

5-Dialkylaminopyrazole (4)

1 mol (1) wird in Chloroform gelöst und bei Raumtemperatur unter Röhren in eine Lösung von 1 mol (2a) im gleichen Lösungsmittel eingetropft. Man führt unter Rückfluß, bis alles (2a) sich gelöst hat. Die Zwischenstufe (3) cyclisiert beim längeren Erhitzen unter Rückfluß (3–10 h) in Chloroform oder beim trockenen Erhitzen (2 h auf ca. 100 °C). Die Lösung des Pyrazols (4) in Chloroform oder Methylchlorid wird anschließend mit verdünnter Alkalilauge behandelt; nach der Trennung trocknet man die organische Phase mit Kaliumcarbonat. Die meisten Pyrazole (4) lassen sich durch Vakuumdestillation im Kugelrohr reinigen. – Abweichend davon wird (4j) über (3j) aus 2.52 g (20 mmol) Cyclohexanon-methylhydrazon und 5.08 g (20 mmol) (2b) durch 30 min Erhitzen in 30 ml trockenem Chloroform gewonnen. Nach Entfernung des Lösungsmittels erhitzt man (3j) 8 h in 50 ml frisch destilliertem POCl_3 . Der Rückstand wird in wenig Wasser von 0 °C gelöst und mit überschüssigem festem Kaliumcarbonat versetzt. Extraktion mit Methylchlorid und Destillation im Kugelrohr ergeben 1.72 g (4j).

Eingegangen am 19. Oktober 1973 [Z 944]

[1] Imonium-Chemie. 10. Mitteilung. – 9. Mitteilung: H. G. Viehe, Z. Janousek, R. Gompper u. D. Lach, Angew. Chem. 85, 581 (1973); Angew. Chem. internat. Edit. 12, 567 (1973).

[2] H. G. Viehe u. Z. Janousek, Angew. Chem. 83, 614 (1971); Angew. Chem. internat. Edit. 10, 573 (1971).

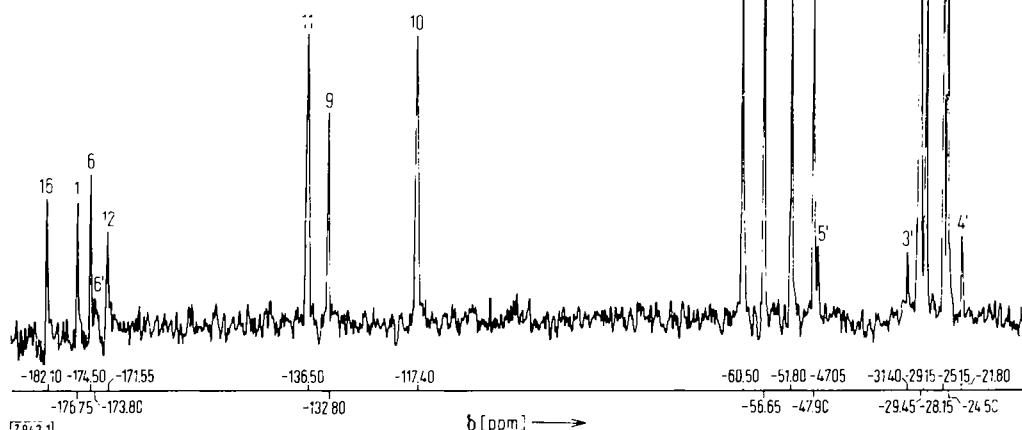


Abb. 1. Puls-Fourier-Transform (PFT)- ^{13}C -NMR-Spektrum (protonenbreitbandentkoppelt, bezogen auf TMS = 0) von TRH, 200 mg in 1.5 ml D_2O . Akkumulation von 16384 Pulsinterferogrammen. 3',4',5',6' siehe Text.

[3] Z. Janousek u. H. G. Viehe, Angew. Chem. 83, 615 (1971); Angew. Chem. internat. Edit. 10, 574 (1971).

[4] H. G. Viehe, Z. Janousek u. M. A. Defrenne, Angew. Chem. 83, 616 (1971); Angew. Chem. internat. Edit. 10, 575 (1971).

[5] Nicht-amierte 4-Pyrazol-carbaldehyde entstehen aus (1) und DMF- OPCl_3 ; M. A. Kira, H. O. Abdel-Rahman u. K. Z. Gadalla, Tetrahedron Lett. 1969, 109.

cis-trans-Isomerie des Thyreotropin-freisetzenden Hormons (TRH) in wässriger Lösung^[**]

Von Wolfgang Voelter, Oskar Oster und Karl Zech^[*]

Voraussetzung zur Aufklärung der Wirkungsweise von Peptidhormonen ist die Kenntnis der genauen Struktur. Da die Kernresonanz über die Struktur gelöster Peptidmoleküle we-

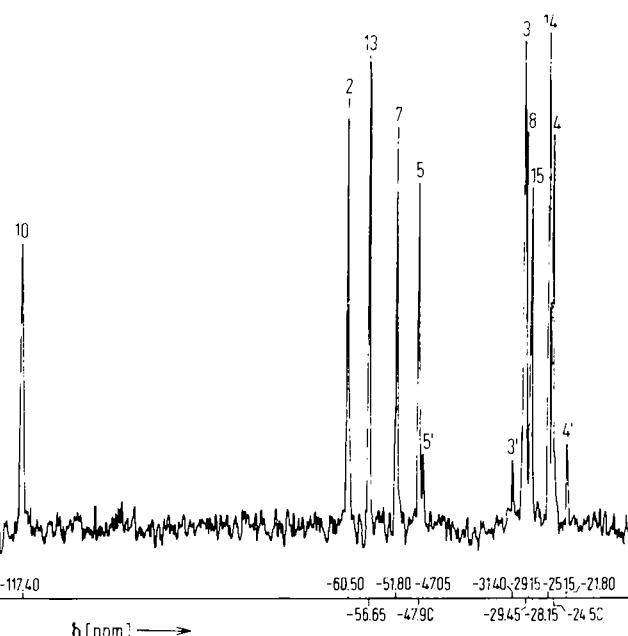
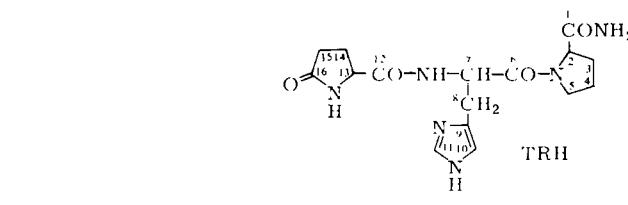
[*] Prof. Dr. W. Voelter, Dr. O. Oster und Dr. K. Zech

Chemisches Institut der Universität
74 Tübingen. Auf der Morgenstelle

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

sentliche Aussagen machen kann, untersuchten wir synthetisches^[1] TRH mit der Puls-Fourier-Transform- ^{13}C -NMR-Spektroskopie^{[2][***]}.

Abbildung 1 zeigt das protonenbreitbandentkoppelte Spektrum von TRH. Die Signale können durch Spektrenvergleich mit einfachen Aminosäuren, TRH-Derivaten und Derivaten der TRH-Komponenten, die bei der Synthese des Hormons als Zwischenprodukte anfallen, nahezu alle zugeordnet werden^[1]. Eine weitere Zuordnungshilfe liefert das Protonen-„Off-Resonance“-Spektrum^[1].



Auffallend ist, daß in Abbildung 1 bei den intensiven Signalen der C-Atome 3, 4, 5 und 6 im Abstand von 1–2 ppm noch weitere erscheinen, die nur 10–20% der Intensität der übrigen Signale aufweisen.

Zur Klärung dieses Phänomens haben wir Prolin-Derivate und prolinhaltige Dipeptide synthetisiert und ihre ^{13}C -NMR-Spektren aufgenommen.

So verursachen sämtliche Kohlenstoffatome des Prolinringes von Boc-Pro-NH₂ zwei Signale (Abb. 2). Das Spektrum kann nur durch das Vorliegen eines cis-trans-Isomeren-Paares ge deutet werden. Die ^{13}C -NMR-Spektroskopie eignet sich somit hervorragend zum Nachweis cis- und trans-isomerer Prolinverbindungen, die bisher besonders durch Protonenresonanz unterschieden wurden^[3].

[***] Alle hier untersuchten Verbindungen haben Drehwerte, Schmelzpunkte und Analysendaten der Literatur; zur Darstellung der Substanzen vgl. [1, 5]. Die PFT- ^{13}C -NMR-Spektren wurden mit einem Bruker-HFX-90-Multi kern-NMR-Spektrometer gemessen (22.628 MHz für ^{13}C ; 90 MHz für ^1H ; 13 MHz für ^2H ; Impulsbreite 4–5 μs; Impulsintervall 0.41 s).

Obgleich sich die Intensitäten von PFT-¹³C-NMR-Resonanzen nicht zur quantitativen Bestimmung eignen, können sie bei chemisch ähnlichen Kohlenstoffatomen zur groben Abschätzung von Gleichgewichten dienen. Demnach liegen bei Raumtemperatur in wäßriger Lösung 20–30% *cis*- und 80–70% *trans*-Boc-Pro-NH₂ vor.

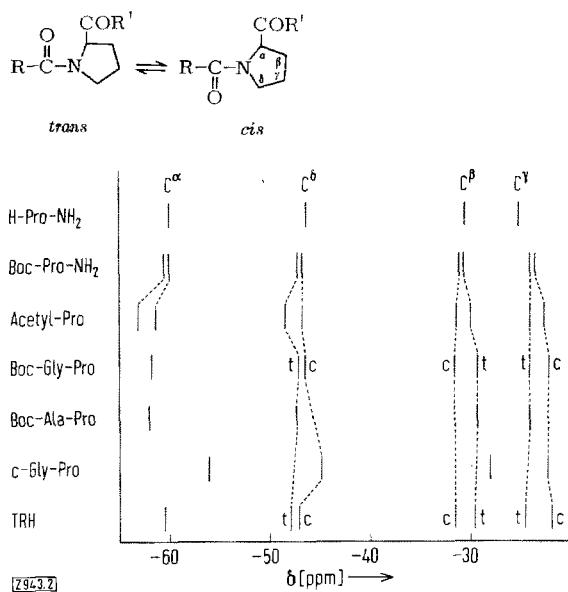


Abb. 2. ¹³C-NMR-Strichspektren substituierter Proline (bezogen auf TMS = 0). Angegeben sind nur die Signale der Kohlenstoffatome des Prolinrings. Alle Werte mit Ausnahme von c-Gly-Pro (DMSO) wurden in Wasser bestimmt. t = *trans*, c = *cis*.

Die Zuordnung der Signale zum *cis*- oder *trans*-Isomeren gelingt aufgrund des ¹³C-NMR-Spektrums von Boc-Gly-Pro. Aus ¹H-NMR-Untersuchungen^[3] ist bekannt, daß diese Verbindung in Lösung zu 70–80% als *trans*-Isomeres vorliegt. Im PFT-¹³C-NMR-Spektrum von Boc-Gly-Pro sind daher die intensiveren Resonanzen der Prolinkohlenstoffatome dem *trans*-Isomeren zuzuordnen.

Außerdem muß die Lage der Signale der Prolinkohlenstoffatome im cyclischen Glycyl-prolin charakteristisch sein für *cis*-isomere Proline.

Aufgrund dieser Befunde lassen sich die Resonanzen der C^α-, C^β-, C^γ- und C^δ-Atome der Prolinringe der in Abbildung 2 zusammengestellten Verbindungen eindeutig dem *cis*- oder *trans*-Isomeren zuordnen.

Abbildung 2 zeigt ferner, daß Boc-Ala-Pro in wäßriger Lösung nahezu ausschließlich als *trans*-Isomeres vorliegen muß. Aus den Intensitäten der Resonanzen von Acetylprolin folgt, daß sich in wäßriger Lösung bei Raumtemperatur ein *cis-trans*-Isomerie-Gleichgewicht von ungefähr 1 : 1 einstellt.

Diese Befunde gestatten den Schluß, daß TRH in Wasser zu 10–20% als *cis*- und zu 90–80% als *trans*-Isomeres vorliegt. Vor kurzem ist eine ¹H-NMR-Untersuchung von TRH publiziert worden^[4]. Selbst mit einem 250-MHz-Spektrometer gelang es nicht, die *cis-trans*-Isomerie nachzuweisen.

Eingegangen am 11. Oktober 1973 [Z 943]

[1] K. Zech, Dissertation, Universität Tübingen 1973.

[2] E. Breitmaier, G. Jung u. W. Voelter, Angew. Chem. 83, 659 (1971); Angew. Chem. internat. Edit. 10, 673 (1971); E. Breitmaier u. W. Voelter: ¹³C-NMR Spectroscopy. Verlag Chemie, Weinheim, im Druck.

[3] C. M. Deber, F. A. Borey, J. P. Carver u. E. R. Blout, J. Amer. Chem. Soc. 92, 6191 (1970).

[4] S. Fermandjian, P. Pradelles, P. Fromageot u. J. Dunand, FEBS Lett. 28, 156 (1972).

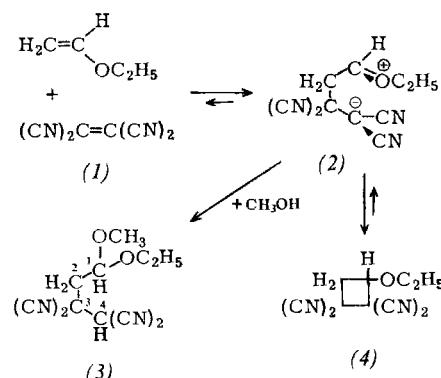
[5] O. Oster, Dissertation, Universität Tübingen 1973.

Abfangen des 1,4-Dipols bei der 2+2-Cycloaddition des Tetracyanäthylens an Enoläther

Von Rolf Huisgen, Reinhard Schug und Gerd Steiner^[*]

Die zu Cyclobutanen führenden 2+2-Cycloadditionen des Tetracyanäthylens (1) an *cis-trans*-isomere Enoläther sind nicht von hoher Stereospezifität^[1]; die rotationsfähige Zwischenstufe bildet sich dabei in reversibler Reaktion^[2]. Die Additionen von (1) an mehrere Enoläther vollziehen sich in Acetonitril 2600- bis 29000mal rascher als in Cyclohexan^[3]; aus der Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstante von der Solvenspolarität und den Dipolmomenten der Reaktanten berechnet man Dipolmomente der Übergangszustände, die 2/3 der für die Zwitterionen des Typs (2) geschätzten Werte betragen^[3]. Auch der Einfluß struktureller Variation des Enoläthers auf die Geschwindigkeitskonstante^[4], die Aktivierungsparameter^[5] und die Lösungsmittelabhängigkeit des Aktivierungsvolumens^[6] weisen auf die zwitterionische Zwischenstufe dieser 2+2-Cycloadditionen von (1).

Da kinetische Befunde einen Reaktionsmechanismus nie zu beweisen, sondern stets nur andere denkbare Wege auszuschließen vermögen, erstrebten wir eine chemische Evidenz durch Abfangen der Zwischenstufe, wobei das Abfangreagens sich nicht mit den Reaktanten vereinigen darf. Alkohole erwiesen sich als geeignet; (1) ist genügend stabil in reinen Alkoholen in der Kälte^[**].



Schema 1

Während sich (4) aus (1) und Äthyl-vinyläther im aprotischen Medium quantitativ bildet^[7], gelangt man bei der Reaktion in eiskaltem Methanol zu 70% des 1:1:1-Addukts (3) neben 30% (4) (Schema 1) [¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃) von (3): τ = 6.56 (s, OCH₃), OCH₂CH₃ als ABX₃-System

Tabelle I. Acetalische 1:1:1-Abfangprodukte vom Typ (3) aus Enoläthern, Tetracyanäthylen und Alkoholen.

Enoläther	Alkohol	1:1:1-Addukt		
		Fp [°C]	τ _{1-H}	τ _{4-H}
Äthyl-vinyläther	Äthanol	Öl	5.17	4.93
Äthyl-vinyläther	Methanol	Öl	5.23	4.96
Äthyl-propenyläther	Äthanol	60–61	5.45	4.71
Methyl-propenyläther	Methanol	92–93	5.63	4.81
Äthyl-propenyläther	Methanol	{ 52–54	5.57	4.77
Methyl-propenyläther	Äthanol	{ 95–96	5.56	4.79
Methyl-propenyläther	Isopropanol	99–100	5.32	4.31
Methyl-propenyläther	tert.-Butanol	117–120	5.21	4.22
1-Athoxy-isobuten	Äthanol	79–80	5.63	4.70
2H-3,4-Dihydropyran	Äthanol	109–110	5.41	4.55

[*] Prof. R. Huisgen, Dipl.-Chem. R. Schug und Dr. G. Steiner
Institut für Organische Chemie der Universität
8 München 2, Karlstraße 23

[**] R. H. dankt Dr. H. E. Simmons, E. I. Du Pont de Nemours and Co., Wilmington (USA), für einen diesbezüglichen Hinweis im Juli 1971.