

- [27] V. Gut & J. Rudinger, Proc. of the 9th European Peptide Symposium North Holland Publishing Company, Amsterdam (1968), p. 185.
 [28] G. Losse & R. Ulbricht, Tetrahedron 28, 5823 (1972).
 [29] P. Fankhauser: Backbone-Acylierung und Aminoacyleinlagerung unter Festphasenbedingungen. 12. Europäisches Peptidsymposium, Schloss Reinhardsbrunn, Sept. 1972.
 [30] T. Altares, D. P. Wyman & V. R. Allen, J. Polymer Sci. A2, 4533 (1964).
 [31] S. Sakakibara, Y. Shimonishi, M. Okada & Y. Kishida, Peptides, North Holland Publishing Company, Amsterdam 1967, p. 44.

122. Synthese von rac. N-*t*-Butyloxycarbonyl-thiobenzylglycyl-thiobenzylglycin und Versuche zur Darstellung des 3,6-Epidithio-2,5-piperazindions

von T. Petrzilka und Ch. Fehr

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule Zürich

(21. II. 73)

Summary. The synthesis of rac. N-*t*-butyloxycarbonylthiobenzylglycyl-thiobenzylglycine is described. Cyclisation experiments to the corresponding 3,6-epi-dithio-piperazindion(2,5) were unsuccessful.

Verschiedene Antibiotica, wie z.B. Aranotin [1], Gliotoxin [2], Sporidesmin [3], Chaetocin [4], besitzen als gemeinsames Strukturmerkmal ein 3,6-Epidithio-2,5-piperazindiongerüst.

In der Literatur sind verschiedene Synthesen von N-alkylierten [5] [6] sowie von C- und N-alkylierten 3,6-Epidithio-2,5-piperazindionen [7] beschrieben. Dabei wurde stets die Disulfidbrücke in das 2,5-Piperazindion eingebaut. Ein Versuch, ein 3,6-Dithio- (oder 3,6-Epidithio-) 2,5-piperazindion durch Dimerisierung von 2-Thiozimtsäureamiden zu bilden, scheiterte aus sterischen Gründen [8].

Die erwähnten N- oder C- und N-alkylierten Diketopiperazine eignen sich als Modellverbindungen, jedoch kaum als Zwischenprodukte für eine Synthese der entsprechenden Antibiotica, da eine spätere Entalkylierung schwierig sein dürfte.

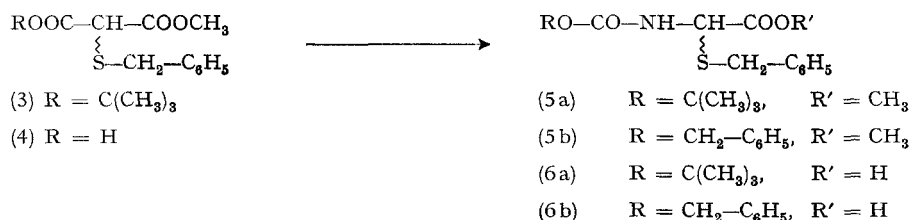
Aus diesem Grunde interessierte uns die Synthese des 3,6-Dithiobenzyl-2,5-piperazindions (1), welches nach bekannten Methoden [9] in das 3,6-Epidithio-2,5-piperazindion (2) hätte übergeführt werden können.



Als ideales Ausgangsprodukt betrachteten wir α -Amino- α -thiocarbonsäuren, denn bei diesen fällt das Problem der späteren Schwefeinführung dahin, und eine Racemat-Trennung in einem frühen Stadium der Synthese ermöglicht den stereochemisch richtigen Aufbau des Diketopiperazins.

Da das von Süss [10] beschriebene Verfahren *via* α -Brom- α -aminosäureester nicht reproduziert werden konnte, suchten wir nach einer allgemeinen Darstellungsmethode für α -Thio- α -aminocarbonsäuren. In der Literatur ist lediglich die Synthese von α -Thio- α -amino-propionsäure im Zusammenhang mit einem Dimerisierungsversuch zum Diketopiperazin beschrieben [11].

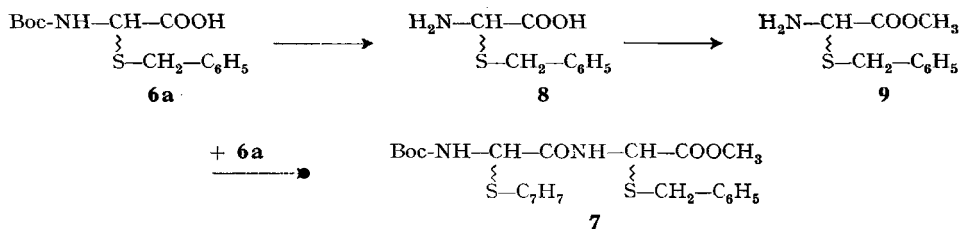
Als Ausgangsmaterial für unsere eigene Synthese wählten wir Thiobenzylmalonsäure-*t*-butyl-methylester (**3**), der nach dem Verfahren von Hayashi *et al.* [12] hergestellt wurde. Dieser wurde mit Trifluoressigsäure quantitativ zum Thiobenzylmalonsäure-monomethylester (**4**) verseift und mit Phosphorpentachlorid ins Säurechlorid übergeführt. Dieses setzte man mit Natriumazid zum Säureazid um, das durch Erhitzen in siedendem *t*-Butylalkohol über das intermediär entstandene Isocyanat in den Thiobenzyl-N-Boc-glycin-methylester (**5a**) übergeführt wurde¹⁾. Die Ausbeute über alle Stufen von **3** zu **5** betrug ca. 70%.



Die Methylester **5a** und **5b** liessen sich mit Äthanol und 1N Natronlauge zu den entsprechenden, kristallinen, am Stickstoff geschützten Thiobenzylglycinen **6a** und **6b** verseifen; sie liessen sich aus Äther/Petroläther umkristallisieren.

Alle beschriebenen Versuche wurden zunächst mit racemischen Verbindungen durchgeführt. Einzig das rac. N-Benzoyloxycarbonyl-thiobenzylglycin (**6b**) wurde in die optischen Antipoden gespalten, indem die Säure mit Cinchonidin in zwei diastereomere Salze übergeführt wurde, welche aus Isopropylalkohol fraktioniert umkristallisiert wurden. Durch Freisetzung der Säure aus dem schwerer löslichen Cinchonidinsalz wurde das optisch aktive N-Benzoyloxycarbonyl-thiobenzylglycin, $[\alpha]_D^{25} = -26^\circ$ ($c = 0,8$, Äthanol), erhalten. Der Antipode konnte aus der Mutterlauge nicht ganz rein erhalten werden; seine Drehung betrug $[\alpha]_D^{25} = +19^\circ$ ($c = 0,8$, Äthanol).

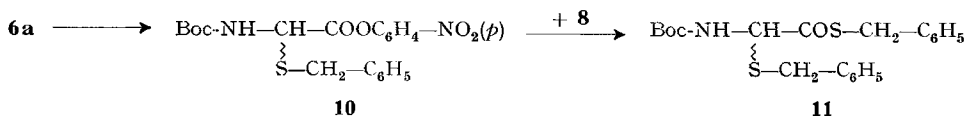
Durch Kupplung von **6a** mittels der Methode über das gemischte Anhydrid [13] mit Thiobenzylglycin-methylester (**9**), der aus **6a** durch Abspaltung der Schutzgruppe am Stickstoff mittels Trifluoressigsäure und darauffolgende Veresterung mittels Diazomethan erhalten wird, wurde N-Boc-thiobenzylglycyl-thiobenzylglycin-methylester (**7**) hergestellt.



¹⁾ N-Boc bedeutet N-*t*-Butyloxycarbonyl.

Zwei andere Methoden zur Peptidherstellung waren weniger erfolgreich: Mit Dicyclohexylcarbodiimid entstand wohl das richtige Produkt, doch konnte dieses nicht sauber von entstehendem Harnstoff abgetrennt werden.

Die «aktivierte Ester»-Methode lieferte nicht das gewünschte Dipeptid **7**, sondern die Verbindung **11**. Durch Fragmentierung des Thiobenzylglycins (**8**) ist möglicherweise Benzylmercaptan entstanden, welches für die Umesterung verantwortlich ist.



Die Boc-Gruppe des Dipeptidesters **7** wurde mit Trifluoressigsäure entfernt und das Amin trocken oder mit tertiären Aminen in verschiedenen Lösungsmitteln bei verschiedenen Temperaturen stehen gelassen. Dabei stellten wir fest, dass die für das Edukt charakteristische IR.-Bande allmählich schwächer wurde und die für das Diketopiperazin (**1**) charakteristische IR.-Bande des Amids sich verstärkte, doch konnte 3,6-Dithiobenzyl-2,5-piperazindion (**1**) nie rein erhalten werden.

Die von Nitecki *et al.* [14] beschriebene Methode, bei der man den Boc-dipeptid-methylester mit Ameisensäure behandelt, die Lösung eindampft und das im Rückstand enthaltene Formiat einige Stunden in 2-Butanol/Toluol am Wasserabscheider erhitzte, führte ebenfalls nicht zum gesuchten Diketopiperazin.

In einem weiteren Versuch verseiften wir den Dipeptidester **7** mit Natronlauge zu Boc-thiobenzylglycyl-thiobenzylglycin (**12**), um anschliessend die Säuregruppe zu aktivieren. Bei gleichen Versuchsbedingungen wie zur Herstellung des *p*-Nitrophenylesters **10** konnten wir keinen Dipeptid-*p*-nitrophenylester isolieren.

Experimenteller Teil

Die Smp. wurden im offenen Röhrchen in einer Apparatur nach Dr. Tottoli bestimmt und sind nicht korrigiert. Die Dünnschichtchromatogramme wurden ausgeführt mit DC-Fertigplatten 0,25 mm (Merck), Kieselgel F₂₅₄ und mit 5proz. Kaliumpermanganatlösung, dann mit konz. Schwefelsäure entwickelt. Säulenchromatographie mit Kieselgel 0,05–0,2 mm (Merck).

NMR.-Spektren, aufgenommen auf Varian A 60-Spektrometer (60 MHz) mit Tetramethylsilan ($\delta = 0$) als interner Referenz. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm, die Kopplungskonstanten *J* in Hz angegeben. *s* bedeutet Singulett.

Für Ausführung der Analysen und Aufnahme der Spektren sei folgenden Herren und ihren Mitarbeitern gedankt:

Herrn W. Manser für die unter seiner Leitung ausgeführten Mikroanalysen; Herrn Prof. Dr. J. Oth für die IR.-Spektren, aufgenommen mit Perkin-Elmer Gitter-Spektrographen PE 125 und PE 257 (die Intensitätsbezeichnungen *s*, *m*, *w* bedeuten stark, mittel, schwach); Herrn PD Dr. J. Seibl für die Massenspektren, aufgenommen auf Massenspektrographen Hitachi RMU-6A (einfach fokussierend), Ionisationsenergie 70 eV, Angabe der ungefähren Zuführungstemperaturen. Spezieller Dank gebührt Herrn Dr. E. Pretsch für die Interpretation der NMR.-Spektren.

Thiobenzylmalonsäure-t-butyl-methylester (**3**). 2,08 g 50proz. Natriumhydriddispersion (43,2 mmol) wurden 3mal in je 10 ml Äther gewaschen, dekantiert und in 100 ml abs. Äther gegeben. Unter Rühren wurden 7,52 g (*d* = 1.04, 7,5 ml, 43,2 mmol, da Reinheit 97%) Malonsäure-*t*-butyl-methylester zugegeben. Nun tropfte man 12,00 g (43,2 mmol) des in 100 ml abs. Äther gelösten Thiobenzyltosylats (vgl. [12]) zu, wobei eine weisse Suspension entstand. Es wurde 18 Std. weitergerührt, mit Äther verdünnt und 2mal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat ge-

trocknet und eingedampft: 12,91 g weisse Kristalle. Nach Umkristallisieren aus wenig Äther/Petroläther: 9,50 g (74,5%). Zur Charakterisierung des Produktes wurde eine Probe ein zweites Mal umkristallisiert. Rf-Wert (Benzol): 0,22; Smp.: 55–56°.

$C_{15}H_{20}O_4S$ (296,37) Ber. C 60,85 H 6,80 S 10,82% Gef. C 60,95 H 6,72 S 10,88%

IR. ($CHCl_3$): 2975 (s), 1730 (s), 1600 (w), 1495 (m), 1455 (m), 1435 (m), 1395 (m), 1370 (s), 1300–1200 (s), 1140 (s), 1010 (s). – NMR. (CCl_4): 7,25 (s/5H/ C_6H_5), 3,88 (s/2H/ CH_2), 3,81 (s/1H/CH), 3,70 (s/3H/ $COOCH_3$), 1,47 (s/9H/*t*-Butyl). – MS. (Smp.-Zersp.): 28 (100%), 32 (23%), 57 (12%), 91 (13%), 123 (6%), 240 (2%), 296 ($M^+ = 0,15\%$).

Thiobenzylmalonsäure-monomethylester (4). 2,00 g (6,56 mmol) des gemischten Esters **3** wurden bei Raumtemp. in 4 ml Trifluoressigsäure gelöst, 45 Min. stehengelassen und eingedampft: 1,72 g der Säure **4**, welche roh weiter verwendet wurden.

Rf-Wert (Chloroform/Methanol 9:1): 0,44.

IR. ($CHCl_3$): 3400–2200 (s), 2950 (s), 1740 (s), 1600 (w), 1495 (m), 1455 (m), 1435 (m), 1285 (s), 1170 (s), 1010 (m). – NMR. ($CDCl_3$): 9,60 (s/1H/ $COOH$, mit D_2O austauschbar), 7,32 (s/5H/ C_6H_5), 4,10 (s/1H/CH), 3,96 (s/2H/ CH_2), 3,77 (s/3H/ CH_3).

Thiobenzylmalonsäurechlorid-methylester. Die rohe Säure **4** (max. 6,56 mmol) wurde in 20 ml abs. Methylenchlorid gelöst, bei 0° unter Rühren mit 1,62 g (8,0 mmol) subl. Phosphorpentachlorid versetzt und etwa 1 Std. weitergerührt, bis das ganze Phosphorpentachlorid in Lösung gegangen war. Man schüttelte 2mal kurz mit Eiswasser aus, trocknete über Natriumsulfat und dampfte ein: 1,74 g eines für die Weiterreaktion genügend reinen gelben Öls. Rf-Wert (Benzol): 0,18.

IR. ($CHCl_3$): 2960 (m), 1805 (s), 1775 (s), 1750 (s), 1605 (w), 1495 (m), 1460 (m), 1440 (m), 1370 (w), 1270 (s), 1150 (s), 1010 (m).

Thiobenzylmalonsäureazid-methylester. Das Säurechlorid (max. 6,56 mmol) wurde in 20 ml abs. Aceton gelöst, bei 0° unter Rühren mit 2,01 g (31 mmol) fein pulverisiertem Natriumazid versetzt und 3 Std. bei 0° weitergerührt. Danach schloss man das Reaktionsgemisch über eine Kühlfalle ans Wasserstrahlvakuum an und dampfte das Aceton unter Rühren bei Raumtemp. ab. Das Azid wurde durch kurzes Ausschütteln mit Methylenchlorid/eiskalter verd. Natriumhydrogencarbonatlösung, Trocknen über Natriumsulfat und Eindampfen am Rotationsverdampfer bei 30° gewonnen: 1,634 g rohes Azid (94%).

IR. ($CHCl_3$): 2960 (m), 2240 (w), 2150 (s), 1750 (s), 1710 (s), 1605 (w), 1500 (m), 1460 (m), 1440 (m), 1230 (s), 1155 (s), 1005 (m).

N-Benzoyloxycarbonyl-thiobenzylglycin-methylester (5b). Das Azid wurde 10 Min. in Toluol unter Rückfluss gekocht, das dabei gebildete Isocyanat mit 1,20 ml Benzylalkohol versetzt und über Nacht bei Raumtemp. stehengelassen. Die Substanz wurde eingedampft und an 15facher Menge Kieselgel chromatographiert:

Benzol	830 mg nicht identifizierte Nebenprodukte
Benzol/Chloroform 1:1	1,28 g (57% [bezogen auf 3]) Ester 5b
Chloroform	420 mg Nebenprodukte
Rf-Wert (Chloroform):	0,54.

$C_{18}H_{19}NO_4S$ Ber. C 62,60 H 5,55 N 4,06 S 9,28%
(345,40) Gef. „ 62,29 „ 5,63 „ 4,02 „ 9,45%

IR. ($CHCl_3$): 3420 (s), 2960 (m), 1725 (s), 1600 (w), 1580 (w), 1500 (s), 1455 (m), 1440 (m), 1330 (s), 1050 (s). – NMR. ($CDCl_3$): 7,36 und 7,30 (s, s/5H + 5H/ $O-CH_2-C_6H_5$, $S-CH_2-C_6H_5$), 5,4 (s breit/2H/ NH, CH ; NH mit D_2O austauschbar), 5,13 (s/2H/ $S-CH_2$), 3,91 (s/2H/ $O-CH_2$), 3,72 (s/3H/ CH_3). – MS. (50°): 45 (10%), 65 (19%), 91 (100%), 92 (18%), 107 (21%), 123 (13%), 161 (11%), 223 (12%), 246 (1%), 286 (1%).

N-Boc-thiobenzylglycin-methylester (5a). Ausgehend von 5,295 g (17,9 mmol) des gemischten Esters **3** betrug die Ausbeute an Azid, welches teilweise schon Isocyanat ergeben hatte, 4,138 g. Nun gab man 10,0 ml *t*-Butylalkohol zu, kochte unter Rückfluss während $\frac{1}{2}$ Std., liess 12 Std. stehen und dampfte ein (4,711 g, 84 $\frac{1}{2}\%$). Chromatographische Reinigung an 15facher Menge Kieselgel ergab mit Hexan/Benzol 1:1 98 mg Mischfraktionen, Benzol 3,83 g (69%) Ester **5a**. Rf-Wert (Chloroform): 0,44.

$C_{18}H_{21}NO_4S$ Ber. C 57,86 H 6,80 N 4,50 S 10,30%
(311,39) Gef. „ 57,65 „ 6,73 „ 4,25 „ 10,45%

IR. (CHCl_3): 3440 (s), 2980 (s), 1740 (s), 1715 (s), 1600 (w), 1490 (s), 1455 (m), 1440 (m), 1395 (m), 1370 (s), 1330 (s), 1260 (m), 1210 (m), 1160 (s), 1050 (s), 1030 (m), 860 (m), 700 (s). – NMR. (CDCl_3): 7,32 (s/5H/ C_6H_5), 5,33 (s breit/2H/ NH_2CH ; NH mit D_2O austauschbar), 3,91 (s/2H/ CH_2), 3,72 (s/3H/ COOCH_3), 1,44 (s/9H/*t*-Butyl). – MS. (200°): 28 (100%), 41 (24%), 57 (74%), 65 (6%), 73 (5%), 88 (13%), 91 (55%), 114 (8%), 124 (13%), 133 (71%), 149 (4%), 189 (8%), 196 (3%).

N-Benzoyloxycarbonyl-thiobenzyl-glycin (**6b**). 304 mg (0,88 mmol) des Esters **5b** wurden in 1,0 ml Äthanol gelöst. Bei Zugabe von 0,88 ml titrierter 1,0N Natronlauge fiel ein Öl aus, das während der Reaktion in Lösung ging. Reaktionsdauer: 1 Std. Die mit 1 ml 1N Salzsäure angesäuerte Lösung wurde zwischen Äther und Wasser verteilt. Die wässrige Phase wurde ein 2. Mal mit Äther ausgezogen. Die organischen Phasen wurden mit konz. Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der kristalline Rückstand (275 mg, 95%) wurde aus Äther/Petroläther umkristallisiert (185 mg, 64%).

Für Analyse und Spektren wurde eine Probe (29 mg) 2mal umkristallisiert (14 mg). Smp. 119–121°.

$\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_4\text{S}$	Ber. C 61,63	H 5,17	N 4,23	S 9,68%
(331,37)	Gef. „ 61,42	„ 5,23	„ 4,16	„ 9,58%

IR. (CHCl_3): 3420 (s), 2960 (m), 3600–2300 (m), 1720 (s), 1605 (w), 1590 (w), 1500 (s), 1455 (m), 1315 (s), 1040 (s). – NMR. (CDCl_3): 9,04 (s breit/1,5–2H/ $\text{COOH}(\text{NH})$, mit D_2O austauschbar), 7,40, 7,32 (s, s/5H, 5H/ $\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$, $\text{S}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 5,37 (s breit/1–1,5H/ $\text{CH}(\text{NH})$, NH mit D_2O austauschbar), 5,16 (s/2H/ $\text{O}-\text{CH}_2$), 3,95 (s/2H/ $\text{S}-\text{CH}_2$).

MS. (130°): 77 (24%), 79 (15%), 91 (100%), 124 (75%), 155 (8%), 223 (5%), 228 (8%), 237 (6%).

Trennung von rac. N-Benzoyloxycarbonyl-thiobenzylglycin (6b). 1,90 g (6,5 mmol) Cinchonidin wurden in 12 ml heissem 2-Propanol gelöst. 2,10 g (6,5 mmol) *rac.* Säure **6b** wurden in 3 ml 2-Propanol gelöst, der Cinchonidinlösung zugegeben, auf Raumtemp. gebracht, mit 3 ml Wasser versetzt und über Nacht stehengelassen. Die Kristalle des Cinchonidinsalzes wurden abgenutscht und mit genau einem Äquivalent Natronlauge versetzt: durch Extraktion mit Methylenchlorid erhielt man Cinchonidin zurück, durch Ansäuern der wässrigen Phase mit Salzsäure und 2maliger Extraktion mit Methylenchlorid erhielt man die optisch aktive Säure.

2,10 g *rac.* Säure **6b**, 1,835 g (–)-Salz (Krist.), 1,90 g Cinchonidin, 2,113 g (+)-Salz (Mutterlauge).

816 mg (–)-Säure **6b**:

(–)-Säure: Smp. 112–118°. $[\alpha]_D^{25}$: -26° ($c = 0,72$, EtOH); 604 mg Cinchonidin (Smp. 192–198°).

878 mg (+)-Säure **6b**.

(+)-Säure: Smp. 112–118°; $[\alpha]_D^{25}$: $+19^\circ$ ($c = 0,80$, EtOH); 857 mg Cinchonidin (Smp. 192–198°).

N-Boc-thiobenzylglycin (**6a**). 2,154 g (6,93 mmol) des Esters **5a** wurde in 10 ml Äthanol gelöst, bei 0° unter ständigem Rühren mit 14,0 ml 1N Natronlauge versetzt. Die mit Phenolphthalein versetzte Lösung blieb rot. Es wurde nach Zugabe von 10 ml Wasser $\frac{1}{2}$ Std. bei Raumtemp. weitergerührt. Aufarbeitung wie für **6b**. 1,67 g weisser Kristalle, die aus Äther/Petroläther umkristallisiert wurden (1,31 g, 64%). Smp.: 137–138°.

$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{S}$	Ber. C 56,56	H 6,44	N 4,71	S 10,78%
(297,36)	Gef. „ 56,43	„ 6,46	„ 4,68	„ 10,50%

IR. (CHCl_3): 3420 (s), 2975 (s), 3500–2400 (s), 1715 (s), 1600 (w), 1490 (s), 1450 (m), 1370 (s), 1155 (s), 1045 (m). – NMR. (CDCl_3): 9,08 (s breit/1–2H/ $\text{COOH}(\text{NH})$, mit D_2O austauschbar); 7,27 (s/5H/ C_6H_5); 5,25 (s breit/1–2H/ $\text{CH}(\text{NH})$; NH mit D_2O austauschbar); 3,92 (s/2H/ CH_2); 1,44 (s/9H/*t*-Butyl). – MS. (60°): 45 (19%), 65 (22%), 91 (100%), 124 (43%), 175 (4%).

N-Boc-thiobenzylglycin-*p*-nitrophenylester (**9**). Eine Lösung von 297 mg (1,0 mmol) *N*-Boc-thiobenzylglycin (**6a**) in einer Mischung von 2 ml abs. Essigester und 0,16 ml abs. Pyridin wurde mit 324 mg (1,0 mmol) Di-*p*-nitrophenylsulfat [15] behandelt und während 3 Std. auf 50° gelassen. Zur Aufarbeitung wurde die auf 0° gekühlte Reaktionsmischung mit 2N Salzsäure (+ Eis)/Essigester geschüttelt und anschliessend die organische Phase mit einer eiskalten Natriumcarbonatlösung so lange extrahiert, bis die wässrige Lösung nicht mehr gelb wurde (3mal). Nach dem Trocknen über Natriumsulfat dampfte man die Lösung ein (410 mg, 98%). Nach einmaligem

Umkristallisieren aus Äther/Petroläther betrug die Ausbeute an reinem Ester **9** 325 mg (78%). Rf-Wert (Chloroform): 0,50. Smp.: 105–106°.

$C_{20}H_{22}N_2O_6S$	Ber. C 57,41	H 5,30	N 6,70	S 7,66%
(418,45)	Gef. „ 57,36	„ 5,30	„ 6,55	„ 7,78%

IR. ($CHCl_3$): 3420 (s), 2975 (m), 1760 (s), 1715 (s), 1620 (s), 1590 (s), 1525 (s), 1490 (s), 1370 (s), 1350 (s), 1325 (s), 1160 (s), 860 (s). – NMR. ($CDCl_3$): 8,23, 7,19 (AA'BB'/J = 8,0 Hz/4H/ C_6H_4); 7,32 (s/5H/ C_6H_5); 5,43 (breit/2H/NH, CH, ein Proton mit D_2O austauschbar); 4,00 (s/2H/ CH_2); 1,47 (s/9H/*t*-Butyl). – MS. (180°): 57 (80%), 91 (100%), 123 (53%), 124 (33%), 139 (20%), 196 (20%), 240 (32%), 296 (11%), 361 (1%).

N-Boc-thiobenzylglycin-benzylthioester (**10**). Eine Lösung von 209 mg (0,5 mmol) des aktiven Esters **9** in 5 ml Dioxan/Wasser 3:1 wurde auf 50° erwärmt und mit 99 mg (0,5 mmol) Thiobenzylglycin (**8**) (Herst. nachstehend) versetzt. Nach Zugabe von 0,07 ml Triäthylamin wurde 1 Std. weitergerührt. Beim Ausschütteln mit Äther/2*N* Natronlauge (+ Eis) erhielt man (anstelle des erwarteten Dipeptids) den Thioester **10** kristallin (120 mg, 60%). Nach Ansäuern der wässrigen Phase mit 1*N* Salzsäure und Extraktion mit Äther erhielt man 37 mg unidentifizierte Säure (kein Dipeptid) und 35 mg Nitrophenol. Der Thioester wurde aus wenig Äther/Petroläther 1mal umkristallisiert. Rf-Wert (Chloroform): 0,34. Smp.: 70–71°.

$C_{21}H_{25}NO_3S_2$	Ber. C 62,51	H 6,25	N 3,47	S 15,84%
(403,54)	Gef. „ 62,20	„ 6,30	„ 3,61	„ 15,38%

IR. ($CHCl_3$): 3420 (s), 2980 (m), 1710 (s), 1680 (s), 1600 (w), 1485 (s), 1370 (s), 1160 (s). – NMR. ($CDCl_3$): 7,27 (s/10H/ C_6H_5 , C_6H_5); 5,36 (breit/2H/NH, CH) (ein Proton mit D_2O austauschbar); 4,14 (s/2H/ CH_2 des Thioesters); 3,84 (s/2H/ CH_2); 1,44 (s/9H/*t*-Butyl). – MS. (200°): 18 (100%), 44 (34%), 56 (15%), 91 (77%), 124 (22%), 151 (1%); MS. (70°): zusätzl. 91 (100%), 182 (14%).

Thiobenzylglycin (**8**). 297 mg (1,0 mmol) *N*-Boc-thiobenzylglycin (**6a**) wurden in 3 ml Methylenchlorid/Trifluoressigsäure 1:1 gelöst und 45 Min. bei Raumtemp. stehengelassen. Man dampfte im Wasserstrahlvakuum bis auf etwa 1 ml ein, fällte die Kristalle mit Äther oder Essigester aus und wusch die abgenutzten Kristalle mit wenig kaltem Äther. 159 mg (81%) weisse Kristalle, Smp. 150–152°.

$C_9H_{11}NO_3S$	Ber. C 54,82	H 5,62	N 7,10	S 16,26%
(194,24)	Gef. „ 54,65	„ 5,61	„ 6,93	„ 16,11%

IR. (KBr): 3430 (w), 2980 (s), 3300–2200 (s), 2560 (m), 1620 (s), 1560 (s), 1490 (s), 1390 (s), 1320 (s), 1250 (w), 700 (s). – NMR. (CF_3COOD): 7,40 (s/5H/ C_6H_5); 5,20 (s/1H/CH); 4,14 (s/2H/ CH_2). – MS. (77°): 18 (100%), 44 (29%), 69 (16%), 91 (84%), 124 (29%).

N-Boc-thiobenzylglycyl-thiobenzylglycin-methylester (**7**). – 1. *Thiobenzylglycin-methylester*: 820 mg (4,16 mmol) Thiobenzylglycin (**8**) wurden in 5 ml abs. Methanol teilweise gelöst. Zur Veresterung wurden 20 ml einer ätherischen Diazomethanolösung verwendet, welche unter Rühren bei Raumtemp. zugegeben wurde. Der Endpunkt der Reaktion liess sich dadurch erkennen, dass das Reaktionsgemisch zu einer gelbbleibenden homogenen Lösung wurde. Diese wurde eingedampft, der Rückstand gewogen (872 mg, 4,13 mmol) und bei 10° in 5 ml Dioxan gelöst.

2. *Gemischtes Anhydrid von N*-Boc-thiobenzylglycin (**6a**): Zu 1,220 g (4,10 mmol) der Säure **6a** wurde bei 10° eine Lösung von 1,25 ml Tributylamin in 10 ml Dioxan und anschliessend 0,45 ml (1,1 Mol.-Äqu.) frisch destillierten Chlorameisensäureäthylesters gegeben. Man liess 10 Min. lang stehen.

3. *Kupplung zum Dipeptidester 7*: Die Lösungen von 1. und 2. wurden zusammengegeben, unter Erwärmen auf Raumtemp. 15 Min. lang stehengelassen und die organische Phase (Chloroform) nacheinander mit eiskalter 5proz. Zitronensäure und mit verdünnter eiskalter Natriumhydrogencarbonatlösung ausgezogen. Der Eindampfrückstand (2,35 g) enthielt noch Tributylamin. Nach Chromatographie an 25facher Menge Kieselgel konnten mit Benzol/Methylenchlorid als Eluiermittel 524 mg nicht identifizierte Nebenprodukte (mit Mischfraktion) und anschliessend 1,392 g (69,5%) reines Produkt isoliert werden.

Rf-Wert (Chloroform): 0,27.

$C_{24}H_{30}N_2O_5S_2$	Ber. C 58,76	H 6,17	N 5,71	S 13,07%
(490,62)	Gef. „ 58,06	„ 6,13	„ 5,61	„ 13,20%

IR. (CHCl_3): 3410 (s), 2970 (m), 1740 (s), 1710 (s), 1690 (s), 1600 (w), 1480 (s), 1370 (m), 1340 (m), 1160 (s). – NMR. (CDCl_3): 7,27 (s/10 H/ C_6H_5 , C_6H_5); 6,75 (breit/1 H/NH (Amid) (NH mit D_2O austauschbar); 5–5,5 (breit/3 H/CH, CH, NH (Urethan), mit D_2O austauschbar); 3,90, 3,83 (s, s/4 H/ CH_2 , CH_2); 3,72 (2 scharfe Signale (2 Hz Abst. (da Diastereom.)/3 H/ COOCH_3)), 1,45 (2 scharfe Signale (1 Hz Abst. (da Diastereom.)/9 H/*t*-Butyl)).

MS. (200°): 57 (66%), 91 (100%), 124 (32%), 144 (20%), 188 (14%), 196 (20%), 244 (11%), 252 (5%), 267 (6%), 312 (9%), 368 (10%), 417 (0,5%).

N-Boc-Thiobenzylglycyl-thiobenzylglycin (**11**). 1,125 g (2,3 mmol) des entsprechenden Esters **7** wurden in 10 ml Methanol gelöst und bei 0° unter Rühren mit 1 N Natronlauge versetzt, bis die mit Phenolphthalein versetzte Lösung rot und bei Zugabe von Wasser klar blieb. Es wurde etwa 1 Std. gerührt. Nach Abdampfen des Methanols schüttelte man die mit 1 N Salzsäure sauer gestellte Lösung 2mal mit Essigester aus und wusch die organischen Phasen mit konz. Kochsalzlösung, trocknete über Natriumsulfat und dampfte ein; 1,02 g (93%). Die Substanz wurde einmal aus Äther/Petroläther umkristallisiert; 450 mg (41%). Rf-Wert (Essigester/Methanol 3:1): 0,62. Smp.: 72–74°.

$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$	Ber. C 57,97	H 5,92	N 5,88	S 13,46%
(476,59)	Gef. „ 57,85	„ 5,94	„ 5,90	„ 13,51%

IR. (CHCl_3): 3400 (s), 3335 (s), 2980 (m), 3500–2300 (s), 1710 (s), 1680 (s), 1600 (w), 1585 (w), 1495 (s), 1455 (m), 1370 (s), 1350 (s), 1160 (s). – NMR. (CDCl_3): 7,25 (s, s/10 H/ C_6H_5 , C_6H_5); 7,11 (breit/2 H/ COOH , NH (Amid), mit D_2O austauschbar); 5,2–6,0 (breit/3 H/CH, CH, NH (Urethan), NH austauschbar); 3,96, 3,88, 3,80 (Aufsp. durch Diast./4 H/ CH_2/CH_2); 1,43 (2 scharfe Sign. durch Diast./9 H/*t*-Butyl).

MS. (230°): 51 (14%), 57 (19%), 65 (20%), 77 (33%), 91 (84%), 124 (100%), 180 (14%), 214 (7%), 246 (1%), 368 (0,3%).

Wir danken der Firma *Hoffmann-La Roche*, Basel, für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. Nagarajan, L. L. Huckstep, D. H. Livley, D. C. DeLong, M. M. Marsh & N. Neuss, J. Amer. chem. Soc. 90, 2890 (1968).
- [2] M. R. Bell, J. R. Johnson, B. S. Wildi & R. B. Woodward, J. Amer. chem. Soc. 80, 1001 (1958).
- [3] S. Safe & A. Taylor, J. chem. Soc. C 1970, 432.
- [4] D. Hauser, H. P. Weber & H. P. Sigg, Helv. 53, 1061 (1970).
- [5] P. W. Trown, Biochem. Biophys. Res. Commun. 33, 402 (1968).
- [6] H. Poisel & U. Schmidt, Angew. Chem. 10, 130 (1971) und folgende Mitteilungen.
- [7] Yayoi-cho & Chiba-shi, Tetrahedron Letters 33, 3127 (1971).
- [8] J. Yoshimura & Y. Sugiyama, Bull. Soc. chim. Japan 45, 1554 (1972).
- [9] W. I. Patterson & V. du Vigneaud, J. biol. Chemistry 111, 393 (1935).
- [10] O. Süss, Liebigs Ann. Chem. 568, 129 (1950).
- [11] P. M. Pojer & I. D. Rae, Tetrahedron Letters 33, 3077 (1971) und S. M. Patel, J. O. Currie Jr. & R. K. Olsen, J. org. Chemistry 38, 126 (1973).
- [12] S. Hayashi, M. Furukawa, J. Yamamoto & K. Nijigata, Chem. Pharm. Bull. 15, 1118 (1967).
- [13] R. A. Boissonnas, Helv. 34, 874 (1951).
- [14] D. E. Nitecki, B. Halpern & J. W. Westley, J. org. Chemistry 33, 864 (1968).
- [15] B. Iselin & R. Schwyzer, Helv. 43, 1763 (1960).