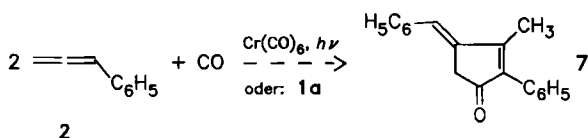


Allen 2 unter [3+2]-Cycloaddition und Abspaltung von CO zu einem carbocyclischen Fünfring 6. Dabei wandert der Carbonylchrest zur Phenylgruppe des ursprünglichen Carbenliganden. Die Addition verläuft regiospezifisch und führt unter Verlust dreier Chiralitätszentren (!) der Liganden von 4a und 5a zum gleichen Produkt 6, das kein Chiralitätszentrum, sondern eine Spiegelebene aufweist, wie die  $^1\text{H-NMR}$ - (300 MHz) und  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren (75 MHz) zeigen (Tabelle 1).

In der Reaktionssequenz  $1a \rightarrow (4a + 5a) \rightarrow 6$  verliert der  $(\text{CO})_5\text{Cr}$ -Rest sukzessive insgesamt zwei Äquivalente CO. Interessanterweise werden diese in einer Parallelreaktion verbraucht: Aus zwei Äquivalenten 2 und einem Äquivalent CO entsteht in einer templatgesteuerten [2+2+1]-Cycloaddition das 4-Methylen-cyclopentenon 7. Der Carbenkomplex 1a scheint diese Reaktion *thermisch* zu katalysieren. Die Bildung von 7 aus 2 läßt sich jedoch auch *photochemisch* mit  $\text{Cr}(\text{CO})_6$  induzieren.



#### Arbeitsvorschrift

Synthese von 4a, 5a, 6 und 7: 326 mg (1.00 mmol) 1a werden mit 348 mg (3 mmol) 2 in einem verschraubbaren Glasgefäß in 5 mL wasserfreiem Toluol unter Luftausschluß 2 h auf 45°C erwärmt. Nachdem 1a verbraucht ist (DC-Test), wird eingedampft, in 2 mL Toluol aufgenommen und an Kieselgel chromatographiert. Man eluiert mit Petrolether/Dichlormethan (10:1) eine blaßgelbe Zone ( $R_f=0.7$ ) mit 4a und 5a (250 mg, 60% bezogen auf 1a, Produktverhältnis 3:1). Aus Petrolether bei -78°C läßt sich daraus 5a in gelben Kristallen,  $\text{Fp}=93.5^\circ\text{C}$ , abscheiden. Mit Petrolether/Dichlormethan (4:1) wird anschließend eine gelbe Zone ( $R_f=0.5$ ) mit 6 eluiert (80 mg, 16% bezogen auf 1a,  $\text{Fp}=174^\circ\text{C}$ , aus Petrolether bei -78°C). Mit zunehmender Reaktionszeit steigt der Anteil an 6 auf Kosten des Anteils von 4a und 5a. Schließlich eluiert man mit Dichlormethan eine farblose Fraktion ( $R_f=0.5$ ) mit 7 (200 mg, 77% bezogen auf 1a,  $\text{Fp}=154.5^\circ\text{C}$ , aus Ether).

1b bzw. 1c werden analog 8 h bei 20°C bzw. 6 h bei 80°C umgesetzt. Spektroskopische Daten siehe Tabelle 1.

Eingegangen am 17. Dezember 1986,  
veränderte Fassung am 26. Januar 1987 [Z 2014]

## Sequentielle Konfigurationsanalyse von Peptiden\*\*

Von Thomas Bolte, Dahai Yu, Hans-Thomas Stüwe und Wilfried A. König\*

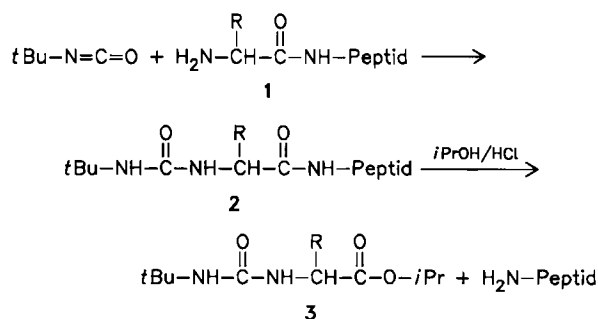
Professor Ernst Bayer zum 60. Geburtstag gewidmet

Die stereochemische Einheitlichkeit ist ein wichtiges Reinheitskriterium synthetischer Peptidwirkstoffe. Partielle Racemisierung läßt sich zwar zuverlässig durch Kapillar-Gaschromatographie an chiralen Trennphasen wie Chirasil-val<sup>[1]</sup> oder XE-60-L-Valin-(S)- $\alpha$ -phenylethylamid<sup>[2]</sup> nachweisen und quantifizieren; jedoch werden dabei für die einzelnen Aminosäuren nur summarische Werte erhalten.

Für den Fall, daß die gleiche Aminosäure mehrfach in der Peptidsequenz auftritt, wäre eine Bestimmung des Racemisierungsgrades in Abhängigkeit von der Position wünschenswert. Erst dann ist eine gezielte Modifizierung der Kupplungs- und/oder Schutzgruppenstrategie – mit der Absicht, die Racemisierung zu unterdrücken – möglich.

Diese Frage ließe sich klären, wenn die durch Edman-Abbau erhaltenen Phenylthiohydantoine (PTH-Derivate) auch auf ihre Enantiomerenreinheit hin überprüft werden könnten. Davies und Mohammed<sup>[3]</sup> konnten unter Verwendung chiraler Isothiocyanate zeigen, daß die Abspaltung der Thiocarbamoyl-aminosäuren und deren Cyclisierung zu den Dihydrothiazolonen nicht racemisierungsfrei abläuft, da ein Gleichgewicht mit einer quasi-aromatischen, nicht chiralen tautomeren Form besteht. Mit chiralen Isocyanaten<sup>[4]</sup> konnte die Racemisierung zwar weitgehend unterdrückt werden, die Ausbeute an diastereomeren Hydantoinen war jedoch unbefriedigend und deren HPLC-Trennung unvollständig.

Gaschromatographisch gut trennbar sind dagegen Alkylcarbamoyl-aminosäureester<sup>[5]</sup>. Auf dieser Grundlage haben wir ein Verfahren ausgearbeitet, das es ermöglicht, die Aminosäuren eines linearen Peptids unter Erhaltung der Konfiguration sequentiell vom N-Terminus her abzubauen (Schema 1). Dazu wird das Peptid 1 (0.5–1 mg) mit *tert*-Butylisocyanat und Pyridin (3:5, 30°C, 45 min) zum *tert*-Butylcarbamoyl-peptid 2 umgesetzt und anschließend mit einer Lösung von Chlorwasserstoff in Isopropylalkohol (1.0 N, 100°C, 30 min) behandelt. Die N-terminale Aminosäure wird dabei als *tert*-Butylcarbamoyl-aminosäure-isopropylester 3 abgespalten. Nach Extraktion von 3 mit Chloroform können die Enantiomerenanteile durch enantioselektive Gaschromatographie sehr exakt bestimmt werden ( $\alpha$ -Werte 1.07–1.11 an einer 25-m-Glaskapillare mit XE-60-L-Valin-(S)- $\alpha$ -phenylethylamid).



Schema 1. Reaktionsbedingungen siehe Text.

[\*] Prof. Dr. W. A. König, T. Bolte, D. Yu, H.-T. Stüwe  
Institut für Organische Chemie der Universität  
Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert.

- [1] T. L. Gilchrist, R. C. Storr: *Organic Reactions and Orbital Symmetry*, 2. Aufl., Cambridge University Press, London 1979; G. Boche, D. Martens, *Angew. Chem.* 84 (1972) 768; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 11 (1972) 724; T. Kauffmann, *Top. Curr. Chem.* 92 (1980) 109; G. F. Luteri, W. T. Ford, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 5330; G. W. Klumpp, R. F. Schmitz, *Tetrahedron Lett.* 1974, 2911.
- [2] P. Binger, M. Cetinkaya, M. J. Doyle, A. Germer, U. Schuchardt in M. Tsutsui, R. Ugo (Hrsg.): *Fundamental Research in Homogeneous Catalysis*, Vol. 3, Plenum Press, New York 1979, S. 271; P. Binger, H. M. Büch, *Top. Curr. Chem.* 135 (1987) 77.
- [3] B. M. Trost, *Angew. Chem.* 98 (1986) 1; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 25 (1986) 1, zit. Lit.
- [4] R. Aumann, H. Heinen, *Chem. Ber.* 120 (1987), im Druck.
- [5] R. Aumann, H. Heinen, *Chem. Ber.* 118 (1985) 4186; 119 (1986) 3801.
- [6] Trimethylenmethan-Komplexe sind mit folgenden Metallen bekannt: Eisen (vgl. Übersicht: A. Slawisch in *Gmelin Handbook of Inorganic Chemistry. Organoniron Compounds*, Vol. 10, Springer, Berlin 1986, S. 1–42), Molybdän (S. G. Barnes, M. Green, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1980, 267), Ruthenium, Osmium, Iridium (M. D. Jones, R. D. W. Kemmitt, *ibid.* 1985, 811), Palladium (B. M. Trost, D. M. T. Chan, *J. Am. Chem. Soc.* 105 (1983) 2315, 2326), Tantal (J. M. Mayer, C. J. Curtis, J. E. Bercaw, *ibid.* 105 (1983) 2651), Chrom (J. S. Ward, R. Pettit, *Chem. Commun.* 1970, 1419; W. Henslee, R. E. Davies, *J. Organomet. Chem.* 81 (1974) 389).
- [7] R. Aumann, H.-D. Melchers, H.-J. Weidenhaupt, *Chem. Ber.* 120 (1987) 17.
- [8] R. Aumann, H.-D. Melchers, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [9] S. L. Buchwald, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* 105 (1983) 5490.

Bei Verwendung von Isopropylisocyanat und methanolischer HCl bilden sich unter den angegebenen Bedingungen neben Isopropylcarbamoyl-aminosäure-methylestern auch *N*-Isopropylhydantoine, die zwar ebenfalls gaschromatographisch getrennt werden können, jedoch nicht völlig konfigurationsstabil sind. In einigen Fällen erwies es sich als vorteilhaft, das Peptid vor der Umsetzung mit Isocyanat mit HCl/Isopropylalkohol (1.0 N) zu verestern, denn die Löslichkeit in Pyridin und der Umsatz zum Carbamoylderivat werden dadurch häufig verbessert.

Ein vollständiger Abbau von Peptiden in der Größenordnung von 8–10 Aminosäuren gelang mit 0.5–1 mg Ausgangsmaterial.

Die Methode wurde unter anderem bei der Untersuchung eines synthetischen Octapeptids der Sequenz H-Val-Ala-Leu-Ala-Lys-Lys-Ile-Leu-NH<sub>2</sub> eingesetzt, bei dem die gaschromatographische Überprüfung auf Racemisierung nach Totalhydrolyse für Leu den ungewöhnlich hohen Wert von 8.7% D-Enantiomer ergab. Durch sequentiellen Abbau wurde für Leu<sup>3</sup> mit 1.1% D-Anteil ein durchaus üblicher Wert nachgewiesen, wohingegen 10.2% D-Anteil für das C-terminale Leu weit außerhalb des erwarteten Bereiches lag. Dieser Befund läßt sich damit erklären, daß das Peptid nach dem Verfahren von Sheppard et al.<sup>[6,7]</sup> an einem Polyacrylamidharz als festem Träger synthetisiert worden war. Dabei wurde das C-terminale Leu unter 4-Dimethylaminopyridin-Katalyse mit dem am Polymer gebundenen Ankermolekül 4-Hydroxymethylbenzoesäure verestert. Die zur vollständigen Veresterung notwendigen langen Reaktionszeiten dürften für die ungewöhnlich starke Racemisierung maßgeblich sein.

Der Vergleich der nach Totalhydrolyse und der nach sequentiellen Abbau bestimmten Racemisierungsanteile (Tabelle 1) läßt erkennen, daß auch die Hydrolyse des Peptids in 6 N HCl zur Racemisierung beiträgt.

Tabelle 1. Anteil an D-Enantiomeren beim synthetischen Octapeptid 1. Gaschromatographische Untersuchung der *N*-Trifluoracetyl-aminosäure-isopropylester nach Totalhydrolyse und der *tert*-Butylcarbamoyl-aminosäure-isopropylester nach sequentiellen Abbau.

1 2 3 4 5 6 7 8  
H-Val-Ala-Leu-Ala-Lys-Lys-Ile-Leu-NH<sub>2</sub> 1

Totalhydrolyse D-Enantiomer [%]	Sequentieller Abbau D-Enantiomer [%]
Σ Ala 3.6	Ala <sup>2</sup> 0.8; Ala <sup>4</sup> 1.2
Val 1.1	Val <0.3
Σ Leu 8.7	Leu <sup>3</sup> 1.1; Leu <sup>8</sup> 10.2
Ile 2.2	Ile 2.2
Σ Lys 3.8	[a]

[a] Siehe Text.

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit für das hier beschriebene Verfahren bietet sich bei der Untersuchung von Peptidantibiotica an, in denen D- und L-Aminosäuren in unterschiedlichen Positionen vorkommen.

Bei einigen Aminosäuren (Lys, His, Arg, Trp) sind die Carbamoylderivate für gaschromatographische Untersuchungen nicht ausreichend flüchtig. Hier könnte die HPLC mit chiralen Trägermaterialien alternativ eingesetzt werden. Erste positive Trennergebnisse wurden an Kieselgelen erhalten, die durch kovalent gebundene Glucosederivate modifiziert waren<sup>[8]</sup>.

Eingegangen am 22. Dezember 1986 [Z 2019]

- [1] H. Frank, G. J. Nicholson, E. Bayer, *Angew. Chem.* 90 (1978) 396; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 17 (1978) 363.
- [2] W. A. König, I. Benecke, H. Bretting, *Angew. Chem.* 93 (1981) 688; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 693.
- [3] J. S. Davies, A. K. A. Mohammed, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1984, 1723.
- [4] J. S. Davies, E. Hakeem, *Pept., Proc. Eur. Pept. Symp., 18th*, 1984, 137.
- [5] W. A. König, I. Benecke, N. Lucht, E. Schmidt, J. Schulze, S. Sievers, *J. Chromatogr.* 279 (1983) 555.
- [6] E. Atherton, C. J. Logan, R. C. Sheppard, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1981, 538.
- [7] E. Brown, R. C. Sheppard, B. J. Williams, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1983, 75.
- [8] J. Schulze, W. A. König, *J. Chromatogr.* 355 (1986) 165.

## Totalsynthese des enantiomerenreinen Flechten-Makrolids (+)-Aspicilin\*\*

Von Gerhard Quinkert\*, Nana Heim, Jürgen Glenneberg,  
Uta-Maria Billhardt, Volker Autze, Jan W. Bats und  
Gerd Dürner

Nachdem wir kürzlich die absolute Konfiguration der Titelverbindung bestimmt<sup>[1]</sup> und einen neuen synthetischen Zugang gerade auch zu 18gliedrigen Makroliden erschlossen<sup>[2]</sup> haben, synthetisierten wir nun das erste überhaupt bekannt gewordene Flechten-Makrolid. Das Kernstück unserer Synthese von (+)-Aspicilin 8 ist die Photolactonisierung der diastereomeren *o*-Chinolacetate 1 und 3 (über das *seco*-isomere Dienketen 2<sup>[3]</sup>) zu den diastereomeren Makroliden 4 und 6 (69%, Verhältnis 2.5:1<sup>[4]</sup>; siehe Schema 1). Das Gemisch der Photolactone 4 und 6 geht, ohne daß der Lactonring je wieder geöffnet würde, über das Dienonlacton 5 und das Dienollacton 7a in die enantiomerenreine Zielverbindung 8 über.

Durch chemoselektive Azidolyse<sup>[6]</sup> der Enolacetatgruppierung von 4 und 6 sowie anschließende Eliminierung des Benzolsulfonat-Ions erhält man ein 1:1:2-Gemisch von 5 mit seinem (*E,E*)- und (*Z,E*)-Stereoisomer. Das (*E,Z*)-Diastereomer 5 ist mit 72proz. Ausbeute (bezogen auf das eingesetzte Gemisch der Photolactone 4 und 6) isoliert worden: 22% unmittelbar nach azidolytischer Eliminierung, der Rest nach Photoisomerisierung der (*E,E*)- und (*Z,E*)-Stereoisomere von 5 mit Licht der Wellenlängen >340 nm<sup>[7]</sup>.

Reduktion der Ketogruppe mit dem Yamamoto-Reagens<sup>[8]</sup> wandelt das Dienonlacton 5 bei –90°C in Toluol mit bemerkenswert hoher Stereoselektion praktisch ausschließlich in das Dienollacton 7a (96%) um<sup>[9]</sup>. Die relative und – da der (*S*)-Chiralitätssinn an C-17 durch Verwendung von 12 bekannt ist (siehe Schema 2) – auch die absolute Konfiguration von 7a sind durch Einkristall-Röntgenstrukturanalyse von *rac*-7b festgelegt worden<sup>[10]</sup>. Das bereits vor der Reduktion vorhandene Chiralitätszentrum C-17 bestimmt durch die Tendenz der CH<sub>3</sub>-Gruppe, die pseudo-äquatoriale Lage einzunehmen, die dominierende Konformation des Dienonlactons 5. Wegen der bevorzugten Annäherung des Reduktionsmittels aus dem weniger besetzten Halbraum<sup>[11]</sup> bestimmt C-17 auch die Konfiguration des Dienollactons 7a<sup>[12]</sup>. Von 7a gelangt man durch Einwirkung von OsO<sub>4</sub> in Gegenwart von Pyridin bei

\* Prof. Dr. G. Quinkert, Dipl.-Chem. N. Heim, Dr. J. Glenneberg, Dr. U.-M. Billhardt, Dipl.-Chem. V. Autze, Dr. J. W. Bats, Dr. G. Dürner  
Institut für Organische Chemie der Universität  
Niederurseler Hang, D-6000 Frankfurt am Main 50

\*\* Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Projekt Qu 15/22), vom Bundesministerium für Wirtschaft (Projekt AIF Nr. 5811), vom Fonds der Chemischen Industrie und von der Hoechst AG gefördert.