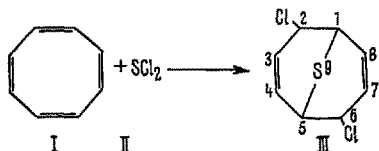


SPECIALIA

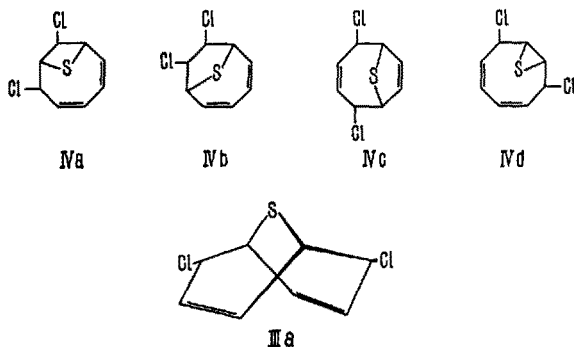
Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces brèves communications. – Für die Kurzmitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed in the authors' brief reports. – Ответственность за короткие сообщения несёт исключительно автор. – El responsable de los informes reducidos está el autor.

Über Addukte aus Cyclooctatetraen und Schwefeldichlorid

Bei der exotherm verlaufenden transannularen Addition von Schwefeldichlorid II an Cyclooctatetraen I entsteht das 2,6-Dichloro-9-thiabicyclo-[3.3.1]-3,7-nonadien III.

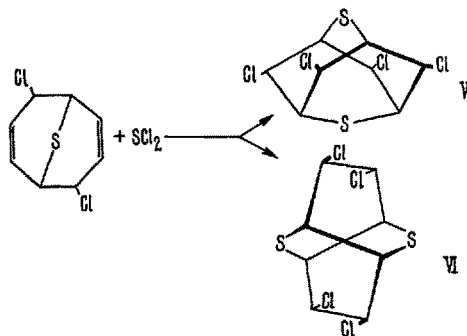


Das NMR-Spektrum stimmt mit der vorgeschlagenen Formel III gut überein. Es treten 4 Signalgruppen gleicher Intensität bei $\tau = 3,80$ ($H_4 + H_8$), $4,15$ ($H_3 + H_7$), $4,91$ ($H_2 + H_6$) und $6,56$ ($H_1 + H_5$) auf. Die Kopplungskonstanten betragen angenähert: $J_{78} \sim 11$ Hz, $J_{24} \sim 2$ Hz, $J_{18} \sim 6$ Hz, $J_{23} \sim 0$, bis 1 Hz (Diederwinkel $\sim 90^\circ$). Die Strukturen IV a–IV d sind aufgrund des NMR-Spektrums auszuschliessen.



Unter der Annahme einer *trans* Addition¹ (beide Chloratome in *trans*-Stellung bezüglich der Schwefelbrücke) ergibt sich für das Molekül folgende Konformation: Sechsringe in Halbsesselform mit den Chloratomen in quasi-äquatorialer Stellung III a.

Wird das Addukt III nochmals mit Schwefeldichlorid umgesetzt, so entsteht ein Anlagerungsprodukt mit der erwarteten Summenformel $C_8H_4Cl_4S_2$. Aus dem Massenspektrum ergibt sich der Molekülionpeak bei $m/e = 308$.



Das NMR-Spektrum (Figur 1a) ist vom $AA'A''A'''-XX'X''X'''$ -Typ² mit $\tau_A = 6,96$ (H_A-C-S) und $\tau_X = 4,53$ (H_X-C-Cl). Ein solches Spektrum enthält effektive Larmorfrequenz-Teilspektren³ mit den Frequenzen

$$\nu_a = \nu_A \pm 1/2 (J_{AX} + J_{AX'} + J_{AX''} + J_{AX'''})$$

im A-Teil und entsprechenden Frequenzen symmetrisch zu ν_X im X-Teil. Die in Figur 1a mit Pfeilen bezeichneten Linien entsprechen diesen Teilspektren. Hieraus ergibt sich

$$J_{AX} + J_{AX'} + J_{AX''} + J_{AX'''} = 7,1 \text{ Hz.} \quad (1)$$

Dieser Befund erlaubt noch keine eindeutige Unterscheidung zwischen den Verbindungen V und VI, die beide durch *trans* Addition von SCl_2 an III entstehen können. Beide Verbindungen haben 2 Sätze von je 4 chemisch äquivalenten Protonen, da V zur Punktgruppe S_4 (eine vierzählige Drehsymmetrieachse), VI zur Punktgruppe D_2 (3 zueinander senkrechte zweizählige Achsen) gehört.

Auch der Wert der Summe (1) ist mit beiden Strukturen verträglich; für V besteht die Summe hauptsächlich aus 2 vicinalen Kopplungskonstanten zwischen Protonen mit Diederwinkeln von 60° ; für VI aus einer vicinalen Kopplungskonstanten zwischen Protonen mit einem Diederwinkel von 30° .

Es wurden daher Modellspektren für V und VI mit aus der Erfahrung abgeschätzten Parametern und unter Berücksichtigung von (1) berechnet. Die Parameter für Modell V sind in Figur 1b, die für Modell VI in Figur 1c angegeben. Mit diesen Werten ergibt sich für Modell V ein Problem mit D_4 -Symmetrie, für Modell VI ein Problem mit C_{2h} -Symmetrie³. Die Berechnungen wurden mit einem Achtspin-Programm auf der Basis von Frequenz IV B auf einem Univac 1107 Computer durchgeführt. Die berechneten Spektren sind als Strichdiagramme in den Figuren 1b und 1c dargestellt. In Figur 1b ist noch die Kontur angegeben, die erhalten wird, wenn zur Darstellung des Spektrums Dreiecke mit einer Halbwertsbreite von $0,7$ Hz verwendet werden.

Die ausserordentlich gute Übereinstimmung zwischen experimentellem und für das Modell V berechnetem Spektrum erlaubt eindeutig, Struktur VI auszuschliessen. Bei dem Addukt handelt es sich also um das 4,8,9,10-Tetrachloro-2,6-dithiaadamantan V.

Experimenteller Teil. Die Schmelzpunkte wurden auf der Koflerbank ausgeführt. Das IR-Spektrum mit dem Perkin-Elmer Modell 221, das UV-Spektrum mit dem Beckman DK 2A, das Massenspektrum mit dem CEC 21-110 und die NMR-Spektren ($CDCl_3$) mit dem Varian HA-100 Spektrometer gemessen.

¹ E. J. COREY und E. BLOCK, J. org. Chem. 31, 1663 (1966); E. D. WEIL, K. J. SMITH und R. J. GRUBER, J. org. Chem. 31, 1669 (1966); F. LAUTENSCHLAEGGER, J. org. Chem. 31, 1679 (1966); F. LAUTENSCHLAEGGER, Can. J. Chem. 44, 2813 (1966).

² R. G. JONES und S. M. WALKER, Molec. Phys. 10, 349, 363 (1966).

³ P. DIEHL, R. G. JONES und H. J. BERNSTEIN, Can. J. Chem. 43, 81 (1965).

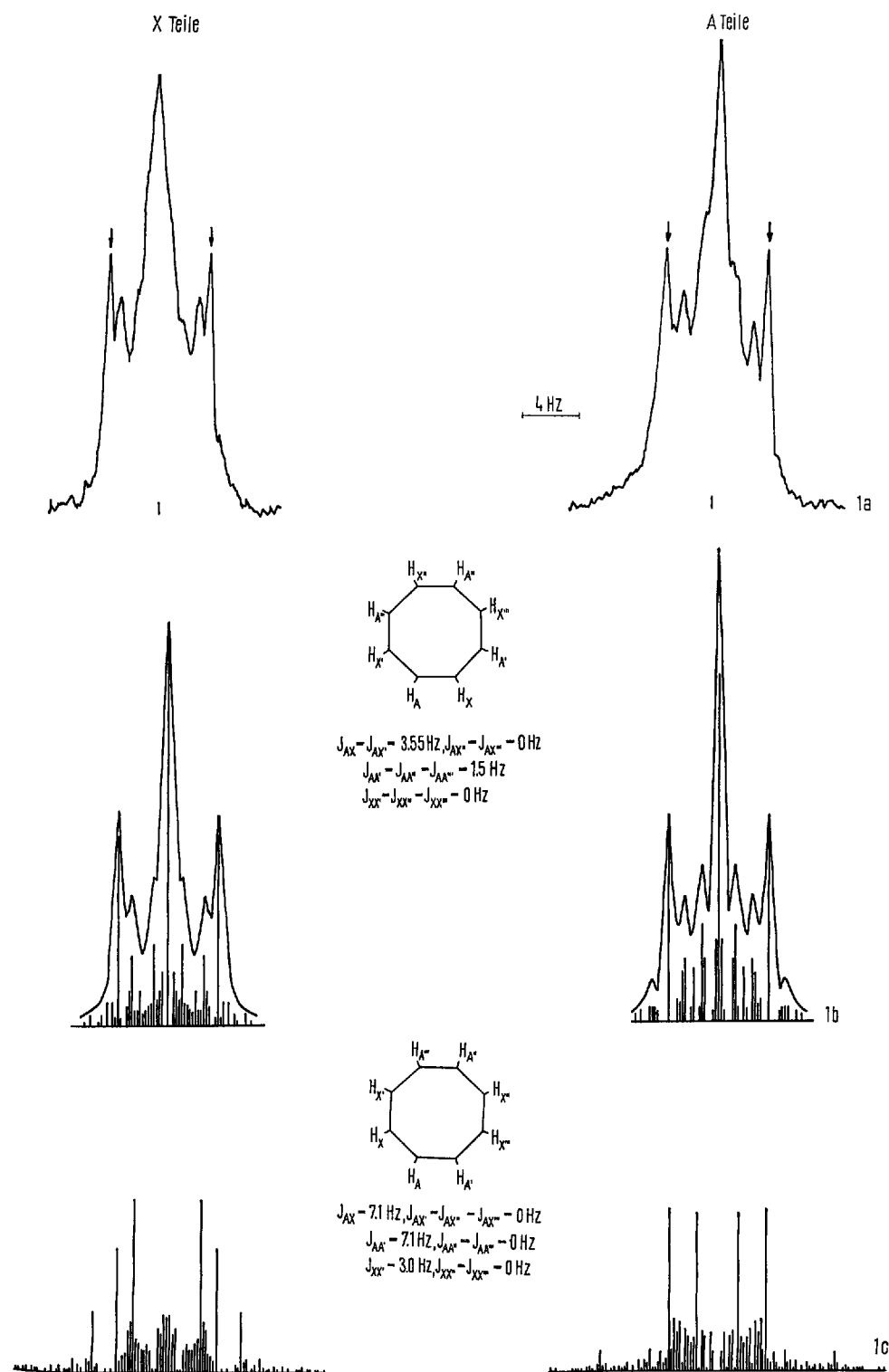


Fig. 1a. Experimentelles Spektrum; Fig. 1b. Berechnetes Modellspektrum zu V; Fig. 1c. Berechnetes Modellspektrum zu VI.

1, 2, 6-Dichloro-9-thiabicyclo-[3.3.1]-3, 7-nonadien III: 51,5 g SCl_2 (0,5 M, frisch dest. über PCl_5), gelöst in 80 ml CH_2Cl_2 , werden innerhalb von $\frac{3}{4}$ h bei -10° bis -5° zu einer Lösung von 52 g (0,5 M) Cyclooctatetraen in 150 ml CH_2Cl_2 zugetropft. Anschliessend wird 1 h bei -10° nachgerührt. Nach Abdestillation der leichtflüchtigen Anteile im Vakuum bei Raumtemperatur wird der schmierige

Rückstand abgesaugt und aus Cyclohexan oder CCl_4 umkristallisiert. Eine weitere Substanzmenge lässt sich durch Fraktionierung der Mutterlauge im Hochvakuum (Kp. $\sim 120-150^\circ/1$ Torr) gewinnen. Smp. 102° , Ausbeute: 29–34 g (28–33%). $\text{C}_8\text{H}_8\text{Cl}_2\text{S}$ (207,12) Ber. C, 46,39, H, 3,89, Cl, 34,23, S, 15,48 %. Gef. C, 46,29, H, 3,86, Cl, 34,36, S, 15,40%.

2. 4, 8, 9, 10-Tetrachloro-2, 6-dithia-adamantan V: 5,2 g III (0,025 M) werden in 35 ml Benzol gelöst und mit 5,2 g Schwefeldichlorid (0,05 M) versetzt. Danach wird 17 h zum Siedem erhitzt, im Vakuum eingengt und der Rückstand in Äther suspendiert. Man saugt die abgeschiedenen Kristalle ab und reinigt das Rohprodukt durch Umkristallisation aus Benzol oder durch Sublimation. Smp. 225–226°, lässt sich bei ~150 bis 160°/10 Torr sublimieren. Bei erhöhter Temp. tritt campherartiger Geruch auf. Ausbeute: 1,5–1,7 g (20–22% bez. auf III). UV-Spektrum (MeOH): $\lambda_{max} = 235$ nm ($\log \epsilon = 2,81$). IR-Spektrum (KBr): Banden bei 1324, 801 und 683 cm^{-1} . $\text{C}_8\text{H}_8\text{Cl}_4\text{S}_2$ (310,09) Ber. C, 30,99, H, 2,60, Cl, 45,73, S, 20,68%. Gef. C, 31,21, H, 2,59, Cl, 45,71, S, 20,41%.

Summary. Transannular addition of one mole sulphur dichloride to cyclooctatetraene yielded 2,6-dichloro-9-thiabicyclo-[3.3.1]-3,7-nonadiene. Transannular addition of a second mole sulphur dichloride led to the tetrachlorinated 2,6-dithia-adamantane.

P. Y. BLANC, P. DIEHL⁴,
H. FRITZ und P. SCHLÄPFER

Forschungslaboratorien der J. R. Geigy AG und
Physikalisches Institut der Universität Basel
(Schweiz), 12. Juli 1967.

⁴ Physikalisches Institut der Universität Basel.

Studies on the Structure of Collagen V¹. The Site of Binding of Trivalent Iron on Collagen

Much work has been devoted to determining the site where different metal tanning agents are attached to the collagen molecule (for review see CHAMBARD²). As far as we know, all reports up to the present have shown only that different metals are bound to a particular type of functional group in the collagen molecule.

In previous studies evidence has been accumulated showing that the carboxyl groups are involved in the binding of iron in collagen (CHAMBARD²). Nobody has tried to isolate the actual complex of Fe^{III} with a small peptide, i.e. isolate the active sites binding Fe^{III} to collagen. This was the aim of the work reported in this paper.

Experimental. Rat-tail tendon collagen was extracted 10 times with 10% sodium chloride to remove the non-collagenous proteins, and the tanning was performed by 0.1 M solution of ferric sulphate in 0.1 M citrate buffer (pH 5, μ 0.1) for a period of 1 h. The tendons were washed free from the excess of Fe^{III} in running water overnight. The tanned collagen was suspended in 0.05 M calcium chloride and treated with pronase for 24 h at 20°C (collagen-pronase ratio 100:1). The resulting mixture was dialysed against water at 4°C.

No Fe^{III} was detected in the dialysate and therefore the non-dialysable part was separated from pronase by precipitation with 15% KCl + 0.02 M K_2HPO_4 and denatured for 1 h in 0.05 M calcium chloride at 80°C. It was then cooled and digested with pronase again for 24 h at 25°C (collagen-pronase ratio 50:1).

The reaction mixture was dialysed a second time against water at 4°C; this time a considerable amount of bound iron went into the dialysate.

The dialysate was concentrated and separated on a Dowex 50 X-2 column using pyridine-formate and pyridine-acetate buffers (starting buffer pH 3, μ 0.075; final buffer pH 7, μ 2). Five peptides containing Fe^{III} have been separated. The homogeneity of these peptides was proved by paper chromatography in butanol-pyridine-acetic acid-water (30:20:6:24).

The total and/or partial sequences of these peptides were determined according to GRAY and HARTLEY³ and are summarized in the Table.

Peptide No. 4 appeared to be a mixture of peptides 3 and 5 as far as N-terminals and total composition are concerned; it contained however only 1 atom of iron,

therefore this is presumably the peptide with the iron cross-link.

From the structure of peptides listed above, one can conclude that the binding site of trivalent iron in acidic media is aspartic acid in the sequence Ala-Asp-Gly.

A second interesting result of our work is the presence of 1 mole of cysteine in peptide No. 1, which suggests the presence of 1 cysteine molecule/tropocollagen molecule. This is in agreement with the results of McBRIDE and HARRINGTON⁴, who detected the presence of cystine in invertebrate collagen. The presence of cysteine in collagen from species other than rat-tail tendon collagen is under active investigation.

Peptide No.	Sequence	Moles Fe^{III} /mole of peptide
1	Cys-Ala-Asp-Gly	1
2	Gly-Ala-Asp-Gly	1
3	Ala-Asp-(4 Gly, 2 Glu, 2 Lys, 2 Ala)	1
5	Pro-(Ala, Asp, 4 Gly, Glu, 2 Lys, Arg)	1

Zusammenfassung. Die Reaktion zwischen Kollagen und Fe^{III} wurde studiert. Es zeigte sich, dass das Eisen an die Sequenzen des Typs Ala-Asp-Gly gebunden wird. Weiter wurde gefunden, dass 1 mol Ratten-Tropokollagen 1 mol Cystein als Sequenz Cys-Ala-Asp-Gly enthält.

J. ROSMUS, OLGA VANČIKOVÁ,
J. MARC and Z. DEYL

Central Research Institute of Food Industry, Praha-Smíchov and Physiological Institute, Czechoslovak Academy of Sciences, Praha-Krč (Czechoslovakia),
9th June 1967.

¹ S. BUMP, Z. DEYL and J. ROSMUS, Communication IV, *Experientia* 23, 518 (1967).

² C. CHAMBARD, in *The Chemistry and Technology of Leather* (Eds. F. O'FLAHERTY, W. T. RODDY and R. M. LOLLAR; Reinhold, London 1958), vol. II, p. 364.

³ W. R. GRAY and B. S. HARTLEY, *Biochem. J.* 89, 379 (1963).

⁴ O. W. McBRIDE and W. F. HARRINGTON, *J. biol. Chem.* 240, 4545 (1965).