

ten reines, elektrophoretisch und dünnstschichtchromatographisch mit authentischen Proben übereinstimmendes Rinderinsulin; Ausbeute 25%. Dies lyophilisierte Rohprodukt hatte im biologischen Lipogenesetest an Fettzellen bereits 52% und im kompetitiven Rezeptorbindungstest 65% Aktivität. Der Zn-Komplex zeigte die charakteristische Kristallform. Nach wiederholter Gel-Chromatographie an Biogel P6 in 1% Essigsäure und Ionenaustausch-Chromatographie an Carboxymethylcellulose war unser semisynthetisches Rinderinsulin in beiden oben genannten Testsystemen biologisch voll aktiv.

Selektiv absplaltbare Schwefelschutzgruppen nur an der Insulin-A-Kette verbessern demnach die Ausbeute der Vereinigung von A- und B-Kette (1:1) gegenüber der statistischen Kombination bereits um mehr als 100%. Die hier geschilderte Strategie wird erst vollkommen wirksam, wenn auch B⁷ Acm- und B¹⁹ Mbzl-geschützt sind und die SH-Gruppen auch dort selektiv freigesetzt werden können.

Eingegangen am 19. März 1979 [Z 240]

- [1] D. V. Goeddel, D. G. Kleid, F. Bolivar, H. L. Heynecker, D. G. Yansura, R. Crea, T. Hirose, A. Krazewski, K. Itakura, A. D. Riggs, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 106 (1979).
- [2] R. E. Humbel, H. R. Bosshard, H. Zahn in D. F. Steiner, N. Freinkel: Handbook of Physiology. Vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore 1972, S. 111ff.
- [3] H.-G. Gattner, Aachen, persönliche Mitteilung 1979.
- [4] Ch. Birr, M. Wengert-Müller, Angew. Chem. 91, 156 (1979); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 18, 147 (1979).
- [5] Schutzgruppen: Acm: Acetamidomethyl; Bu^t: *tert*-Butyl; Ddz: 3,5-Dimethoxy- α,α -dimethyl-benzyloxycarbonyl; Mbzl: 4-Methoxybenzyl; OBu^t: *tert*-Butyloxy; OBzl: Benzyloxy; SBu^t: *tert*-Butylthio.
- [6] Ch. Birr, M. Nassal, R. Pipkorn, Int. J. Pept. Protein Res. 13, 287 (1979).
- [7] Ch. Birr in Y. Wolman: Peptides 1974. Halsted Press, New York 1975, S. 117ff.

Die Bootkonformation von *cyclo*-[L-Pro²-D-Pro]^[**]

Von Jan Willem Bats, Axel Friedrich, Hartmut Fuess, Horst Kessler, Werner Mästle und Manfred Rothe^[*]

Kleine cyclische Peptide sind für Konformationsuntersuchungen besonders geeignet, da die eingeschränkte Molekülbeweglichkeit nur wenige Konformationen zuläßt. Cyclotripeptide können in Lösung außer in der Kronenkonformation mit C₃-Gerüstsymmetrie^[1] auch in einer unsymmetrischen Bootkonformation vorliegen^[2]. Im kristallinen Zustand wurde bisher nur die Kronenkonformation nachgewiesen^[3]. NMR-Untersuchungen und stereochemische Betrachtungen zeigten, daß beide Formen in Lösung immer dann nebeneinander auftreten, wenn das Cyclotripeptid mindestens eine achirale Aminosäure (Sarcosin, *N*-Benzylglycin) enthält^[2]. Besteht es jedoch nur aus chiralen Aminosäuren, so wird die Konformation durch deren Chiralität bestimmt: Drei Aminosäuren gleicher Chiralität erzwingen die Kronenform; bei unterschiedlicher Chiralität sollte dagegen die Bootform ein-

genommen werden. Wir fanden, daß *cyclo*-[L-Pro²-D-Pro]^[4] in Lösung und im Kristall in der Bootkonformation vorliegt.

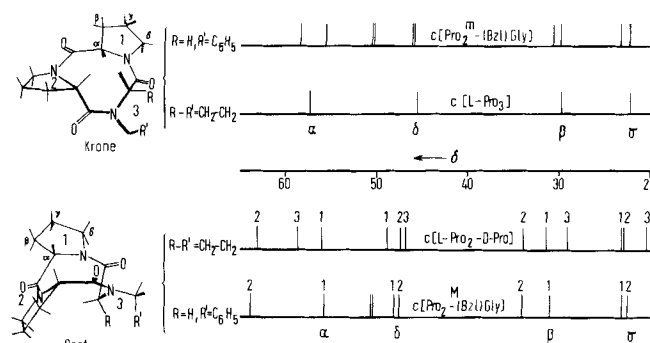


Abb. 1. Korrelation der ¹³C-NMR-Verschiebungen der aliphatischen Prolin-Kohlenstoffatome in cyclischen Tripeptiden.

Die ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren der Titelverbindung zeigen, daß die Umgebung der drei Prolinringe verschieden ist. Die chemischen Verschiebungen der ¹³C-NMR-Signale im aliphatischen Bereich (Abb. 1) sind denen der in Chloroform dominierenden Konformation M von *cyclo*-[L-Pro²-(Bzl)Gly], für die die Bootform bewiesen wurde^[2a,5], sehr ähnlich. Charakteristisch ist der Unterschied zu den Spektren von *cyclo*-[L-Pro³]^[6] und *cyclo*-[L-Pro²-(Bzl)Gly] (m-Form)^[2a]; diese Peptide nehmen die Kronenkonformation ein.

Die Signale von C_α und C_β des Prolinrings 2 (Abb. 1) sind durch den für Prolinpeptide ungewöhnlichen Winkel ψ an Pro² (siehe Tabelle 1) zu tiefem Feld verschoben. Im 270MHz-¹H-NMR-Spektrum in CDCl₃ erscheinen die α-Protonen als zwei Triplets bei δ=4.47 (Ring 1) und 4.72 (Ring 2) sowie als Dublett bei δ=4.70 (Ring 3)^[7]. Die Kopplungskonstanten zu den β-Protonen entsprechen völlig den Werten, die man nach dem Spektrum von *cyclo*-[Pro²-(Bzl)Gly] und aus Modellbetrachtungen erwartet: Pro¹: J₁₂ ≈ J₁₃ ≈ 7.2 Hz; Pro²: J₁₂ ≈ J₁₃ ≈ 7.4 Hz; Pro³: J₁₂ ≈ 1.4 Hz, J₁₃ ≈ 6.4 Hz.

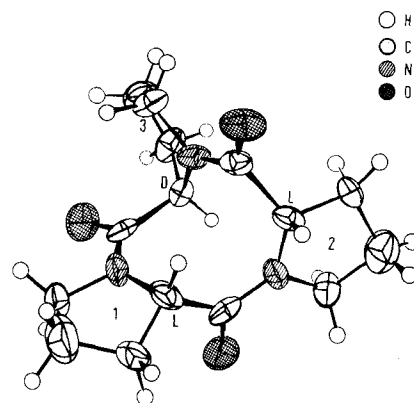


Abb. 2. Struktur von kristallinem *cyclo*-[L-Pro¹-L-Pro²-D-Pro³].

Die Titelverbindung kristallisiert aus Ether in der orthorhombischen Raumgruppe P2₁2₁2₁ mit zwei unabhängigen Molekülen in der asymmetrischen Einheit. Die Röntgen-Strukturanalyse ergab auch im kristallinen Zustand die Bootkonformation für beide Moleküle^[3c]. Eines der beiden Moleküle ist in Abbildung 2 dargestellt. Das zweite Molekül weicht nur unwesentlich davon ab. Die Konformationswinkel sind in Tabelle 1 mit denen von *cyclo*-[L-Pro-(Bzl)Gly₂]

[*] Prof. Dr. H. Fuess, Dr. J. W. Bats
Institut für Kristallographie der Universität
Senckenberganlage 30, D-6000 Frankfurt am Main 1
Prof. Dr. H. Kessler [*], Dipl.-Chem. A. Friedrich
Institut für Organische Chemie der Universität
Niederurseler Hang, D-6000 Frankfurt am Main 50
Prof. Dr. M. Rothe, Dipl.-Chem. W. Mästle
Lehrstuhl Organische Chemie II der Universität
Oberer Eselsberg, D-7900 Ulm

[[†]] Korrespondenzautor.

[**] Peptidkonformationen, 7. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. Die Rechnungen wurden am Hochschulrechenzentrum der Universität Frankfurt durchgeführt. – 6. Mitteilung: H. Kessler, P. Kondor, Chem. Ber., im Druck.

verglichen, das die Kronenkonformation einnimmt, wenn es aus Methanol kristallisiert wird. Die entsprechenden Werte in den früher untersuchten „Kronen“ sind ähnlich^[3a,3b].

Tabelle 1. Konformationswinkel [°] in cyclischen Tripeptiden [a].

	<i>cyclo</i> -[L-Pro-(Bzl)Gly] ₂ [3c]			<i>cyclo</i> -[L-Pro ₂ -D-Pro] Molekül A						Molekül B		
φ	-95	+103	-104	-45	-52	104	-47	-50	108			
ψ	95	96	88	107	-21	-56	109	-20	-48			
ω	0	9	6	-12	6	3	-17	7	-8			
θ	93	80	82	131	137	-77	120	133	-89			
θ-ω	188	183	186	176	189	-181	167	183	-197			

[a] Definition der Winkel nach [8]; φ=C' C_α N C; ψ=N C_α C' N'; ω=C_α C' N C_α; θ=C_δ N C_α C'.

Überraschend war der Befund, daß die Kristallstruktur von der „idealen“ Bootkonformation (Abb. 1) abweicht, wie sie sich aus dem Molekülmodell ergibt: Die sterische Hinderung zwischen den C_α-Protonen von Pro¹ und Pro² sowie zwischen dem C_α-Proton von Pro³ und der Peptidbindung Pro¹—Pro² (Abb. 2) wird durch Vertwistung des Bootes vermindert, die im Dreiding-Modell allerdings zu einer gewissen Ringspannung führt. Die aus Modellbetrachtungen erhaltenen Konformationswinkel für die „ideale“ Boot- und für die Twist-Form sind in Tabelle 2 den Röntgenstrukturdaten gegenübergestellt. Demnach liegt die Konformation im Kristall zwischen den beiden idealisierten Modellen.

Tabelle 2. Vergleich der Konformationswinkel φ und ψ [°] im Kristall (Röntgen-Strukturanalyse) und in Modellen.

	Pro	Boot [a]	Kristall [b]	Twist-Boot [a]
φ {	1	-33	-45	-70
	2	-85	-52	-20
	3	+100	+104	+105
ψ {	1	+100	+107	+110
	2	+20	-21	-50
	3	-95	-56	-55

[a] Fehler ±5°. [b] Fehler ±2°.

Bemerkenswert ist ferner an der Kristallstruktur, daß die Abweichungen der Peptidbindungen von der Planarität (ω=0, θ-φ=180°; vgl. Tabelle 1) nur relativ gering sind und daß sich die sechs Prolinringe in den beiden Molekülen des Kristalls unterscheiden: Nur einer besitzt die Twist-, fünf dagegen die „Briefumschlag“-Konformation^[3]. Diese Strukturen sind wahrscheinlich nur durch geringe Energien voneinander getrennt. Dies zeigt sich einerseits in der Verschiedenheit der Prolinringkonformationen, die offenbar schon durch Packungseffekte im Kristall verursacht werden kann, und andererseits in den großen Werten der thermischen Parameter für die β- und γ-C-Atome der Prolinringe 1 und 2 (Abb. 2). Wir fanden, daß sich die Größe der Ellipsoide sehr gut mit den Relaxationsparametern NT_i der entsprechenden ¹³C-Kerne in der Titelverbindung korrelieren läßt^[9], was auf ähnliche Beweglichkeiten im festen und gelösten Zustand hinweist.

Eingegangen am 19. März 1979,
ergänzt am 26. März 1979 [Z 236]

CAS-Registry-Nummern:

cyclo-[L-Pro₃]: 2277-82-9 / *cyclo*-[L-Pro₂-L-Hyp]: 52107-30-9 / *cyclo*-[L-Pro-(Bzl)Gly]₂: 70493-40-2 / *cyclo*-[L-Pro₂-D-Pro]: 67152-52-7 / *cyclo*-[L-Pro₂-(Bzl)Gly]: 67152-53-8.

[1] C. M. Deber, D. A. Torchia, E. R. Blout, J. Am. Chem. Soc. 93, 4893 (1971).

[2] a) H. Kessler, P. Kondor, G. Krack, P. Krämer, J. Am. Chem. Soc. 100, 2548 (1978); b) H. Kessler, G. Krack, P. Krämer in J. Z. Siemion, G. Kupryszewski:

Peptides 1978. Proc. 15th Europ. Peptide Symposium Gdansk, Wrocław.

[3] Röntgen-Strukturbestimmungen: *cyclo*-[L-Pro₃] [3a, b], *cyclo*-[L-Pro₂-L-Hyp] [3b] und *cyclo*-[L-Pro-(Bzl)Gly]₂ [3c]; a) G. Kartha, G. Ambady, Acta Crystallogr. B 31, 2035 (1975); b) M. E. Drayan, C. L. Coulter, R. Walter, G. Kartha, G. K. Ambady, J. Am. Chem. Soc. 98, 5496 (1976); c) J. W. Bats, H. Fuess, noch unveröffentlicht.

[4] W. Mästle, M. Rothe in J. Z. Siemion, G. Kupryszewski: Peptides 1978. Proc. 15th Europ. Peptide Symposium Gdansk, Wrocław.

[5] In *cyclo*-[L-Pro₂-(Bzl)Gly] kann Benzylglycin aus sterischen Gründen nur die dem Prolinring 3 entsprechende Position einnehmen.

[6] R. Deslauriers, M. Rothe, I. C. P. Smith in J. Meienhofer, R. Walter: Peptides. Proc. 4th Amer. Peptide Symposium, New York, Ann Arbor Science Publ., Ann Arbor 1975.

[7] Durch Benzolzusatz wird das komplexe ¹H-NMR-Spinsystem dreier sich überlagernder 7-Spin-Systeme so weit aufgelöst, daß eine Bestimmung der einzelnen Spinsysteme durch Entkopplungsexperimente möglich wird. Selektive stufenweise ¹H-Entkopplung führt auch zur Korrelation der ¹H-Spinsysteme mit den entsprechenden ¹³C-NMR-Signalen. Die Zuordnung zu den drei Prolinringen erfolgt aufgrund des Fehlens von Pro³ in M (Abb. 1), durch die charakteristischen C_α- und C_β-Verschiebungen für Pro² und durch die ¹H-NMR-Kopplungskonstanten.

[8] IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, J. Mol. Biol. 52, 1 (1970).

[9] H. Kessler, A. Friedrich, unveröffentlicht.

Verwendung von biogenetischen Schlüsselverbindungen zur biomimetischen Synthese von Naturstoffen: (S)-Elenolid aus Secologanin^[*]

Von Lutz-F. Tietze und Horst C. Uzar^[1]

Biogenetische Schlüsselverbindungen sind hervorragende Ausgangssubstanzen zur biomimetischen Synthese von Naturstoffen und deren Analoga, da sie in wenigen Stufen zu enantiomer-reinen Produkten umgesetzt werden können. Besonders interessant ist die Verwendung des Monoterpenglycosids Secologanin (1), aus dem in vivo mehr als 1000 Alkaloide mit zum Teil hoher biologischer Aktivität sowie andere Monoterpene entstehen^[1]. Im folgenden beschreiben wir eine Dreistufen-Synthese von (S)-Elenolid (2) aus Secologanin (1).

Elenolid (2) wurde gemeinsam mit dem Secologanin-Abkömmling Oleuropein aus *Olea europea* L. isoliert^[2]; man kann daher annehmen, daß sich auch (2) in dieser Pflanze aus (1) bildet^[3]. Wir untersuchten deshalb die Produkte der enzymatischen Spaltung der Glycosidbindung in (1). Aus dem primär gebildeten Bicyclus (3) erhielten wir durch sauer katalysierte Umlagerung (Ether/HCl, 72 h, 53% Ausbeute) das Halbacetal (4) mit E-Konfiguration der exocyclischen Doppelbindung^[4]. Oxidation von (4) mit Pyridiniumchlorochromat in Gegenwart von Natriumacetat^[5] lieferte mit 85% Ausbeute Elenolid (2)^[6] [CH₂Cl₂, 20°C, 90 min; R_F=0.31 (Silicagel/Ether), Fp=156°C (155–156°C^[12]) und mit 5% Ausbeute über das Halbacetal (5) das Lacton (6)^[6] (R_F=0.38).

Aus dem NMR-Signal des Aldehydprotons von (2) bei δ=9.20 leiten wir für die exocyclische Doppelbindung die E-Konfiguration ab (Z-Konfiguration siehe ^[12,7]). Durch Synthese von (2) aus (1) mit bekannter absoluter Konfiguration ergibt sich für das Chiralitätszentrum von (2) die S-Konfiguration.

Die Oxidation von (4) ohne Zusatz von Natriumacetat erfordert 9 h, und man erhält zusätzlich zu (2) (28% Ausbeute) und (6) (16%) das Keton (7)^[6] (11%, R_F=0.26) und das Trioxadamantan (8)^[6,8] (1.2%, R_F=0.54). Die Bildung von (7) läßt sich durch Oxidation eines durch Säure-Katalyse aus (5)

[*] Prof. Dr. L.-F. Tietze, Dipl.-Chem. H. C. Uzar
Organisch-chemisches Institut der Universität
Tammannstraße 2, D-3400 Göttingen

[**] Iridoide, 11. Mitteilung. Die Arbeit wurde vom Ministerium für Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. – 10. Mitteilung: L.-F. Tietze, P. Marx, Chem. Ber. 111, 2441 (1978).