

weils 2.0 Moläquivalenten *n*BuLi in Ether bei 20°C an beiden Brückenköpfen zu den „Dianionen“ 1c–6c metallieren^[11]. Die Aufarbeitung der entstandenen Suspensionen mit Deuteriumoxid bzw. Chlor(trimethyl)silan führte zu 1d–6d bzw. 1e–6e. Die Daten von Tabelle 1 zeigen, daß hohe Dilithierungsgrade in kurzer Zeit bei den Bicyclobutanen erzielt wurden, die sp²-hybridisierte Kohlenstoffatome in der *endo-endo*-anellierten Brücke tragen oder/und über kleine Winkel zwischen den Dreiringflächen des Bicyclobutanteils verfügen.

Tabelle 1. Grad der doppelten Deuterierung [12] und Silylierung der Bicyclobutane 1a–6a als Maß für die Lithierbarkeit beider Brückenköpfe mit 2.0 Moläquiv. *n*BuLi in Ether bei 20°C.

Edukt	Dideuterierungsgrad [a] [%]	Disilylierungsgrad [b] [%]	t
1a	15	15	3 d
2a	95	30	3 d
3a	100	55	1 d
4a	— [c]	21 [d]	2 h
5a	100	70	1 h
6a	95	53	3 d

[a] ¹H-NMR-spektroskopisch. [b] Am isolierten Produkt bestimmt. [c] Der Anteil an 4d konnte wegen Signalüberlagerung nicht ermittelt werden. [d] In Konkurrenz zur Zweitmetallierung lagert 4b in Phenyllithium um.

Die ¹H- und besonders die ¹³C-NMR-Spektren der „Dianionen“^[13] zeigen ungewöhnlich breite, unstrukturierte Banden. Nur für 5c gelang die Zuordnung aller Signale^[14]. Die Ursache der drastischen Linienverbreiterung sehen wir in intermolekularer Vernetzung. Größere Beiträge zur Halbhöhenbreite (*W*_{1/2}) durch dynamische Effekte oder durch Spin-Spin-Kopplung sind unwahrscheinlich. So veränderten sich die *W*_{1/2}-Werte^[14] weder bei Temperatur (–50°C bis +70°C) und Konzentrationsvariation (0.4 bis 2.2 M) noch bei Verwendung des ⁶Li-Isotops signifikant. Eine Desaggregation der vernetzten Strukturen durch Zugabe von bis zu zehn Moläquivalenten verschiedener Donoren zu Lösungen von 5c in THF oder Ether gelang nicht^[15]. 5c ist in Lösung bei Raumtemperatur mehrere Tage haltbar.

Eingegangen am 10. Dezember 1984,
in veränderter Fassung am 19. Februar 1985 [Z 1106]

- [1] L. D. McKeever, R. Waack, M. A. Doran, E. B. Baker, *J. Am. Chem. Soc.* 90 (1968) 3244; S. Bywater, P. Lachance, D. J. Worsfold, *J. Phys. Chem.* 79 (1975) 2148; F. Wehrli, *J. Magn. Reson.* 30 (1978) 193.
- [2] a) G. Fraenkel, P. Pramanik, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1983, 1527, zit. Lit.; b) D. Seebach, R. Hässig, J. Gabriel, *Helv. Chim. Acta* 66 (1983) 308, zit. Lit.
- [3] Zum Assoziationsverhalten lithiumorganischer Verbindungen siehe z. B.: T. L. Brown, *Pure Appl. Chem.* 23 (1970) 447; J. P. Oliver, *Adv. Organomet. Chem.* 15 (1977) 235; J. L. Wardell in G. Wilkinson, F. G. A. Stone, E. W. Abel: *Comprehensive Organometallic Chemistry*, Vol. 1, Pergamon Press, Oxford, 1982, S. 43.
- [4] 1,2-Dilithioethan wird als Zwischenstufe angenommen: V. Rautenstrauch, *Angew. Chem.* 87 (1975) 254; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 14 (1975) 259. Nicht gesichert erscheint uns die Synthese von 1,2-Dilithioethan aus Lithium und Ethylen (Ausb. 27–30%) bzw. Lithium und 1,2-Dihalogenethanen (Ausb. 6–9%): H. Kuus, *Uch. Zap. Tartu Gos. Univ.* 193 (1966) 130 (*Chem. Abstr.* 69 (1968) 67443 q); *Tartu Riikliku Ulik. Toim.* 219 (1968) 245 (*Chem. Abstr.* 71 (1969) 49155 j).
- [5] Achtung: Ungelöstes 4b neigt zu explosionsartiger Zersetzung!
- [6] Wir erhielten keine Hinweise auf Diastereomergemische.
- [7] R. P. Zerger, G. D. Stucky, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1973, 44.
- [8] 3c wurde bereits nachgewiesen: I. Murata, T. Nakazawa, M. Kato, T. Tatsuoka, Y. Sugihara, *Tetrahedron Lett.* 1975, 1647.
- [9] Siehe z. B.: J. W. Seetz, G. Schat, O. S. Akkerman, F. Bickelhaupt, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 6848; P. von R. Schleyer, A. J. Kos, E. Kaufmann, *ibid.* 105 (1983) 7617.
- [10] B. Bogdanović, B. Wernecke, *Angew. Chem.* 93 (1981) 691; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 684.

- [11] Nach Streitwiesers „Ionen-Triplett-Modell“ sind gerade nahe beieinander liegende Dianionenladungen durch zwei einwertige Kationen gut stabilisiert: A. Streitwieser, Jr., *Acc. Chem. Res.* 17 (1984) 353.
- [12] Wir fanden, daß Deuteriolyse nicht immer zum quantitativen Nachweis von Bicyclobutan-Dianionen ausreicht. Versetzt man 5a mit mehr als zwei Moläquiv. *n*BuLi bei –30°C in Ether, bildete sich laut ¹H-NMR-Spektrum quantitativ 5b, aber kein 5c. Trotzdem erhielt man nach der Zugabe dieser Mischung zu zehnfach überschüssigem Deuteriumoxid bis zu 60% 5d.
- [13] Hergestellt mit exakt (!) 2.0 Moläquiv. *n*BuLi.
- [14] ¹H-NMR ([D₈]THF, *W*_{1/2}-Werte (±15%) in Hz in Klammern; Standard: TMS int.): δ = 0.59 (28; 2 H, 2-H, 5-H), 5.94 (22; 4 H, arom. H); ¹³C-NMR (Ether/[D₆]Benzol): δ (±1 ppm) = 43 (130; C-2; C-5), 84 (> 190; C-1; C-6), 116, 122 (30; arom. C); 158 (50; C-3; C-4).
- [15] Bis(dimethylamino)ethan, [12]Krone-4, Hexamethylphosphorsäuretriäthylamid (–60°C), *n*BuLi, Kalium-*tert*-butylalkoholat und Dimethoxyethan.

Photosignal II als Indikator für Waldschäden – EPR-spektroskopische Untersuchung von Fichtennadeln**

Von Hartmut B. Stegmann*, Hans J. Ruff und Klaus Scheffler

Die EPR-Spektroskopie ist eine sehr empfindliche und selektive Methode zum Nachweis paramagnetischer Spezies. Aus diesem Grunde haben wir versucht zu klären, ob die viel diskutierten Schadstoffe SO₂ und NO_x einen Einfluß auf den photosynthetischen Apparat ausüben und ob diese Einflüsse EPR-spektroskopisch nachgewiesen werden können. Zwar wurde schon auf die Beziehung zwischen Photosynthese und Baumsterben verwiesen^[1], EPR-Untersuchungen, die sehr empfindlich Störungen in den Elektronentransportketten anzeigen könnten, sind jedoch nicht bekannt.

Es wurden ganze, äußerlich unversehrte Nadeln von 20 Fichten (*Picea abies* L.) verschiedenen Alters und unterschiedlicher Standorte der näheren Umgebung Tübingens (Schönbuch, Rammert, Alb) studiert. Die EPR-Spektren von Fichtennadeln, die ohne jegliche Vorbehandlung im Dunkeln untersucht wurden, zeigen im wesentlichen zwei Typen von Signalen. Etwa 50% aller untersuchten Proben lassen ein intensives, relativ gut aufgelöstes Sechslinien-Spektrum erkennen, das ohne weiteres Mn²⁺ zugeordnet werden kann. Welche Faktoren für die stark unterschiedlichen Mn-Konzentrationen verantwortlich sind, ist noch unklar. Die weiteren Untersuchungen wurden an Nadeln durchgeführt, die sehr wenig Mn²⁺ enthielten. Unabhängig vom Mangengehalt werden bei allen Proben Absorptionen bei *g* = 2.005 gefunden, die über einen Bereich von ±15 G eine signifikante Struktur aufweisen (vgl. Abb. 1).

Nadeln von Bäumen, die nach herkömmlichen, subjektiven Kriterien der Schadensstufe^[2] S 0 zugeordnet werden, lassen Signale bei *g* = 2.0089 bzw. *g* = 2.0100, *g* = 2.0055, *g* = 2.0046, *g* = 2.0004 und *g* = 1.9964 erkennen (vgl. Abb. 1 bzw. Abb. 2, jeweils Spektrum a)). Demgegenüber zeigen Nadeln von Bäumen, die der Schadensstufe S 3 zugeordnet werden, ein völlig anderes EPR-Signal (vgl. Abb. 1, Spektrum b)).

* Prof. Dr. H. B. Stegmann, Prof. Dr. K. Scheffler
Institut für Organische Chemie der Universität
Auf der Morgenstelle 18, D-7400 Tübingen
Dipl.-Ing. (F. H.) H. J. Ruff
Forstdirektion Tübingen, Schloß Bebenhausen
D-7400 Bebenhausen bei Tübingen

** Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.

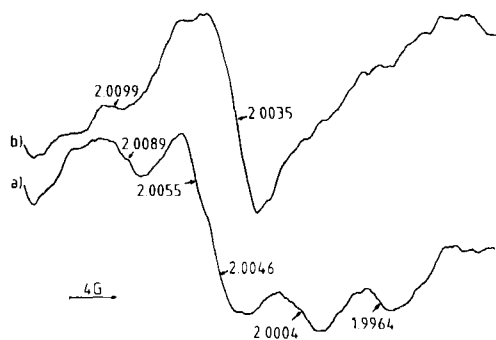


Abb. 1. EPR-Spektrum verschiedener Fichtennadeln in der $g=2.005$ -Region. Die Proben wurden im Oktober und November 1984 entnommen. Die Signale werden mit einem Varian-E-Line-Spektrometer verbunden mit einem Bruker-Datensystem ER 140 durch Akkumulation von 50 Scans unter Verwendung eines FF-Locks gewonnen (5 mW Mikrowellenenergie; Modulation 1 G). Spektrum a): Baum 17 (S 0); Spektrum b): Baum 15 (S 3).

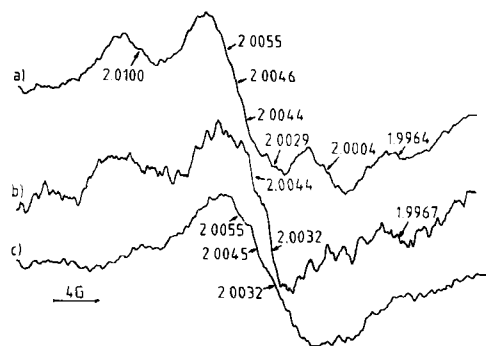


Abb. 2. EPR-Spektren verschiedener Fichtennadeln in der $g=2.005$ -Region (experimentelle Bedingungen wie in Abb. 1). Spektrum a): Baum ST (S 0); Spektrum b): Baum 16 (S 3); Spektrum c): Baum ST nach Einwirkung von NO_x . Die Konzentration von NO_x wurde bei diesem orientierenden Versuch so groß gewählt, um durch kurze Reaktionszeiten Alterungsprozesse zu unterdrücken.

Im wesentlichen besteht das Spektrum b) von Abbildung 1 nur noch aus einer Komponente bei $g=2.0035$, die in a) völlig fehlt. Unterschiede des Standorts scheinen für die EPR-Signale der Nadeln ungeschädigter Bäume von untergeordneter Bedeutung zu sein, da jeweils die Spektren a) in den Abbildungen 1 und 2 praktisch gleich sind. Bei Nadeln geschädigter Bäume werden jedoch Unterschiede gefunden, die eine Differenzierung nach objektiven Kriterien und damit auch eine Früherkennung von Schäden ermöglichen könnten. So ist z. B. im Spektrum b) der Abbildung 2 deutlich noch das Signal bei $g=2.0044$ zu erkennen, obwohl die Komponente bei $g=2.0032$ die Hauptabsorption ist.

Werden Fichtennadeln ungeschädigter Bäume etwa 2 h unter Lichteinwirkung einer Atmosphäre, die 10^{-4} mol/L NO_x enthält, ausgesetzt, so ändert sich das EPR-Spektrum maßgeblich (vgl. Spektrum c) in Abb. 2). Das Signal bei $g=2.0100$ ist praktisch vollständig verschwunden, und die $g=2.0055$ -Komponente hat an Intensität verloren, während die Absorptionen bei $g<2.0032$ an Bedeutung gewonnen haben; Spektrum c) ist also Spektrum b) ähnlicher als Spektrum a), das unmittelbar vor der Behandlung mit NO_x registriert wurde. Bei gleichzeitiger Einwirkung von NO_x und SO_2 werden vergleichbare Spektren erhalten.

Die Befunde bedeuten nicht, daß nur NO_x und SO_2 die Elektronentransportkette schädigen. Wahrscheinlich können auch andere Schadstoffe wie Ozon, Photooxidantien etc. ähnlich wirken. Untersuchungen von Fichtennadeln

aus Reinluftgebieten sollten weiteren Aufschluß geben. Einwirkung wäßriger Säuren, z. B. Schwefliger Säure ($\text{pH}=1$), führt auch nach Stunden zu keiner Veränderung des EPR-Signals, so daß die Schädigung der Nadeln offenbar bevorzugt über die Gasphase stattfindet.

Die EPR-Spektren, die wir von Fichtennadeln ungeschädigter Bäume registriert haben, entsprechen weitgehend den Signalen, die an isolierten Chloroplasten gefunden wurden und als „Signal II slow“ bezeichnet wurden^[3]. Während die Chloroplasten-Signale stark vom Präparationsverfahren abhängen, werden bei der Untersuchung ganzer gesunder Fichtennadeln nur geringe Unterschiede bei den einzelnen Proben beobachtet. Jahreszeitliche Schwankungen dieser Signale sind nicht bekannt. Was die Zuordnung des Signals II (S II) innerhalb des pflanzlichen Photosyntheseprozesses angeht, so kann heute davon ausgegangen werden, daß es in engem Zusammenhang mit den Wasserspaltungsreaktionen des Photosystems 2 steht^[3]. Wesentlich weniger ist über die chemische Struktur der für S II verantwortlichen Radikale bekannt. Während einige Autoren eine Beteiligung mehrerer Spezies annehmen^[4], neigen andere zu einheitlichen Redox-Systemen vom Typ der Plastosemichinone^[5], wobei die Struktur von S II auf nicht aufgelöste Hyperfeinstruktur zurückgeführt wird. Wir können uns dieser Ansicht nicht anschließen, weil die Differenzspektren (hell-dunkel) einen Anstieg der Signale bei $g=2.0055$ und $g=2.0046$ bei Belichtung anzeigen. Unsere Ergebnisse sprechen dafür, daß NO_x und SO_2 die verschiedenen paramagnetischen Spezies, die für S II verantwortlich sind, unterschiedlich beeinflussen. Bei massiven Schädigungen, die nicht ausschließlich auf NO_x und SO_2 zurückgeführt werden müssen, wird praktisch nur noch „ein“ Signal mit $g=2.0035$ beobachtet. Ähnliche Absorptionen wurden im Zusammenhang mit dem Photosystem 2 beschrieben^[6].

Eingegangen am 21. Dezember 1984,
in veränderter Fassung am 1. März 1985 [Z 1118]

- [1] Vgl. z. B.: H. K. Lichtenthaler, C. Buschmann in C. Sybesma: *Advances in Photosynthesis Research*, Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Den Haag 1984; *Allg. Forstz.* 39 (1984) 12, zit. Lit.
- [2] W. Schöpfer, J. Hradetzky, *Mitt. Forstl. Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg* 107 (1984) 31.
- [3] A. J. Hoff, *Phys. Rep.* 54 (1979) 75, zit. Lit.
- [4] N. N. Nishi, A. J. Hoff, J. Schmidt, J. H. Van der Waals, *Chem. Phys. Lett.* 58 (1978) 164.
- [5] P. J. O'Malley, G. T. Babcock, *Biochim. Biophys. Acta* 765 (1984) 370; P. J. O'Malley, G. T. Babcock, R. Prince, *ibid.* 766 (1984) 283.
- [6] F. K. Fong: *Light Reaction Path of Photosynthesis*, Springer, Berlin 1982.

Sequenzierung von kleinen Peptiden durch FAB-Massenspektrometrie – Informationserhöhung durch Derivatisierung

Von Dieter Renner und Gerhard Spiteller*

1981 erkannten Barber et al.^[1], daß stark polare Verbindungen wie Peptide, die sich wegen ihrer Nichtflüchtigkeit nicht durch Elektronenstoß-Massenspektrometrie untersuchen lassen, bei „Beschuß mit schnellen Atomen“ (fast atom bombardment, „FAB“) ionisiert werden. Die so erhaltenen FAB-Massenspektren zeigen bei Registrierung positiver bzw. negativer Ionen im wesentlichen die Massen von Ionen, die durch Protonierung bzw. Deprotonierung

[*] Prof. Dr. G. Spiteller, Dipl.-Chem. D. Renner
Lehrstuhl für Organische Chemie I der Universität
Postfach 3008, D-8580 Bayreuth