

SYNTHESE EINES ISOMERENFREIEN GLUTATHION-DERIVATS MITTELS STEREOSELEKTIVER VIER- KOMPONENTEN-KONDENSATION

REINHARD URBAN

Organisch-Chemisches Institut, Technische Universität München, Lichtenbergstr. 4, 8046 Garching, Deutschland

(Received in Germany 16 October 1978)

Abstract—The synthesis of peptides by stereoselective four component condensation led to new ways to prepare pure chiral chemical compounds by asymmetric synthesis. A scheme of asymmetric syntheses is described, which starts with a so-called productively stereoselective synthesis affording a high yield of the desired product. The stereoisomeric byproduct, which contaminates the main product, is converted into an easily removable non-isomeric compound by a subsequent reaction with so-called destructive stereoselectivity. As an illustration the synthesis of a stereoisomer free glutathion derivative is described, yielding the main product in 71.3% and with a purity of >99.97%.

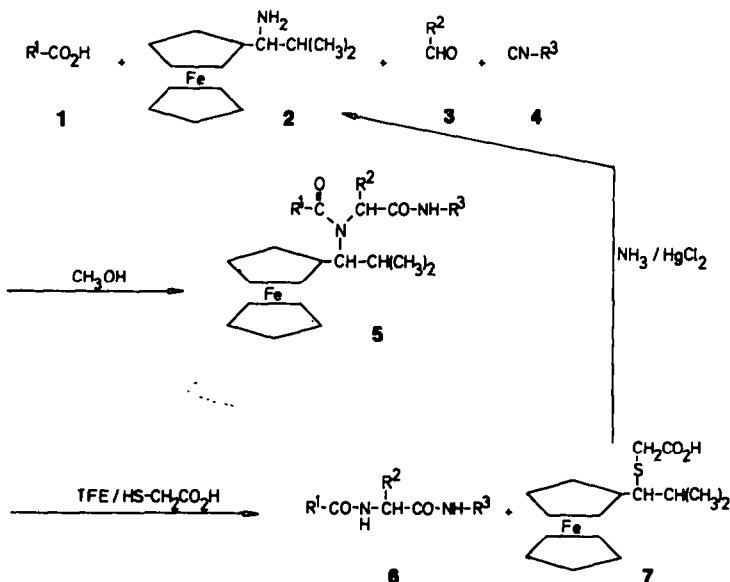
Durch Modellreaktionen¹ und Synthese von Modellpeptiden² mittels stereoselektiver Vier-Komponenten-Kondensation wurden die Anwendungsmöglichkeiten dieser neuen Art der Aminosäure-Verknüpfung³ aufgezeigt.

Die Einschränkung der im selektivitätsbestimmenden Schritt realisierbaren Konformationen durch die raumerfüllenden Gruppen der Aminkomponente 2,¹ analog starren Systemen, und die Wahl der Reaktionsbedingungen⁴ ergaben die geforderte hohe Stereoselektivität. Daneben waren die leichte Wiedergewinnbarkeit des chiralen Bezugssystems 5 → 7 und 7 → 2⁶ sowie die für die extreme Isomerenreinheit der Endprodukte 6 entscheidende selektive Acidolyse 5 → 6 wesentlich.^{2,7}

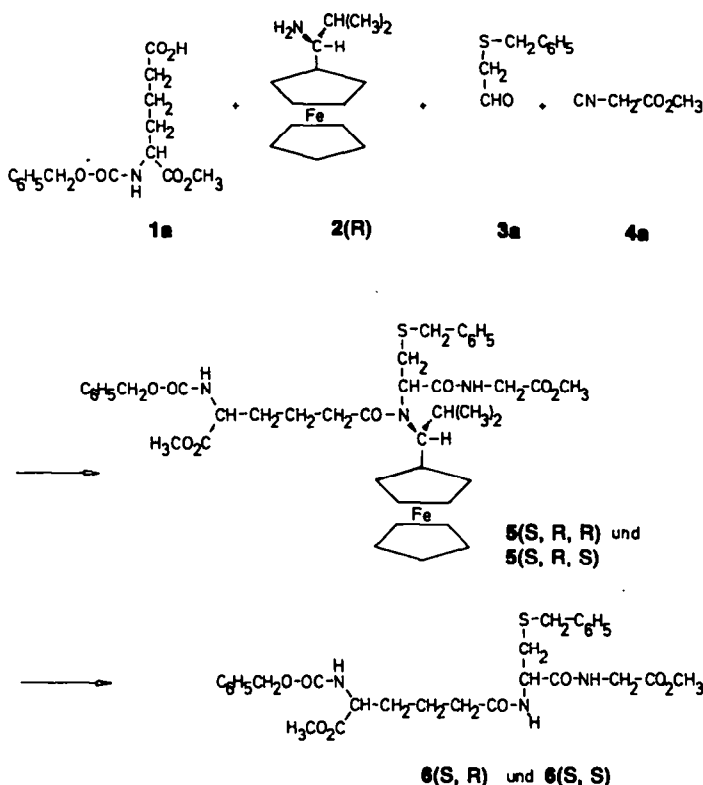
Über die Anwendung dieser Aminosäure-Verknüpfungsmethode bei der einstufigen Synthese eines zur Testung neuer Peptid-Synthesemethoden oftmals synthetisierten Naturstoffes, des Glutathions, soll hier berichtet werden. Dieses Tripeptid erlaubt den direkten

Vergleich zwischen herkömmlichen Verknüpfungsmethoden und stereoselektiver Vier-Komponenten-Kondensation.

Gemäss der in Schema 1 beschriebenen Variante der Vier-Komponenten-Kondensation wurden Benzyloxy-carbonyl-L-glutaminsäure-α-methylester 1a und R(-)-ferrocenyl-2-methyl-propylamin 2(R) mit Isocyanoessigsäure-methylester 4a und dem aus Chloracetaldehyd und Natrium-benzylmercaptid zugänglichen Benzylmercaptoacetaldehyd 3a umgesetzt. Dabei bilden sich die diastereomeren Produkte 5(S, R, R) und 5(S, R, S) im Verhältnis 86:14 mit einer Gesamtausbeute von 80.5%. Dieses Produktverhältnis, welches nach Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Essigsäure 10:1 als Laufmittel bestimmt worden war, ist im Vergleich zu den bisher mit der Aminkomponente 2(R) als chirales Bezugssystem erzielten Stereoselektivitäten^{1,2} nicht zu vergleichen. Aufgrund des in un-



Schema 1.



Schema 2.

mittelbarer Nähe des Reaktionszentrums geringen Raumbedarfs aller an der Reaktion teilnehmenden Komponenten, ausgenommen der Aminkomponente, war ein Absinken der Stereoselektivität jedoch zu erwarten. Bei Modellreaktionen mit unterschiedlichen Aldehyden bzw. Isonitrilen⁸ zeigte sich nämlich eine starke Abhängigkeit der Stereoselektivität von der Raumerfüllung am Reaktionszentrum, bedingt durch die bei geringem Raumbedarf leichtere Rotationsmöglichkeit im selektivitätsbestimmenden Übergangszustand.

Die Reindarstellung von **5(S, R, R)** gelingt, neben der erwähnten Möglichkeit der chromatographischen Trennung, durch selektive Acidolyse. **5(S, R, S)** wird in Dichlormethan durch Trifluoressigsäure und Thioglykolsäure wesentlich rascher zu **6(S, S)** gespalten, als **5(S, R, R)** zu **6(S, R)**.

Durch Wahl des Zeitpunkts, an dem die Acidolyse abgebrochen wird, ist es möglich das Isomer **5(S, R, R)** nach Abtrennung von **6(S, S)** und **7(R)** in hoher Reinheit zu gewinnen. Der dabei auftretende Verlust an **5(S, R, R)** ist geringfügig. Diese multiplikative Selektivitätserhöhung ist ähnlich der Gewinnung optisch aktiver Verbindungen aus Racematen mittels Reaktionen, welche ein Enantiomer rascher verbrauchen.

6(S, R) erhält man durch anschließende totale Acidolyse des so gewonnenen **5(S, R, R)**, wobei, wie schon bei der partiellen Acidolyse, die Aminkomponente **2(R)** über das Thioäther-Derivat **7(R)** resynthetisierbar ist.

Die Isomerenreinheit des Glutathion-Derivats **6(S, R)**, welches durch die sequentielle Anwendung produktiver und destruktiver Stereoselektivität⁷ nach Abspaltung des chiralen Hilfsrestes erhalten wurde, konnte durch den Vergleich der spezifischen Drehwerte und der Schmelzpunkte sowohl mit einer nach chromatographischer

Tabelle 1. Selektive Acidolyse eines Gemisches von **5(S, R, R)** und **5(S, R, S)** mit Trifluoressigsäure/Thioglykolsäure in Dichlormethan bei 20°

Reaktionszeit h	Verlust von 5(S, R, R) %	Resultierendes Produktverhältnis	
		5(S, R, R) : 5(S, R, S)	
0	—	86	:14 ^[a]
0.5	0.8	90.09	: 9.91 ^[a]
1.0	1.2	92.89	: 7.11 ^[a]
2.0	3.0	96.50	: 3.50 ^[a, b]
4.0	5.5	99.40	: 0.60 ^[b]
5.0	6.8	99.75	: 0.25 ^[b]
8.0	8.7	99.97	: 0.03 ^[c]
15.0	17.0	99.97	: 0.03 ^[c]

^[a]Chromatographisch getrennt und gravimetrisch bestimmt.

^[b]Bestimmung durch HPLC.

^[c]**5(S, R, S)** liess sich im so gewonnenen Produkt weder durch Dünnenschicht-Chromatographie, noch durch HPLC nachweisen. (Empfindlichkeitsgrenze etwa 0.03% **5(S, R, S)** im Gemisch mit **5(S, R, R)**.)

Trennung der Isomeren gewonnenen Probe, wie auch mit in der Literatur beschriebenen und mit herkömmlichen Methoden synthetisierten Proben gesichert werden.

EXPERIMENTELLER TEIL

S-Benzylmercapto-acetaldehyd **3a**

(A) Aus Brom-Acetaldehyd-dimethylacetal und Natriummercaptopid ist das *S*-Benzylmercapto-acetaldehyd-dimethylacetal wie in Lit.⁴ beschrieben zugänglich. Kp: 94°/0.2 mm Hg. Durch Hydrolyse des Acetals mit 0.05 N HCl bei 60° bis 65° erhält man den freien Aldehyd, der durch Destillation gereinigt wird. Kp: 71°/0.1 mm Hg. Ausbeute: 86% d. Th. bezogen auf Acetal.

(B) In eine Lösung von 31 g Benzylmercaptan (0.25 mol) in 50 ml trockenem Benzol gibt man 13.5 g (0.25 mol) Natrium-methylat in kleinen Portionen. Nachdem alles zugegeben ist, erhitzt man noch kurz auf dem Wasserbad, bis eine klare Lösung entstanden ist. Nach dem Abkühlen werden 19.6 g (0.25 mol) frisch destillierter Chloracetaldehyd gelöst in 50 ml Benzol zugetropft, wobei eine leichte Erwärmung auftritt. Nun kocht man noch 2 h am Rückfluss und filtriert das gebildete NaCl ab. Die Benzollösung wird mit Wasser gewaschen und nach Trocknung über Na_2SO_4 das Lösungsmittel *i. Vak.* entfernt. Destillation des so gewonnenen Aldehyds **3a** ergibt 37.8 g = 91% d.Th. $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{SO}$ (178.3) Ber.: C, 67.39; H, 5.66. Gef.: C, 67.41; H, 5.65%.

Vier-Komponenten-Kondensation

1.66 g (10 mmol) S-Benzylmercapto-acetaldehyd werden zu 2.57 g (10 mmol) R(-)-ferrocenyl-2-methyl-propylamin gelöst in 20 ml trockenem Äther gegeben und unter Zusatz von Molekularsieb 4 Å 1 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird der Äther *i. Vak.* entfernt und das gebildete Azomethin in 100 ml Methanol gelöst. Zu dieser Lösung werden bei -30° nacheinander 0.99 g (10 mmol) Isocyanoessigsäure-methylester und 2.95 g (10 mmol) Benzyloxycarbonyl-L-glutaminsäure- α -methylester gelöst in jeweils 25 ml Methanol zugetropft. Die Reaktionslösung wird nun unter Konstanthaltung der Reaktionstemp. über Nacht gerührt. Nach 16 h giesst man die kalte Reaktionslösung auf 300 ml Wasser und extrahiert mit Äther. Die organischen Extrakte werden nacheinander mit 0.1 N wässriger NaOH, 0.1 N wässriger HCl und Wasser gewaschen und nach Trocknung über Na_2SO_4 das Lösungsmittel *i. Vak.* entfernt. Der verbleibende Feststoff wird ohne weitere Reinigung zur selektiven Acidolyse eingesetzt. Ausbeute 5(S, R, R) u. 5(S, R, S): 6.6 g = 80.5% d.Th.

Durch Chromatographie von 1.5 g des Kondensationsproduktes auf Kieselgel 60 (Merck) 0.063–0.2 mm mit Dichlormethan/Essigester 10:1 als Laufmittel erhält man: 1.29 g 5(S, R, R); Fp: 96° ; $[\alpha]_D^{25} -131.3^\circ$ ($c=0.3$, Essigester); $\text{C}_{41}\text{H}_{66}\text{SO}_2\text{N}_2\text{Fe}$ (798.8) Ber.: C, 61.65; H, 6.18. Gef.: C, 61.61; H, 6.20%–0.21 g 5(S, R, R); Fp: 112° ; $[\alpha]_D^{25} -312.5^\circ$ ($c=1.2$, Essigester).

Acidolyse

1 g (1.25 mmol) Kondensationsprodukt 5(S, R, R), welches durch selektive Acidolyse^{2,7} bzw. durch chromatographische Trennung der Isomeren gewonnen wurde, wird in 20 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Unter Rühren werden nacheinander bei 0° 2 ml Trifluoressigsäure und 12 g (13 mmol) Thioglykolsäure zugegeben. Man lässt langsam auf Raumtemp. erwärmen und über Nacht weiterreagieren. Nachdem keine Ausgangsverbindung mehr nachweisbar ist, wird mit NaHCO_3 neutralisiert und mit Essigester extrahiert. Die organischen Extrakte werden mit Wasser gewaschen und nach Trocknung über Na_2SO_4 das Lösungsmittel *i. Vak.* entfernt. Ausbeute 6(S, R): 0.68 g = 97.5% d.Th. Fp: $133-135^\circ$.

Nach Entfernung der Schutzgruppen mit Natrium in flüssigem Ammoniak und Reinigung des Produkts über das Kupfer(I)-Mercaptid ergab sich: Glutathion: Fp: $194-195^\circ$; $[\alpha]_D^{25} -21.9^\circ$ ($c=2.0$, H_2O); (Lit.: Fp: 195° ; $[\alpha]_D^{27} -21.3^\circ$).

Danksagung—Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danke ich für die Unterstützung dieser Arbeit.

LITERATUR

- ¹R. Urban und I. Ugi, *Angew. Chem.* **87**, 67 (1975); *Angew. Chem. Internat. Ed.* **14**, 61 (1975).
- ²R. Urban, G. Eberle, D. Marquarding, D. Rehn, H. Rehn und I. Ugi, *Angew. Chem.* **88**, 644 (1976); *Angew. Chem. Internat. Ed.* **15**, 627 (1976).
- ³I. Ugi, *Angew. Chem.* **74**, 9 (1962); *Rec. Chem. Progr.* **30**, 289 (1969); *Intra-Sci. Chem. Rep.* **5**, 229 (1971); *Isonitrile Chemistry*, Kap. 8, 9. Academic Press, New York (1971); *Proc. 13th Europ. Peptide Sympos.*, Jerusalem (1974).
- ⁴D. Bayer, In *Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie*, Bd. 7/1, S. 379. G. Thieme Verl., Stuttgart (1954).
- ⁵I. Ugi, K. Offermann, H. Herlinger und D. Marquarding, *Liebigs Ann. Chem.* **709**, 1 (1967).
- ⁶G. Eberle und I. Ugi, *Angew. Chem.* **88**, 509 (1976); *Angew. Chem. Internat. Ed.* **15**, 492 (1976).
- ⁷R. Urban, D. Marquarding und I. Ugi, *Hoppe Seyler's Z. phys. Chem.* (Im Druck).
- ⁸D. Rehn, Dissertation, TU München (1975).