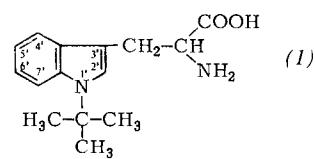


- [1] 4. Mitteilung über Organische Selenverbindungen [zugleich 16. Mitteilung über Organische Photochemie]. – 3. Mitteilung: G. Heppke, J. Martens, K. Praefcke, H. Simon, Angew. Chem. 89, 328 (1977); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 16, Nr. 5 (1977) [15. Mitteilung: C. Bak, K. Praefcke, K. A. Muszkat, M. Weinstein, Z. Naturforsch. 32b (1977), im Druck].
- [2] G. Buchholz, J. Martens, K. Praefcke, Angew. Chem. 86, 562 (1974); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 13, 550 (1974).
- [3] Ca. 40 h (Kontrolle durch Dünnschichtchromatographie) in wasserfreiem Benzol nach Spülen mit Reinst-Stickstoff, stationäre N₂-Atmosphäre, Philips-Quecksilberhochdruckbrenner HPK 125 W (Quarzglas) bei 20°C, 0.005 mol in 1 Liter. Nach Einengen im Vakuum (Rotavapor) bei 35 bis 40°C Wasserbadtemperatur wird der Rückstand an 200 g Kieselgel (ϕ 0.15 bis 0.30 mm) chromatographiert: Elution von (2) mit 3 Liter Benzin (K_p = 30 bis 70°C) und anschließend von (3) mit 3 Liter Benzin (K_p = 30 bis 70°C)/Aceton (10:1).
- [4] Dargestellt mit 18% Ausbeute nach [1]. [Farblose Kristalle aus Benzin (K_p = 30 bis 70°C)/Ether]. F_p = 151 bis 153°C, IR (CHCl₃): ν_{c=O} = 1680 cm⁻¹; Massenfeinbestimmung des MS-Molekülsignals (C₁₃H₁₀CINOSe, Intensität: 3%): ber. 310.9616, gef. 310.9652 amu, bezogen auf das Isotop ⁸⁰Se.

Nebenreaktionen in der Peptidsynthese: *tert*-Butylierung des Tryptophans

Von Erich Wünsch, Ernst Jaeger, Lajos Kisfaludy und Miklos Löw^[*]

Indol und seine Derivate sind bekanntlich sehr reaktionsfähig. Die Aminosäure Tryptophan enthält eine Indol-Seitenkette und schleust somit eine relativ reaktionsfähige Gruppierung in den Sequenzverband ein. Indol-bedingte Nebenreaktionen sind in peptidchemischen Arbeiten beschrieben und auch vermutet worden; letztlich auch unter den Bedingungen der acidolytischen Entfernung von Schutzgruppen an synthetischen Peptid-Derivaten. Alakhov et al.^[11] haben eine solche Nebenreaktion, das heißt eine elektrophile Substitution am Indolring, durch massenspektrometrische Untersuchungen an Mischungen von Dipeptid-Derivaten sichtbar gemacht. Art und Umfang dieser Nebenreaktion an der Indol-Seitenkette bei der Peptidsynthese konnten aber bislang nicht nachgewiesen werden.



1972 wurden im Münchener Laboratorium bei der Synthese von Leu¹⁵-Human-Gastrin I, das zwei Tryptophan-Reste enthält, Veränderungen am Tryptophan festgestellt^[2]. Später konnte bei der „künstlichen“ Darstellung des nur einen Tryptophan-Rest tragenden Leu¹¹-Human-Minigastrin I ein Nebenprodukt mit verändertem Tryptophan isoliert werden^[3]. Hierbei handelt es sich um ein 10-(N_{in}-*tert*-Butyl-tryptophan)-11-Leucin-Minigastrin I; nach enzymatischer Verdauung gelang die Isolierung und Charakterisierung von N_{in}-*tert*-Butyl-tryptophan [1'-*tert*-Butyl-tryptophan; H-Trp(1'-tBu)-OH] (1). Daneben wurden noch andere *tert*-butyierte Peptid-Derivate gefunden.

Im Budapester Laboratorium vermutete man bei der ACTH-Synthese ähnliche Substitutionsvorgänge. In einer ein-

[*] Prof. Dr. E. Wünsch, Dr. E. Jaeger
 Max-Planck-Institut für Biochemie, Abteilung für Peptidchemie
 Schillerstraße 42, D-8000 München 2
 Dr. L. Kisfaludy, Dr. M. Löw
 Forschungslaboratorium der Chemischen Werke Gedeon Richter AG
 H-1475 Budapest X, Pf. 27 (Ungarn)

fachen Modellreaktion wurde Tryptophan relativ drastischen *tert*-Butylierungs-Bedingungen unterworfen; dabei wurden *tert*-Butyl-Gruppen in den Indolring eingeführt. Insbesondere konnte kristallines 2',5',7'-Tri-*tert*-butyl-tryptophan [H-Trp(2',5',7'-tri-tBu)-OH] erhalten werden.

Die von beiden Gruppen gemeinsam weitergeführten Arbeiten brachten folgende Ergebnisse:

1. Unterwirft man Tryptophan-Derivate einer *tert*-Butylierungsreaktion, z. B. der Veretherung oder Veresterung mit Isobuten/Säure oder „simulierten“ Demaskierungsreaktionen von *tert*-Butylestern und -ethern mit Trifluoressigsäure, so wird der Indolring je nach den Bedingungen einfach oder mehrfach alkyliert. Die Verwendung von flüssigem HF führt zu außerordentlich hohen Ausbeuten (bis zu 50%) an Alkylierungsprodukten.

2. Anhand der Modellprozesse steht fest, daß als Hauptprodukt der Alkylierung N_{in}-*tert*-Butyl-tryptophan (1) gebildet wird^[4]. Dieses wurde unabhängig in beiden Laboratorien in reiner Form erhalten; es war mit dem aus dem Nebenprodukt von synthetischem Leu¹¹-Human-Minigastrin I isolierten Tryptophan-Derivat identisch (s. o.). H-Trp(1'-tBu)-OH (1) (aus Methanol/Ether): F_p = 177–178°C (Zers.); [α]_D²⁰ = $-31.2 \pm 0.5^\circ$ (c = 1.7; in 80proz. Ethanol); [α]₅₄₆²⁰ = $-34.7 \pm 0.5^\circ$; (1)·H₂O (nach Lyophilisieren aus verd. Essigsäure): F_p = 170–172°C (Zers.); [α]_D²⁰ = $-30.4 \pm 0.5^\circ$ (c = 1.7; in 80proz. Ethanol); [α]₅₄₆²⁰ = $-34.0 \pm 0.5^\circ$; ¹H-NMR [(CD₃)₂SO/CD₃COOD/D₂O (3:1:1), TMS = 0]: δ = 1.70 ppm [s, 9H, >NC(CH₃)₃], kein Indol-NH-Signal [in (CD₃)₂SO]; MS (70eV): m/e = 260 (4%); M[⊕]; 186 (30%); M – 74 → C₉H₇N – C₄H₉, 130 (100%); 186 – 56 → C₉H₇N – H; m* = 90.0; IR (KBr): 1220 (ν_{C-C}, tBu), 2970 cm⁻¹ (ν_{C-H}, tBu), ν_{N-H} (Indol) fehlt; UV (H₂O): λ_{max} = 286 nm (ε = 5640).

3. Neben N_{in}-*tert*-Butyl-tryptophan (1) entstehen noch weitere Alkylierungsprodukte. Außer 2',5',7'-Tri-*tert*-butyl-tryptophan können 2-, 3-, 5- und 7-*tert*-Butyl-tryptophan sowie das 1',5'-Disubstitutionsprodukt als gesichert gelten. H-Trp(2',5',7'-tri-tBu)-OH (aus 50proz. Ethanol): F_p = 229–230°C (Zers.); [α]_D²⁶ = $+38.8 \pm 0.4^\circ$ (c = 1; in Essigsäure); ¹H-NMR [(CD₃)₂SO/CD₃COOD/D₂O (3:1:1), TMS = 0]: δ = 1.40 (s, C-5'-tBu), 1.51 (s, C-2'-tBu), 1.53 ppm (s, C-7'-tBu); MS (70eV): m/e = 372 (3%); M[⊕]; 328 (3%); M – 44, 298 (100%); M – 74 → C₂₁H₃₂N, 268 (15%); 298 – 2 × 15), 130 (nur 1%!); IR (KBr): 2960 (ν_{C-H}, tBu), 3520 (ν_{N-H}, Indol), 1250 cm⁻¹ (ν_{C-C}, tBu); UV (0.01 N HCl in 50proz. Ethanol): λ_{max} = 274 (ε = 7880), 281–284 Sch, 293 nm Sch.

4. Mit 1'-*tert*-Butyl- (1) und 2',5',7'-Tri-*tert*-butyl-tryptophan wurden Peptide synthetisiert. Dabei entstanden die gleichen Verbindungen wie bei der Behandlung der unsubstituierten Tryptophan-Peptide nach einer der obengenannten *tert*-Butylierungsmethoden.

5. Charakteristisch für die Mono-N_{in}-*tert*-butylierung des Tryptophans ist ein ¹H-NMR-Singulett bei δ = 1.60 bis 1.72 ppm (innerhalb dieses Bereiches wurden substanz- und lösungsmittelabhängige Unterschiede beobachtet). Durch dieses Signal läßt sich N_{in}-*tert*-Butyl-tryptophan (1) auch in höheren Oligopeptiden erkennen. Analoges gilt für die anderen *tert*-Butylierungsprodukte: die Singulets liegen bei 2'- und 7'-Substitution zwischen 1.40 und 1.55 ppm (bei gleichzeitigem Vorliegen meist aufgetrennt), bei 5'-Substitution zwischen 1.28 und 1.40 ppm und bei 3'-Substitution (an einem 3H-Indol-Isomer) zwischen 0.92 und 0.98 ppm.

6. Alle diese Ergebnisse wurden an den Modellverbindungen und den Derivaten der freien Aminosäuren massenspektrometrisch sowie IR- und UV-spektroskopisch abgesichert.

Eingegangen am 18. Januar 1977,
 ergänzt am 9. Februar 1977 [Z 680]

CAS-Registry-Nummern:

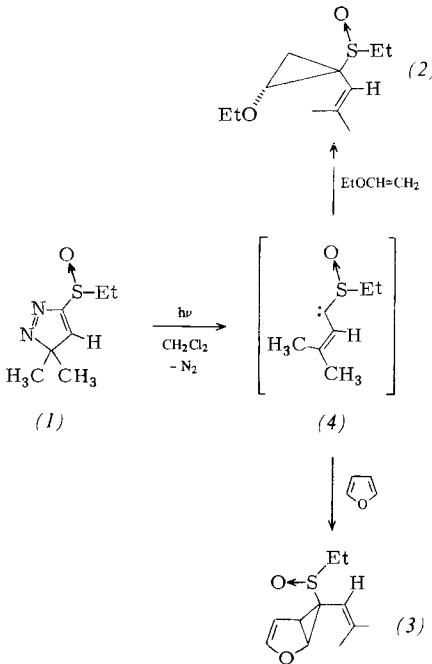
(1): 62029-62-3 / H-Trp(2',5',7'-tris-t-Bu)-OH; 62029-63-4 /
Tryptophan: 6912-86-3

- [1] Y. B. Alakhov, A. A. Kiryushkin, V. Lipkin, Chem. Commun. 1970, 406.
- [2] E. Wünsch, E. Jaeger, M. Deffner, R. Scharf, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 353, 1716 (1972).
- [3] E. Jaeger, S. Knoferl, I. Schmidt, P. Thamm, E. Wünsch in: Abstracts of the 1st USSR-FRG Symposium on Peptide and Protein Chemistry, Dushanbe/Tadzhikistan 1976. Druck: Moskau 1976, S. 4.
- [4] H-Trp(1'-tBu)-OH (1) war bisher im Gegensatz zu anderen 1'-Alkyl- und 1'-Aralkyl-tryptophanen synthetisch nicht zugänglich; S. Yamada, T. Shioiri, T. Itaya, T. Hara, R. Matsueda, Chem. Pharm. Bull. 13, 88 (1965).

Cyclopropene als Vinylcarbenoide: intermolekulare Carben-Additionsreaktionen von Sulfinyl- und Sulfonylcyclopropen bei Raumtemperatur^[**]

Von Michel Franck-Neumann und Jean-Jacques Lohmann^[*]

Der Zusammenhang zwischen Vinylmethylen^[1] und Vinylcarbenen^[2] einerseits und Cyclopropenen andererseits ist in letzter Zeit das Ziel zahlreicher Arbeiten gewesen. Im besonderen scheint die thermische ($>150^{\circ}\text{C}$) oder photolytische Ringöffnung von Cyclopropenen über Vinylcarbene zu verlaufen^[3], die sich aber meistens durch intramolekulare Reaktionen stabilisieren.



Wir haben nun bei Raumtemperatur eine Isomerisierung von Sulfinyl- und Sulfonylcyclopropen zu den entsprechenden Vinylcarbenen feststellen können und gefunden, daß die Carbenformen als intermolekulare Cycloadditionspartner mit nucleophilen Olefinen reagieren. Belichtet^[4] man das Sulfinyl-3H-pyrazol (1)^[5] in Ether oder Methylenchlorid, so entweicht schnell und stöchiometrisch ein Mol Stickstoff. Abziehen des Lösungsmittels bei Raumtemperatur ergibt ein komplexes Gemisch von Produkten. Belichtet man dagegen in Vinylether oder in Furan, so entstehen glatt und stereospezifisch die Produkte (2) bzw. (3).

[*] Prof. Dr. M. Franck-Neumann, Dr. J.-J. Lohmann

Equipe de Recherche Associée au CNRS no 687

Institut de Chimie de l'Université Louis Pasteur

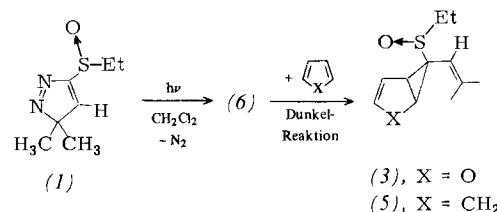
1, rue Blaise Pascal

F-67008 Strasbourg (Frankreich)

[**] Wir danken der Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique (Aide DGRST no 74.7.1449) für die Unterstützung dieser Arbeit.

Die Verbindung (2) isoliert man in Form eines ihrer *E-Z*-Isomere mit 75 % Ausbeute^[6]. IR- und NMR-Spektren des flüssigen Produktes sind mit der vorgeschlagenen Struktur im Einklang^[7]. Die *trans*-Divinylcyclopropan-Verbindung (3) ($\text{Fp} = 76^{\circ}\text{C}$, farblos) läßt sich mit 95 % Ausbeute isolieren^[6]. Zweistündiges Erhitzen auf 90°C übersteht sie fast unverändert. Ihre IR- und NMR-Spektren stimmen mit der angegebenen Struktur überein^[7]. Das NMR-Spektrum enthält insbesondere die für ähnliche Dihydrofuran-Derivate^[8] charakteristischen Signale.

Offenbar entsteht also bei der Photolyse des 3H-Pyrazols (1) das Vinylcarben (4), das sich in Abwesenheit reaktiver Cycloadditionspartner zu einem Cyclopropen cyclisieren sollte.



Um dies mit Hilfe einer Diels-Alder-Absangsreaktion zu prüfen, wurde das 3H-Pyrazol (1) in Methylenchlorid bei -25°C bis zur vollen Stickstoff-Abspaltung belichtet, dann die UV-Bestrahlung ausgeschaltet, und unmittelbar danach die bestrahlte Lösung mit Cyclopentadien versetzt. Nach mehrstündigem Stehen bei 5°C und Abziehen des Lösungsmittels war jedoch kein Diels-Alder-Addukt eines Cyclopropens nachweisbar, sondern neben Polymeren nur das Carben-Additionsprodukt (5) [*trans*-Divinylcyclopropan-Struktur, mit Stabilität, IR- und NMR-Spektren^[7] übereinstimmend], das mit ca. 30 % Ausbeute rein isoliert werden konnte^[6]. Wird der gleiche Versuch mit Furan statt Cyclopentadien ausgeführt, so entsteht wieder nur das Carben-Additionsprodukt (3), und zwar mit fast gleicher Ausbeute wie bei der Belichtung in Furan.

Das hier verantwortliche „Carbenoid“ oder sein Vorläufer besitzt also im angewendeten Temperaturbereich in verdünnter Lösung eine verhältnismäßig lange Lebensdauer, die seine direkte Identifizierung erlaubt: Eine Lösung von (1) in $\text{CCl}_4/\text{DCCl}_3$ wurde bei -30°C bestrahlt und sofort nach Ende der Stickstoff-Abspaltung das 90-MHz-Fourier-NMR-Spektrum aufgenommen. Es zeigt neben den Signalen der Ethylsulfinyl-Gruppe je ein Singulett bei $\delta = 1.33$ (3H), 1.36 (3H) und 8.07 ppm (1H). Dieses Spektrum läßt sich mit der Dimethyl(sulfinyl)cyclopropen-Struktur (6) vereinbaren.

Es gelang uns dann, diese Zwischenstufe auch chemisch zu fassen: Bestrahlt man (1) in Methylenchlorid, versetzt

