der erhaltenen Cystinpeptide als Fragmente in weiteren Kondensationen besprochen. Die entsprechenden Formelbilder sind in Schema 1 bis 4 wiedergegeben.

Synthese der geschützten Kettenfragmente

A²⁰⁻²¹. Das kristalline Dipeptid **3** erhielt man durch Kondensation (DCCI) von **1** und **2** in einer Ausbeute von 90%.

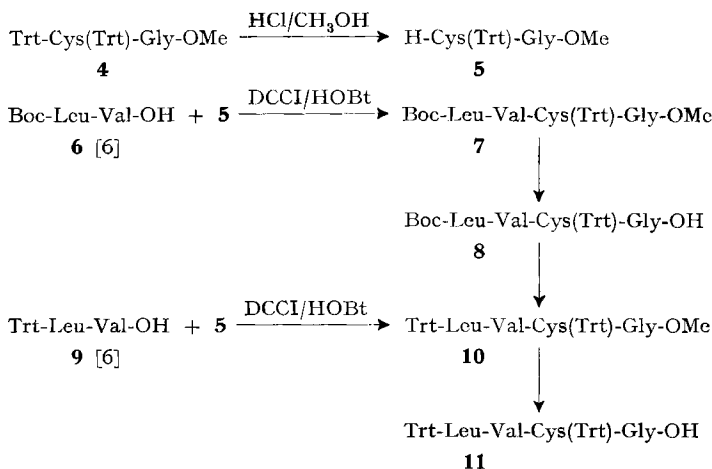


B¹⁷⁻²⁰. Von dieser Sequenz wurden die am Aminoende sowohl mit Trityl als auch mit *t*-Butoxycarbonyl geschützten Derivate synthetisiert. Die dabei verwendete Aminokomponente **5** wurde aus Trt-Cys(Trt)-Gly-OMe (**4**) durch Entfernung der N-Tritylgruppe mit methanolischer Salzsäure hergestellt⁵⁾. Die Fragmentkondensation mit den Acylkomponenten **6** und **9** erfolgte nach der bekanntlich zu minimaler Racemisierung führenden Methode von *Koenig & Geiger* [13] (DCCI/HOBt). Die kristallinen Tetrapeptid-methylester **7** und **10** fielen in Ausbeuten von 80% bzw. 75% an. Durch alkalische Hydrolyse gelangte man zu den ebenfalls kristallinen Säurederivaten **8** und **11**.

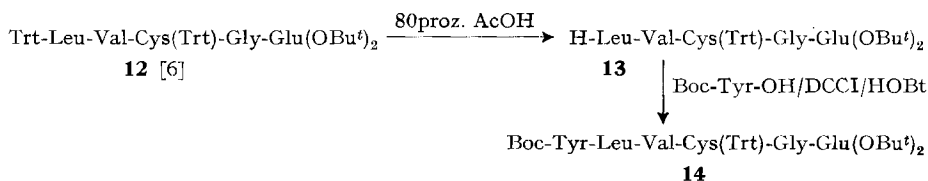
³⁾ Die Thiocarbonatgruppierung –S–CO–OCH₃ wird im folgenden mit Scm abgekürzt.

⁴⁾ Enthält die Reaktionslösung Methanol, so wird die Tritylgruppe in Tritylmethyläther übergeführt. Die Reaktionsweise der Acetamidomethylgruppe wurde nicht näher untersucht.

⁵⁾ Die Detritylierung mit 80proz. Essigsäure führte vorwiegend zum cyclischen Dipeptid.



B^{16–21}. Die Abspaltung der N-Tritylgruppe aus **12** erfolgte mit 80proz. Essigsäure. Das resultierende Acetat von **13** wurde in das freie Amin übergeführt und dieses mit Boc-Tyr-OH zum kristallinen Hexapeptidderivat **14** kondensiert (DCCI/HOBt).



Scm-Derivate

Wie schon erwähnt, lassen sich die Sulfenylthiocarbonate direkt aus den S-Trityl- und S-Acetamidomethyl-cysteinpeptiden gewinnen. So führte die Umsetzung von **3** oder **15** (Schema 1) mit Methoxycarbonylsulfenylchlorid bei 0° (in Methanol oder im Gemisch von Methanol mit Chloroform oder Essigester) zu dem ausschliesslich mit *t*-Butylgruppen geschützten Scm-Derivat **16**. Analog erhielt man aus dem Tetrapeptid **8** aus der B-Kette (Schema 2) das Sulfenylthiocarbonat **20** mit einer freien Carboxylgruppe. Die Säure wurde in der deprotonierten Form (als Diäthylammoniumsalz) in die Reaktion eingesetzt. Mildere Bedingungen wurden beim entsprechenden N-Trityl-derivat **11** (Schema 3) angewendet, um zu vermeiden, dass die N-Tritylaminogruppe durch Methoxycarbonylsulfenylchlorid angegriffen wird. Eine selektive Umsetzung an der Schwefelgruppierung unter Bildung des gewünschten Scm-Derivates **25** erreichte man bei tieferer Temperatur (–10°, 15 Min.). Unter diesen Bedingungen wird auch die Abspaltung der N-Tritylgruppe durch den bei der Reaktion gebildeten Chlorwasserstoff verhindert. Die Zugabe von Triäthylamin zum Abfangen dieser Säure ist wegen der Labilität von Methoxycarbonylsulfenylchlorid in diesem basischen Milieu nicht möglich.

Gas-chromatographische und massenspektrometrische Untersuchungen ergaben, dass sich in methanolischer Lösung aus Methoxycarbonylsulfenylchlorid in Gegenwart von Triäthylamin sehr schnell Dimethylcarbonat und elementarer Schwefel bilden. In einem inerten Lösungsmittel tritt

dagegen offensichtlich Polymerisation ein. So erstarrt eine Lösung des Reagens in Tetrahydrofuran bei Zugabe von Triäthylamin momentan zu einem Gel, welches keine gas-chromatographisch nachweisbaren niedermolekularen Verbindungen mehr enthält⁶⁾.

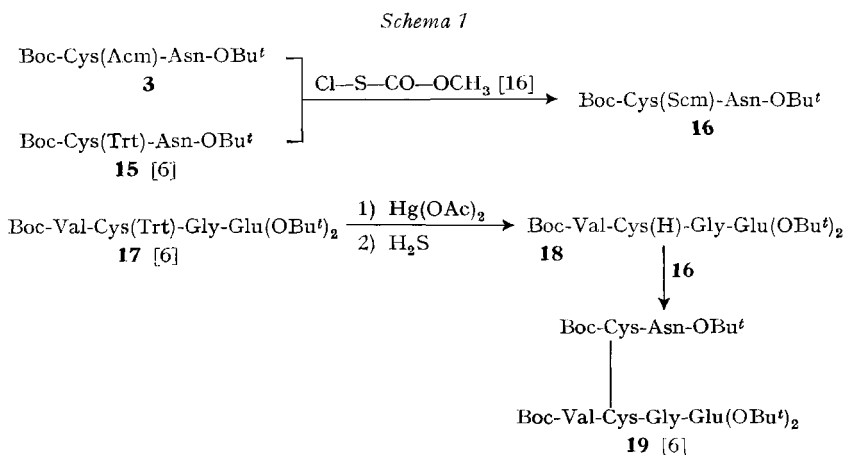
Die Scm-Derivate **16**, **20** und **25** wurden als kristalline Verbindungen in Ausbeuten um 80% erhalten. Im festen Zustand und in Lösung (z. B. Methanol, Essigester, Chloroform) zeigten sie nach Wochen bei Raumtemperatur keine Zersetzung. Die Sulfenylthiocarbonatgruppierung ist auch gegenüber Säuren recht stabil, indem sie z. B. von Trifluoressigsäure (1 Std., 0°) nicht angegriffen wird. Wie zu erwarten war, erwiesen sich die Scm-Derivate gegenüber basischen Reagentien als sehr labil, Verseifungen oder Hydrazinolyse sind daher bei diesen Peptidderivaten nicht durchführbar.

Thiolkomponente

Die Freisetzung der Thiolgruppen in den S-Trityl-cysteinpeptiden **17**, **15** und **28** (Schema 1, 2 und 4) erfolgte nach *Zervas et al.* [14] mit Quecksilber(II)-acetat in einem Gemisch von Methanol und Essigester und anschliessender Behandlung mit Schwefelwasserstoff. Sowohl **18** als auch **21** fielen als Öle an, aus welchen sich der bei der Reaktion gebildete Tritylmethyläther durch Extraktion mit Petroläther nicht vollständig entfernen liess, die sonst aber dünnschichtchromatographisch einheitlich waren. Das gleiche gilt für HCl · H-Cys-Asn-OBu^t **29**, welches aus dem Di-tritylderivat **27** über das Hydrochlorid **28** erhalten wurde.

Bildung der Cystinbrücke und Verlängerung der Ketten

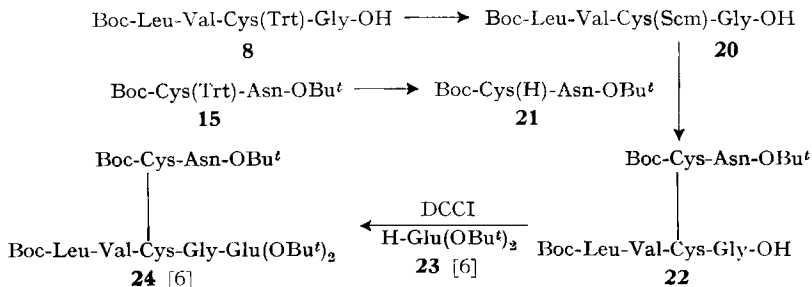
Das Scm-Derivat **16** (Schema 1) setzte sich in Methylchlorid, Chloroform/Methanol oder Essigester mit der Thiolkomponente **18** bei Raumtemperatur in 1½ Stunden quantitativ zu dem schon früher beschriebenen, ausschliesslich mit *t*-Butylschutzgruppen versehenen Insulinfragment A^{20–21}-B^{18–21} **19** um.



Unter den gleichen Bedingungen wurde aus **20** und **21** (Schema 2) das Cystinderivat **22** mit einer freien Carboxylgruppe erhalten. Die Verwendbarkeit von **22** als

⁶⁾ Diese Untersuchungen verdanke ich Herrn *F. Raschdorf* (CIBA-GEIGY AG., Basel).

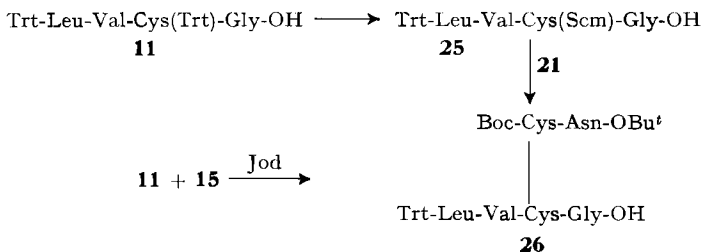
Schema 2



Acylkomponente in einer Peptidkondensation ging aus der Umsetzung mit H-Glu(OBu^t)₂ (**23**) (DCCI) zum geschützten Insulinbruchstück **24** hervor.

In ebenfalls quantitativer Ausbeute bildeten **21** und **25** (Schema 3) das Cystinderivat **26**, welches auch durch Jodoxydation der beiden S-Tritylpeptide **11** und **15** dargestellt wurde. Wie weiter unten gezeigt wird, ist an derart geschützten Cystin-

Schema 3



peptiden eine zweifache selektive Kettenverlängerung möglich. Schema 4 illustriert die Darstellung eines Cystinpeptides, an welchem anschliessend noch drei spezifische Kondensationen durchgeführt werden können. Als Thiolkomponente diente das Cysteinpeptid **29** mit freier Aminogruppe (als Hydrochlorid vorliegend). Die Reaktion mit dem schon oben verwendeten Scm-Derivat **25** lieferte das asymmetrische Cystinpeptid **30** als inneres Salz. Als erstes wurde in diesem die Aminogruppe durch den aktivierten Ester **31** acyliert. Das resultierende **32** war auch durch Jodoxydation von **11** und **33** zugänglich.

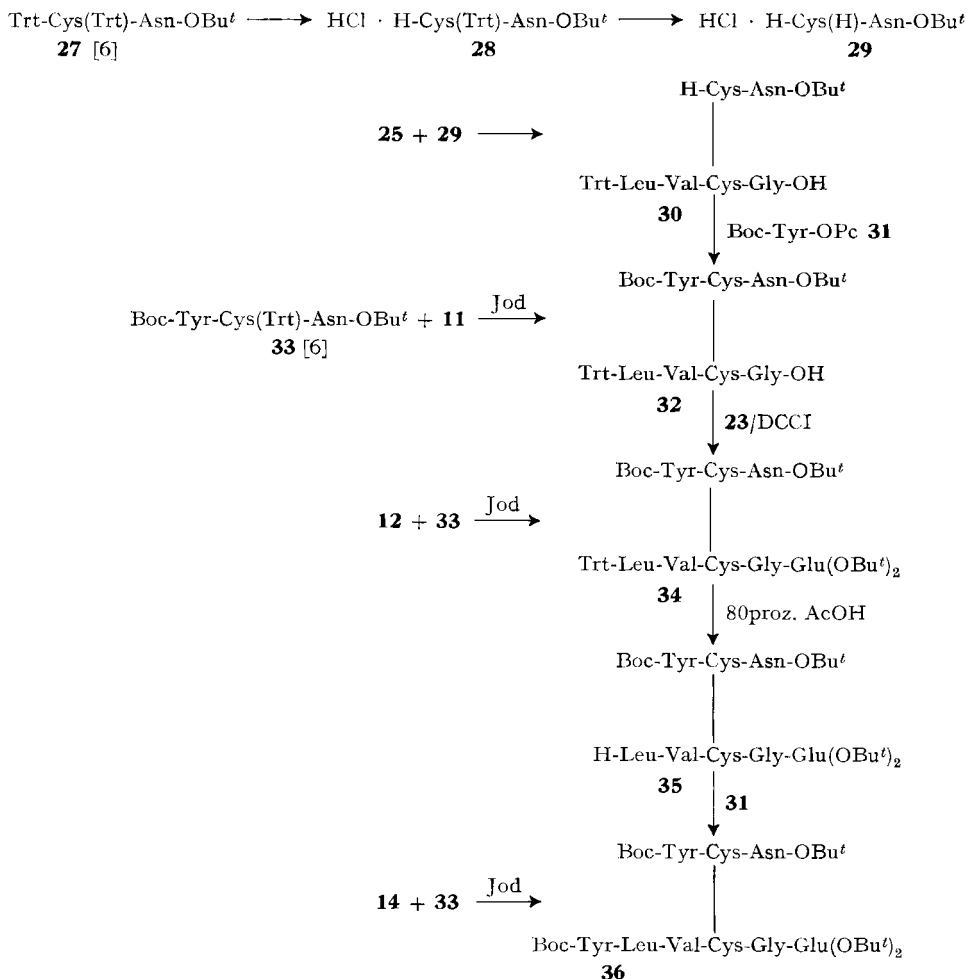
Diese Jodoxydation sowie diejenige von **12** und **33** verliefen uneinheitlich, und die Ausbeuten an **32** und **34** betragen bloss 55% bzw. 40%. Es stellte sich heraus, dass bei der Durchführung der Reaktion in Gegenwart von Pyridin – die Pufferung wurde wegen der säurelabilen N-Tritylgruppe vorgenommen [6] – teilweise Jodierung des in der Seitenkette ungeschützten Tyrosins eintritt. Bei Abwesenheit von Pyridin (wie z. B. bei der unten beschriebenen Oxydation von **14** und **33**) sowie beim Schutz des Tyrosins als *t*-Butyläther ist diese Nebenreaktion nicht zu beobachten⁷⁾.

Im nächsten Schritt wurde **32** und H-Glu(OBu^t)₂ (**23**) mittels einer Carbodiimidkondensation zu **34**, dem geschützten Insulinfragment A^{19–21}-B^{17–21} umgesetzt, zu dem man ebenfalls durch Jodoxydation der entsprechenden S-Tritylverbindungen

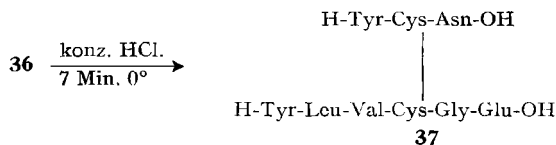
7) Eine ausführliche Beschreibung soll demnächst in dieser Zeitschrift erfolgen.

12 und **33** gelangte. Abspaltung der N-Tritylgruppe mit 80proz. Essigsäure lieferte die Aminokomponente **35**, welche dann mittels Boc-Tyr-OPc (**31**) in das ausschliesslich *t*-Butylschutzgruppen tragende Cystinpeptid **36** übergeführt wurde. Dieses synthetisierte man wiederum durch Jodoxydation von **14** und **33**.

Schema 4



Die Abspaltung der Schutzgruppen von **36** unter Bildung des Insulinbruchstückes A¹⁹⁻²¹-B¹⁶⁻²¹ **37** wurde, wie früher beschrieben [6], mit konzentrierter Salzsäure durchgeführt.



Experimenteller Teil

Die Smp. sind auf einem Apparat von Dr. *Tottoli* (der Firma *Büchi, Flawil*) bestimmt und sind unkorrigiert. «Übliche Aufarbeitung» bedeutet: Aufnehmen in das betreffende Lösungsmittel, Waschen (bei 0°) mit verd. Zitronensäurelösung, Wasser, verd. NaHCO₃-Lösung und Wasser, Trocknen mit Natriumsulfat, Filtrieren und Eindampfen.

Für die *Gegenstromverteilung* dienten folgende Lösungsmittelsysteme (Angaben in Volumenteilen): Methanol/0,1 M Ammoniumacetat (pH 7)/Chloroform/Tetrachlorkohlenstoff: I = 10:3:5:4, II = 2:1:3:1; III = 5:1:4:0.

Chromatographische Reinheitskontrollen: Alle angegebenen Rf-Werte beziehen sich auf *Dünnschichtchromatographien*. Es wurden die folgenden Träger verwendet: S = Kieselgel (Fertigplatten SL 254 der Firma *Antec*, Birsfelden); C = Cellulose (Avicel-Fertigplatten 1440 der Firma *Schleicher & Schüll*).

Die Fließmittel hatten folgende Zusammensetzung (Volumenteile):

System 43 C	<i>t</i> -Amylalkohol/2-Propanol/Wasser	51:21:28
System 45	2-Butanol/3proz. wässr. NH ₃	70:30
System 52	1-Butanol/Essigsäure/Wasser	71:7:22
System 52 A	1-Butanol/Essigsäure/Wasser	67:10:23
System 100	Essigester/Pyridin/Essigsäure/Wasser	62:21:6:11
System 101 A	1-Butanol/Pyridin/Essigsäure/Wasser	42:24:4:30
System 151	1-Butanol/Pyridin/Essigsäure/Wasser	38:20:6:24

Die Anfärbung der Platten erfolgte mit *Reindel-Hoppe*-Reagenz in der Ausführung nach [15].

Boc-Cys(Asm)-Asn-OBu^t (**3**). 2,93 g (10 mmol) *Boc-Cys(Asm)-OH* [12] und 1,88 g (10 mmol) *H-Asn-OBu^t* [6] wurden in 100 ml Essigester gelöst und bei 0° mit 2,26 g (11 mmol) DCCI versetzt. Nach 1 Std. bei 0° und 20 Std. bei 4° wurde abfiltriert und das Filtrat wie üblich aufgearbeitet. Kristallisation aus Essigester/*n*-Hexan gab 4,2 g **3** vom Smp. 91–93°. $[\alpha]_D^{20} = -27^\circ$ ($c = 1,8$, Methanol).

C ₁₈ H ₃₄ N ₄ O ₇ S	Ber. C 49,34	H 7,41	N 12,11	S 6,93%
(462,56)	Gef. ,, 49,38	,, 7,40	,, 11,97	,, 6,89%

Trt-Cys(Trt)-Gly-OMe (**4**). Freisetzen von *H-Gly-OMe* aus dem Hydrochlorid: 16,6 g (108 mmol) HCl·*H-Gly-OMe* wurden in 15 ml Wasser und 100 ml Chloroform aufgenommen, auf –20° gekühlt und mit ca. 40 g K₂CO₃ versetzt. Es wurde dann abfiltriert und zum Filtrat bei 0° 37,9 g (54 mmol) *Trt-Cys(Trt)-OSu* [5] gegeben. Nach 2 Std. bei 0° und 15 Std. bei 20° wurde eingedampft und der Rückstand wie üblich aufgearbeitet. Das Produkt wurde zur Reinigung durch eine Säule von Silicagel (400 g) filtriert. Dazu wurde die Substanz in Essigester/Petroläther 1:3 auf die im gleichen Lösungsmittelgemisch bereitete Säule gegeben und eluiert. 3 Liter eluierten 32,5 g (89%) **4** als dünnschichtchromatographisch einheitlichen weissen Schaum. Rf (S) = 0,50 (Essigester/*n*-Hexan 1:1). $[\alpha]_D^{20} = +74^\circ$ ($c = 1,2$, Chloroform).

H-Cys(Trt)-Gly-OMe (**5**). 6,77 g (10 mmol) *Trt-Cys(Trt)-Gly-OMe* (**4**) in 75 ml Methanol und 7,5 ml Wasser wurden mit 5,1 ml HCl in Methanol (ca. 2,1 N) versetzt. Nach 1 Std. bei 20° wurde die Lösung am Rotationsverdampfer eingedampft, der Rückstand in Essigester aufgenommen und mit 0,5 N Natriumhydrogencarbonat und Wasser gewaschen, die Lösung über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das als Schaum anfallende Produkt erwies sich im Dünnschichtchromatogramm als einheitlich und wurde direkt in die folgenden Kondensationen eingesetzt, Rf(S) = 0,55 (Toluol/Aceton 1:1); 0,70 (Chloroform/Methanol 8:2).

Boc-Leu-Val-Cys(Trt)-Gly-OMe (**7**). 660 mg (2 mmol) *Boc-Leu-Val-OH* (**6**) [6] und 870 mg (2 mmol) **5** wurden in 15 ml Dimethylformamid bei 0° mit 455 mg (2,2 mmol) DCCI und 284 mg (2,1 mmol) HOBT versetzt. Nach 1 Std. bei 0° und 15 Std. bei 4° wurde abfiltriert, die Lösung auf ca. 5 ml eingengt und mit 50 ml Äther ausgefällt. Kristallisation aus Chloroform unter Zusatz von wenig Äther lieferte 1,2 g (80%) **7** vom Smp. 211–212°. $[\alpha]_D^{20} = -35^\circ$ ($c = 1,0$, Methanol).

C ₄₁ H ₅₄ N ₄ O ₇ S	Ber. C 65,93	H 7,29	N 7,50	S 4,29%
(746,96)	Gef. ,, 65,71	,, 7,39	,, 7,32	,, 4,53%

Trt-Leu-Val-Cys(Trt)-Gly-OMe (**10**). 2,36 g (5 mmol) *Trt-Leu-Val-OH* (**9**) [6] und 2,17 g (5 mmol) **5** wurden in 25 ml Chloroform bei 0° mit 0,4 g (3 mmol) HOBT und 1,13 g (5,5 mmol) DCCI versetzt. Nach 1 Std. bei 0° und 15 Std. bei 20° filtrierte man ab und arbeitete das Filtrat

wie üblich auf. Umkristallisation aus Chloroform/Methanol gab 3,2 g **10** vom Smp. 252–254°. $[\alpha]_D^{20} = -41^\circ$ ($c = 1,2$, Chloroform).

$C_{55}H_{60}N_4O_5S$ Ber. C 74,29 H 6,80 N 6,30 S 3,61%
(889,17) Gef. ,, 74,28 ,, 6,75 ,, 6,30 ,, 3,88%

Boc-Leu-Val-Cys(Trt)-Gly-OH (**8**). 747 mg (1 mmol) **9** wurden in 20 ml Methanol gelöst und mit 2,0 ml 1 N Natronlauge und 1 ml Wasser versetzt. Nach 2 Std. bei 20° kühlte man auf 0° ab, gab 2,0 ml 1 N Salzsäure zu und fällt mit 100 ml Wasser aus. Das Produkt wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen, abgepresst und aus Acetonitril umkristallisiert. Ausbeute: 730 mg, Smp. 185–188°. $[\alpha]_D^{20} = -19^\circ$ ($c = 1,0$, Chloroform).

$C_{40}H_{52}N_4O_5S$ Ber. C 65,55 H 7,15 N 7,64 S 4,37%
(732,94) Gef. ,, 65,28 ,, 7,12 ,, 7,63 ,, 4,41%

Trt-Leu-Val-Cys(Trt)-Gly-OH (**11**). Zu 14,24 g **10** in 145 ml Dioxan wurden 9 ml 2 N Natronlauge und 10 ml Wasser gegeben. Nach 1½ Std. bei 20° wurde im Wasserstrahlvakuum bei 35° auf ca. 80 ml eingeeengt, auf 0° abgekühlt und mit 50 ml 1 N Zitronensäure und 300 ml Wasser versetzt. Man dekantierte vom klebrigen Niederschlag ab, vertrieb diesen mehrmals mit Wasser und trocknete über Kaliumhydroxid. Umkristallisation aus 2-Propanol gab 13,9 g vom Smp. 204–210°. $[\alpha]_D^{20} = -47^\circ$ ($c = 1,3$, Chloroform).

$C_{54}H_{58}N_4O_5S \cdot H_2O$ Ber. C 72,62 H 6,77 N 6,27 S 3,59%
(893,16) Gef. ,, 72,92 ,, 6,78 ,, 6,19 ,, 3,71%

H-Leu-Val-Cys(Trt)-Gly-Glu(OBu^t)₂ (**13**). 2,8 g (2,5 mmol) **12** [6] wurden in 25 ml Eisessig gelöst und bei 20° mit 5 ml Wasser versetzt. Nach 1 Std. gab man 20 ml Wasser zu, filtrierte vom ausgeschiedenen Triphenylmethanol ab und dampfte das Filtrat bei 40°/0,01 Torr ein. Der Rückstand wurde in Essigester aufgenommen, die Lösung mit 0,5 N Natriumhydrogencarbonat und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Beim Abdampfen des Lösungsmittels resultierte ein dünnenschichtchromatographisch einheitliches Produkt als weisser Schaum. Rf (S) = 0,45 (Toluol/Aceton 1:1).

Boc-Tyr-Leu-Val-Cys(Trt)-Gly-Glu(OBu^t)₂ (**14**). 2,16 g (2,5 mmol) **10**, 844 mg (3 mmol) Boc-Tyr-OH, 566 mg (2,75 mmol) DCCI und 338 mg (2,5 mmol) HOBT wurden in 20 ml Dimethylformamid 1 Std. bei 0° und 15 Std. bei 20° reagieren gelassen. Man filtrierte dann ab und goss das Filtrat auf 150 ml Wasser. Umkristallisation des feuchten Niederschlages aus Dioxan/Wasser gab 2,20 g vom Smp. 212–213°. $[\alpha]_D^{20} = -26^\circ$ ($c = 1,0$, Methanol).

$C_{62}H_{84}N_6O_{12}S$ Ber. C 65,47 H 7,44 N 7,39 S 2,82%
(1137,45) Gef. ,, 65,67 ,, 7,32 ,, 7,31 ,, 2,84%

Boc-Cys(Scm)-Asn-OBu^t (**16**). a) aus *Boc-Cys(Trt)-Asn-OBu^t* (**15**): 1,585 g (2,5 mmol) **15** [6] in 10 ml Chloroform und 5 ml Methanol wurden bei 0° mit 0,44 ml Methoxycarbonylsulphenylchlorid [16] versetzt. Nach 50 Min. bei 0° gab man 5,5 ml 1 N wässrige Diäthylaminlösung zu, verdünnte mit 100 ml Chloroform und wusch die Lösung mit 1 N Zitronensäure und Wasser. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat dampfte man ein und kristallisierte den Rückstand aus Chloroform/Petroläther um. Es resultierten 950 mg (79%) **16** vom Smp. 102–104°. $[\alpha]_D^{20} = -29^\circ$ ($c = 1,1$, Chloroform).

$C_{18}H_{31}N_2O_8S_2$ Ber. C 44,89 H 6,49 N 8,73 S 13,31%
(481,58) Gef. ,, 44,57 ,, 6,39 ,, 8,67 ,, 13,35%

b) Aus *Boc-Cys(Acm)-Asn-OBu^t* (**3**): Die analog wie oben durchgeführte Reaktion mit 1,16 g (2,5 mmol) **3** lieferte **16** in einer Ausbeute von 81% (975 mg).

Boc-Leu-Val-Cys(Scm)-Gly-OH (**20**). 690 mg (0,91 mmol) *Boc-Leu-Val-Cys(Trt)-Gly-OH* (**8**) löste man in 6 ml Chloroform und 3 ml Methanol. Bei 0° wurden dann 0,094 ml (0,91 mmol) Diäthylamin und 0,16 ml Methoxycarbonylsulphenylchlorid zugegeben. Nach 50 Min. bei 0° wurden nochmals 0,1 ml Diäthylamin zugesetzt, in 100 ml Chloroform aufgenommen, die Lösung mit 1 N Zitronensäure und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Man engte dann auf ca. 5 ml ein und fällte mit 50 ml Petroläther aus. Der Niederschlag wurde aus Chloroform/Petroläther umkristallisiert. Ausbeute 423 mg (77%). Smp. 109–112°. $[\alpha]_D^{20} = -49^\circ$ ($c = 1,1$, Chloroform).

$C_{23}H_{40}N_4O_9S_2 \cdot H_2O$ Ber. C 46,14 H 7,07 N 9,36 S 10,71%
(598,73) Gef. ,, 46,23 ,, 7,07 ,, 9,50 ,, 10,76%

Wassergehalt nach Karl Fischer: Ber. 3,01%, Gef. 2,79%.

Trt-Leu-Val-Cys(Scm)-Gly-OH (25). Zu 8,6 g (10 mmol) *Trt-Leu-Val-Cys(Trt)-Gly-OH (11)* und 1,03 ml (10 mmol) Diäthylamin in 70 ml Chloroform und 25 ml Methanol gab man bei -10° 1,76 ml Methoxycarbonylsulfonylchlorid. Nach 15 Min. bei dieser Temperatur wurden 1,2 ml Diäthylamin zugesetzt, die Kühlung entfernt und nach 5 Min. mit 300 ml Chloroform verdünnt. Die Lösung wurde mit 1 N Zitronensäure und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und dann auf ca. 30 ml eingengt. Durch Zugabe von 250 ml Petroläther wurde das Produkt ausgefällt, abfiltriert und aus Chloroform/Petroläther umkristallisiert. Es resultierten 5,43 g (75%) vom Smp. 195–200° (Zers.). $[\alpha]_D^{20} = -105^{\circ}$ ($c = 1,0$, Chloroform).

$C_{37}H_{46}N_4O_7S_2$	Ber. C 61,47	H 6,41	N 7,75	S 8,87%
(722,92)	Gef. „ 61,50	„ 6,64	„ 7,88	„ 8,81%

Boc-Val-Cys(H)-Gly-Glu(OBu^t)₂ (18). 8,61 g (10 mmol) **17** [6] und 3,5 g (11 mmol) Quecksilber(II)-acetat wurden in 60 ml Essigester und 30 ml Methanol 4 Std. bei 20° stengelassen. Durch die klare Lösung leitete man dann während 10 Min. einen Strom von Schwefelwasserstoff, filtrierte und dampfte das Filtrat ein. Der Rückstand wurde 3mal mit je 15 ml Petroläther extrahiert. Der Gehalt an **18** in dem in Petroläther unlöslichen, öligen Produkt (4,42 g) betrug auf Grund der jodometrischen Titration 93%. Rf (S) = 0,22 (Toluol/Aceton) 7:3).

Boc-Cys(H)-Asn-OBu^t (21). 2,54 g (4 mmol) **15** [6] und 1,40 g (4,4 mmol) Quecksilber(II)-acetat wurden in 40 ml Essigester/Methanol wie bei **18** beschrieben umgesetzt. Die gleiche Aufarbeitung lieferte einen Schaum mit einem Gehalt an **21** von 87%. Rf (S) = 0,37 (Toluol/Aceton 1:1).

HCl·H-Cys(Trt)-Asn-OBu^t (28). Zu 15,52 g (20 mmol) *Trt-Cys(Trt)-Asn-OBu^t (27)* [6] in 120 ml Eisessig wurden tropfenweise 30 ml Wasser gegeben. Nach 1 Std. bei 20° gab man weitere 90 ml Wasser zu, filtrierte und dampfte das Filtrat bei 40° und 0,01 Torr ein. Der Rückstand wurde in Essigester aufgenommen, die Lösung mit 0,5 N Natriumhydrogencarbonat und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Es wurde dann auf ca. 20 ml eingengt, auf 0° abgekühlt und mit 10 ml 2,0 N HCl in Essigester versetzt. Man gab dann 100 ml Petroläther zu, filtrierte und wusch reichlich mit Petroläther. Ausbeute: 11,2 g (97%). Rf (S) = 0,55 (Chloroform/Methanol 4:1).

HCl·H-Cys(H)-Asn-OBu^t (29). Die Reaktion von 10,7 g (20 mmol) **28** mit 7,3 g Quecksilber(II)-acetat in 140 ml Essigester/Methanol 1:1 wurde wie bei **18** ausgeführt. Es resultierte ein gelblicher Schaum, dessen Gehalt an **29** 93% betrug. Rf (S) = 0,20 (Chloroform/Methanol 4:1).

19. 963 mg (2 mmol) *Boc-Cys(Scm)-Asn-OBu^t (16)* und 1,33 g (2 mmol) *Boc-Val-Cys(H)-Gly-Glu-(OBu^t)₂ (18)*, wurden in 20 ml Methylenchlorid gelöst. Nach 90 Min. bei 20° dampfte man die klare Lösung ein und vertrieb den Rückstand 2mal mit Petroläther. Das als weisser Schaum anfallende Produkt (1,95 g) war im Dünnschichtchromatogramm einheitlich und identisch mit authentischem **19** [6].

22. 450 mg (1 mmol) *Boc-Cys(H)-Asn-OBu^t (21)* und 600 mg (1 mmol) *Boc-Leu-Val-Cys(Scm)-Gly-OH (20)* liess man in 10 ml Chloroform für 90 Min. bei 20° reagieren. Man dampfte dann ein und fällte das Produkt aus Essigester/*n*-Hexan um. Es resultierten 810 mg **22** als weisses Pulver.

24. Zu 452 mg (0,56 mmol) **22**, 178 mg (0,60 mmol) *HCl·H-Glu(OBu^t)₂ (23)* [6] und 0,084 ml (0,60 mmol) Triäthylamin in 8 ml Dimethylformamid gab man bei 0° 174 mg (0,84 mmol) DCCI und 64 mg (0,56 mmol) HOBT. Nach 15 Std. bei 4° filtrierte man ab, engte das Filtrat bei 35° und 0,01 Torr auf ca. 2 ml ein und fällte mit 20 ml Wasser aus. Das über Kaliumhydroxid getrocknete Produkt wurde durch Umfällen aus Essigester/Äther gereinigt. Es resultierten 470 mg **24**, die sich durch direkten Vergleich im Dünnschichtchromatogramm mit authentischem Material [6] als identisch erwiesen. Rf (S) = 0,52 (Chloroform/Methanol 95:5), 0,57 (Toluol/Aceton 1:1).

26. 216 mg (0,5 mmol) *Boc-Cys(H)-Asn-OBu^t (21)* und 362 mg (0,5 mmol) *Trt-Leu-Val-Cys(Scm)-Gly-OH (25)* wurden 2 Std. bei 20° in 5 ml Chloroform/Methanol 1:1 gehalten. Die Lösung wurde dann eingedampft und der Rückstand aus Chloroform/Äther umgefällt. Ausbeute 460 mg. Rf (S) = 0,40 (45), 0,75 (52), 0,70 (100). Synthese von **26** durch Jodoxydation: Zu 634 mg (1 mmol) *Boc-Cys(Trt)-Asn-OBu^t (15)* [6], 851 mg (1 mmol) *Trt-Leu-Val-Cys(Trt)-Gly-OH (11)* und 0,103 ml (1 mmol) Diäthylamin in 16 ml Dimethylformamid/Methanol 1:1 gab man 762 mg (3 mmol) Jod und liess 2 Std. bei 20° . Bei 0° entfärbte man dann mit 1 N Thiosulfatlösung, fällte mit 60 ml

1proz. Essigsäure aus, filtrierte und trocknete über Kaliumhydroxid. Dieses Rohprodukt wurde einer Gegenstromverteilung im System II unterworfen. Nach 100 Schritten befand sich **26** in den Röhren 17–22 ($K = 0,24$). Diese Fraktionen wurden vereinigt, eingedampft und bei $40^\circ/0,01$ Torr von Ammoniumacetat befreit. Ausbeute 405 mg.

30. 2,63 g (7,45 mmol) HCl-H-Cys(H)-Asn-OBu^t (**29**) und 5,38 g (7,45 mmol) Trt-Leu-Val-Cys(Scm)-Gly-OH (**25**) wurden in 75 ml Chloroform/Methanol 1:1 aufgenommen und nach 2 Std. bei 20° die klare Lösung eingedampft. Zum Rückstand wurden 50 ml Wasser gegeben und die Suspension unter starken Rühren mit 1 N Ammoniaklösung auf pH 5,5 gestellt. Man filtrierte ab, wusch mit Wasser und trocknete über Kaliumhydroxid. Umlösen aus Methanol/Äther gaben 5,32 g **30**. $[\alpha]_D^{20} = -107^\circ$ ($c = 1,0$, Methanol).

$C_{46}H_{63}O_9N_7S_2$	Ber. C 59,91	H 6,89	N 10,63	S 6,95%
(922,17)	Gef. ,, 59,96	,, 6,87	,, 10,13	,, 6,93%

Boc-Tyr-OPc (**31**). Zu 28,1 g (0,1 mol) Boc-Tyr-OH und 26,7 g (0,1 mol) Pentachlorphenol in 500 ml Dimethylformamid gab man bei 0° 22,8 g (0,11 mol) DCCI. Nach 1 Std. bei 0° und 15 Std. bei 20° filtrierte man, dampfte das Filtrat bei 35° und 0,01 Torr ein, und arbeitete den Rückstand in Essigester wie üblich auf. Umkristallisation aus Essigester/Hexan lieferte 34,6 g **31** vom Smp. 170 – 172° . $[\alpha]_D = -41^\circ$ ($c = 1,0$, Chloroform).

$C_{20}H_{18}Cl_5NO_5$	Ber. C 45,36	H 3,43	Cl 33,47	N 2,64%
(529,63)	Gef. ,, 45,42	,, 3,42	,, 33,05	,, 2,86%

32. 1,06 g (2 mmol) **31**, 1,84 g (2 mmol) **30** und 0,28 ml (2 mmol) Triäthylamin in 17 ml Dimethylformamid wurden 15 Std. bei 20° gelassen. Die Reaktionslösung wurde dann auf 120 ml 1proz. Essigsäure gegossen, der Niederschlag abfiltriert und über Kaliumhydroxid getrocknet. Dieses Rohprodukt (2,81 g) wurde durch eine Gegenstromverteilung im System II gereinigt. Nach 520 Schritten befand sich **32** in den Röhren 107–135 ($K = 0,29$). Die Ausbeute betrug 1,52 g (64%). Rf (S) = 0,45 (45), 0,85 (52), 0,75 (100). Synthese von **32** durch Jodoxydation: 797 mg (1 mmol) Boc-Tyr-Cys(Trt)-Asn-OBu^t (**33**) [6], 861 mg (1 mmol) Trt-Leu-Val-Cys(Trt)-Gly-OH (**11**), 0,103 ml (1 mmol) Diäthylamin und 0,4 ml (5 mmol) Pyridin in 16 ml Dimethylformamid/Methanol 1:1 wurden mit 762 mg (3 mmol) Jod versetzt. Nach 2 Std. bei 20° arbeitete man wie oben bei **26** auf. **32** wurde durch Gegenstromverteilung im System II isoliert. $K = 0,26$. Die Ausbeute betrug 330 mg (55%).

34. Zu 890 mg (0,75 mmol) **32** und 222 mg (0,75 mmol) HCl·H-Glu(OBu^t)₂ (**23**) [6] in 10 ml Dimethylformamid gab man bei 0° 0,105 ml (0,75 mmol) Triäthylamin und 170 mg (0,825 mmol) DCCI. Nach 1 Std. bei 0° und 20 Std. bei 20° filtrierte man ab und dampfte das Filtrat bei 40° und 0,01 Torr ein. Der Rückstand wurde einer Gegenstromverteilung im System III unterworfen. Nach 125 Schritten befand sich **34** in den Röhren 61–87 ($K = 1,27$). Ausbeute: 700 mg (65%). Rf (S) = 0,30 (Chloroform/Methanol 19:1), 0,70 (Essigester/Methanol 9:1), 0,45 (Toluol/Aceton 1:1). Aminosäureanalyse (Hydrolyse: 24 Std. in 6 N HCl bei 110°): Asp. 1,00, Gln 1,09, Gly 1,02, Cys 1,96, Val 1,00 (Bezugswert) Leu 1,03, Tyr 0,99. Synthese von **34** durch Jodoxydation: 1,2 g (1,5 mmol) **33**, 1,68 g (1,5 mmol) Trt-Leu-Val-Cys(Trt)-Gly-Glu(OBu^t)₂ (**12**) [6] und 0,425 ml (5,25 mmol) Pyridin wurden wie bei **32** beschrieben mit 570 mg (2,25 mmol) Jod oxydiert. Aus dem Rohprodukt wurden durch Gegenstromverteilung im System I über 1000 Schritte 430 mg (40%) **34** gewonnen.

35. Zu 720 mg (0,5 mmol) **34** in 8 ml Eisessig gab man tropfenweise 2 ml Wasser und liess 1 Std. bei 20° stehen. Die Lösung wurde dann mit 10 ml Eisessig verdünnt und lyophilisiert. Den Rückstand (620 mg) verrieb man 2mal mit Äther und setzte ihn direkt in der folgenden Kondensation ein. Rf (S) = 0,25 (Chloroform/Methanol 9:1).

36. 615 mg (0,5 mmol) **35** und 290 mg (0,55 mmol) Boc-Tyr-OPc (**31**) liess man in 5 ml Dimethylformamid während 15 Std. bei 20° reagieren. Die Lösung wurde dann auf 30 ml Wasser gegossen, der Niederschlag abfiltriert und über Kaliumhydroxid getrocknet. Umfällen aus Methylchlorid/Äther lieferte 615 mg (85%) reines **36**. Synthese von **36** durch Jodoxydation: 1,14 g (1 mmol) **14** und 800 mg (1 mmol) **33**, gelöst in 20 ml Methanol und 5 ml Chloroform, wurden mit 1,0 g (4 mmol) Jod versetzt und 1 Std. bei 20° gehalten. Man entfärbte mit 1 N Thiosulfatlösung,

dampfte das Chloroform (unter 2maliger Zugabe von Methanol) ab und fällte mit Wasser aus. Gegenstromverteilung in System I über 200 Schritte lieferten 695 mg (96%) reines **36**.

H-Tyr-Cys-Asn-OH · 2 HCl

H-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-OH (**37**). 126 mg **36** wurden bei 0° mit 1,5 ml kalter, konz. Salzsäure übergossen. Das Produkt ging innert 2 Min. in Lösung und man liess dann noch 7 Min. bei 0°. Es wurde unter kräftigem Rühren während 5 Min. auf 0,01 Torr evakuiert, anschliessend 20 ml *t*-Butylalkohol zugegeben und lyophilisiert. Der Rückstand wurde bis zur Gewichtskonstanz an der Luft stehengelassen: 96 mg (96%) farbloses, nicht hygroskopisches Pulver. Rf (C) = 0,35 (52 A), 0,45 (101 A), 0,50 (151). Elektrophorese bei pH 1,9 (Puffer: 95,2 ml Eisessig, 26,5 ml Ameisensäure, 1 l Wasser), 90 Min. 16 V/cm: auf «Avicel-Fertigplatten 1440» Laufstrecke – 2,9 cm. Aminosäureverhältnisse nach Totalhydrolyse (6N HCl, 48 Std. 110°): Asp 1,05 (1), Glu 1,01 (1), Gly 1,02 (1), Cys 1,79 (2), Val 1,00 (Bezugswert), Leu 0,98 (1), Tyr 1,96 (2).

Herrn Dr. *W. Rittel* möchte ich für das Interesse, das er dieser Arbeit entgegenbrachte, und für viele wertvolle Ratschläge herzlich danken. Den Herren *H. R. Keller* und *R. Eberle* bin ich für die wertvolle Mitarbeit im Laboratorium zu Dank verpflichtet. Dünnschichtchromatogramme, Elektrophoresen und Aminosäureanalysen wurden in unserem Chromatographielaboratorium (Leiter: Herr *E. von Arx*) durch Fräulein *J. Keller* und die Herren *D. Faupel*, *A. Linder* und *W. Morgenthaler* ausgeführt. Die Mikroanalysen und die Bestimmung der optischen Drehungen wurden in unseren Speziallaboratorien (Leitung: Dr. *W. Padowetz* und Dr. *H. Hürzeler*) durchgeführt. Allen Beteiligten danke ich für die grosse Hilfe.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, Recommendations, *J. biol. Chemistry* **247**, 977 (1972).
- [2] *B. Kamber & W. Rittel*, *Helv.* **51**, 2061 (1968).
- [3] *B. Kamber*, *Helv.* **54**, 927 (1971).
- [4] *B. Riniker, M. Brugger, B. Kamber, P. Sieber & W. Rittel*, *Helv.* **52**, 1058 (1969).
- [5] *B. Kamber, H. Brückner, B. Riniker, P. Sieber & W. Rittel*, *Helv.* **53**, 556 (1970).
- [6] *B. Kamber*, *Helv.* **54**, 398 (1971).
- [7] *P. Sieber & B. Iselin*, *Helv.* **51**, 622 (1968); **52**, 1525 (1969).
- [8] *R. G. Hiskey, B. F. Ward*, *J. org. Chemistry* **35**, 1118 (1970).
- [9] *S. J. Brois, J. F. Pilot, H. W. Barnum*, *J. Amer. chem. Soc.* **92**, 7629 (1970).
- [10] *G. Zumach & E. Kühle*, *Angew. Chem.* **82**, 63 (1970).
- [11] *L. Velluz, G. Amiard, J. Bartos, B. Goffinet & R. Heymès*, *Bull. Soc. chim. France* **1956**, 1464.
- [12] *D. F. Veber, J. D. Milhowski, S. L. Varga, R. G. Denkwalter & R. Hirschmann*, *J. Amer. chem. Soc.* **94**, 5456 (1972).
- [13] *W. König & R. Geiger*, *Chem. Ber.* **103**, 788 (1970).
- [14] *L. Zervas, I. Phoiaki, A. Cosmatos & D. Borovas*, *J. Amer. chem. Soc.* **87**, 4922 (1965).
- [15] *E. von Arx & R. Neher*, *J. Chromatogr.* **12**, 329 (1963).
- [16] *E. Mühlbauer & W. Weiss*, *Dtsch. Pat.-Anm. P.* 1568633.5 (2. Dez. 1966), Farbenfabriken Bayer AG.