

Bei gleichzeitigem α, ω -Angriff des difunktionellen Alkylphosphans am Metall (unter Abspaltung von CO und MgClBr) wird eine β -Wasserstoffeliminierung vermieden. Die durch den Chelateffekt thermisch überraschend stabilen, im Hochvakuum sublimierbaren Metallacylen (1) schmelzen mit Ausnahme von (1c) oberhalb 110 °C und lösen sich in allen gebräuchlichen organischen Solventien. Sie wurden durch vollständige Elementaranalyse, IR- und Massenspektren (Tabelle 1), (1a) außerdem durch Kristallstrukturanalyse^[5] (Abb. 1) und durch sein ^{13}C -NMR-Spektrum [C_6D_6 , rel. TMS: $\delta = 18.1$ (s; C-4), 31.0 (d, $J = 15$ Hz; C-3), 34.6 (d, $J = 29$ Hz; C-5)] charakterisiert.

Tabelle 1. IR- und MS-Daten sowie Farbe der neuen Heterocyclen (1) und (2).

	(1a)	(1b)	(1c)	(2a)	(2c)
$\nu(\text{CO})$ [cm $^{-1}$]	2058 m [a] 1987 m-s 1971 vs 1942 m-s	2078 m [a] 1990 m-s 1977 vs 1940 m-s	1925 vs [a] 2040 m-s 2003 vs 1991 m-s	2095 m-s [b] 2040 m-s	1967 vs [c] 1991 m-s
$m/e (M^+)$	394	526 [d]	376	458 [e]	440 [e]
Farbe	farblos	farblos	rot-braun	hellgelb	hellbraun

[a] In *n*-Hexan. [b] In $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CCl}_4$ (1:1). [c] In CH_2Cl_2 . [d] Bezogen auf ^{187}Re . [e] Felddesorption.

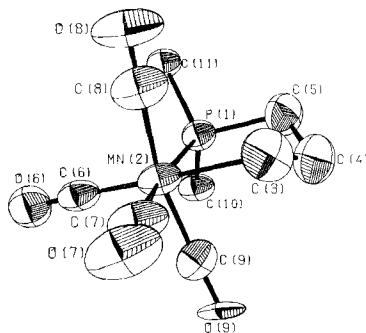
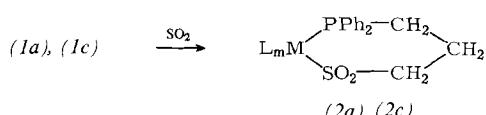


Abb. 1. ORTEP-Darstellung von (1a) (Schwingungsellipsoide mit 50% Aufenthaltswahrscheinlichkeit).

Bindungsängste [pm]		Winkel [°]	
Mn2	C3	216.1(9)	P1 Mn2 C3 81.7(3)
C3	C4	155.9(17)	Mn2 C3 C4 111.7(6)
C4	C5	152.7(12)	C3 C4 C5 109.1(8)
C5	P1	182.1(9)	C4 C5 P1 107.4(6)
P1	Mn2	229.5(2)	C5 P1 Mn2 105.9(3)

Der Fünfring von (1a) besitzt Briefumschlag-Konformation mit einem Diederwinkel von 48.7°. Der Mn-C3-Abstand ist deutlich größer als die Summe der Einfachbindungsradien. Die *trans*-ständigen CO-Gruppen sind zum Heterocyclus hin abgewinkelt ($\text{C}8 - \text{Mn} - \text{C}9 = 166.6^\circ$). Infolge der Ringspannung sind die Koordinationspolyeder am Mangan und am Phosphor stark verzerrt.

Die schwachen M-C- σ -Bindungen in (1a) und (1c) sind sehr reaktiv: Schon bei -60 °C beobachtet man Insertion von SO_2 unter quantitativer Bildung der ringerweiterten heterocyclischen Sulfinato-S-Komplexe (2a) und (2c), Zers. >175 °C [$\nu_{as}(\text{SO}_2) = 1183$ bzw. 1160 s, $\nu_s(\text{SO}_2) = 1040$ s cm $^{-1}$ (KBr)].



Die Zusammensetzung der nur in polaren Solventien löslichen Verbindungen (2) ergibt sich aus der Elementaranalyse sowie den IR- und Massenspektren (Tabelle 1).

Arbeitsvorschrift^[6]

(1a) erhält man durch Reaktion von 3 mmol $(\text{CO})_5\text{MnBr}$ in 10 ml Tetrahydrofuran (THF) mit einer Lösung von 3 mmol $\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_3\text{MgCl}$ in 100 ml THF bei 65 °C. Nach Beendigung der CO-Entwicklung zieht man das Solvens ab und extrahiert mit *n*-Hexan. Das Lösungsmittel wird wiederum abgezogen und (1a) bei 80 °C im Hochvakuum sublimiert; Ausbeute ca. 30%.

Bei -60 °C werden 0.3 mmol (1a) in 40 ml flüssigem SO_2 1 h umgesetzt. Nach Abdampfen des SO_2 erhält man (2a) analysenrein in quantitativer Ausbeute.

Ein eingegangen am 2. März 1979 [Z 245 b]

[1] Darstellung und Eigenschaften von und Reaktionen mit metallhaltigen Heterocyclen. 3. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. - 2. Mitteilung: E. Lindner, A. Rau, S. Hoehne, Angew. Chem. 91, 568 (1979); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 18, No. 7 (1979).

[2] D. E. Webster, Adv. Organomet. Chem. 15, 147 (1977).

[3] P. Diversi, G. Ingrosso, A. Lucherini, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1977, 52.

[4] P. Diversi, G. Ingrosso, A. Lucherini, P. Martinelli, M. Benetti, S. Pucci, J. Organomet. Chem. 165, 253 (1979).

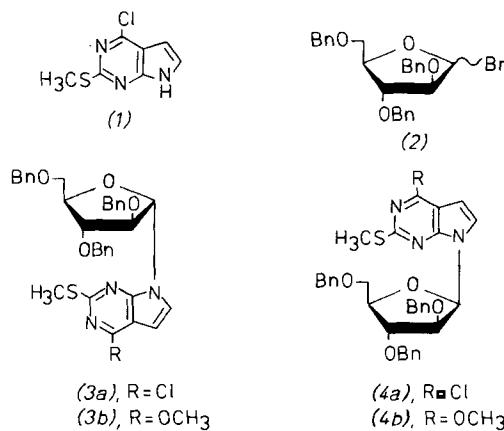
[5] Aus *n*-Hexan kristallisiert (1a) monoklin (Raumgruppe C2/c), $a = 1533(3)$, $b = 1518(2)$, $c = 1586(1)$ pm, $\beta = 97.4(1)^\circ$, $Z = 8$, $\rho_{\text{cr}} = 1.432$ g cm $^{-3}$. Die Struktur wurde mit direkten Methoden und Differenz-Fourier-Synthesen gelöst und für 2689 unabhängige Reflexe mit dem Programmsystem SHELL-76 zu $R = 0.066$ anisotrop verfeinert.

[6] Auf analoge Weise wurde inzwischen auch der zu (1a) homologe sechsgliedrige ($n = 4$) Heteroclycus erhalten.

Bevorzugte β -Glycosidbildung durch Phasentransfer-Katalyse bei der Synthese von D-Arabinofuranosyl-7-desazapurinnucleosiden

Von Frank Seela und Dieter Winkeler^[*]

Wir fanden, daß 1-Brom-2,3,5-tri-O-benzyl-D-arabinofuranose (2) mit 4-Chlor-2-methylthio-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (1)^[1], einer Schlüsselsubstanz zur Synthese von 7-Desazapurinnucleosiden^[2-4], durch Phasentransfer-Katalyse^[5] in über 85proz. Ausbeute zu den *N*⁷-Glycosiden [(3a) + (4a)] verknüpft wird. Die Methode hat den weiteren Vorteil, daß das Anomerengemisch mehr als 80% β -Anomer (4a) enthält. Das Verfahren macht wasserfreies Arbeiten^[3] unnötig und ist auch auf die Synthese anderer Nucleoside anwendbar.



[*] Prof. Dr. F. Seela, Dipl.-Chem. D. Winkeler
Universität Paderborn - Gesamthochschule
Fachbereich 13 (Organische Chemie)
Warburger Straße 100, D-4790 Paderborn

Tabelle 1. Daten für das α -Anomer (3a) und das β -Anomer (4a).

(3a), DC (Silicagel, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$, 200:1); $R_F = 0.25$; $^1\text{H-NMR}$ (D_6 -Dimethylsulfoxid): $\delta = 2.56$ (s, CH_3S), 3.67 (d, $\text{CH}_2\text{-}5'$, $J = 5.0$ Hz), 4.28 (t, $\text{H}\text{-}4'$, $J = 4.0$ Hz), 4.5–4.7 (m, $\text{H}\text{-}3'$, 3 Benzyl- CH_2), 4.83 (t, $\text{H}\text{-}2'$, $J = 4.0$ Hz); 6.40 (d, $\text{H}\text{-}1'$, $J = 4.0$ Hz), 6.63 (d, $\text{H}\text{-}5$, $J = 4.0$ Hz), 7.1–7.3 (m, 15 arom. H), 7.75 ppm (d, $\text{H}\text{-}6$, $J = 4.0$ Hz).
(4a), DC; $R_F = 0.20$; UV (CH_3OH): $\lambda_{\text{max}} = 253$, 276, 310 nm ($\epsilon = 22400$, 6500, 6500); $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 2.56$ (s, SCH_3), 3.75 (d, $\text{CH}_2\text{-}5'$, $J = 5$ Hz), 4.0–4.5 (m, $\text{H}\text{-}2'$, $\text{H}\text{-}3'$, $\text{H}\text{-}4'$), 4.55–4.75 (3-Benzyl- CH_2), 6.53 (d, $\text{H}\text{-}5$, $J = 4.0$ Hz), 6.73 (d, $\text{H}\text{-}1'$, $J = 6.0$ Hz), 6.8–7.5 (m, 15 arom. H), 7.65 ppm (d, $\text{H}\text{-}6$, $J = 4.0$ Hz)

Ausgehend vom Aglycon (1) und vom Halogenzucker (2), beide in organischer Phase, und 50proz. Natronlauge als anorganischer Phase ist die *N*-Glycosidierung in Gegenwart von Benzyltriethylammoniumchlorid^[5] bei intensivem Mischen nach 2 h quantitativ. Das Reaktionsgemisch wird an Silicagel mit Chloroform/Methanol (200:1) als Laufmittel aufgetrennt. Zur Bestimmung der Glycosidierungsposition und zur Zuordnung der Anomere wurde der Inhaltsstoff der langsamer wandernden Zone B (Hauptprodukt) in methanolischem Natriummethoxid zur 4-Methoxyverbindung umgesetzt. Diese wandert im Dünnschichtchromatogramm (Silicagel, Chloroform/Methanol, 200:1) mit $R_F = 0.17$ wie authentisches (4b)^[6]. Da das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der 4-Methoxyverbindung ebenfalls mit dem von (4b) übereinstimmt, ist das Hauptprodukt aus der Phasentransfer-Katalyse das N^7 -verknüpfte β -Anomer (4a). Aufgrund des NMR-Spektrums von (3b)^[6] kann der Inhaltsstoff der schnell wandernden Zone A (Nebenprodukt) dem α -Anomer (3a) zugeordnet werden (siehe Tabelle 1).

Das Anomerenverhältnis ($\beta : \alpha$) lässt sich durch den Phasentransfer-Katalysator beeinflussen. Für Tetrabutylammoniumhydrogensulfat beträgt es 6:4, für Benzyltriethylammoniumchlorid 8:2.

Arbeitsvorschrift

In 2.85 g (5 mmol) 2,3,5-Tri-*O*-benzyl-1-*O*-*p*-nitrobenzoyl-D-arabinofuranose^[7] in 15 ml Dichlormethan wird so lange trockener Bromwasserstoff eingeleitet, bis keine *p*-Nitrobenzoësäure mehr ausfällt. Die Säure wird abgesaugt und mit wenig kaltem Dichlormethan gewaschen. Beim Eindampfen der vereinigten Filtrate bleibt gelbliches, viskoses (2) zurück. – 1.0 g (5.0 mmol) (1) werden in 10 ml Benzol suspendiert und mit wenig Dimethoxyethan gerade in Lösung gebracht. Man versetzt mit 0.3 g (1.1 mmol) Benzyltriethylammoniumchlorid und dem gleichen Volumen 50proz. Natronlauge und führt 5 min mit dem Vibro-Mischer. – Der Halogenzucker (2) in 3 ml Benzol wird langsam unter Rühren (Vibro-Mischer) in die Emulsion getropft und das Durchmischen der Phasen 2 h fortgesetzt. Man trennt die organische Phase ab, schüttelt mit Wasser, trocknet mit Natriumsulfat, filtriert und destilliert das Lösungsmittel im Vakuum ab. Der ölige Rückstand wird in wenig Chloroform/Methanol (200:1) gelöst und im gleichen Lösungsmittel an einer Säule (70 × 5 cm, Kieselgel 60, Merck, 0.04–0.063 mm) chromatographiert. Die beiden Hauptzonen werden abgetrennt; aus der schneller wandernden Zone A werden nach dem Abdampfen 0.44 g (15%) (3a), aus der langsamer wandernden Zone B 2.12 g (70%) (4a) als farblose, viskose Substanzen gewonnen.

Eingegangen am 26. März 1979 [Z 241]

- [1] J. Davoll, J. Chem. Soc. 1960, 131.
- [2] R. L. Tolman, G. L. Tolman, R. K. Robins, L. B. Townsend, J. Heterocycl. Chem. 7, 799 (1970).
- [3] T. Kondo, T. Ohgi, T. Goto, Agric. Biol. Chem. 41, 1501 (1977).
- [4] R. J. Suhadolnik: Nucleoside Antibiotics. Wiley-Interscience, New York 1971.
- [5] E. V. Dehmlow, Angew. Chem. 86, 187 (1974); 89, 521 (1977); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 13, 170 (1974); 16, 493 (1977).
- [6] U. Lüpke, F. Seela, Chem. Ber., im Druck.
- [7] R. Barker, H. G. Fletcher, Jr., J. Org. Chem. 26, 4605 (1961).

Voll aktives Insulin durch selektive Bildung der Disulfidbrücken zwischen synthetischer A-Kette und natürlicher B-Kette^[**]

Von Christian Birr und Rüdiger Pipkorn^[*]

Bei der Insulinsynthese in *E. coli* nach erfolgreichem „Genetic Engineering“^[1] werden A- und B-Ketten in getrennten Kulturen aufgebaut und als freie Polypeptide geerntet. Die statistische Disulfid-Oxidation zum Insulinmolekül verlief ähnlich verlustreich wie bei den früheren Totalsynthesen^[2]. Auch Rekombinationsversuche mit natürlichen A- und B-Ketten (1:1) ergeben nur Insulinausbeuten von ca. 10%^[3]. Um die Ausbeuten zu verbessern, ist es demnach vordringlich, die drei Disulfidbrücken gezielt und nicht statistisch zu schließen.

Wir beschreiben hier die Synthese einer Insulin-A-Kette, die selektiv abspaltbare Schwefelschutzgruppen enthält, am polymeren Träger, und die Umsetzung dieser A-Kette unter schrittweiser, oxidativer Bildung der Disulfidbrücken mit einer natürlichen B-Kette zu voll aktivem, kristallinem Rinderinsulin. Das Konzept ist eine Weiterentwicklung der Prinzipien, die die Synthese des MCD-Peptides ermöglichten^[4].

Das Fragment I (1–3) synthetisierten wir aus Ddz-Aminosäuren^[5] in Lösung^[6] mit 84% Ausbeute. Die Fragmente II (4–14) (Schema 1, links) und IV (15–21) (Schema 1, rechts) wurden zur Überprüfung der optimierten Synthesen je zweimal an 0.5% vernetztem Polystyrol-Gel aufgebaut. Alle Syntheseschritte wurden photometrisch verfolgt^[7] (vgl. [4]). Statt Gln^5 und Gln^{15} sowie Asn^{18} wurden Glu(OBzl) bzw. Asp(OBzl) verwendet, um eine Nitrilbildung an den Amid-Seitenfunktionen durch Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) zu vermeiden. Im Fragment IV ist Asp^{21} mit seiner β -Carboxyfunktion über eine elektrophile 2-Oxoethylesterbindung an den Träger gebunden. Auf diese Weise konnten am Ende der Synthese alle zukünftigen Amid-Seitenfunktionen durch Ammonolyse der Benzylester- und 2-Oxoethylesterbindungen bei der Ablösung von IV und V (Schema 2) vom Träger gleichzeitig eingeführt werden.

Durch Kondensation von I in 15fachem Überschuss mit DCC/1-Hydroxybenzotriazol (HOBT) mit dem trägegebundenen Fragment II entstand III (1–14) am Träger in 86% Ausbeute (bezogen auf II-Gelpolymer). Durch Abspaltung von III vom Träger (0.5 N Triethylamin in Methanol/Dioxan 1:1 (v/v) + 0.5 Vol-% 1 N NaOH) und anschließende chromatographische Reinigung der abgelösten, voll geschützten Peptidsäure erhielten wir 1 g reines III (59% Ausbeute, bezogen auf III-Gelpolymer). Die Stabilität des Benzylesters in Position A⁵ unter den Abspaltungsbedingungen wurde durch das Massenspektrum bewiesen. Das Fragment IV wurde vom Träger zunächst mit Ammoniak-gesättigtem Dioxan, dann mit flüssigem Ammoniak/Methanol 4:1 (v/v) unter Druck bei 20 °C abgespalten. Nach chromatographischer Reinigung (DEAE A 25 Sephadex/Methanol-0.5 N Essigsäure 4:1 (v/v) und Sephadex LH 20/Methanol) erhielten wir 1.45 g (86%, bezogen auf die trägegebundene Vorstufe) reines IV. Die Bildung des C-terminalen β -Amids ist durch Modellversuche gesichert.

[*] Priv.-Doz. Dr. Ch. Birr, Phil. cand. R. Pipkorn
Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung
Abteilung Naturstoff-Chemie
Jahnstraße 29, D-6900 Heidelberg 1

[**] Ch. Birr, auszugsweise vorgetragen auf dem 15. Europäischen Peptid-Symposium, Gdańsk 1978. – Wir danken Prof. Dr. H. Zahn und Dr. H.-G. Gattner, Aachen, für die Unterweisung in der Rekombinationstechnik und für Insulin-B-Kette; Dr. R. Renner, München, und Dr. H.-G. Gattner, Aachen, danken wir für die biologischen Tests.