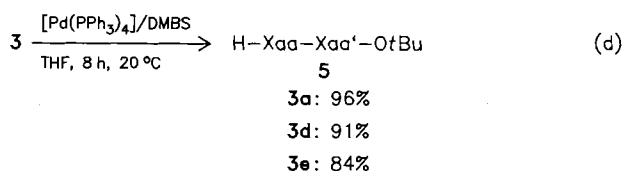
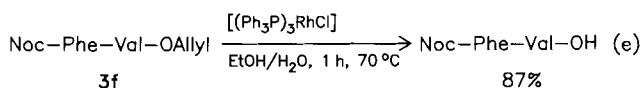


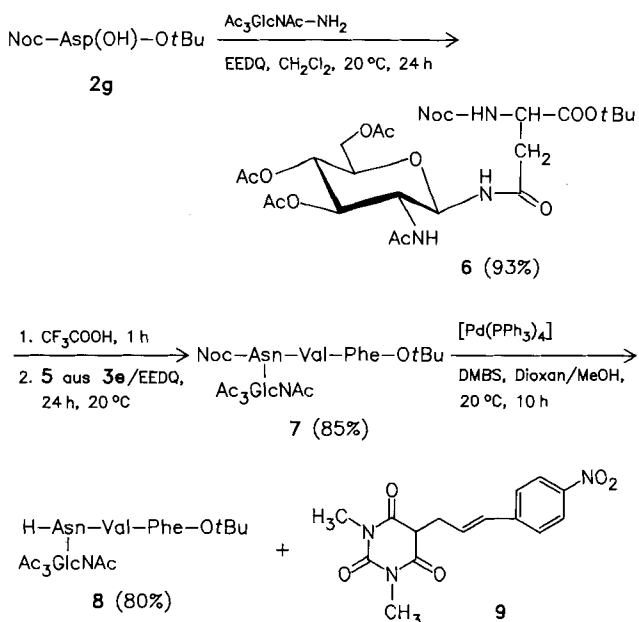
Durch Palladium(0)-katalysierte Allylgruppenübertragung kann die Noc-Gruppe unter Neutralbedingungen quantitativ und selektiv von den Verbindungen **3** abgespalten werden [Gl. (d)]. Die Reaktionszeiten sind deutlich länger als bei der unsubstituierten Allyloxycarbonyl(Aloc)-Schutzgruppe^[5] (bis zu 8 Stunden)^[12]. Daher ist Dimedon^[5] als Allylacceptor weniger geeignet, weil es mit der freigesetzten Aminokomponente zum Enaminoketon^[13] (Dche-Schutzgruppe) weiterreagiert. Als besonders geeigneter Allylacceptor erwies sich die praktisch nicht carbonylaktive CH-Säure *N,N'*-Dimethylbarbitursäure^[14] (DMBS, $\text{p}K_s = 4.7$), deren 5-(*p*-Nitrocinnamyl)-Derivat leicht von den freigesetzten Dipeptidestern **5** abzutrennen ist.



Besonders günstig ist, daß die neue Schutzgruppe Noc stabil gegenüber der Rhodium(I)-katalysierten Isomerisierung und Hydrolyse ist, durch die der Allylester selektiv gespalten wird [Gl. (e)]^[9].



Damit ist der Noc-Rest eine wertvolle, neutral abspaltbare Schutzgruppe, die sogar teilweise orthogonal stabil zum Schutz durch die unsubstituierte Allylgruppe ist. Seine Eignung in der Synthese von Glycopeptiden zeigt die Reaktionsfolge in Schema 1.



Schema 1. Verwendung der Noc-Schutzgruppe bei der Peptidsynthese.

Wiederum zeigt sich in der Synthese von **8** die Säurestabilität der Noc-Gruppe und ihre komplette selektive Spaltbarkeit unter Neutralbedingungen. Die CH-Säure **9** ($\lambda_{\text{max}} = 277 \text{ nm}$ in Trifluoressigsäure) ist wie freies DMBS leicht von dem *N*-deblockierten Glycotripeptid **8** abzutrennen.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für 5

1 mmol Noc-Dipeptid-*tert*-butylester **3a-e** wird in 30 mL sauerstofffreiem THF (oder Dioxan/Methanol) mit 0.78 g (5 mmol) *N,N'*-Dimethylbarbitursäure (DMBS), 0.26 g (0.1 mmol $\approx 10 \text{ Mol-\%}$) Tetrakis(triphenylphosphan)palladium(0) und zusätzlich 0.26 g (1 mmol) Triphenylphosphan unter Lichtausschluß gerührt. Die ausfallende *N,N'*-Dimethyl-5-(*p*-nitrocinnamyl)barbitursäure **9** wird abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert, der Rückstand in 80 mL CHCl_3 aufgenommen und viermal mit 0.5 *N* Na_2CO_3 -Lösung extrahiert. Die CHCl_3 -Lösung wird nun fünfmal mit 0.5 *N* HCl ausgeschüttelt, und die vereinigten wäßrigen Lösungen werden einmal mit CHCl_3 extrahiert. Sodann wird die wäßrige Phase mit Na_2CO_3 auf pH 10–11 gebracht und fünfmal mit 50 mL CHCl_3 extrahiert. Nach Trocknen der CHCl_3 -Lösung über MgSO_4 und Abdestillieren des Lösungsmittels im Vakuum werden die zurückbleibenden Öle bei -20°C mit HCl -gesättigtem Ether versetzt und sofort im Vakuum eingedampft. Die Hydrochloride der Peptidester **5** werden aus Essigester/Petrolether oder CHCl_3 /Petrolether umgefällt.

So wurde z. B. 1-Valyl-L-phenylalanin-*tert*-butylester als Hydrochlorid erhalten: $\text{Fp} = 173\text{--}176^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D^{25}$ des freien Esters = $+3.1$ ($c = 1$, CHCl_3).

Eingegangen am 20. Mai 1988 [Z 2771]

- [1] H. Kunz, *Angew. Chem.* 99 (1987) 297; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 294.
- [2] M. Bergmann, L. Zervas, *Chem. Ber.* 65 (1932) 1192.
- [3] Siehe z. B.: H. Kunz, S. Birnbach, *Angew. Chem.* 98 (1986) 354; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 25 (1986) 360.
- [4] H. Kunz, H. Waldmann, *Angew. Chem.* 96 (1984) 49; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 71.
- [5] H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* 96 (1984) 426; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 436.
- [6] D. Hennen, *Diplomarbeit*, Universität Mainz 1985.
- [7] M. Kinoshita, K. Inomata, T. Kameda, H. Kotake, *Chem. Lett.* 1985, 515.
- [8] a) S. G. Waley, *J. Chem. Soc.* 1948, 2008; b) G. Carrera, R. Ettore, F. Fava, G. Rolland, E. Testa, A. Vecchi, *J. Am. Chem. Soc.* 76 (1954) 4391; c) H. B. W. Kortenaar, B. G. Van Dijk, J. M. Peeters, B. J. Raaben, N. M. Adams, G. I. Tesser, *Int. J. Pept. Protein Res.* 27 (1986) 398.
- [9] H. Waldmann, H. Kunz, *Liebigs Ann. Chem.* 1983, 1712.
- [10] B. Belleau, G. Malek, *J. Am. Chem. Soc.* 90 (1968) 1651.
- [11] W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* 103 (1970) 788.
- [12] K. Okasada, T. Chiba, Y. Nakamura, T. Yamamoto, A. Yamamoto, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1986, 1589.
- [13] B. Halpern, L. B. James, *Aust. J. Chem.* 17 (1964) 1282.
- [14] J. W. Clark-Lewis, M. J. Thompson, *J. Chem. Soc.* 1959, 1628.

Festphasensynthese von *O*-Glycopeptidsequenzen

Von Hans Paulsen*, Gunnar Merz und Udo Weichert

Glycoproteine sind wegen ihrer zahlreichen biologischen Funktionen auf Zelloberflächen, bei Enzymen und Serumproteinen sowie Mucinen von erheblichem Interesse^[1]. Zur Aufklärung der Glycoproteinfunktionen sind auch Glycopeptide erwünscht, die einen Peptid- und einen Kohlenhydratteil enthalten. Die Synthese derartiger *O*-Glycopeptide wurde bisher stufenweise mit den normalen Peptidverknüpfungsmethoden durchgeführt^[2,3]. Es ergab sich die Frage, ob die für Peptide entwickelte Festphasensynthese^[4] auch hier einen schnelleren und einfacheren Zugang zu den gewünschten Verbindungen ermöglicht. Über einige geeignete Beispiele, mit denen diese Frage mit ja beantwortet wird, möchten wir hier berichten.

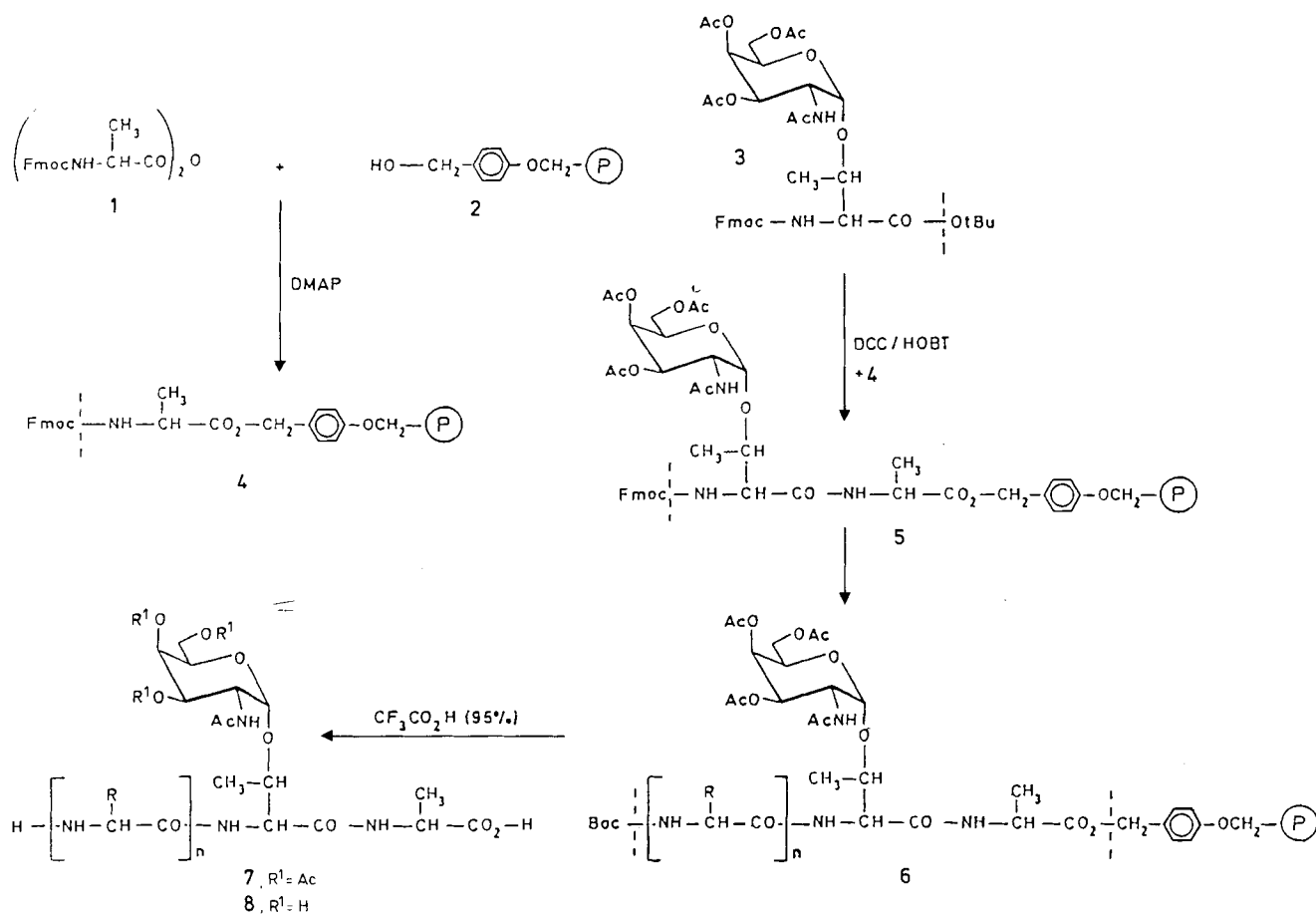
* Prof. Dr. H. Paulsen, Dipl.-Chem. G. Merz, Dipl.-Chem. U. Weichert
Institut für Organische Chemie der Universität
Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13

Zur Synthese von *O*-Glycopeptiden ist nur ein Teil der in der Peptidchemie bekannten Methoden und Schutzgruppen geeignet. Gründe hierfür sind die Säurelabilität der glycosidischen Bindung zwischen 2-Acetamido-2-desoxy-D-galactose und der Hydroxygruppe von L-Serin oder L-Threonin und, daß unter alkalischen Bedingungen die Bindung leicht über eine β -Eliminierung gespalten werden kann. Festphasensynthesen, bei denen das Peptid vom Harz mit HF abgespalten wird, sind daher wenig geeignet^[5]. Verwendbar erscheint ein erst kürzlich von Kunz et al.^[6] vorgestelltes, allylgruppentragendes Harz, von dem eine Abspaltung unter Pd-Katalyse möglich ist. Eine Überprüfung der in der Peptidchemie bewährten Methoden ergab, daß das von Wang^[7] entwickelte Harz als Träger am günstigsten ist. Bei ihm handelt es sich um ein Polystyrolharz, das wie in **2** gezeigt *p*-Alkoxybenzylalkohol-Ankergruppen enthält. Hiervon lassen sich die dargestellten Glycopeptide unter milden Bedingungen sauer abspalten.

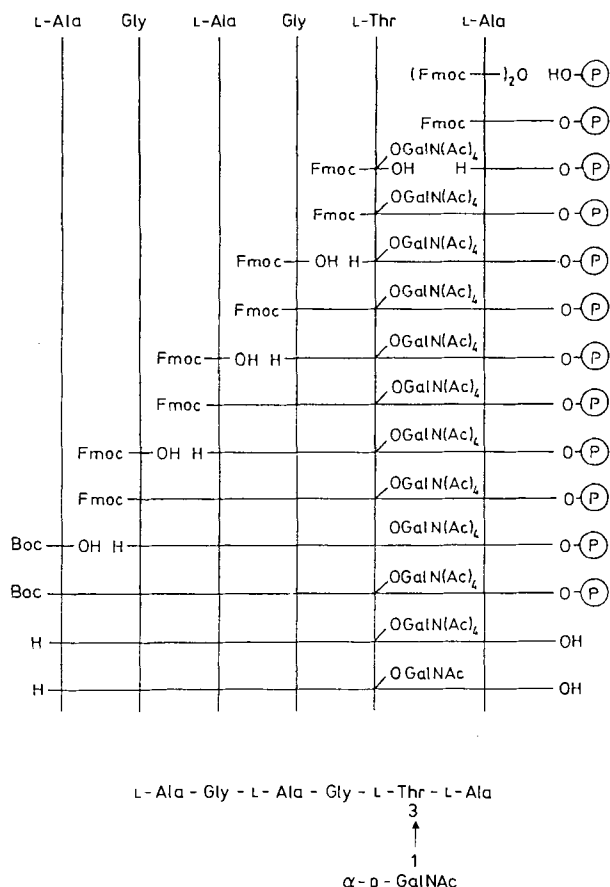
Das Syntheseprinzip ergibt sich wie folgt (Schema 1): Im ersten Schritt wird das symmetrische Anhydrid einer Fmoc-Aminosäure **1**^[8] (3 Moläquiv.) unter milder Katalyse von 4-Dimethylaminopyridin^[9] (0.06 Moläquiv.) mit der Hydroxylgruppe des Ankers in **2** zu **4** verestert. Es wird 4-Alkoxybenzylalkoholharz (Bachem, Belegungsgrad 0.45 mmol g⁻¹) verwendet, das unter diesen Bedingungen zu 50% verestert wird. Nicht umgesetzte OH-Gruppen des Harzes werden mit Acetanhydrid nachacetyliert. Ein wichtiger kohlenhydrathaltiger Baustein ist das L-Threoninglycosid **3**^[10]. Es enthält die Schutzgruppenkombination Fmoc und *O**t*Bu, die sich für Festphasensynthesen als günstig erwiesen hat^[11].

Nach Abspaltung von *O**t*Bu in **3** wird dies als *N*-Hydroxybenzotriazolester (6 Moläquiv.) mit der deblockierten Aminogruppe in **4** zu **5** gekuppelt (Reaktionszeit 1.5 h). Nach Freisetzung des *N*-Terminus durch Abspaltung der Fmoc-Gruppe mit Morpholin lassen sich weitere Aminosäuren zu **6** anknüpfen. Alle Kupplungsschritte der Aminosäuren (6 Moläquiv.) werden mit DCC/HOBT in Dimethylformamid durchgeführt (Reaktionszeit jeweils 1 h). Wählt man im letzten Schritt eine Boc-Aminosäure, so wird bei Behandlung des Harzes mit wäßriger Trifluoressigsäure (95%) gleichzeitig das Glycopeptid vom Harz und die Boc-Gruppe vom *N*-Terminus abgespalten, so daß man zu **7** gelangt. Bei einer Reaktionszeit von 1.5 h wird keine Glycosidspaltung beobachtet. Zur vollständigen Deblockierung werden unter genauem Einhalten des pH-Wertes von 8.5 mit NaOCH₃ in Methanol die *O*-Acetylgruppen des Kohlenhydratanteils entfernt zu **8**. Eine β -Eliminierung oder Racemisierung tritt hierbei in der Regel nicht auf.

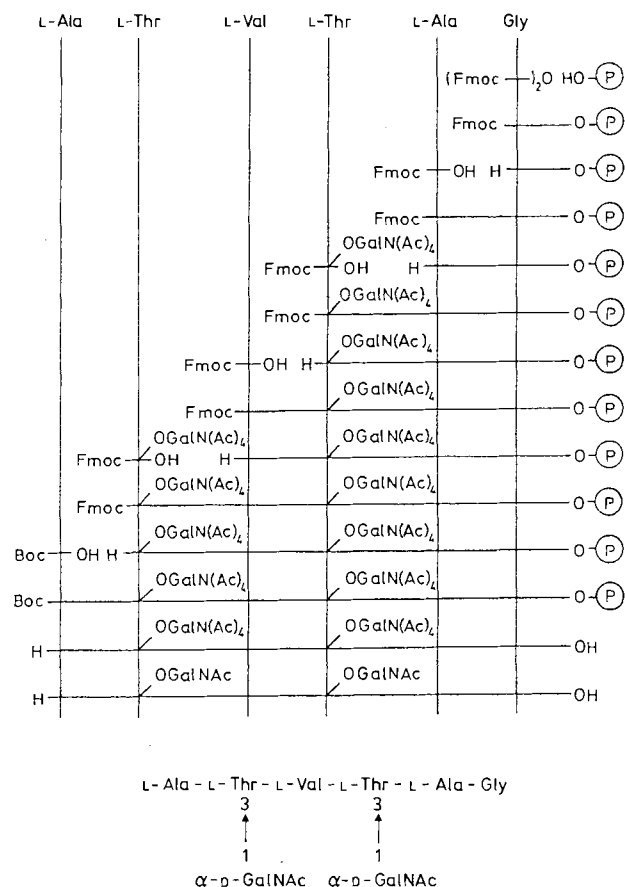
Die Anwendung des geschilderten Verfahrens sei an den Synthesen der Hexapeptide **9** und **10** demonstriert. Für **9** (Schema 2) wird zunächst L-Alanin an den Träger gekuppelt. Nach Abspaltung der Fmoc-Gruppe erfolgt die Verknüpfung mit dem glycosylierten L-Threonin-Baustein. Daran schließen sich die Anknüpfungen der anderen Aminosäuren an. Die Vollständigkeit der Reaktionsschritte wird mit dem Kaiser-Test^[12] überprüft. Nach Abspaltung des Glycopeptids vom Harz wird an Sephadex LH20 und nach weiterer Deblockierung des Zuckerteils an Sephadex G10 gereinigt. Mit 0.25 g Harz lassen sich 20 mg Hexapeptid **9** (55% bezogen auf die erste angeknüpfte Aminosäure)



Schema 1. Festphasensynthese von *O*-Glycopeptidsequenzen. DMAP = 4-Dimethylaminopyridin, DCC = Dicyclohexylcarbodiimid, HOBT = 1-Hydroxybenzotriazol, Fmoc = 9-Fluorenylmethoxycarbonyl, Boc = *tert*-Butyloxycarbonyl, \textcircled{P} = Polymer.



Schema 2. Festphasensynthese des Glycopeptids **9**, einer Teilstruktur des Submaxillaris Mucins des Schafes.



Schema 3. Festphasensynthese des Glycopeptids **10**, einer Teilstruktur des Glycophorins des Schweines.

in reiner Form gewinnen. Die Sequenz 9 ist eine Teilstruktur des Submaxillaris Mucins des Schafes^[13].

Die Reaktionsschritte zur Synthese von **10**, das zwei Kohlenhydratketten enthält (Schema 3) sind analog den für **9** beschriebenen. Es wird nur ein weiterer glycosylierter L-Threonin-Baustein eingesetzt. Die Abspaltung vom Träger und die Deblockierung bereiten keine Schwierigkeiten. Mit 0.25 g Harz lassen sich 25 mg Hexapeptid **10** (48% bezogen auf die erste angeknüpfte Aminosäure) erhalten. Die Hexapeptide **9** und **10** wurden ¹H-NMR-spektroskopisch unter Einschluß von 2D-Techniken auf ihre Einheitlichkeit überprüft. Nebenprodukte oder eine Racemisierung der Aminosäuren können nicht nachgewiesen werden. Die Sequenz **10** ist eine Teilstruktur des Glycophorins des Schweines^[14].

Das geschilderte Verfahren liefert Glycopeptide in erheblich kürzerer Zeit als entsprechende Synthesen in Lösung und ist weiter ausbaufähig. Der Baustein 3 dürfte auch für die Verwendung in einer automatisierten Peptidsynthese geeignet sein.

[6] H. Kunz, B. Dombo, *Angew. Chem.* 100 (1988) 732; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) 711.

[7] S. S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* 95 (1973) 1328.

[8] L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* 92 (1970) 5748.

[9] W. Steglich, G. Höfle, *Angew. Chem.* 81 (1969) 1001; *Angew. Chem. Int.*

[2] W. Stagnitt, G. Hone, *Angew. Chem.* 81 (1969) 1661; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 8 (1969) 981.

[10] K. Adermann, H. Paulsen, unveröffentlicht.

[11] E. Atherton, M. Cavigiel, H. Fox, D. Harkiss, H. Over, R. C. Sheppard, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1983, 65.

[12] E. Kaiser, E. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook, *Anal. Biochem.* **34** (1970) 595.

[13] H. D. Hill, M. Schwyzer, H. M. Steinman, R. L. Hill, *J. Biol. Chem.* 252 (1977) 3799.

[14] K. Honma, M. Tomita, A. Hamada, *J. Biochem.* 88 (1980) 1679.

Tricyclo[3.1.0.0^{2,6}]hexandion (das Valen des *o*-Benzochinons), Bicyclo[2.1.1]hexan-2,3-dion und Valene eines Chinoxalins, des Phenazins sowie eines Benzophenazins**

Von *Manfred Christl** und *Arno Kraft*

α -Diketone sind für Photochemiker^[1] und zusammen mit Triketonen auch für Spektroskopiker und Theoretiker^[2] interessant. Ferner wächst ihre Bedeutung als Vorstu-

[1] J. Montreuil, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 37 (1980) 157.

[2] H. Kunz, *Angew. Chem.* 99 (1987) 297; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 294.

[3] H. Paulsen, M. Schultz, *Liebigs Ann. Chem.* 1986, 1435; *Carbohydr. Res.* 159 (1987) 37; B. Ferrari, A. Pavia, *Tetrahedron* 41 (1985) 1939; V. V. Bencomo, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* 116 (1983) C9.

[4] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* 85 (1963) 2149.

[5] S. Lavielle, N. C. Ling, R. C. Guillemin, *Carbohydr. Res.* 89 (1981) 221.

[*] Prof. Dr. M. Christl, Dipl.-Chem. A. Kraft
Institut für Organische Chemie der Universität
Am Hubland, D-8700 Würzburg

[**] Die Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie und der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.