

**Synthese, Kristall- und Molekülstruktur von
Boc-Pro- Δ Phe-Ala- Δ Phe-Ala-OMe,
einem Pentapeptid mit ungewöhnlicher
 β -Turn-Bandstruktur****

Kanagalaghatta Ramabhatta Rajashankar,
Suryanarayananarao Ramakumar, Tapas Kumar Mal
und Virander Singh Chauhan*

α,β -Dehydroaminoäurereste (2,3-Didehydroaminoäurereste) kommen in einigen Peptiden mikrobiellen Ursprungs sowie in einigen Proteinen vor^[1]; ihre Anwesenheit in einer Peptidkette hat bemerkenswerte Folgen für deren Konformation^[2]. Weiterhin erschweren Dehydropeptide den enzymatischen Abbau von Peptiden und Proteinen^[3]. Die Einführung eines α,β -Dehydroaminoäurerestes in bioaktive Peptidsequenzen ist wichtig, um Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu studieren und Analoga von Peptidhormonen mit verbesserter Bioaktivität zu finden^[4]. Kleine Peptide, die einen einzigen α,β -Dehydrophenylalaninrest (Δ Phe) enthalten, haben oft^[2b-g] β -Turn-Bandstrukturen^[5], während längere Peptide, die mehr als einen Δ Phe-Rest enthalten, helicale Strukturen bilden. In dieser Hinsicht ist das Verhalten einer Δ Phe-Rests dem der α -Aminoisobuttersäure (Aib) ziemlich ähnlich, die als helixstabilisierende nicht-proteinogene Aminosäure gut untersucht wurde^[6]. Kürzlich haben wir eine 3_{10} -helicale Konformation in einem Nonapeptid beobachtet, das drei Δ Phe-Reste enthält^[2j]. Wir berichten hier über Synthese, Kristall- und Molekülstruktur des Pentapeptids **I**, das eine ungewöhnliche brettartige β -Turn-Bandstruktur hat. Von anderen Peptiden kennt man nur β -Turn-Helixstrukturen^[7].

Boc-Pro- Δ Phe-Ala- Δ Phe-Ala-OMe **I**

Die β -Turn-Bandstruktur ist durch ungewöhnliche Wasserstoffbrückenbindungen charakterisiert, wobei alternierende 4 → 1-Wasserstoffbrückenbindungen fehlen^[7]. Sie wurde ursprünglich für die (Aib-Pro)_n-Peptidsequenz aufgrund von NMR-Daten^[9] und Konformationsenergieberechnungen^[10] vorgeschlagen und später in einigen Aib-Peptiden mit charakteristischer Sequenz beobachtet^[7]. Vermutlich weil β -Turn-Bänder nahezu die gleichen Diederwinkel haben wie das 3_{10} -Helix-Grundgerüst, wurden sie als β -Turn-Bandspiralen beschrieben^[7b, 11]. Die β -Turn-Bandstrukturen sollten für Peptaibol-Antibiotika-Modellverbindungen und für zahlreiche in Proteinen gefundene (Pro-X)_n-Segmente (mit X/Pro) von Bedeutung sein^[7a, b].

In **I** haben beide kristallographisch unabhängigen Moleküle eine ungewöhnliche β -Turn-Bandstruktur (Abb. 1). Diese Konformation ist eine Folge von zwei teilweise überlappenden β -Turns^[5]. Das Boc⁰-Pro¹- Δ Phe²-Ala³-Fragment nimmt eine β -Turn-Konformation vom Typ I ein (Gerüstdiederwinkel: $\phi_{i+1} = -64.6^\circ$, $\psi_{i+1} = -28.5^\circ$ und $\phi_{i+2} = -80.6^\circ$, $\psi_{i+2} = -7.3^\circ$), das Δ Phe²-Ala³- Δ Phe⁴-Ala⁵-Fragment eine β -Turn-Konformation vom Typ II ($\phi_{i+1} = -65.8^\circ$, $\psi_{i+1} = 129.9^\circ$ und

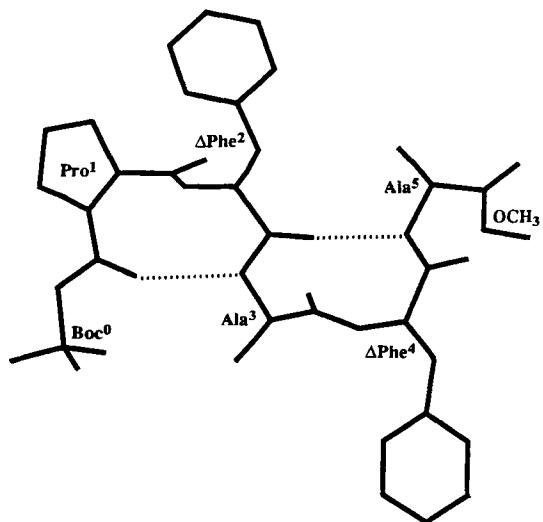


Abb. 1. Molekülstruktur von **I** im Kristall. Die gepunkteten Linien geben die intramolekularen 4 → 1-Wasserstoffbrückenbindungen wieder.

$\phi_{i+2} = 77.2^\circ$, $\psi_{i+2} = 3.3^\circ$). Es ist auffällig, daß der Winkel ϕ bei Δ Phe² negativ, bei Δ Phe⁴ aber positiv ist. Dies überrascht aber nicht, berücksichtigt man die achirale Natur von Δ Phe. Die oben erwähnten β -Turns werden durch zwei Wasserstoffbrückenbindungen, N3 – H ··· O2(Boc) und N5 – H ··· O2', stabilisiert. Die 4 → 1-Wasserstoffbrückenbindung N4 – H ··· O1' wird nicht beobachtet, was mit den Wasserstoffbrückenbindungscharakteristika einer β -Turn-Bandstruktur konsistent ist. Das Wasserstoffbrückenbindungspotential von O1' als Acceptor wird durch intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen in beiden kristallographisch unabhängigen Molekülen abgesättigt (Tabelle 1).

Tabelle 1. Intermolekulare und intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen in der Struktur von **I** im Kristall [a].

Donor (D)	Acceptor (A)	D ··· A [Å]	H ··· A [Å]	D-H ··· A [°]	Symmetrie
N3A	O2A	3.04	2.04	167.0	0
N5A	O2'A	3.01	2.04	160.4	0
N3B	O2B	2.98	1.99	166.7	0
N5B	O2'B	2.95	1.97	164.7	0
N2A	O1'A	2.92	2.00	149.8	1
N4A	O4'A	2.73	1.75	165.4	2
C1GA	O3'A	3.38	2.47	141.9	1
N2B	O1'B	2.91	1.99	151.6	3
N4B	O4'B	2.75	1.75	167.7	4
C1GB	O3'B	3.24	2.24	152.3	3
Symmetriecode:					
0 x, y, z					
1 -x + 1, y + 0.5, -z					
2 -x + 2, y + 0.5, -z					
3 -x + 2, y + 0.5, -z + 1					
4 -x + 3, y + 0.5, -z + 1					

[a] Die Buchstaben A und B in den Atombezeichnungen beziehen sich auf die beiden kristallographisch unabhängigen Moleküle A bzw. B. C1GA und C1GB bezeichnen das γ -Kohlenstoffatom des Pyrrolidinrings des Pro¹-Restes.

Die Boc-Pro-Bindung und die trans-ständig weiterführenden Bindungen liegen nicht in einer Ebene ($\omega_0 = -162.6^\circ$). Der Pyrrolidinring des Pro¹-Restes, der durch $\chi_1 = -10.1^\circ$, $\chi_2 = 7.7^\circ$, $\chi_3 = -2.3^\circ$, $\chi_4 = -5.0^\circ$ und $\theta = 9.3^\circ$ charakterisiert ist, ist nahezu C^y-exo gefaltet^[11]. Die Phenylgruppen beider Δ Phe-Reste

[*] Prof. V. S. Chauhan, T. K. Mal

International Center for Genetic Engineering and Biotechnology
NII Campus, Aruna Asaf Ali Marg
Neu Delhi 110067 (Indien)

Telefax: Int. +11/686-2316

K. R. Rajashankar, Prof. S. Ramakumar
Department of Physics, Indian Institute of Science
Bangalore 560012 (Indien)

[**] Diese Arbeit wurde vom Department of Biotechnology gefördert (Bereitstellung von Geräten). K. R. R. dankt dem indischen Council of Scientific and Industrial Research für ein Stipendium.

liegen mit der jeweiligen olefinischen Doppelbindung (Diederwinkel $\chi_2^2 = -164.5^\circ$, $\chi_4^2 = 4.9^\circ$) nahezu in einer Ebene.

In den früher beschriebenen β -Turn-Bandstrukturen sind die Gerüsts torsionswinkel nahezu 3_{10} -helical^[17], so daß die Struktur der Moleküle grob einem Zylinder ähnelt. In **1** weichen die Gerüsts torsionswinkel von Ala³ hingegen beträchtlich von den Werten der 3_{10} -Helix (Tabelle 2) ab, so daß daraus eine relativ ebene – brettartige – Struktur resultiert; wir bezeichnen diese Struktur als ebene β -Turn-Bandstruktur.

Tabelle 2. Torsionswinkel, gemittelt über die beiden kristallographisch unabhängigen Moleküle von **1**.

Rest	ϕ [°]	ψ [°]	ω [°]
Pro ¹	-64.4 [a]	-28.5	179.3
ΔPhe^2	-80.6	-7.3	-173.4
Ala ³	-65.8	129.9	178.8
ΔPhe^4	77.2	3.3	169.8
Ala ⁵	-63.4	-29.6 [b]	-

[a] C5(Boc)-N1-C1A-C1'. [b] N5-C5A-C5'-O3(OMe).

Die Peptidmoleküle, die bisher mit β -Turn-Bandstruktur gefunden wurden, haben auf alternierenden Positionen ausnahmslos Reste wie Prolin^[17b, c], N-Methylaminoisobuttersäure (Me-Aib)^[17d], Hydroxyprolin (Hyp)^[17e] und α -Hydroxyisobuttersäure (Hib)^[17e, f], denen die N-H-Donorgruppe zur Wasserstoffbrückenbindung fehlt. Deshalb gibt es in diesen Peptiden keine aufeinanderfolgenden 4 → 1-Wasserstoffbrückenbindungen an alternierenden Positionen; wegen der in ihrer konformativen Beweglichkeit eingeschränkten Aib-Reste wird jedoch eine angenäherte 3_{10} -Helixstruktur beibehalten, woraus sich eine β -Turn-Spirale ergibt. In **1** wird jedoch eine ebene β -Turn-Bandstruktur beobachtet, obwohl die Sequenz aufeinanderfolgende 4 → 1-Wasserstoffbrückenbindungen ermöglicht.

Die Kristallpackung von **1** mit Blickrichtung entlang der *b*-Achse ist in Abbildung 2 gezeigt. Die intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen sind in Tabelle 1 aufgeführt. Es gibt keine intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen mit Kopf-Schwanz-Verknüpfung, ein häufiges Kennzeichen einiger Aib-Peptide^[6] und α, β -Dehydropeptide^[21]. Es gibt auch keine Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den beiden kristallographisch unabhängigen Molekülen; die *ac*-Ebene der Kristallstruktur wird überwiegend durch hydrophobe Wechselwirkungen stabilisiert. Die intermolekularen Wechselwirkungen ent-

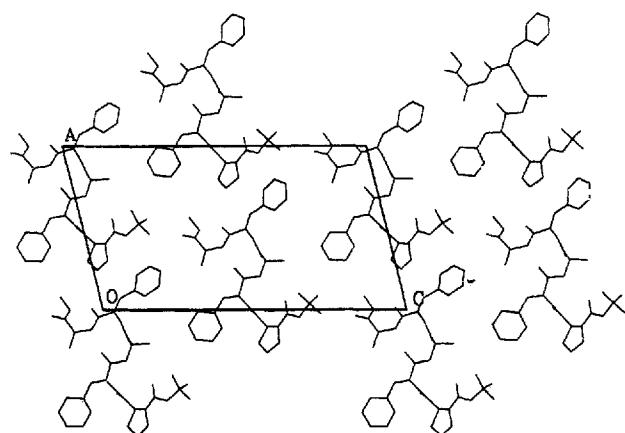


Abb. 2. Kristallpackung von **1**; Blickrichtung entlang der *b*-Achse.

lang der *b*-Achse sind hauptsächlich elektrostatischer Natur. Die Peptidmoleküle mit S-förmigem Gerüst sind entlang der *b*-Achse übereinandergestapelt und durch Wasserstoffbrückenbindungen vom Typ N – H ⋯ O und C – H ⋯ O verbunden (Tabelle 1). Wir beobachten alternierende Stränge entlang der *b*-Achse, die die beiden kristallographisch unabhängigen Moleküle enthalten. Die Grenzfläche der Stränge enthält die Boc-Methylgruppen und die Dehydrophenylalaninseitenketten und ist daher überwiegend hydrophob. Die Phe-Ringe wechselwirken in einer geneigten Anordnung^[12], was mit Beobachtungen in Proteinen übereinstimmt^[12]. O5' ist an keiner Wasserstoffbrückenbindung beteiligt.

In Kenntnis der Struktur von **1** können Oligopeptidstrukturen, die ΔPhe enthalten, mit denen der entsprechenden, schon früher beschriebenen Aib-Analoga, den N-terminalen Fragmenten (2–6) des Antibiotikums Alamethicin Boc-Pro-Aib-Ala-Aib-Ala-OH^[13a] und Z(Cl)-Pro-Aib-Ala-Aib-Ala-OMe^[13b] verglichen werden. Beide Aib-Peptide haben eine linksgängige 3_{10} -Helixstruktur. Während von Aib bekannt ist, daß es eher helicale Gerüstdiederwinkel bevorzugt, kann ΔPhe einen „Brückenzonenbereich“ im Konformationsraum annehmen, wie die Sequenz Ala³- ΔPhe^4 im vorliegenden Pentapeptid zeigt.

In den bisher bekannten Kristallstrukturen von ΔPhe enthaltenden Peptiden weisen die $\Delta\text{F-X1-}\Delta\text{F-X2}$ -Fragmente entweder Typ-III- oder Typ-III'- β -Turn-Konformationen^[21–1] auf (Tabelle 3), was zu einer Helixstruktur führt. In der Kristallstruktur

Tabelle 3. Die Konformation des X1- ΔF -Segments von $\Delta\text{F-X1-}\Delta\text{F-X2}$ -Fragmenten in den bekannten Kristallstrukturen.

Peptid [a]	Lit.	ϕ [°]	ψ [°]	ϕ [°]	ψ [°]	β -Turn-Typ
Boc-G- $\Delta\text{F-L-}\Delta\text{F-A-NHMe}$	[2i]	-71.2	-15.4	-58.3	-17.9	III
Boc-V- $\Delta\text{F-F-A-F-}\Delta\text{F-V-}\Delta\text{F-G-OMe}$	[2j]	-68.6	-15.4	-54.6	-35.1	III
Boc-D $\Delta\text{A-}\Delta\text{F-G-}\Delta\text{F-D}\Delta\text{-OMe}$	[2k]	65.3	5.9	53.0	25.6	III'
Ac- $\Delta\text{F-V-}\Delta\text{F-NHMe}$	[2l]	-62.0	-20.4	-59.2	-24.1	III
Boc-P- $\Delta\text{F-A-}\Delta\text{F-A-OMe}$ 1		-65.8	129.9	77.2	3.3	II

[a] Das $\Delta\text{F-X1-}\Delta\text{F-X2}$ -Fragment ist unterstrichen.

von **1** zeigt dasselbe Fragment jedoch zum ersten Mal einen β -Turn des Typs II, der nicht helical ist (Tabelle 2). Interessanterweise nimmt das Fragment $\Delta\text{F-X1-}\Delta\text{F-X2}$ mit X1 = Leu oder Val eine rechtsgängige Helix an (Tabelle 3), während im vorliegenden Fall das Fragment mit X1 = Ala eine völlig andere Konformation bildet. Es sind Beispiele bekannt, in denen das Peptidgerüst trotz der Anwesenheit des chiralen L-Ala-Rests eine linksgängige Helixstruktur einnimmt^[13, 14]. Der Ala-Rest scheint, vermutlich wegen der weniger sperrigen Seitenkette, eine größere Konformationsflexibilität des Peptidgerüsts zuzulassen, ein Befund, der genutzt werden kann, um eine Feinabstimmung einer bestimmten Konformation zu erreichen.

Die Molekülstruktur von **1** im Festkörper zeigt, wie man durch Verwendung eines ΔPhe -Rests ungewöhnliche Konformationen, z.B. die ebene β -Turn-Bandstruktur erhalten kann. Der Vergleich mit den Aib-Analoga des Pentapeptids demonstriert, daß verschiedene Strukturen von diesen Resten stabilisiert werden können, obwohl sowohl Aib als auch ΔPhe achirale, die Konformationsflexibilität einschränkende Reste sind. Die Konformationsvariabilität wurde sehr gut für die Aib-enthaltenden Peptide beschrieben^[13, 15], sie ist aber bis zu einem gewissen Grad auch in ΔPhe -enthaltenden Peptiden beobachtet worden^[14]. Der Vergleich der Konformation des Dehydropentapeptids mit der anderer Dehydropeptidfragmente des

Typs - Δ F-X1- Δ F-X2- zeigt den Einfluß der Aminosäurereste X1 und X2 auf die Gesamtkonformation der Dehydrooligopeptide. Weitere Studien sind notwendig, um den Einfluß des Dehydrophenylalaninrestes auf die Konformation von Peptiden zu verstehen und um sein konformationseinschränkendes Verhalten mit dem des Aib-Restes zu vergleichen.

Experimentelles

Synthese von Boc-Ala- Δ Phe-Ala-OCH₃: Eine Lösung von HCl · H-Ala-OCH₃ (0.77 g, 5.5 mM) und Triethylamin (0.8 mL, 5.5 mM) in Dichlormethan (10 mL) wurde zu einer Lösung von Boc-Ala- Δ Phe-Azalacton [2i] (1.56 g, 5 mM) in Dichlormethan (10 mL) gegeben, und es wurde 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand in Ethylacetat gelöst, mit gesättigter NaHCO₃-Lösung, Wasser, Sproz. Zitronensäure und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Eindampfen und Kristallisation aus Diethylether/Petrolether wurde reines Tripeptid erhalten. Ausbeute: 1.8 g (87%); Schmp. 97–99 °C; R_f (CHCl₃/CH₃OH, 9:1) 0.85, R_f (n-Butanol/Essigsäure/H₂O, 4:1:1) 0.89. ¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃): δ = 7.76 (1H, s, NH ΔPhe), 7.43 (1H, d, NH Ala(3)), 7.4–7.3 (6H, m, aromatische Protonen und C⁶H ΔPhe), 5.08 (1H, d, NH Ala(1)), 4.68 (1H, m, C⁶H Ala(3)), 4.19 (1H, m, C⁶H Ala(1)), 3.75 (3H, s, OCH₃), 1.43 (3H, d, C⁶H₃, Ala(3)), 1.41 (12H, d, Boc Me₃ und C⁶H₃ Ala(1)).

1: Entfernen der Schutzgruppe von Boc-Ala- Δ Phe-Ala-OCH₃ mit Trifluoresigssäure(TFA)/Dichlormethan (1:1, v/v) bei Raumtemperatur, Einengen und Waschen des ölichen Rückstands mit Ether gibt TFA · H-Ala- Δ Phe-Ala-OCH₃. Boc-Pro- Δ Phe-Azalacton [2i] (1.22 mg, 3.5 mM) und TFA · H-Ala- Δ Phe-Ala-OCH₃ (1.5 g, 3.5 mM) wurden wie oben beschrieben umgesetzt. Man erhält das reine Pentapeptid nach Umkristallisation aus Methanol/Wasser. Ausbeute: 1.7 g (74%); Schmp. 236–238 °C; R_f (CHCl₃/CH₃OH, 9:1) 0.71, R_f (n-Butanol/Essigsäure/H₂O, 4:1:1) 0.93. ¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃ mit Spuren von (CD₃)₂SO): δ = 9.49 (1H, s, NH ΔPhe(2)), 8.71 (1H, s, NH ΔPhe(4)), 8.12 (1H, d, NH Ala(3)), 7.3 (1H, d, NH Ala(5)), 7.26–7.09 (12H, m, aromatische Protonen und 2C⁶H von ΔPhe (2) und ΔPhe(4)), 4.37 (1H, m, C⁶H Ala(5)), 4.26 (1H, m, C⁶H Ala(3)), 4.03 (1H, m, C⁶H Pro(1)), 3.53 (3H, s, OCH₃), 2.09 (1H, m, C⁶H Pro(1)), 1.81 (2H, m, C⁶H & C⁶H Pro(1)), 1.39 (3H, d, C⁶H₃, Ala(5)), 1.29 (12H, d, Boc Me₃ und C⁶H₃ Ala(3)).

Kristallstrukturanalyse: Farblose, prismatische Einkristalle wurden durch Einengen einer Lösung des Peptids (C₃₅H₄₃N₅O₈, M_r = 661.75) in Methanol/Aceton erhalten. Die Kristalle gehören zur monoklinen Raumgruppe P2₁ mit a = 14.365(2), b = 9.931(2), c = 25.787(2) Å, β = 104.03(1) $^\circ$, V = 3569 Å³, Z = 4, $\rho_{\text{ber.}}$ = 1.23 g cm⁻³.

Die Röntgenintensitätsdaten wurden bei 21 °C mit einem Enraf-Nonius-CAD4-Diffraktometer mit Ni-gefilterter Cu_{Kα}-Strahlung (λ = 1.5418 Å) aufgenommen. ω - 2θ -Scanmethode bis zu einem Bragg-Winkel von 60°; es wurden 5881 Einzelreflexe gemessen, von denen 5205 mit $|F_o| > 3\sigma(|F_c|)$ als beobachtet gewertet und in der Strukturanalyse verwendet wurden. Die Intensitäten dreier Standardreflexe, die in regelmäßigen Abständen während der Messung überwacht wurden, zeigten keine signifikanten Änderungen, wodurch die elektronische und Kristallstabilität bewiesen ist. Lorentz- und Polarisationskorrekturen wurden bei den Daten berücksichtigt; eine Absorptionskorrektur wurde nicht durchgeführt. Die Struktur wurde mit direkten Methoden mit dem Programmsystem SHELX86 [8] gelöst und mit dem Volle-Matrix-kleinste-Fehlerquadrate-Verfahren verfeinert, mit anisotropen Temperaturfaktoren für alle Nicht-Wasserstoffatome. Alle Wasserstoffatome wurden auf der Grundlage der Stereochemie auf idealisierte Positionen gesetzt und nur in Strukturfaktorberechnungen berücksichtigt. Die Gütekoeffizienten waren R = 0.056 und R_w = 0.069. Die asymmetrische Einheit besteht aus zwei kristallographisch unabhängigen Molekülen (A und B). Die Moleküldimensionen und die Konformation dieser beiden Moleküle sind nahezu gleich. Eine Überlagerung der Gerüstatome dieser beiden Moleküle nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate führt zu einer durchschnittlichen Standardabweichung von 0.09 Å, was die Ähnlichkeit der Moleküle beweist. Deshalb wurden in der Diskussion die Durchschnittswerte der Strukturparameter verwendet. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturerforschung können beim Direktor des Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, CB2 1EZ, unter Angabe des vollständigen Literaturzitats angefordert werden.

Eingegangen am 26. Oktober 1993 [Z 6452]

- [1] a) K. Noda, Y. Shimohigashi, N. Izumiya in *The Peptides*, Vol. 5, (Hrsg.: E. Gross, J. Meienhofer), Academic Press, New York, 1983, S. 285; b) G. Jung, *Angew. Chem.* 1991, 103, 1067; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1991, 30, 1051; c) E. Gross, J. L. Morell, *J. Am. Chem. Soc.* 1971, 93, 4634.
- [2] a) A. Gupta, A. Bharadwaj, V. S. Chauhan, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 2* 1990, 1911; b) E. Ciszak, G. Peitrzynski, B. Rzeszotarska, *Int. J. Peptide Protein Res.* 1992, 39, 218; c) A. Gupta, V. S. Chauhan, *ibid.* 1993, 41, 421; d) V. Busetti, M. Crisma, C. Toniolo, S. Salvadori, G. Balboni, *Int. J. Biol. Macromol.* 1992, 14, 23; e) A. C. Bach II, L. M. Giersch, *Biopolymers* 1986, 25, S175; f) P. Narula, B. Khandelwal, T. P. Singh, *ibid.* 1991, 31, 987; g) V. S. Chauhan, K. K. Bhandary *Int. J. Peptide Protein Res.* 1992, 39, 223; h) O. Pieroni, A. Fissi, C. Pratesi, P. A. Temussi, F. Ciardelli, *Biopolymers* 1993, 33, 1; i) K. K. Bhandary, V. S. Chauhan, *ibid.* 1993, 33, 209; j) K. R. Rajashankar, S. Ramakumar, V. S. Chauhan, *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 9225; k) M. R. Ciajolo, A. Tuzi, C. R. Pratesi, A. Fissi, O. Pieroni, *Biopolymers* 1990, 30, 911; l) M. R. Ciajolo, A. Tuzi, C. R. Pratesi, A. Fissi, O. Pieroni, *Int. J. Peptide Protein Res.* 1991, 38, 539.
- [3] M. L. English, C. H. Stammer, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1978, 83, 1464.
- [4] a) P. Kaur, G. K. Patnaik, R. Raghubar, V. S. Chauhan, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1992, 65, 3412; b) Y. Shimohigashi, M. L. English, C. H. Stammer, T. Costa, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1982, 104, 583.
- [5] C. M. Venkatachalam, *Biopolymers* 1968, 6, 1425.
- [6] I. L. Karle, P. Balaaram, *Biochemistry* 1990, 29, 6747.
- [7] a) C. Toniolo, E. Benedetti, *Trends Biochem. Sci.* 1991, 16, 350; b) B. D. Blasio, V. Pavone, M. Saviano, A. Lombardi, F. Nastri, C. Pedone, E. Benedetti, M. Crisma, M. Anzolin, C. Toniolo, *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 6273; c) I. L. Karle, J. Flippin Anderson, M. Sukumar, P. Balaaram, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987, 84, 5087; d) V. Moretti, G. Valle, M. Crisma, G. M. Bonora, C. Toniolo, *Int. J. Biol. Macromol.* 1992, 14, 178; e) G. Valle, R. Bardi, A. M. Piazzesi, M. Crisma, C. Toniolo, G. Cavicchioni, K. Uma, P. Balaaram, *Biopolymers* 1991, 31, 1669; f) M. Crisma, G. Valle, G. M. Bonora, C. Toniolo, G. Cavicchioni, *Int. J. Peptide Protein Res.* 1993, 41, 553.
- [8] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A* 1990, 46, 467.
- [9] Y. V. Venkatachalam, P. Balaaram, *Biopolymers* 1981, 20, 1137.
- [10] B. V. V. Prasad, P. Balaaram, *Int. J. Biol. Macromol.* 1982, 4, 99.
- [11] E. Benedetti in *Proc. Fifth Peptide Am. Symp.* (Hrsg.: M. Goodman, J. Meienhofer), Wiley, New York, 1977, S. 257.
- [12] J. Singh, J. M. Thornton, *FEBS Lett.* 1985, 191, 1.
- [13] a) R. Bosch, G. Jung, H. Schmitt, G. M. Sheldrick, W. Winter, *Angew. Chem.* 1984, 96, 440; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1984, 23, 450; b) T. S. Cameron, A. W. Hanson, A. Taylor, *Cryst. Struct. Commun.* 1982, 11, 321.
- [14] A. Tuzi, M. R. Ciajolo, G. Guarino, P. A. Temussi, A. Fissi, O. Pieroni, *Biopolymers* 1993, 33, 1111.
- [15] R.-P. Hummel, C. Toniolo, G. Jung, *Angew. Chem.* 1987, 99, 1180; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1987, 26, 1150.

11,12-Bis(diethylamino)nonatriafulvalen, das erste „aromatische“ Nonafulven **

Shengyong Chai und Markus Neuenschwander *

NMR-Untersuchungen zeigen, daß unpolare Nonafulvene einschließlich der Stammverbindung **1a**, R¹ = R² = H, olefinische Verbindungen (charakterisiert durch deutlich alternierende Bindungslängen und einen nichtebenen Neunring) sind^[1]. Infolge des Gleichgewichts **1A** ⇌ **1B** sind für R¹ = R² vier Paare von Ringprotonen und von Ring-Kohlenstoffatomen äquivalent: H-1/H-8, H-2/H-7, H-3/H-6, H-4/H-5 bzw. C-1/C-8, C-2/C-7, C-3/C-6, C-4/C-5. Zudem treten die ¹H- und ¹³C-NMR-Signale bei δ ≈ 5.4 bis 6.4 bzw. δ ≈ 115 bis 132 auf und ändern ihre Lage zwischen –100 und +20 °C praktisch nicht. Ein auffällig anderes Verhalten zeigt das erste isolierte Nonafulven **1b**, dessen Spektren sich bei Variation der Temperatur oder der Solvenspolarität stark ändern^[2, 3]. Dies läßt sich mit einem Gleichgewicht zwischen dem nichtebenen olefinischen **1b** und dem ebenen dipolaren **1b**[±]^[4] erklären, wobei **1b**[±] bei tiefen Temperaturen oder in polaren Solventien begünstigt wird^[5]; sehr ähnlich verhalten sich Natrium-nonafulvenolate^[6].

Bis heute waren Nonafulvene, welche zwischen –100 und 20 °C und auch in unpolaren Lösungsmitteln in der dipolaren

[*] Prof. Dr. M. Neuenschwander, Dr. S. Chai
Institut für Organische Chemie der Universität
Freiestrasse 3, CH-3012 Bern (Schweiz)
Telefax: Int. + 31/631-4499

[**] Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekt-Nr. 20-37336.93) für finanzielle Unterstützung.