

ßender Zugabe von  $C_6H_6$  hergestellt werden. Im Falle des  $PF_6^-$ -Derivats wurde als Lösungsmittel  $CH_2Cl_2$  bevorzugt, da aus ihm der Komplex sofort ausfiel.

**2:** Zu einer gerührten Lösung von 0.070 g (0.3 mmol) dppn in 10 mL Aceton wurde tropfenweise unter  $N_2$  eine Lösung von 0.030 g (0.060 mmol)  $[Cu(CF_3SO_3)_2] \cdot C_6H_6$  in 5 mL Aceton gegeben (nach Entfernen der Spuren von Kupfer(0) aufgrund geringer Zersetzung von  $[Cu(CF_3SO_3)_2] \cdot C_6H_6$  in Aceton). Nach 15 min Rühren war das dunkelgrüne, feste  $[Cu(dppn)_2](CF_3SO_3)_2$  2 vollständig ausgefallen (Ausbeute 50% bezogen auf Kupfer). – Korrekte C,H,N,Cu-Analysen. MS (FAB<sup>+</sup>, NBA):  $m/z$  531.0 ( $[M - CF_3SO_3]^+$ , 30%), 297.0 ( $[M - CF_3SO_3 - dppn]^+$ , 100%); für 1 typische Peaks geringerer Intensität (<5%) weisen auf die Umwandlung von 2 in 1 in geringem Maße beim Auflösen in der Matrix hin und verhindern den Nachweis einer polymeren Natur von 2 durch Detektion von Peaks höherer Masse. IR (Nujol):  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 1600(s), 1575(w), 1567(w), (Pyridazin); 1287(s), 1255(s), (S-O)<sub>asym</sub>; 1035(s), (S-O); 1050(w), 1007(w), 995(w), (Pyridin). ESR (Festkörper, Raumtemperatur): 0.1% Cu(II)-Verunreinigungen.

Eingegangen am 14. Dezember 1991 [Z 5070]

- [1] a) J. A. Ibers, R. H. Holm, *Science* **1980**, 209, 223–235; b) S. J. Lippard, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 353–371; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 344–361; c) Z. Tyeklar, K. D. Karlin, *Acc. Chem. Res.* **1989**, 27, 241–248.
- [2] W. A. Butte, F. H. Case, *J. Org. Chem.* **1961**, 26, 4690–4692.
- [3] a) J. E. Andrew, P. W. Ball, A. B. Blake, *Chem. Commun.* **1969**, 143–144; b) P. W. Ball, A. B. Blake, *J. Chem. Soc. A* **1969**, 1415–1422; c) J. E. Andrew, A. B. Blake, L. R. Fraser, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1975**, 800–805; d) A. Tiripicchio, A. M. Manotti Lanfredi, M. Ghedini, F. Neve, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, 97–98; e) M. Ghedini, F. Neve, F. Morazzoni, C. Oliva, *Polyhedron* **1985**, 4, 497–503; f) M. Ghedini, M. Longeri, F. Neve, *Inorg. Chim. Acta* **1987**, 132, 223–228; g) G. Denti, L. Sabatino, G. De Rosa, A. Bartolotta, G. Di Marco, V. Ricevuto, S. Campagna, *Inorg. Chem.* **1989**, 28, 3309–3313.
- [4] a) M. Ghedini, G. De Munno, G. Denti, A. M. Manotti Lanfredi, A. Tiripicchio, *Inorg. Chim. Acta* **1982**, 57, 87–93; b) G. De Munno, G. Denti, P. Dapporto, *ibid.* **1983**, 74, 199–203; c) A. M. Manotti Lanfredi, A. Tiripicchio, M. Ghedini, G. De Munno, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1982**, 38, 1165–1168; d) P. Dapporto, G. De Munno, G. Brono, M. Romeo, *ibid. Sect. C* **1983**, 39, 718–720.
- [5] R. G. Solomon, J. K. Kochi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1972**, 559–560.
- [6] Röntgenstrukturanalyse von  $1 \cdot 2 CH_3OH$  ( $C_{62}H_{48}N_{16}O_{14}S_4F_{12}Cu_4$ ),  $M = 1851.55$ ; braune Kristalle (Kantenlängen  $0.175 \times 0.160 \times 0.055$  mm<sup>3</sup>); monokline Raumgruppe  $P2_1/n$ ;  $a = 13.438(4)$ ,  $b = 13.121(4)$ ,  $c = 20.322(6)$  Å;  $\beta = 93.44(2)^\circ$ ;  $V = 3576$  Å<sup>3</sup>;  $Z = 2$ ;  $\rho_{\text{ber}} = 1.719$  g cm<sup>-3</sup>;  $F(000) = 1864$ ;  $\mu = 3.33$  cm<sup>-1</sup>. Ein brauchbarer Kristall von  $1 \cdot 2 CH_3OH$  (erhalten durch langsames Umkristallisieren aus einer Mischung von Methanol/Aceton/Ethanol (1:1:1) bei Raumtemperatur) wurde auf einen gekühlten Objektträger gebracht und aus der Mutterlösung heraus montiert. 5142 Reflexe wurden auf einem Diffraktometer (Philips PW 1100/16) bei  $-100^\circ\text{C}$  gemessen ( $Cu_{K\alpha}$ -Strahlung, Ni-Filter),  $\lambda = 1.5418$  Å ( $\theta/2\theta$ -Scan,  $8^\circ < 2\theta < 114^\circ$ ). Die systematischen Auslöschungen  $h0l$  ( $h + l = 2n + 1$ ) führten zusammen mit der E-Statistik und dem NZ-Test auf die Raumgruppe  $P2_1/n$  (eine Nichtstandardaufstellung von  $P2_1/c$ , Nr. 13). Die erfolgreiche Strukturlösung und Verfeinerung bestätigten diese Wahl. Die Struktur wurde durch eine Kombination von Patterson-, Differenz-Fourier-, Vollmatrix- und Kleinste-Quadrate-Methoden gelöst.  $R = 0.0538$  und  $R_w = 0.0793$  für 2841 Reflexe mit  $I > 3\sigma(I)$  und 506 Variablen. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Direktor des Cambridge Crystallographic Data Centre, University Chemical Laboratory, Lensfield Road, GB – Cambridge CB2 1EW, unter Angabe des vollständigen Literaturzitats angefordert werden.
- [7] B. J. Hathaway in *Comprehensive Coordination Chemistry*, Band 5 (Hrsg.: G. Wilkinson, R. D. Gillard, J. A. McCleverty), Pergamon Press, Oxford, **1987**, S. 533–774.
- [8] a) R. G. Vranka, E. L. Amma, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 4270–4271; b) A. M. Manotti Lanfredi, A. Tiripicchio, A. Camus, N. Marsich, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, 1126–1128.
- [9] Das Cyclovoltammogramm von 1 (0.03 mM in wasserfreiem DMF mit 0.1 M Tetrabutylammoniumperchlorat) wurde bei Raumtemperatur unter Argon mit der klassischen Dreielektrodenanordnung aufgenommen (Arbeitselektrode Platindraht, Glaskohlenstoffgelelektrode, Referenzelektrode  $AgBr/Ag^0$ ; Referenz für Potentiale Ferrocen (+0.39 V) als interner Standard, Zahlenwerte umgerechnet auf gesättigte Kalomelektrode).
- [10] Y. Ohsawa, M. H. DeArmond, K. W. Hanck, D. E. Morris, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 6522–6524.
- [11] C. Dietrich-Buchecker, J. P. Sauvage, J. M. Kern, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 7791–7805.
- [12] Im Gegensatz dazu ergab die elektrochemische Oxidation von 1 keine guten Ergebnisse und war irreversibel; der Grund ist ohne Zweifel in der Instabilität von Cu<sup>II</sup> in tetraedischer Umgebung zu sehen.
- [13] Das IR-Spektrum von 2 zeigt neben dem einfach chelatierenden Verhalten der dppn-Liganden die Koordination von Triflat-Anionen, die anscheinend als Brückenliganden fungieren.

## Retro-inverso-Amidbindungen zwischen trifunktionellen Aminosäuren\*\*

Von Hansjörg Dürr, Murray Goodman und Günther Jung\*

Professor Ralph Hirschmann zum 70. Geburtstag gewidmet

Während des letzten Jahrzehnts wurden zahlreiche Modifikationen am Peptidrückgrat eingeführt, hauptsächlich um die Stabilität von Peptidwirkstoffen gegenüber Proteasen zu steigern<sup>[1]</sup>. Die Erhaltung der wesentlichen Merkmale der Primärstruktur ist bei der Retro-inverso-Amidbindung<sup>[2]</sup> gegenüber allen anderen Abwandlungen von Vorteil. Die Synthese erfordert eine substituierte Malonsäure und eine 1,1-Diaminoalkylkomponente. Die meisten der bisher publizierten Retro-inverso-Peptide haben daher keine funktionellen Gruppen an den Seitenketten der invertierten Teilstücke. Für den beabsichtigten Einsatz in der Wirkstoffentwicklung sind jedoch die trifunktionellen Aminosäuren von entscheidender Bedeutung. Wir berichten hier über die Synthese des ersten partiell modifizierten retro-inverso-analogen T-Zell-Epitops des Influenza-Nucleoproteins, das konzipiert wurde, um in die Tasche des Major-Histocompatibility-Complex(MHC)-Typ-I zu passen<sup>[3]</sup>. Dabei wurde erstmals die Amidbindung zwischen den trifunktionellen Aminosäuren Glutamin und Arginin invertiert, wobei eine kombinierte Flüssigphasen-Festphasensynthese eingesetzt wurde.

Wir benutzten  $[I,I\text{-Bis(trifluoracetoxy)iod}]\text{benzol}$  (TIB), auch als Iodbenzobistrifluoracetat (IBTFA) bezeichnet, für die direkte Synthese der optisch reinen  $N\text{-Acyl-1,1-diaminoalkane}$  aus ihren Peptidamin-Vorläufern<sup>[2a]</sup>. Dieser Ansatz ist wegen der milden Reaktionsbedingungen und des einstufigen Verfahrens zu bevorzugen, doch aufgrund der oxidativen Wirkung von TIB sind schwefelhaltige Aminosäureseitenketten und auch Indol- und Phenolringe nur bedingt geeignet. Glutamin und Asparagin reagieren mit TIB unter Umlagerung der Seitenkettenamide zu 2,4-Diaminobuttersäure bzw. 2,3-Diaminopropionsäure. Diese Hofmann-Umlagerung kann mit TIB auch am polymergebundenen Peptidamid durchgeführt werden<sup>[4]</sup>. Die Malonsäurederivate werden üblicherweise durch Alkylierung von Malonsäurediestern mit Alkylhalogeniden, die der jeweiligen Seitenkette entsprechen, hergestellt.

Der Syntheseweg zum Glutamyl-arginin-prä-retro-inverso-Dipeptid ist in Schema 1 dargestellt. Die Alkylierung von Malonsäure-*tert*-butylester 1 mit (*N*-Benzyloxycarbonyl)-3-chlorpropylamin ergibt das „Malonsäureester-Ornithin“-Derivat 2. Nachdem die Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppe Z hydrogenolytisch abgespalten ist, wird die Guanidiniumgruppe mit Amino-imino-methansulfonsäure eingeführt<sup>[5]</sup>. Das Rohprodukt 3 wird mit 4-Methoxy-2,3,6-trimethylbenzolsulfonylchlorid (Mtr-Cl) zum gewünschten seitenkettengeschützten „Malonsäureester-Arginin“-Derivat 4 umgesetzt<sup>[6]</sup>. Dabei wird gleichzeitig, aufgrund der für die Deprotonierung der Guanidiniumgruppe notwendigen basischen Bedingungen, der Ethylester verseift und  $m(R,S)\text{Arg(Mtr)-OrBu}$  4<sup>[7]</sup> nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel mit Chloroform/Methanol/Eisessig (85:15:2) in einer Gesamtausbeute von 30% erhalten.

Das racemische Derivat 4 wird mit Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) in Dichlor-

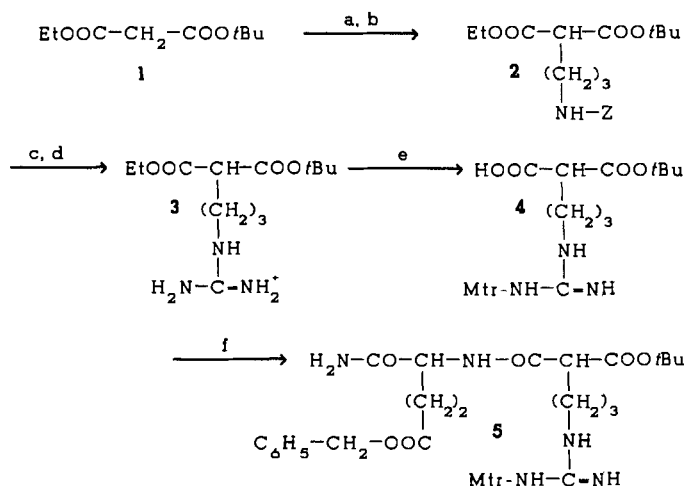
[\*] Prof. Dr. G. Jung, H. Dürr

Institut für Organische Chemie der Universität  
Auf der Morgenstelle 18, W-7400 Tübingen

Prof. Dr. M. Goodman

Department of Chemistry, University of California at San Diego (USA)

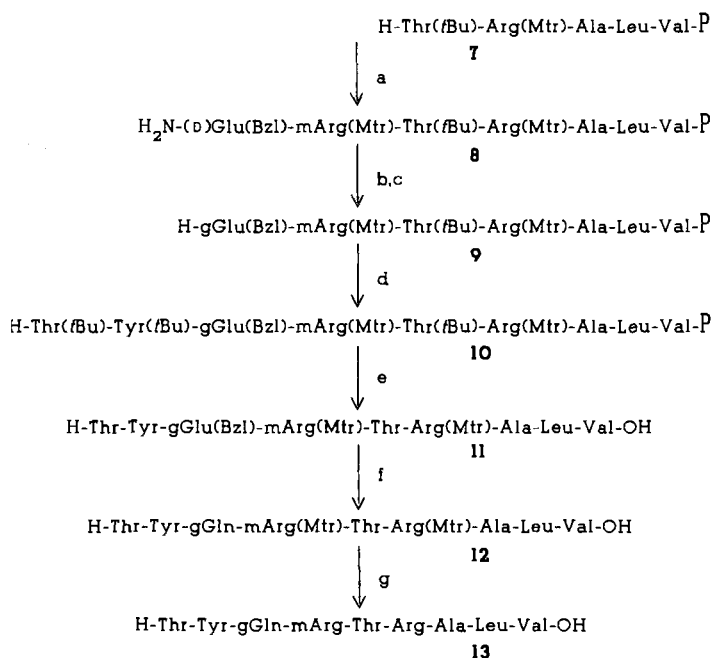
[\*\*] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. H. Dürr ist Promotionsstipendiat der Studienstiftung des Deutschen Volkes.



Schema 1. Synthese von Prä-retro-inverso-Glutamyl-arginin. a: NaH/DMF,  $-15^{\circ}\text{C}$  bis  $22^{\circ}\text{C}$ , 1 h; b: (N-Benzyloxycarbonyl)-3-chlorpropylamin/DMF,  $50^{\circ}\text{C}$ , 16 h; c: Pd(C)/H<sub>2</sub>, Methanol/Eisessig (95:5), 12 h; d: Amino-imino-methansulfonsäure/Dioxan/10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>aq., 72 h; e: 4 N NaOH/Aceton/Mtr-Cl, 2 h; f: H-(D)Glu(Bzl)-NH<sub>2</sub>/HOBt/DCC/Dichlormethan, 18 h.

methan aktiviert und an den D-Glutaminsäure- $\alpha$ -amid- $\gamma$ -benzylester (H-(D)Glu(Bzl)-NH<sub>2</sub>) zum Prä-retro-inverso-Dipeptid 5 gekuppelt. Die erhaltenen Diastereomere 5a, b können an einer Kieselgelsäule mit Chloroform/Methanol (9:1) getrennt und gereinigt werden. Die Struktur und Reinheit (>98%) von 5a, b wird mit DC, HPLC, <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie und Ionenspray-Massenspektrometrie (IS-MS) bestimmt<sup>[8]</sup>. Das C-terminal freie Prä-retro-inverso-

H<sub>2</sub>N-(D)Glu(Bzl)-m(R,S)Arg(Mtr)-OH 6



Schema 2. Synthese des partiell modifizierten Retro-inverso-CTL-Epitops des Influenza-Nucleoproteins (P = p-Benzyloxybenzylalkohol-polystyrol-1%-divinylbenzol). a: 6/DCC/HOBt/Dichlormethan, 36 h; b: [I, I'-Bis(trifluoracetoxymethyl)benzol (TIB)/DMF-H<sub>2</sub>O (9:1), 3 h; c: N-Ethylmorpholin/DMF, 5 min; d: Fmoc-Aminosäure/DCC/HOBt/DMF, 2 h; e: TFA/Thioanisol/Thioresol/Wasser (82:8:8:2), 2 h; f: NH<sub>3</sub>/Methanol,  $-15^{\circ}\text{C}$  bis  $22^{\circ}\text{C}$ , 100 h; g: TFA/Thioanisol/Thioresol/Wasser (82:8:8:2),  $40^{\circ}\text{C}$ , 1 h. Außer m(R,S)Arg befinden sich alle Aminosäuren in der L-Konfiguration. Die Strukturformel von H<sub>2</sub>N-(D)Glu(Bzl)-m(R,S)Arg(Mtr) befindet sich in Schema 1[7].

Dipeptid 6 wird durch acidolytische Abspaltung des tBu-Esters in Trifluoressigsäure (TFA)/Dichlormethan/Anisol (50:48:2; 1 h) erhalten.

Das partiell modifizierte Retro-inverso-Killerzell-Epitop (CTL-Epitop) des Influenza-Nucleoproteins<sup>[3]</sup> kann, mit 6 als Baustein, nach der Merrifield-Synthese aufgebaut werden (Schema 2). Zuerst wird das C-terminale, harzgebundene Pentapeptid 7 automatisch an p-Benzyloxybenzylalkohol-polystyrol-1%-divinylbenzol mit Fmoc-Strategie synthetisiert<sup>[9]</sup>. Nach der Ankupplung von Templat 6 wird mit TIB die Hofmann-Umlagerung an 8 durchgeführt, um das 1,1-Diaminoglutaminsäure-Derivat 9 zu erhalten. Danach wird das Peptidharz sofort gewaschen, neutralisiert und stufenweise zum vollständigen Nonapeptid 10 verlängert. Das partiell entschützte Retro-inverso-Nonapeptid 11 wird mit TFA vom Harz abgespalten. Die Ammonolyse des 1,1-Diamino-*O*-benzylglutaminsäure-Peptids ergibt das 1,1-Diaminoglutamin-Peptid 12. Das Endprodukt 13 wird durch erneute Behandlung mit TFA und nachfolgender präparativer RP-HPLC (Umkehrphasen-HPLC) erhalten. Alle Verbindungen, mit Ausnahme von 9, wurden mit HPLC, IS-MS und Aminosäurenanalyse analysiert<sup>[10]</sup>. Durch Gaschromatographie an chiraler Phase konnte keine Racemisierung von 12 festgestellt werden. Interessanterweise ist das partiell modifizierte Retro-inverso-CTL-Epitop im in-vitro-Killerzell-Test ungefähr 10<sup>5</sup>-fach weniger potent als das natürliche Antigen, das im picomolaren Bereich wirkt<sup>[3a]</sup>. Derzeit werden kompetitive Tests durchgeführt, um zu untersuchen, ob die Modifizierung am Peptidrückgrat zu einer Blockierung der MHC-Spalte führt oder die T-Zell-Rezeptorbindung inhibiert.

Eingegangen am 30. Dezember 1991 [Z 5098]

- a) A. F. Spatola in *Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins* (Hrsg. B. Weinstein), Dekker, New York, **1983**, S. 267–357; b) B. A. Morgan, J. A. Gainor, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1989**, *24*, 243–252; c) M. Goodman, R. Rone, N. Manesis, M. Hassan, N. Mammi, *Biopolymers* **1987**, *26*, S25–S32.
- a) P. Pallai, M. Goodman, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**, 280–281; b) N. Chaturvedi, M. Goodman, C. Bowers, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1981**, *17*, 72–88.
- a) K. Deres, H.-J. Schild, K.-H. Wiesmüller, G. Jung, H.-G. Rammensee, *Nature* **1989**, *342*, 561–564; b) K. Falk, O. Röttschke, S. Stevanovic, G. Jung, H.-G. Rammensee, *ibid.* **1991**, *351*, 290–296; c) O. Röttschke, K. Falk, K. Deres, H.-J. Schild, M. Noda, J. Metzger, G. Jung, H.-G. Rammensee, *ibid.* **1990**, *348*, 252–254.
- A. Pessi, M. Pinori, A. S. Verdini, G. C. Viscomi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, 195–197.
- K. Kim, Y.-T. Lin, H. S. Mosher, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 3183–3186.
- M. Fujino, M. Wakimasu, C. Kitada, *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 2825–2831.
- Ein vorangestelltes m steht für das Malonsäureester-Derivat, ein vorangestelltes g steht für das geminale Diaminoalkyl-Derivat derjenigen Aminosäure (in der Dreibuchstabennotation), von dem es abgeleitet ist.
- DC an Kieselgel (Chloroform/Methanol/Eisessig, 85:15:2; *R<sub>f</sub>* = 0.55 (5a), 0.45 (5b)); <sup>1</sup>H-NMR: (360 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 5a:  $\delta$  = 7.68 (d, 1 H, NH), 7.34 (s, 5 H, Ar), 6.75 (s, 1 H, NH), 6.53 (s, 1 H, Ar), 5.88 (s, 1 H, NH), 5.10 (s, 2 H, Benzyl), 4.43 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH(Glu)), 3.83 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.27 (t, 1 H,  $\alpha$ -CH(mArg)), 3.20 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>), 2.68 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.60 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.51 (t, 2 H, CH<sub>2</sub>), 2.12 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.10 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>), 1.86 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>), 1.55 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>), 1.44 (s, 9 H, tBu); 5b:  $\delta$  = 7.97 (d, 1 H, NH), 7.37 (s, 5 H, Ar), 7.00 (s, 1 H, NH), 6.60 (s, 1 H, NH), 6.59 (s, 1 H, Ar), 5.15 (s, 2 H, Benzyl), 4.46 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH(Glu)), 3.90 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.39 (t, 1 H,  $\alpha$ -CH(mArg)), 3.17 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>), 2.75 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.67 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.58 (t, 2 H, CH<sub>2</sub>), 2.18 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.12 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>), 1.88 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>), 1.59 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>), 1.46 (s, 9 H, tBu); IS-MS: (689.1) Molekülmasse 688.8.
- R. Dölling, K.-H. Wiesmüller, J. Metzger, M. Kleemann, H. Dürr, G. Jung in *Peptides 1990* (Hrsg.: E. Giralt, D. Andreu), Escam, Leiden, **1991**, S. 72–73.
- Analytische Daten von 13. Aminosäurenanalyse: Ala 1.1(1), Arg 0.9(1), Gln 0(0), Leu 0.9(1), Thr 1.8(2), Tyr 0.8(1), Val 1.0(1); IS-MS: (1108.0) Molekülmasse 1107.6.