

der Signalamplitude I als Folge eines Singulett-Triplett-Gleichgewichts, so hängt die Signalamplitude von (I) wie folgt von der Temperatur T ab^[3]:

$$I = \frac{C}{T} \left(\frac{3e^{-\Delta E/RT}}{1 + 3e^{-\Delta E/RT}} \right)$$

$$\Delta E = E_{\text{Triplett}} - E_{\text{Singulett}}$$

C = Konstante

Für $\Delta E = 0$ vereinfacht sich die Gleichung zum Curie-Gesetz, das für unsere Meßwerte näherungsweise erfüllt ist. Es war uns nicht möglich, aus den Abweichungen vom Curie-Gesetz ΔE genau zu bestimmen. Da für $\Delta E < 0$ die Abweichung der Gleichung vom einfachen Curie-Gesetz wesentlich kleiner sein muß als für $\Delta E > 0$, sprechen unsere experimentellen Befunde für einen Triplet-Grundzustand von (I).

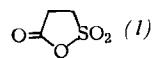
Um diese Ergebnisse theoretisch zu verifizieren, haben wir für (I) SCF-CI-Rechnungen nach dem Verfahren von *Pariser, Parr* und *Pople* durchgeführt^[12, 13]. Die verwendeten Parameter wurden an Elektronenspektren von Carboniumionen der Triphenylmethanreihe geeicht^[14]. In die Konfigurationswechselwirkung gingen 41 einfach angeregte Konfigurationen ein. Die Rechnung wurde für eine ebene und für eine verdrillte Konformation von (I) durchgeführt, deren Struktur sich an die der genannten Carboniumionen anlehnt. In beiden Fällen wurde ein Tripletzustand T_1 berechnet, der um 1.07 eV bzw. 1.19 eV stabiler als der Singulettzustand S_0 ist. Die Rechnungen bestätigen, daß (I) einen Triplet-Grundzustand besitzt.

Eingegangen am 7. September 1970 [Z 286]

Abtrennung von Fehlsequenzen in der Festphasen-Peptidsynthese mit dem Anhydrid der 3-Sulfopropionsäure

Von *Hans Wissmann* und *Rolf Geiger*^[*]

Bei der Festphasen-Peptidsynthese nach *Merrifield* verlaufen die Syntheseschritte nicht immer mit der für die Herstellung einheitlicher Peptide erforderlichen hohen Ausbeute^[1–3]. Dadurch entstehen Verunreinigungen und Fehlsequenzen, die wegen ihrer Ähnlichkeit mit dem gewünschten Endprodukt oft auch mit Hilfe aufwendiger Reinigungsverfahren nicht abtrennbar sind. Zur Überwindung dieser Schwierigkeiten bietet sich die Blockierung nicht umgesetzter Aminogruppen mit einem Acylierungsmittel an, das auch die Abtrennung der Nebenprodukte erleichtert. *Wieland* und Mitarbeiter^[4] verwendeten dafür das 3-Nitro-phthalsäureanhydrid.



Wir verwenden das cyclische Anhydrid der 3-Sulfopropionsäure (I)^[5], das mit den Nebenprodukten N^{α} -(3-Sulfopropionyl)-Derivate bildet, die sich wegen ihrer hohen Acidität schon durch einfache Filtration über einen schwach basischen Ionenaustauscher (Acetatform) abtrennen lassen. Diese Ionenaustauscherbehandlung wird meist ohnehin vorgenommen, um die mit HBr/Trifluoressigsäure vom Träger abgespaltenen Peptide in ihre Acetate zu überführen, so daß mit der Reinigung kein zusätzlicher experimenteller Aufwand verbunden ist.

Sollten unter den Bedingungen der Acylierung mit (I) auch Peptidbindungen angegriffen werden, so könnten die dadurch entstandenen Diacylamine noch vor Abtrennung des Peptids vom Polymeren durch vorsichtige Aminolyse gespalten werden, wobei entweder die ursprüngliche Peptidbindung wiederhergestellt würde oder im Falle der Spaltung der Peptidkette auswaschbare oder durch eingebaute Sulfogruppen abtrennbare Bruchstücke entstünden.

Arbeitsvorschrift:

H-Cys(Bzl)-Tyr(Ätoc)-Phe-Gln-Asn-Cys(Bzl)-Pro-Arg-(NO₂)-Gly-NH₂^[6]: 10 g Boc-Gly-Polymerester, hergestellt nach^[1], mit 0.36 mmol Gly/g Harz, wurden entacyliert und mit Boc-Arg(NO₂)-OH umgesetzt. Anschließend wurde das Harz unter Schütteln viermal je 3 min mit 50 ml Dimethylformamid extrahiert. Unterdessen waren unter Kühlung 4 g (I) in 20 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst worden. Die gekühlte Lösung wurde zur Boc-Arg(NO₂)-Gly-Polymerverbindung gegeben. Unmittelbar danach fügte man noch 7.5 ml N-Äthylmorpholin in 15 ml Dimethylformamid zu und schüttelte dann 1 Std. bei Raumtemperatur. Nach Absaugen des Lösungsmittels wurde viermal mit je 50 ml Äthanol und viermal mit Eisessig gewaschen, dann wurde mit 1 N HCl in Eisessig die Boc-Gruppe entfernt. Die weiteren Aminosäuren wurden analog dieser Reaktionsfolge angefügt, wobei folgende Derivate verwendet wurden: Boc-Pro-OH^[7], Boc-Cys(Bzl)-OH^[7], Nps-Asn-(Mbh)-OH^[8], Nps-Gln(Mbh)-OH^[8], Boc-Phe-OH^[7], Boc-Tyr(Ätoc)-OH^[9]. — Ausbeute: 14.9 g Peptid-Polymerverbindung.

3.0 g dieser Verbindung wurden nach^[1] mit HBr/Trifluoressigsäure behandelt. Das rohe Peptidgemisch wurde nach Umfällen aus Äthanol/Äther zur völligen Abspaltung der Mbh-Gruppen 5 min in Trifluoressigsäure/Anisol (9:1) erhitzt, anschließend mit Äther ausgefällt, in 90-proz. Methanol gelöst und durch eine Säule (15 × 1 cm) über Amberlite IR-45 (Acetatform) filtriert. Dann wurde mit 150 ml 90-proz. Methanol gewaschen, die Eluate wurden im Vakuum eingeengt, der Rückstand mit Äther verrieben. Ausbeute: 300 mg.

Aminosäure-Analyse [a]	Cys	Tyr	Phe	Glu	Asp	Cys	Pro	Arg	Gly
Vor Abspaltung vom Träger	—	—	0.98	0.97	1.00	—	1.12	1.09 [b]	1.42
Nach Abspaltung und Filtration über Ionenaustauscher	—	0.90 [b]	0.92	0.96	1.00	—	0.97	0.96 [b]	1.00

[a] Ein Strich bedeutet, daß die Aminosäure nicht quantitativ bestimmt wurde.
[b] Korrigierter Wert.

In analoger Weise wurde das Peptid Boc-Gln(Mbh)-Asn(Mbh)Cys(Bzl)-Pro-Leu-Gly-NH₂ hergestellt.

Aminosäure-Analyse	Glu	Asp	Cys	Pro	Leu	Gly
Vor Abspaltung vom Träger	0.88	1.00	—	1.32	1.47	1.17
Nach Abspaltung und Filtration über Ionenaustauscher	1.02	0.99	—	1.00	1.03	1.00

Eingegangen am 10. September 1970 [Z 288]

[*] Dr. H. Wissmann und Dr. R. Geiger
Pharma Forschung Chemie
Farbwerke Hoechst AG
623 Frankfurt 80, Postfach 800320

- [1] R. B. Merrifield, J. Amer. chem. Soc. 85, 2419 (1963).
- [2] E. Bayer, H. Eckstein, K. Hägele, W. König, W. Brüning, H. Hagenmaier u. W. Parr, J. Amer. chem. Soc. 69, 1735 (1970).
- [3] H. Hagenmaier, Tetrahedron Letters 1970, 283.

[4] Th. Wieland, Chr. Birr u. H. Wissenbach, Angew. Chem. 81, 782 (1969); Angew. Chem. internat. Edit. 8, 764 (1969).

[5] M. S. Kharasch, T. H. Chao u. H. C. Brown, J. Amer. chem. Soc. 62, 2393 (1940). Erhältlich bei Ega-Chemie, 7924 Steinheim.

[6] Abkürzungen nach IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 348, 256, 262 (1967). Nps = 2-Nitro-sulfenyl; Mbh = 4,4'-Dimethoxy-benzhydryl. Aminosäureanalyse: Hydrolyse 72 Std. in 6 N HCl bei 110 °C.

[7] E. Schnabel, Liebigs Ann. Chem. 702, 188 (1967).

[8] W. König u. R. Geiger, Chem. Ber. 103, 2041 (1970).

[9] R. Geiger, G. Jäger, A. Volk u. W. Siedel, Chem. Ber. 101, 2189 (1968).