

## Röntgen-Strukturanalyse, absolute Konfiguration und Circular dichroismus von $\beta$ -Nitrostyrol-Addukten des Cysteins

Werner Winter, Gerhard Heusel, Hassanein Fouad und Günther Jung\*

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

Eingegangen am 9. Januar 1979

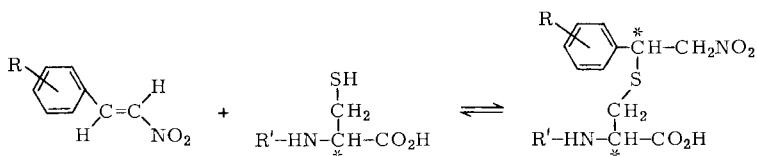
Durch Addition von *N*-Acetyl-L- und -D-cystein an  $\beta$ -Nitrostyrol wurden alle vier isomeren *N*-Acetyl-S-(2-nitro-1-phenylethyl)cysteine (**1a–d**) synthetisiert. Durch fraktionierende Kristallisation ließen sich L- und auch D-Cysteinderivate jeweils in beide Diastereomeren trennen. Diese zeigen nahezu gleiche  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-, IR- und UV-Absorptions-Spektren, jedoch ausgeprägte Cotton-Effekte mit entgegengesetztem Vorzeichen bei 285 nm. Die chiroptischen Eigenschaften der Addukte werden in diesem Wellenlängenbereich nicht von der Cystein-Konfiguration bestimmt, sondern von der Konfiguration des neu entstandenen Asymmetriezentrums in unmittelbarer Nachbarschaft zur Nitrogruppe, zur Sulfidgruppe und zum Phenylrest. Die Röntgen-Strukturanalyse des  $\beta$ -Nitrostyrol-Adduktes von *N*-Acetyl-L-cystein mit negativem langwelligem Cotton-Effekt erwies dieses als (*R,R*)-Diastereoisomeres (**1a**). An Konfigurationsisomeren und an mehreren substituierten Analoga der S-(2-Nitro-1-phenylethyl)-Gruppe wird gezeigt, wie durch CD-Messung auch deren Konfiguration bestimmbar ist.

### Synthesis, Circular Dichroism, and X-Ray Structure Analysis of $\beta$ -Nitrostyrene Adducts of Cysteine

All four isomeric *N*-acetyl-S-(2-nitro-1-phenylethyl)cysteines were synthesized by addition of *N*-acetyl-L- and -D-cysteine to  $\beta$ -nitrostyrene. Fractional crystallization gave the two diastereomers of both the L- and D-cysteine derivatives, which do not differ significantly in their  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra or IR and UV absorption. However, they exhibit characteristic Cotton effects with opposite signs at 285 nm. In this range of wave lengths the chiroptical properties of the adducts depend entirely on the configuration of the new center of asymmetry. Its immediate environment is formed by the nitro group, the sulfide group, and the phenyl residue. X-Ray analysis of that  $\beta$ -nitrostyrene adduct of *N*-acetyl-L-cysteine, which has a negative long wave length Cotton effect revealed its (*R,R*) configuration. It is shown that the configuration of configurational isomers and of various substituted analogues of the S-(2-nitro-1-phenylethyl) group may be also determined by CD measurements.

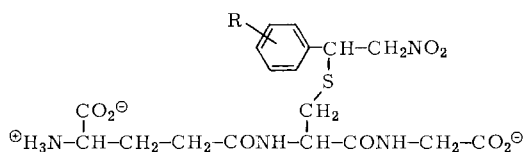
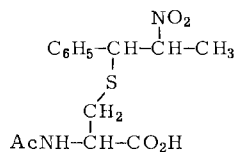
Die Thiolgruppe des Cysteins addiert an  $\beta$ -Nitrostyrole unter Bildung von S-(2-Nitro-1-phenylethyl)-Derivaten<sup>1)</sup>. Wir haben die Anwendbarkeit der  $\beta$ -Nitrostyrole als SH-Schutzgruppe zu Peptidsynthesen untersucht, da Addukte wie *N*-tert-Butoxycarbonyl-S-(2-nitro-1-phenylethyl)-L-cystein leicht zugänglich sind<sup>1,2)</sup>.

Bei der Addition eines chiralen Thiols wie *N*-Acetyl-L-cystein an  $\beta$ -Nitrostyrol bildet sich ein weiteres Asymmetriezentrum (s. Formelschema); es entstehen somit zwei Diastereomere in gleicher Menge, sofern nicht eine Konfiguration bevorzugt ist. Bei syste-



1-15

	1a-d	2a, b	3	4	5a, b	6a, b	7	8
R	H	H	4-Cl	2-NO <sub>2</sub>	3-NO <sub>2</sub>	2-OCH <sub>3</sub>	3,4-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4-CO <sub>2</sub> H
R'	CH <sub>3</sub> CO	(H <sub>3</sub> C) <sub>3</sub> COCO	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO
	9	10a, b	11	12	13	14	15	
R	4-CH <sub>3</sub>	H	4-OCH <sub>3</sub>	2,3-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2,4-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2,5-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	3,4-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	
R'	CH <sub>3</sub> CO	H	H	H	H	H	H	

16: R = H; 17: R = 3,4-(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

18

matischen Untersuchungen der Addukte verschieden substituierter  $\beta$ -Nitrostyrole mit Cysteinderivaten und Peptiden des Cysteins fiel uns eine überraschend hohe Stereoselektivität auf. So zeigen u. a. die Additionsprodukte des 3,4-Dimethoxy- $\beta$ -nitrostyrols an Glutathion und an L-Cystein entgegengesetzte Cotton-Effekte im langwelligen Bereich des CD-Spektrums<sup>1)</sup>. Einen Vorzeichenwechsel dieser CD-Bande erhält man z. B. auch bei den CD-Spektren von fraktionierend kristallisierten Diastereomeren des *N*-tert-Butoxycarbonyl-S-(2-nitro-1-phenylethyl)-L-cystein-*N*-Methylmorpholinium-Salzes (**2b** · C<sub>3</sub>H<sub>11</sub>NO) (Abb. 1). Das chiroptische Verhalten in diesem Wellenlängenbereich wird ausschließlich von der Konfiguration des neuen Asymmetriezentrums mit (*R*)- oder (*S*)-chiraler Anordnung der längerwellig absorbierenden Chromophore der Nitromethylgruppe, der Sulfidgruppe und des Phenylrestes bestimmt. Stereoselektive Additionen sollten bei chiroptischer Verfolgung der Reaktion von  $\beta$ -Nitrostyrolen mit reaktionsfähigen Thiolgruppen von Enzymen u. a. Aussagen über die Topologie des Additionsortes erlauben. Voraussetzung für derartige Anwendungen ist die im folgenden beschriebene Bestimmung der absoluten Konfiguration eines niedermolekularen, isomerenfreien Addukts mit der Gruppierung des S-(2-Nitro-1-phenylethyl)-Restes und deren Korrelation mit dem Vorzeichen des langwelligen Cotton-Effekts.

### Synthese der $\beta$ -Nitrostyrol-Addukte

Unter Basenkatalyse reagieren aliphatische Thiole und Thiophenole in nucleophiler Addition mit  $\beta$ -Nitrostyrol<sup>3-7)</sup>. Wir stellten fest, daß neutrale bis schwach basische Bedingungen (pH 7-8) für präparative Umsetzungen von amino- und carboxyl-

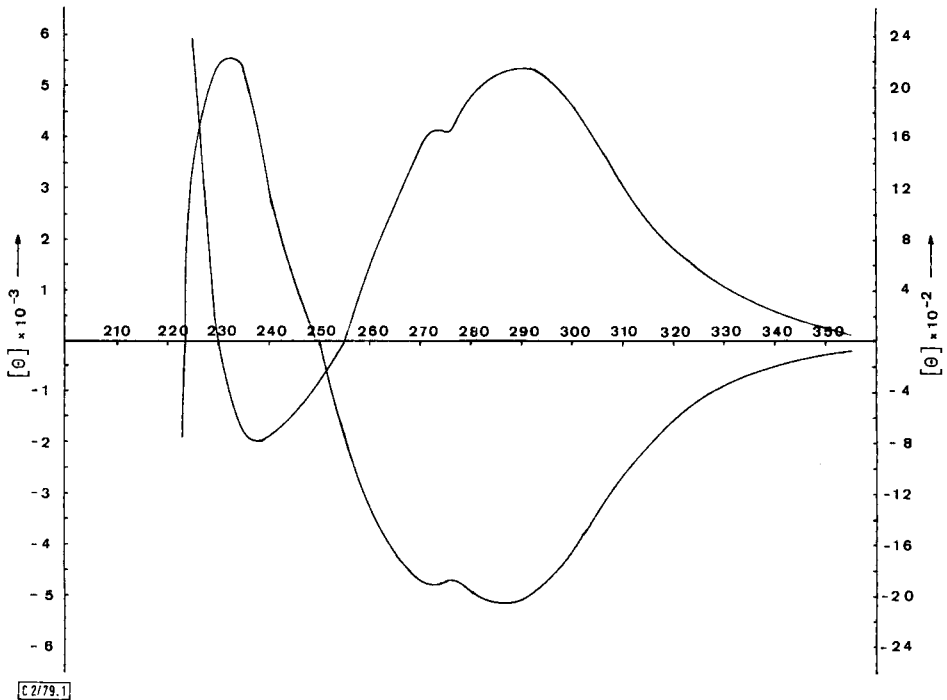


Abb. 1. CD-Spektren von Diastereomeren der Konfigurationen (*R,R*) und (*R,S*) des  $\beta$ -Nitrostyrol-Adduktes *N-tert*-Butoxycarbonyl-*S*-(2-nitro-1-phenylethyl)-(*R*)-cystein, *N*-Methylmorpholinium-Salz (2) in Methanol ( $c = 1.5 \cdot 10^{-3}$  mol/l, 25°C)

geschützten Cysteinderivaten sowie freiem Cystein und freien Cysteinpeptiden ausreichen (Tab. 1 – 3). Stärkere Konzentrationen an Base beschleunigen zwar die Addition, fördern aber auch die Rückreaktion durch Eliminierung. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Amino- und Hydroxylgruppen reagiert selektiv die Thiolgruppe. Die Additionsprodukte aus  $\beta$ -Nitrostyrolen und freiem Cystein sowie freiem Glutathion können beispielsweise bei Raumtemperatur in einer Methanol/Wasser-Mischung mit *N*-Methylmorpholin oder Triethylamin als Basen dargestellt werden, wobei jeweils äquimolare Mengen eingesetzt werden. Nach wenigen Minuten ist keine freie SH-Gruppe mehr nachweisbar; das Produkt kristallisiert direkt oder beim Einengen aus. Bei manchen kernsubstituierten  $\beta$ -Nitrostyrolen kann eine Mischung aus verschiedenen gut kristallisierenden Diastereomeren entstehen, was die quantitative Isolierung und Reinigung des schlechter kristallisierenden Diastereomeren erschwert. *N*-substituierte Cysteinderivate werden aus der angesäuerten wäßrigen Phase wie üblich durch Extraktion mit Essigester isoliert.

### Spektroskopische Untersuchungen und Diastereomerentrennung

Im Rahmen von UV-Messungen wurde bereits einmal eine „Wechselwirkung“ zwischen Cystein und  $\beta$ -Nitrostyrol festgestellt<sup>6)</sup>, daraus aber nicht der Schluß gezogen, daß es sich um eine Additionsreaktion handelt. Als Thiolreagens mit hoher UV-Absorption verwendeten *Masri, Windle*

Tab. 1. Charakterisierungsdaten der Additionsprodukte von L-Cystein und seinen Derivaten an substituierte und nichtsubstituierte  $\beta$ -Nitrostyrole<sup>a)</sup>

Verbindung	Ausb. (%)	Schmp. (°C)	Drehwert [ $\alpha$ ] <sub>D</sub> <sup>20</sup> (°)	CD-Spektrum $\lambda$ (nm)	$\Theta$ ( $\frac{\text{grad} \cdot \text{cm}^2}{\text{dmol}}$ )	DC $R_F(\text{A})$	Summenformel (Molmasse)	C	H	N	S
<i>N-tert</i> -Butoxycarbonyl-S-(2-nitro-1-phenylethyl)-L-cystein · <i>N</i> -Methylmorpholin ( <b>2a</b> · C <sub>3</sub> H <sub>11</sub> NO)	40.3	131–133	+73.3 ( <i>c</i> = 1, CHCl <sub>3</sub> )	290 272 255 236.5	+2180 +1680 0 –1970	0.69	C <sub>21</sub> H <sub>33</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub> S (471.5)	Ber. 53.94 Gef. 52.72	7.04 6.74	8.91 8.28	6.78 8.01
<b>2b</b> · C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO	30.1	58–60	–46.5 ( <i>c</i> = 1, CHCl <sub>3</sub> )	289 272 250 233	–2070 –1920 0 +5610	0.69		Gef. 52.22	6.61	8.09	8.04
<i>N</i> -Acetyl-S-[1-(4-chlorphenyl)-2-nitroethyl]-L-cystein ( <b>3</b> )	34	55	–7.6 ( <i>c</i> = 1, Methanol)	229	+4800	0.59	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S (346.8)	Ber. 45.02 Gef. 45.61	4.38 4.65	8.08 7.69	9.23 8.91
<i>N</i> -Acetyl-S-[2-nitro-1-(2-nitrophenyl)ethyl]-L-cystein ( <b>4</b> )	55	135–137	+8.0 ( <i>c</i> = 1, Ethanol)	220 212.5	+5080 0	0.63	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub> S (357.3)	Ber. 43.69 Gef. 44.35	4.20 4.33	11.76 11.37	8.96 8.49
<i>N</i> -Acetyl-S-[2-nitro-1-(3-nitrophenyl)ethyl]-L-cystein ( <b>5a</b> )	70	64–65				0.57		Gef. 44.14	4.43	11.07	8.79
<b>5b</b>	48	67–69	–4.4 ( <i>c</i> = 1, Methanol)			0.60		Gef. 44.22	4.51	10.91	8.67
<i>N</i> -Acetyl-S-[1-(2-methoxyphenyl)-2-nitroethyl]-L-cystein ( <b>6a</b> )	38	168–170	+63.1 ( <i>c</i> = 1, Methanol)	305 292.5 286 282 279 277 274 269.5 260	+1000 0 –1400 0 +700 +650 +850 0 –1150	0.62	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S (342.3)	Ber. 49.12 Gef. 49.13	5.26 5.39	8.18 7.99	9.35 9.88

Tab. 1 (Fortsetzung)

Verbindung	Ausb. (%)	Schmp. (°C)	Drehwert $[\alpha]_{D}^{25}$ (°)	CD-Spektrum $\lambda$ (nm)	$\Theta$ $\left(\frac{\text{grad} \cdot \text{cm}^2}{\text{dmol}}\right)$	DC $R_F(A)$	Summenformel (Molmasse)	C	H	N	S
<b>6b</b>		135–137	–114.8 ( $c = 1$ , Methanol)	310 294 290 287.5 242.5 237.5 233	–500 0 +200 0 +3500 0 –10000	0.62		Gef. 49.52	5.52	7.77	9.19
<i>N</i> -Acetyl-S-[1-(3,4-dimethoxy-phenyl)-2-nitroethyl]-L-cystein ( <b>7</b> )	–	148–151	+97.5 ( $c = 1$ , Methanol)	323 277 250 227	+330 +6000 +5720 +18700		$C_{15}H_{20}N_2O_7S$ (372.3)	Ber. 48.38 Gef. 47.86	5.37 5.41	7.52 7.68	8.60 8.91
<i>N</i> -Acetyl-S-[1-(4-carboxy-phenyl)-2-nitroethyl]-L-cystein ( <b>8</b> )	7	82–84		231 225 217.5	+1460 0 –1950	0.60 (Abb. vgl. Lit. <sup>1)</sup> )	$C_{14}H_{16}N_2O_7S$ (356.3)	Ber. 47.19 Gef. 48.65	4.49 5.03	7.86 7.11	8.98 7.57
<i>N</i> -Acetyl-S-[4-(methylphenyl)-2-nitroethyl]-L-cystein ( <b>9</b> )	46	53–56	–9.0 ( $c = 1$ , Methanol)	222.5 216 214 210	+6730 0 –2240 0	0.60	$C_{14}H_{18}N_2O_5S$ (326.3)	Ber. 51.53 Gef. 51.07	5.52 5.65	8.58 8.51	9.81 9.88
S-(2-Nitro-1-phenylethyl)-L-cystein ( <b>10a</b> )	50	174–176 (Zers.)	–9.7 ( $c = 1$ , 0.1 N HCl)	285 265 255	–615 –480 0	0.49	$C_{11}H_{14}N_2O_4S$ (270.2)	Ber. 48.88 Gef. 48.66	5.18 5.23	10.37 10.29	11.85 12.14
S-(2-Nitro-1-phenylethyl)-D-cystein ( <b>10b</b> )	45	174 (Zers.)	–	285 265 255	+240 +260 +220	0.50	$C_{11}H_{14}N_2O_4S$ (270.2)				

Tab. 1 (Fortsetzung)

Verbindung	Ausb. (%)	Schmp. (°C)	Drehwert [ $\alpha$ ] <sub>D</sub> <sup>25</sup> (°)	CD-Spektrum $\lambda$ (nm)	$\Theta$ $\left(\frac{\text{grad} \cdot \text{cm}^2}{\text{dmol}}\right)$	DC $R_F(A)$	Summenformel (Molmasse)	C	H	N	S
<i>S</i> -[1-(4-Methoxyphenyl)-2-nitroethyl]-L-cystein (11)	55	164–166	–11.0 ( <i>c</i> = 0.5, 0.1 N HCl)	316 295 287 284 270 246 235	–162 0 +139 0 –1390 0 +1160	0.46	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S (300.2)	Ber. 48.00 Gef. 48.16	5.33 5.39	9.35 8.73	10.66 10.86
<i>S</i> -[1-(2,3-Dimethoxyphenyl)-2-nitroethyl]-L-cystein (12)	76	146–148	–25.5 ( <i>c</i> = 1, AcOH)	285 270	–490 0	0.61	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S (330.2)	Ber. 47.27 Gef. 47.41	5.45 5.13	8.48 8.07	9.69 9.90
<i>S</i> -[1-(2,4-Dimethoxyphenyl)-2-nitroethyl]-L-cystein (13)	58	146–148	–68 ( <i>c</i> = 1, AcOH)	275	+650	0.60		Gef. 47.11	5.16	8.03	9.97
<i>S</i> -[1-(2,5-Dimethoxyphenyl)-2-nitroethyl]-L-cystein (14)	82	175–178	+134.0 ( <i>c</i> = 1, 1 N HCl)	290 265 242.5 233	+3500 +550 +7100 0	0.63		Gef. 47.56	5.32	8.25	10.22

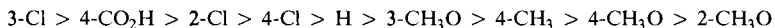
Tab. 1 (Fortsetzung)

Verbindung	Ausb. (%)	Schmp. (°C)	Drehwert $[\alpha]_{578}^{25}$ (°)	CD-Spektrum $\lambda$ (nm)	$\Theta$ $\left(\frac{\text{grad} \cdot \text{cm}^2}{\text{dmol}}\right)$	DC $R_F(A)$	Summenformel (Molmasse)	Analyse		
								C	H	N S
<i>S</i> -[1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-nitroethyl]-L-cystein ( <b>15</b> )	61	180–182	–79.6 ( <i>c</i> = 0.5, 0.1 N HCl)	297 290 276 250 227 207	+725 0 –3700 –5000 –5150 –29050	0.61		Gef. 47.10	5.43	8.50 10.36
<i>N</i> -Acetyl- <i>S</i> -(2-nitro-1-phenylpropyl)-L-cystein ( <b>18a</b> )	20	150–152	+11.6 ( <i>c</i> = 1, Methanol)	280 267 251	–1520 –1090 0	0.43	$C_{14}H_{18}N_2O_5S$ (326.3)	Ber. 51.53	5.56	8.58 9.80
<b>18b</b>	28	136–138	–7.1 ( <i>c</i> = 1, Methanol)	287 267 250	–1400 0 +1750	0.43		Gef. 52.06	5.80	8.62 9.99
<b>18c</b>	26	123–125	–0.9 ( <i>c</i> = 1, Methanol)	290 263 245 236	+920 0 –890 0	0.43		Gef. 52.08	5.57	8.46 9.09

a) Alle spontan ausfallenden Addukte **10–15** aus freiem Cystein zeigten bereits ohne fraktionierte Kristallisation hohe Elliptizitäten im langwelligeren Bereich. Bei den Addukten **3–5**, **8** und **9** wurden bisher keine Diastereomeren isoliert, daher zeigen diese Verbindungen keine Cotton-Effekte im langwelligeren Bereich. Aufgrund unterschiedlicher Isomerenreinheit und evtl. durch Mutarotation ihrer Lösungen können die chiroptischen Eigenschaften aller Addukte Änderungen erfahren.

und Friedman<sup>9)</sup> andererseits 4-Nitrostyrol, wobei sie Cystein und Glutathion addierten und eine große Stabilität der entstandenen *S*-Alkylprodukte im sauren Bereich feststellten.

Wir haben in millimolaren Ansätzen äquivalenter Mengen an  $\beta$ -Nitrostyrol, *N*-Acetyl-L-cystein und Piperidin in wasserfreiem Ethanol bei Raumtemperatur die Abnahme der Extinktion der längstwelligsten Bande der  $\beta$ -Nitrostyrole bei etwa 300 nm verfolgt. Die Additions geschwindigkeit nahm dabei z. B. in folgender Reihe kernsubstituierter  $\beta$ -Nitrostyrole ab:



Erwartungsgemäß beschleunigen somit elektronenziehende Substituenten mit  $-I > +M$ -Effekt, während solche mit  $+I$ - bzw.  $+M > -I$ -Effekt eine Verlangsamung bewirken. Die Menge und Stärke des basischen Katalysators spielt gegenüber diesen Substituenteneffekten eine weitaus größere Rolle. So addiert z. B. *N*-Acetylcystein an  $\beta$ -Nitrostyrol mit zwei Mol Piperidin als Katalysator zehnmal schneller als mit nur einem Mol.

Bei der Auswertung der CD-Spektren mehrerer fraktioniert kristallisierter Proben fielen uns spiegelbildliche Cotton-Effekte oberhalb von 250 nm auf<sup>1)</sup>. Aus den beiden Enantiomeren des *N*-Acetylcysteins stellten wir daher die vier isomeren 2-Nitro-1-phenylethyl-Derivate **1a–d** dar (Tab. 2 und 3). Die Trennung der resultierenden Diastereomerenpaare jeweils des L- und D-Cysteins gelang bei diesen Derivaten durch fraktionierende Kristallisation aus Essigester/Petrolether. Die vier Diastereomeren weisen auf den ersten Blick wenig signifikante Unterschiede in ihren <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR, IR- und UV-Absorptions-Spektren (Tab. 3) auf. Sie zeigen Unterschiede im Löslichkeitsverhalten in verschiedenen Solventien und besitzen Schmelzpunkte zwischen 96 und 137°C. Sie wandern in verschiedenen Lösungsmittelsystemen bei der Dünnschichtchromatographie alle mit dem gleichen *R<sub>F</sub>*-Wert. Mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie an Lichrosorb RP-8 ließen sich die Diastereomerenpaare der *S*-(2-Nitro-1-phenylethyl)-L- und -D-cysteine trennen. Alle *N*-Acetylcystein-Derivate konnten bis auf das niedriger schmelzende D-Cystein-Addukt **1c** innerhalb der Fehlergrenzen diastereomerenrein erhalten werden.

Da auch Versuche mit chiralen Verschiebungs-Reagentien zur Differenzierung der NMR-Spektren scheiterten, schien eine Bestimmung der Konfiguration am neuen Asymmetriezentrum durch Röntgen-Strukturanalyse am sichersten und schnellsten zu sein. Auch wären Bestimmungen durch chemische Überführungen wegen möglicher Racemisierungen durch Additions-Eliminierungs-Gleichgewichte zu unsicher und zeitaufwendig. So machten wir die Beobachtung, daß eine ethanolische Lösung des niedriger schmelzenden Diastereomeren von *N*-tert-Butoxycarbonyl-*S*-(2-nitro-1-phenylethyl)-L-cystein, *N*-Methylmorpholinium-Salz (**2b** · C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO) Mutarotation zeigt. Auch Analogieschlüsse aufgrund der CD-Spektren bereits untersuchter Verbindungen, wie sie u. a. bei Nitro-Steroiden<sup>10)</sup> angewendet wurden, sind nicht möglich mangels übertragbarer und sicherer Zuordnungsregeln.

Einkristalle zur Röntgenstrukturanalyse wurden vom *N*-Acetyl-L-cystein-Derivat **1a** mit dem Schmelzpunkt 133°C aus Essigester-Lösung mit *n*-Hexan durch die Dampfphasen-Diffusionsmethode erhalten. Dieses Präparat dürfte auch die höchste



Tab. 2. Charakterisierungsdaten der vier isomeren β-Nitrostyroladdukte von N-Acetylcystein

Produkt	Konfigura- tion	Schmp. (°C)	Drehwert	Vorzeichen der CD-Bande	DC ( <i>R<sub>F</sub></i> )	HPLC Retentionszeit (min)	Massenspektrum FD ( <i>m/e</i> )
N-Acetyl-S-(2-nitro-1-phenylethyl)-L-cystein	<b>1a</b> (R,R)	133	−135.7	neg.	0.66 (A) 0.72 (B)	36.5	312 (M <sup>+</sup> )
	<b>1b</b> (R,S)	98 – 100	+93.6	pos.	0.66 (A) 0.72 (B)	35.0	312 (M <sup>+</sup> )
	<b>1c</b> (S,R)	96 – 98	−24.0	neg.	0.66 (A) 0.72 (B)	35.5	313 (M + 1)
	<b>1d</b> (S,S)	137	+138.5	pos.	0.66 (A) 0.72 (B)	37.0	313 (M + 1)
Elementaranalysen:							
C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S		Ber.		C	H	N	S
(312.3)		Gef.		50.00	5.12	8.97	10.25
<b>1a:</b>		Gef.		49.70	5.16	8.90	10.18
<b>1b:</b>		Gef.		50.00	5.18	8.93	9.90
<b>1c:</b>		Gef.		50.04	5.17	8.93	10.19
<b>1d:</b>		Gef.		49.44	5.17	8.81	10.43

Tab. 3. UV-, CD- und IR-Daten der *N*-Acetyl-*S*-(2-nitro-1-phenylethyl)cysteine

Verb. (Konfi- guration)	UV-Spektren		CD-Spektren		IR-Spektren, Bandenlage (cm <sup>-1</sup> )						$\delta$ -Ring
	$\lambda_{\text{max}}$ [nm]	$\epsilon_{\text{max}}$	$\lambda$ [nm]	$\Theta$ $\left[ \frac{\text{grad} \cdot \text{cm}^2}{\text{dmol}} \right]$	Amid	C=O	C-NO <sub>2</sub>	C-H	C-NO <sub>2</sub>	C-H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )	
<b>1a</b> ( <i>R,R</i> )	260	820	278	-1900	3330	1710	1555	1430	1335	743	696
	(Sch)										
	266	810	273	-1860							
	(Sch)										
	310	1580	252	0							
<b>1b</b> ( <i>R,S</i> )			231	+7150							
			224	0							
	260	780	290	+1100	3300	1700	1555	1430	1330	750	697
	266	740	273	+890							
	310	1230	254	0							
			244	-730							
			229	0							
<b>1c</b> ( <i>S,R</i> )	260	880	293	-777	3330	1710	1555	1425	1335	741	698
	266	870	275	-590							
	310	1670	258	0							
			245	650							
			238	0							
<b>1d</b> ( <i>S,S</i> )	260	790	285	1960	3370	1735	1510	1425	1345	748	700
	266	750	272	1930							
	310	1260	252	0							
			231	-7200							
			224	0							

Enantiomerenreinheit besitzen. Aufgrund der im folgenden Abschnitt beschriebenen Röntgen-Strukturanalyse erwies sich diese Verbindung als (*R,R*)-Isomeres. Damit waren die Konfigurationen der anderen drei Isomeren zuzuordnen (Tab. 2 und 3). Diastereomere Addukte (**1a** und **1b** sowie **1c** und **1d**) mit gleicher Konfiguration am Cystein- $C_\alpha$ -Atom, aber unterschiedlicher Konfiguration am 2-Nitro-1-phenylethyl- $C_\alpha$ -Atom weisen Drehwerte und Cotton-Effekte mit entgegengesetzten Vorzeichen auf (Tab. 2). Die Lage der Maxima und die Vorzeichen stimmen bei den Enantiomeren **1a** und **1d** sowie **1b** und **1c** gut überein (Tab. 3). Beim Übergang vom (*R,R*)- zum (*R,S*)-Addukt (bzw. vom (*S,S*)- zum (*S,R*)-Addukt) beobachtet man eine Abnahme der Größe der Cotton-Effekte auf die Hälfte bei gleichzeitiger Rotverschiebung des längstwelligen Maximums. Eine Rotverschiebung um etwa 15 nm tritt auch beim kurzwelligen Cotton-Effekt auf, wobei allerdings die Elliptizitäten um den Faktor 10 abnehmen.

Ein Vergleich der Extinktion zeigt interessante Analogien. So besitzen z. B. die Diastereomerenpaare **1a** und **1c** bzw. **1b** und **1d** mit jeweils gleicher Konfiguration an der Additionsstelle jeweils höhere Extinktionswerte bei 260 und 310 nm. Die längstwelligen Banden höherer Elliptizitäten der CD-Spektren (275 – 290 nm) haben somit ihre Ursachen in der Nitrogruppe und beinhalten vermutlich einen  $n_\sigma, \pi^*$ -Übergang, dessen Vorzeichen charakteristisch für die absolute Konfiguration ist. Diese Banden sind zu intensiv und zu langwellig für den  $^1L_b$ -Übergang des Phenylrestes. Die CD-Bande um 230 nm (Tab. 1 und 3) ist ein Schwefelübergang ( $n_{3p}, \delta^*$  oder  $n_{3p}, 3d$ ), der stark mit der  $^1L_a$ -Bande des Phenylrestes bei 210 nm koppelt.

Verglichen mit den niedriger schmelzenden Isomeren **1b** und **1c** besitzen die höher schmelzenden Isomeren **1a** und **1d** die längeren Retentionszeiten bei HPLC-Trennungen durch Reverse-Phase-Chromatographie. Bei jeweils gleicher Cystein-Konfiguration resultiert daher beim Vergleich von (*R,R*) mit (*R,S*) bzw. von (*S,S*) mit (*S,R*) jeweils eine Verminderung der Gitterkräfte im Kristall und auch intermolekular mit den  $C_8$ -Alkylketten der Säulenfüllung.

### Röntgen-Strukturanalyse und absolute Konfiguration von *N*-Acetyl-*S*-(nitro-1-phenylethyl)-L-cystein (Schmp. 133°C) (**1a**)

Einkristalle guter Qualität konnten durch isotherme Destillation von n-Hexan in eine Essigester-Lösung von **1a** erhalten werden. Ein farbloser, durchsichtiger Kristall mit den ungefähren Abmessungen  $0.1 \times 0.4 \times 0.4$  mm wurde für sämtliche Messungen verwendet. Vorläufige Buerger-Präzessionsaufnahmen zeigten monokline Kristallsymmetrie. Die zunächst getroffene Wahl der Raumgruppe  $P2_1$  (Auslöschungen  $0\ k\ 0$  für  $k = 2n + 1$  und opt. Aktivität) konnte durch die Strukturbestimmung bestätigt werden. Genaue Zellkonstanten wurden auf dem automatischen Vierkreisdiffraktometer Nonius CAD-4 anhand von 25 starken Reflexen ermittelt:

$$\begin{array}{ll} a = 548.5 \text{ (1) pm} & Z = 2 \\ b = 1276.0 \text{ (3) pm} & V = 769.5 \cdot 10^6 \text{ pm}^3 \\ c = 1107.1 \text{ (2) pm} & \rho_{\text{rönt}} = 1.347 \text{ g cm}^{-3} \\ \beta = 96.72 \text{ (1) }^\circ & \rho_{\text{exp}} = 1.33 \text{ g cm}^{-3} \\ & \mu(\text{Mo-K}_\alpha) = 1.87 \text{ cm}^{-1} . \end{array}$$

Die Reflexintensitäten innerhalb des reziproken Raumes  $h = -6$  bis  $6$ ,  $k = 0$  bis  $15$  und  $l = -13$  bis  $13$  ( $= 2\theta$  bis  $50^\circ$ ) wurden auf dem oben genannten Diffraktometer im  $\omega$ - $2\theta$ -scan bei

Raumtemperatur gemessen ( $\text{Mo-K}_\alpha$ , Graphitmonochromator). Für die nachfolgenden Rechnungen verblieb nach der LP-Korrektur ein Datensatz von 2576 Reflexen mit  $I \geq 2\sigma(I)$ . Zur Lösung des Phasenproblems wurde zunächst eine zugespitzte Patterson-Synthese gerechnet. Daraus konnten zwar die  $x$ - und  $z$ -Koordinaten des Schwefelatoms abgeleitet werden, aber eine Differenz-Fourier-Synthese mit den durch das S-Atom ( $x, \frac{1}{4}, z$ ) bestimmten Phasen lieferte erwartungsgemäß eine Überlagerung von Bild und Spiegelbild einer Teilstruktur (Pseudo-Spiegelebene senkrecht zur  $y$ -Achse). Eine Trennung der beiden enantiomeren Teilstrukturen war recht schwierig, da leicht interpretierbare Strukturelemente, wie z. B. der Phenylring, nicht aufgefunden werden konnten.

Daraufhin wurde versucht, mit direkten Methoden die Phasen von 252 Reflexen ( $E \geq 1.2$ ) unter Multi-Solution-Anwendung der Tangens-Formel zu bestimmen (SHELX-Programmsystem von G. M. Sheldrick, Cambridge). Mehrere Startphasensätze wurden nach den  $\alpha$ -Kriterien aus einer Konvergenz-Liste ausgewählt (Ursprung  $-4\ 0\ 3, 3\ 0\ 5$  und  $-2\ 1\ 5$ , Phasenwinkel 0; Enantiomorph:  $-4\ 5\ 2$  oder  $-2\ 2\ 4$ , Phasenwinkel  $\pi/4, 3\pi/4$ ; zusätzlich 3 Multisolution-Reflexe mit Phasen  $\pm \pi/4, \pm 3\pi/4$ ). Von den 10 Phasenkombinationen mit den niedrigsten  $R_A$ -Werten (0.06–0.07) wurden  $E$ -Fourier-Synthesen berechnet. In allen Fällen stimmten die  $x$ - und  $z$ -Koordinaten des höchsten Peaks mit den „Patterson“-Schwefelkoordinaten überein. Die Pseudospiegelbildebene durch diesen Peak waren auch hier in sämtlichen Fourier-Synthesen vorhanden. Anstatt die Pseudosymmetrie durch ein sehr rechenaufwendiges Ausprobieren anderer Startphasensätze zu zerstören, schlugen wir folgenden Weg ein: Da die Lage des höchsten Peaks in den  $E$ -Karten der „Patterson“-Schwefelposition entsprach und alle  $E$ -Karten durch sehr gute  $R_A$ -Werte ausgezeichnet waren, mußte der größere Teil der Struktur in den Bild-Spiegelbild-Peaks und den „falschen“ Peaks enthalten sein.

Von der vermuteten Struktur wurde ein maßstabsgetreues Stabmodell hergestellt und ausgehend von dem S-Atom nach chemisch vernünftigen Peaks gesucht. Die anfänglich schwierigen Entscheidungen zwischen „echten“ und „falschen“ Peaks wurde dadurch erleichtert, daß nur solche Peaks als reale Atome bezeichnet wurden, deren iteratomare Vektoren zum Schwefel auch in der Patterson-Synthese bestätigt werden konnten. Auf diese Weise gelang es, eine enantiomere Teilstruktur aus 12 Atomen sicher zu lokalisieren. Eine isotrope Verfeinerung dieses Strukturmodells lieferte einen Übereinstimmungsfaktor von  $R = 0.32$ , und mit einer darauffolgenden Differenz-Fourier-Synthese gelang die Lokalisierung der restlichen 9 Nicht-Wasserstoffatome. Nach drei Verfeinerungszyklen mit isotropen Temperaturfaktoren ( $R = 0.11$ ) konnten alle Wasserstoffatome aus einer  $\Delta F$ -Synthese lokalisiert werden (Reflexe mit  $\sin \Theta/\lambda < 0.3$  erhielten doppeltes Gewicht). Die Endverfeinerung mit anisotropen Temperaturfaktoren für alle Nicht-Wasserstoffatome und gemeinsamem isotropem Temperaturfaktor für alle H-Atome konvergierte bei  $R = 0.0327$  und  $R_G = 0.0326$  ( $R_G = [\sum w\Delta^2 / \sum wF_o^2]^{1/2}$ , Einheitsgewichtung). Eine abschließende Differenz-Fourier-Synthese (höchster Peak mit  $0.3\ e \cdot \text{\AA}^{-3}$ ) und eine Varianz-Analyse erbrachten keine Anzeichen für systematische Fehler.

Die richtige absolute Konfiguration des enantiomeren Strukturmodells mit L-Konfiguration im Cystein-Teil konnte dadurch bestätigt werden, daß die Verfeinerung mit inversen Atomkoordinaten bei  $R_G = 0.0331$  konvergierte. Nach dem  $R$ -Faktor-Test von Hamilton<sup>11)</sup> ist damit die Wahrscheinlichkeit, daß das ursprünglich angenommene Strukturmodell die richtige Konfiguration wiedergibt,  $>99.5\%$ .

Die Streufaktorkurven und die  $\Delta f'$ - und  $\Delta f''$ -Werte zur Berücksichtigung der anomalen Dispersion wurden Arbeiten von Cromer und Mann<sup>12)</sup> und Cromer und Libermann<sup>13)</sup> entnommen. Sämtliche Rechnungen wurden mit den Programmen SHELX<sup>14)</sup> und XANADU<sup>15)</sup> auf der Anlage Telefunken TR 440 am Rechenzentrum der Universität Tübingen durchgeführt.

Tab. 4. Lageparameter mit Standardabweichungen von *N*-Acetyl-*S*-(2-nitro-1-phenylethyl)-*L*-Cystein (**1a**)

Atom	<i>x/a</i>	<i>y/b</i>	<i>z/c</i>
S	1.0125 (1)	0.1000	0.3696 (1)
O-1	0.2806 (3)	0.2165 (2)	0.0843 (2)
O-2	0.6221 (3)	0.3059 (2)	0.0723 (2)
O-3	0.7002 (4)	-0.1455 (2)	0.6665 (2)
O-4	0.4388 (4)	-0.0489 (2)	0.5679 (3)
O-6	0.5779 (3)	-0.0416 (2)	0.0499 (2)
N-1	0.8177 (3)	0.0983 (2)	0.0899 (2)
N-2	0.6455 (4)	-0.0814 (2)	0.5899 (2)
C-1	0.4982 (4)	0.2263 (2)	0.1055 (2)
C-2	0.6654 (4)	0.1456 (2)	0.1742 (2)
C-3	0.8290 (5)	0.1960 (2)	0.2783 (2)
C-4	0.7965 (5)	0.0697 (2)	0.4798 (2)
C-5	0.8360 (5)	-0.0446 (3)	0.5136 (3)
C-6	0.7636 (4)	0.0090 (2)	0.0317 (2)
C-7	0.9341 (6)	-0.0262 (3)	-0.0550 (3)
C-8	0.8236 (5)	0.1443 (2)	0.5856 (2)
C-9	0.6359 (7)	0.2137 (3)	0.6007 (3)
C-10	0.6619 (10)	0.2842 (4)	0.6963 (5)
C-11	0.8670 (12)	0.2849 (5)	0.7768 (4)
C-12	1.0512 (9)	0.2168 (5)	0.7632 (4)
C-13	1.0344 (6)	0.1452 (3)	0.6677 (3)
H-1	0.946 (6)	0.129 (3)	0.076 (3)
H-2	0.544 (6)	0.349 (3)	0.035 (3)

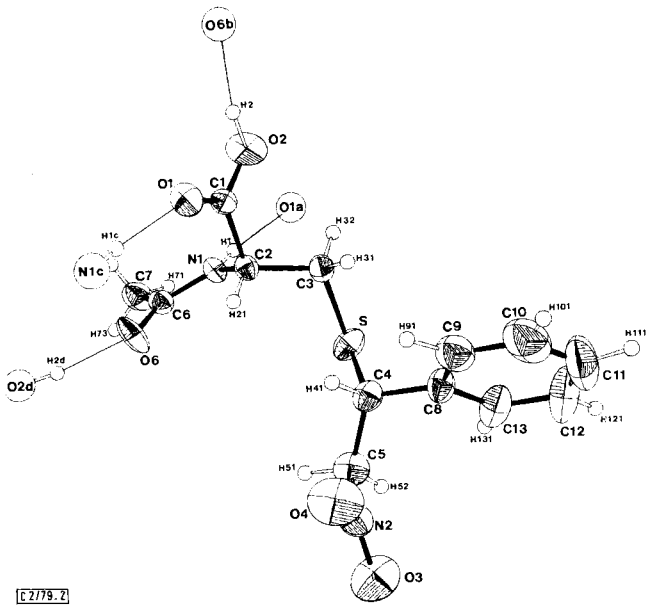
Die ermittelten Atomparameter (Tab. 4) beziehen sich auf die Bezifferung der Abb. 2. Tab. 5 enthält die wichtigsten Bindungsabstände bzw. Bindungswinkel. Die absolute Konfiguration an den Asymmetriezentren C2 und C4 ist nach den Regeln von *Cahn, Ingold* und *Prelog*<sup>16)</sup> mit (*R, R*) zu bezeichnen (*L*-Cystein ist (*R*)-Cystein). Sämtliche Bindungsabstände innerhalb des Moleküls bewegen sich im Rahmen der für nicht-ionisierte Aminosäuren gefundenen Werte<sup>17)</sup>. Dies gilt insbesondere auch für die Strukturdaten der *N*-Acyl-aminosäuren<sup>18,19)</sup>, der *S*-haltigen Aminosäuren<sup>19,20)</sup> und der 1-Nitro-2-phenylethane<sup>21)</sup>. Einen Überblick zur gesamten Molekülkonformation gibt Abb. 3 (Torsionswinkelbezeichnung gemäß IUPAC-IUB-Kommission<sup>22)</sup>).

In den meisten Fällen steht die Carboxylgruppe coplanar zu der Ebene  $N-C_\alpha-C' = N1-C2-C1$ , entsprechend den Torsionswinkeln  $\Psi^1$  und  $\Psi^2 = 180$  und  $0^\circ C (\pm 30^\circ)^{22,23)}$ . Im vorliegenden Fall steht die Ebene der Carboxylgruppe  $O1-C1-O2$  jedoch ungefähr senkrecht auf der  $N1-C2-C1$ -Ebene, vermutlich aufgrund der intermolekularen H-Brücken, die beide Carboxyl-O-Atome aus der sonst üblichen Lage herausdrehen.

Wie aus Abb. 2 hervorgeht, ist der Aminosäureteil über Wasserstoffbrückenbindungen dreidimensional im Kristallgitter verknüpft. Rein optisch kommt dies auch in den thermischen Ellipsoiden zum Ausdruck: der durch H-Brücken fixierte *N*-Acetyl-aminosäureteil führt deutlich kleinere Temperaturbewegungen aus als die Seitenkette. Sämtliche Sauerstoffatome in **1** sind an den H-Brückenbindungen beteiligt (ausgenommen  $NO_2$ -Gruppe). Die starke intermolekulare H-Brücke zwischen der Carboxyl- $O2-H2$ -Gruppe und dem Acetyl-Sauerstoffatom  $O6$  sowie die schwächere

Tab. 5. Bindungsabstände in pm und Bindungswinkel in Grad von *N*-Acetyl-*S*-(2-nitro-1-phenylethyl)-*L*-cystein (**1a**) (die Standardabweichungen in Klammern beziehen sich auf die letzte Ziffer)

Atome	Abstand	Atome	Abstand	Atome	Winkel	Atome	Winkel
S-C3	181.6 (3)	C1-C2	152.3 (3)	C3 - S - C4	98.8 (1)	C2 - C3 - S	112.1 (2)
S-C4	183.9 (3)	C2-C3	151.8 (3)	O1 - C1 - O2	124.8 (2)	C5 - C4 - S	106.4 (2)
O1-C1	119.6 (3)	C6-C7	148.5 (4)	O1 - C1 - C2	123.7 (2)	C8 - C4 - S	111.8 (2)
O2-C1	129.8 (3)	C4-C5	151.5 (5)	O2 - C1 - C2	111.5 (2)	C5 - C4 - C8	114.8 (2)
O6-C6	124.2 (3)	C4-C8	150.3 (4)	O6 - C6 - N1	120.6 (2)	C4 - C5 - N2	110.7 (2)
O3-N2	119.2 (4)	C8-C9	138.3 (5)	O6 - C6 - C7	122.6 (3)	O3 - N2 - C5	118.9 (2)
O4-N2	120.5 (3)	C9-C10	138.3 (6)	C7 - C6 - N1	116.8 (2)	O3 - N2 - O4	122.3 (3)
N2-C5	149.4 (4)	C10-C11	135.1 (8)	C6 - N1 - C2	123.8 (2)	O4 - N2 - C5	118.7 (3)
N1-C2	145.5 (3)	C11-C12	135.5 (9)	N1 - C2 - C1	108.5 (2)	C13 - C8 - C9	119.5 (3)
N1-C6	132.6 (3)	C12-C13	139.2 (7)	N1 - C2 - C3	109.2 (2)	C13 - C8 - C4	121.0 (3)
		C13-C8	138.5 (4)	C1 - C2 - C3	111.1 (2)	C9 - C8 - C4	119.5 (2)
						C8 - C9 - C10	119.8 (4)
O2-H2	78 (4)	N1-H1	83 (3)			C9 - C10 - C11	120.8 (5)
O6b ... H2	177 (5)	N1 ... O1a	296.0 (3)			C10 - C11 - C12	119.8 (5)
O6b ... O2	254.4 (4)	H1 ... O1a	214 (4)			C11 - C12 - C13	121.4 (4)
O1 ... H1c	214 (4)	O6 ... H2d	177 (5)			C12 - C13 - C8	118.7 (4)
O1 ... N1c	296.0 (3)	O6 ... O2d	254.4 (4)				



C279.2

Abb. 2. ORTEP-Zeichnung von *(R,R)*-*N*-Acetyl-*S*-(2-nitro-1-phenylethyl)cystein. Die thermischen Ellipsoide entsprechen einer Aufenthaltswahrscheinlichkeit von 30%. Symmetriecode für intermolekulare Wasserstoffbrücken:  $a = 1 + x, y, z$ ;  $b = 1 - x, \frac{1}{2} + y, -z$ ;  $c = x - 1, y, z$ ;  $d = 1 - x, y - \frac{1}{2}, -z$

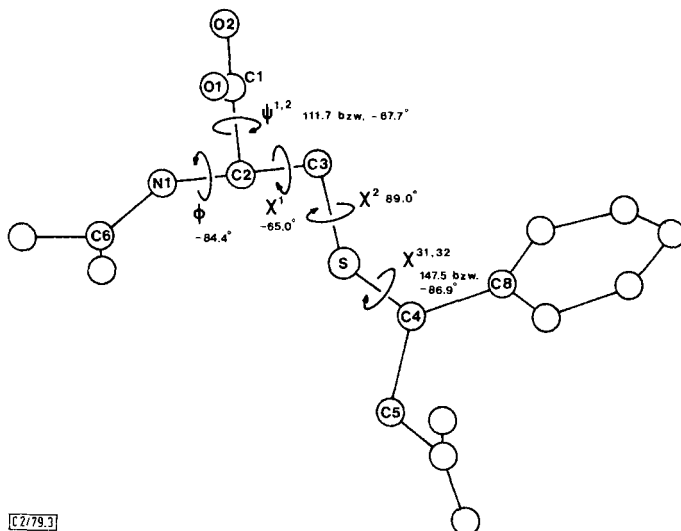


Abb. 3. IUPAC-IUB-Torsionswinkel in (*R,R*)-*N*-Acetyl-S-(2-nitro-1-phenylethyl)cystein (1)

N1–H1...O1-Wasserstoffbrückenbindung wird übrigens bei fast allen *N*-Acetylaminosäuren und -peptiden beobachtet<sup>18,19</sup>.

$F_o/F_c$ -, H-Atomkoordinaten-, anisotrope Temperaturfaktor- sowie vollständige Bindungsabstände (bzw. -winkel) -Listen sind auf Anfrage bei einem der Autoren erhältlich (W. W.).

Diese Arbeit wurde teilweise vom *Fonds der Chemischen Industrie* unterstützt. G. H. dankt dem *Cusanus-Werk* für ein Promotionsstipendium. M. Ottnad und W. Mayr danken wir für ihre Mitarbeit bei kinetischen Messungen.

## Experimenteller Teil

Die Addukte wurden durch Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel F<sub>254</sub>-Fertigplatten der Fa. Merck auf Einheitlichkeit geprüft [Laufmittel A = 1-Butanol/Eisessig/Wasser (3:1:1), B = Chloroform/Methanol/Eisessig/Wasser (60:45:6:24)]. Entwickelt wurde mit Ninhydrin, Chlor/Tolidin, Ellmans-Reagens, Nitroprussid-Natrium. Die  $R_F$ -Werte (Tab. 1 und 2) sind bei Raumtemp. bestimmt und nicht standardisiert. Die Ausbeuten beziehen sich, sofern nicht anders vermerkt, auf die umkristallisierten Produkte. – Schmelzpunkte: nicht korrigiert, nach Tottoli in einer Kapillare bestimmt. – C,H,N,S-Elementaranalysen: Einfachbestimmungen, Mikroanalytisches Laboratorium des Chemischen Instituts der Universität, Perkin-Elmer Modell 240 Elementar Analyzer. – Drehwerte: Perkin-Elmer Digital-Polarimeter. – UV-Spektren: UV-Spektrometer Cary-15 (Fa. Varian, Darmstadt), in Ethanol-Uvasol der Fa. Merck, Darmstadt. – IR-Spektren: 1.5 mg in 300 mg KBr, Spektrometer 021 – IR Perkin Elmer. – Massenspektren: Varian MAT 711, FD mit Fadenheizung 15 mA. – PFT-<sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren (22.63 MHz): Bruker HFX-90-18-Multikern-NMR-Spektrometer. – <sup>1</sup>H-NMR-Spektren (80 MHz): Bruker WH 80.

L-Cystein stammte von Fa. Merck, Darmstadt. D-Cystein und *N*-Acetyl-D-cystein waren ein Geschenk der Fa. Diamalt, Redenfelden.

*Diastereomerentrennung durch HPLC*: Chromatographieanlage: 2 Waters-Pumpen Modell 6000 A, verbunden mit Modell 660 Solventprogrammer, Probenaufgabestück U6K und UV Mo-

nitor Modell 440. Säule: Merck Lichrosorb RP-8 (5  $\mu$ m), 25 cm, 4 mm ID; Probenlösung 5 mg Addukt/ml Wasser + 2 Tropfen 3 N HCl; je 5  $\mu$ l pro Trennung; Elutionsmittel  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{NH}_4$  in Wasser (0.01 mol/l)/Acetonitril (97:3, v/v), pH = 4 ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ ), isokratisch; 2.0 ml/min (3500 psi); Temp. 21 °C.

Retentionszeiten: a) S-(2-Nitro-1-phenylethyl)-L-cysteine: 23.2 min (CD pos.) (R, S)-Isomeres und 25.3 min (CD neg.) (R,R)-Isomeres; b) S-(2-Nitro-1-phenylethyl)-D-cysteine: 23.5 min (CD neg.) (S,R)-Isomeres und 25.7 min (CD pos.) (S,S)-Isomeres. Keine dieser Fraktionen war völlig diastereomerenrein.

*Trennung von N-Acetyl-S-(2-nitro-1-phenylethyl)cysteinen:* Gerät und Bedingungen wie oben, jedoch Probenlösung 2 mg/ml (in Acetonitril), je 6–8  $\mu$ l; Elutionsmittel  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{NH}_4$  in Wasser (0.01 mol/l)/Acetonitril (92:8, v/v), pH = 4.5 ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ ). Retentionszeiten:  $\beta$ -Nitrostyrol-Addukte mit a) N-Acetyl-L-cystein: 35 min (CD pos.) (R,S)-Isomeres und 36.5 min (CD neg.) (R,R)-Isomeres; b) mit N-Acetyl-D-cystein: 35.5 min (CD neg.) (S,R)-Isomeres und 37.0 min (CD pos.) (S,S)-Isomeres. Mischungen aus enantiomeren Addukten ergaben immer einheitliche Peakformen.

*Präparative Umsetzungen von substituierten Nitrostyrolen mit N-Acetyl-L-cystein zu 3–9:* Zu einer Lösung von 14.9 g (0.1 mol)  $\beta$ -Nitrostyrol (bzw. substituiertes  $\beta$ -Nitrostyrol)<sup>3)</sup> in 700 ml wasserfreiem Ethanol oder Methanol und 16.3 g (0.1 mol) N-Acetyl-L-cystein in 200 ml wasserfreiem Ethanol wird bei 40 °C eine Lösung von 8.5 g (0.1 mol) Piperidin (oder Triethylamin bzw. N-Methylmorpholin) in 100 ml wasserfreiem Ethanol gegeben. Das Ethanol wird nach 2 h bei 40 °C (alternativ 20 h bei Raumtemp.) im Rotationsverdampfer abdestilliert, der ölige Rückstand in 300 ml Essigester gelöst und die Lösung 3mal mit 150 ml 10proz. kalter Citronensäurelösung gewaschen. Dann wird 3mal mit 150 ml kalter 10proz. Natriumhydrogencarbonatlösung das Addukt extrahiert. Die Extrakte werden sofort mit kalter 10proz. Citronensäurelösung auf pH 2 angesäuert und nach Sättigung mit NaCl 3mal mit Essigester extrahiert. Zu der über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Essigesterlösung gibt man bis zur Trübung Petrolether (30–50 °C). Nach 24 h fällt das Addukt in der Kälte farblos kristallin aus. Diastereomere können durch fraktionierende Kristallisation erhalten werden. Ein Diastereomeres fällt meist in genügender Reinheit aus (Analysendaten siehe Tab. 1). Auch die Addukte **18a–c** sind so zugänglich.

*Diastereomere N-Acetyl-S-(2-nitro-1-phenylethyl)-D- und -L-cysteine 1a–d:* Eine Lösung von 3.2 g (20 mmol) N-Acetyl-D- bzw. -L-cystein und 3.0 g (20 mmol)  $\beta$ -Nitrostyrol in 30 ml wasserfreiem Ethanol wird mit 2 ml (20 mmol) N-Methylmorpholin 24 h langsam gerührt. Anschließend wird das Ethanol i. Vak. abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen und die Lösung mit 10proz. Citronensäure und Wasser gewaschen. Dann extrahiert man mit 10proz. Natriumhydrogencarbonatlösung, säuert die vereinigten Extrakte mit verd. Salzsäure auf pH 2 an und extrahiert das Addukt mit Essigester. Der Extrakt wird mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die Diastereomeren **1a** und **b** (L-Cysteinderivate) bzw. **1c** und **d** (D-Cysteinderivate) lassen sich nach Versetzen der Essigesterlösung mit Petrolether (30–50 °C) fraktionierend kristallisieren. Alternativ können die Diastereomeren auch wie folgt getrennt werden: Nach Abdampfen des Essigesterextrakts wird der Rückstand i. Vak. über  $\text{P}_2\text{O}_5$  getrocknet und dann mit Ether behandelt; hierbei kristallisiert ein Teil des Addukts. Man filtriert ab und versetzt die Mutterlauge mit Petrolether (30–50 °C), bis die zweite Fraktion auskristallisiert. Dann werden beide Fraktionen jede für sich noch einmal aus Essigester/n-Hexan umkristallisiert (Analysendaten Tab. 2 und 3). Ausb. 4.6 g (74%) (Diastereomerenmischung).

<sup>13</sup>C-NMR von **1a** in Deuteriomethanol ( $\delta$  gegen TMS (int.) = 0 ppm): 22.4 (Acetyl- $\text{CH}_3$ ), 33.8 (Cystein- $\text{C}_\beta$ ), 47.0 ( $\text{CH}_2\text{NO}_2$ ), 53.3 (Cystein- $\text{C}_\alpha$ ), 79.7 (SCH), 128.8 (Phenyl-C-2,6), 129.3 (Phenyl-C-4), 129.9 (Phenyl-C-3,5), 138.6 (Phenyl-C-1), 173.1 ( $\text{CO}_2\text{H}$ ).



*N*-tert-Butoxycarbonyl-*S*-(2-nitro-1-phenylethyl)-*L*-cystein (**2a** und **b**), *N*-Methylmorpholinium-Salz: Zu 22.1 g (0.1 mol) *N*-tert-Butoxycarbonyl-*L*-cystein (aus *N*-tert-Butoxycarbonyl-*L*-cystin<sup>24</sup>) nach Zahn und Hammerström<sup>25</sup>) und 14.9 g (0.1 mol)  $\beta$ -Nitrostyrol<sup>26</sup>) in 100 ml wasserfreiem, N<sub>2</sub>-gesättigtem Ethanol werden unter Rühren 10 ml *N*-Methylmorpholin gegeben. Nach etwa 2 min fällt das farblose Addukt aus. Man kühlt auf 0°C, saugt ab, wäscht dieses Produkt (Diastereomeres **2a** · *N*-Methylmorpholin) mit Ether und trocknet i. Vak. Die Mutterlauge wird eingeeengt und der Rückstand in wenig Ethanol aufgenommen. Durch Zugabe von Petrolether (30–50°C) erhält man weitere Fraktionen von **2a** · *N*-Methylmorpholin. Die Mutterlauge wird erneut zur Trockne eingedampft und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen, wenig Petrolether zugegeben und kühl gestellt. Nach einigen Tagen kristallisiert das Diastereomere **2b** · *N*-Methylmorpholin aus. Alternativ kann die Mutterlauge des Morpholiniumsalzes von *N*-tert-Butoxycarbonyl-*S*-(2-nitro-1-phenylethyl)-*L*-cystein mit Ether/Petrolether (30–50°C) versetzt werden. Bei Raumtemp. läßt man langsam verdunsten, wobei das Diastereomere **2b** · *N*-Methylmorpholin auskristallisiert. Umkristallisiert werden beide Diastereomere aus Dichlormethan/Petrolether. Gesamtausb. 35 g (75%) (Mischung von **2a** und **b** · *N*-Methylmorpholin); Schmp. 131–133°C (**2a**-Salz); 58–60°C (**2b**-Salz). – <sup>1</sup>H-NMR (**2a**-Salz in CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 2.7 (NCH<sub>3</sub> von *N*-Methylmorpholinium = NMMH<sup>+</sup>); 3.1 (CH<sub>2</sub>O von NMMH<sup>+</sup>); 3.9 (CH<sub>2</sub>N von NMMH<sup>+</sup>); 4.4 (Cys-H <sub>$\alpha$</sub> ); 4.7 (Cys-H <sub>$\beta$</sub>  und Ethyl-H <sub>$\beta$</sub> ); 5.4–5.5 (Ethyl-H <sub>$\alpha$</sub> ); 7.3 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). – Sonstige Analysendaten vgl. Tab. 1.

*N*-tert-Butoxycarbonyl-*S*-(2-nitro-1-phenylethyl)-*L*-cystein (**2a**): Die freie Säure **2a** wurde aus dem Salz **2a** · *N*-Methylmorpholin durch Essigester-Extraktion einer angesäuerten, wäßrigen Lösung isoliert und aus Essigester/Petrolether (30–50°C) umkristallisiert<sup>1</sup>). Schmp. 74–77°C, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = –59.0° (*c* = 1 in Ethanol), *R*<sub>F</sub> (B) = 0.85. – <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) ( $\delta$  gegen TMS ext. = 0 ppm, int. Standard Dioxan = 67.0 ppm): Cys-C <sub>$\alpha$</sub>  53.3, Cys-C <sub>$\beta$</sub>  33.9, CO<sub>2</sub>H 173.9, Ethyl-C <sub>$\alpha$</sub>  79.0, Ethyl-C <sub>$\beta$</sub>  46.8, Phenyl-C-1 136.9, Phenyl-C-2,6 127.9, Phenyl-C-4 128.8, Phenyl-3,5 129.2, Boc-C <sub>$\alpha$</sub>  80.9, Boc-CH<sub>3</sub> 28.4, Boc-CO 155.7.

C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S (370.4) Ber. C 51.88 H 5.99 N 7.56 S 8.66  
Gef. C 52.07 H 6.13 N 7.45 S 8.43

*N*-Unsubstituierte *S*-(2-Nitro-1-phenylethyl)cysteine **10**–**15**: Eine Lösung von 1.2 g (10 mmol) Cystein in 50 ml N<sub>2</sub>-gesättigtem Wasser wird bei Raumtemp. unter Rühren zuerst mit 1.5 g (10 mmol)  $\beta$ -Nitrostyrol (bzw. 10 mmol eines substituierten  $\beta$ -Nitrostyrols) in 100 ml N<sub>2</sub>-gesättigtem Methanol und dann tropfenweise mit 1.0 g (10 mmol) Triethylamin versetzt. Das Addukt kristallisiert nach kurzer Zeit direkt oder nach Einengen aus der Reaktionslösung. Die Kristalle werden mit etwas Wasser gewaschen und i. Vak. über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Bei schwerlöslichen  $\beta$ -Nitrostyrolen wird in Suspension unter *N*-Methylmorpholin-Katalyse gearbeitet. Bei den Addukten von 2,3- und 2,4-Dimethoxy- $\beta$ -nitrostyrol **12** und **13** wird das Lösungsmittel nach der Reaktion vollständig abgezogen, der Rückstand mit wasserfreiem Methanol aufgenommen und das Produkt mit Ether ausgefällt. Analysendaten siehe Tab. 1.

*S*-(2-Nitro-1-phenylethyl)-*L*-glutathion (**16**): Zur Lösung von 3.1 g (10 mmol) *L*-Glutathion in 75 ml N<sub>2</sub>-gesättigtem Wasser gibt man 1.5 g (10 mmol)  $\beta$ -Nitrostyrol in 150 ml N<sub>2</sub>-gesättigtem Methanol und 10 mmol Triethylamin. Nach etwa 10 min unter N<sub>2</sub> bei Raumtemp. ist kein Thiol mehr nachweisbar, und die Lösung wird farblos. Nach 3–4 h filtriert man, dampft i. Vak. ein, nimmt den öligen Rückstand in wenig Methanol auf und versetzt tropfenweise mit 10 mmol starker Salzsäure. Der dabei ausfallende mikrokristalline Rückstand wird abfiltriert (Diastereomeres **16a**), mit wenig wasserfreiem Methanol gewaschen und i. Vak. über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Das Filtrat wird eingeeengt und kühl gestellt, wobei weiteres, nicht isomerenreines Addukt kristallisiert. Die Mutterlauge wird abgedampft, das zurückbleibende Öl mit Wasser versetzt und die Mischung mit verd. Ammoniak auf pH 4 gebracht. Das wasserunlösliche Addukt wird abgetrennt, nochmals

mit Wasser gewaschen, in wenig Methanol aufgenommen und die Lösung vorsichtig mit Wasser versetzt. Das anfangs ausfallende stark verunreinigte Produkt wird verworfen, die wäßrige Lösung gefriergetrocknet: Diastereomeres **16b**, Ausb. 1.4 g (31%), Schmp. 150–153 °C. **16a** Ausb. 2.6 g (57%), Schmp. 171–173 °C, CD-Spektrum von **16a** neg. bei 270 und 286 nm.

$C_{18}H_{24}N_4O_8S$  (456.4) Ber. C 47.37 H 5.30 N 12.28 S 7.03

Gef. C 46.47 H 5.36 N 11.94 S 6.98 (**16a**)

Gef. C 45.41 H 4.90 N 11.14 S 8.24 (**16b**)

*S*-[1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-nitroethyl]-L-glutathion (**17**): Zu 2.09 g (10 mmol) 3,4-Dimethoxy- $\beta$ -nitrostyrol in 300 ml Methanol wird unter  $N_2$  bei Raumtemp. langsam unter Rühren eine Lösung von 3.07 g (10 mmol) Glutathion in 40 ml Wasser und 1.6 g (10 mmol) Pyridin getropft. Das Addukt fällt bereits bei der Zugabe aus und wird nach einiger Zeit abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und über  $P_2O_5$  i. Vak. getrocknet. Ausb. 0.60 g (12%), Schmp. 150–153 °C (Zers.). CD-Spektrum siehe Lit.<sup>1)</sup>.

$C_{20}H_{28}N_4O_{10}S$  (516.5) Ber. C 46.51 H 5.42 N 10.85 S 6.20

Gef. C 44.42 H 5.26 N 9.82 S 6.50

Zur Darstellung der Addukte **10**, **11** und **15** kann analog der Vorschrift zu **17** gearbeitet werden.

– Analysendaten siehe Tab. 1.

## Literatur

- <sup>1)</sup> G. Jung, H. Fouad und G. Heusel, *Angew. Chem.* **87**, 876 (1975); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **14**, 817 (1975).
- <sup>2)</sup> G. Heusel und G. Jung, *Liebigs Ann. Chem.* **1979**, im Druck.
- <sup>3)</sup> H. G. Padeken, O. von Schickh und A. Segnitz, in *Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl-Müller)*, 4. Aufl., Bd. X/1, S. 1 ff., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971, vgl. dort zitierte Literatur.
- <sup>4)</sup> W. C. McCarthy und B. T. Ho, *J. Org. Chem.* **26**, 4110 (1961).
- <sup>5)</sup> R. L. Heath und A. Lambert, *J. Chem. Soc.* **1947**, 1477.
- <sup>6)</sup> L. F. Cason und C. C. Wanser, *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 142 (1951).
- <sup>7)</sup> I. Montanini, A. Martini und S. Bersi, *Boll. Chim. Farm.* **103**, 187 (1964).
- <sup>8)</sup> R. F. Louis-Ferdinand und G. C. Fuller, *J. Pharm. Sci.* **58**, 1155 (1969).
- <sup>9)</sup> M. S. Masri, J. J. Windle und M. Friedman, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **47**, 1408 (1972).
- <sup>10)</sup> G. Sratzke, *J. Chem. Soc.* **1965**, 5002.
- <sup>11)</sup> W. C. Hamilton, *Acta Crystallogr.* **18**, 502 (1965).
- <sup>12)</sup> D. T. Cromer und J. B. Mann, *Acta Crystallogr., Sect. A* **24**, 321 (1968).
- <sup>13)</sup> D. T. Cromer und D. L. Libermann, *J. Chem. Phys.* **53**, 1891 (1970).
- <sup>14)</sup> G. M. Sheldrick, Cambridge 1976, England.
- <sup>15)</sup> P. Roberts und G. M. Sheldrick, Cambridge 1973, England.
- <sup>16)</sup> R. S. Cahn, C. Ingold und V. Prelog, *Angew. Chem.* **78**, 413 (1966); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **5**, 385 (1966).
- <sup>17)</sup> T. Hahn, *Z. Kristallogr.* **109**, 438 (1957).
- <sup>18)</sup> C.-S. Chen und R. Parthasarathy, *Acta Crystallogr., Sect. B* **33**, 3332 (1977).
- <sup>19)</sup> *N*-Acetylglutamin: J. Donohue und R. Er. Marsh, *Acta Crystallogr.* **15**, 941 (1962); S. N. Petersen, H. A. Levy und V. Schomaker, ebenda **10**, 844 (1957); *N*-Acetyl-L-cystein: W. W. H. Kou und R. Parthasarathy, *Am. Cryst. Assoc., Abstr. Papers (summer meeting)*, S. 72, 1976.
- <sup>20)</sup> Eine Computerrecherche mit dem „Cambridge Crystallographic Data File“ (Stand Jan. 78) hat 40 Literaturzitate für Strukturen mit N1–C2–(C1, O1, O2)–C3–S-Fragmenten geliefert (einschließlich der Hg-Komplexe). Typische Beispiele mit Hinweisen auf ältere Arbeiten sind L-Cystein: K. A. Kerr, I. P. Ashmore und T. f. Koetzle, *Acta Crystallogr., Sect. B* **31**, 2022 (1975); L-Cystin: M. O. Chaney und L. K. Steinkraut, ebenda **30**, 711 (1974); R. E. Rosenfeld jr. und R. Parthasarathy, ebenda **31**, 816 (1975); S. C. Gupta, A. Sequeira und R. Chidambaram, ebenda **30**, 562 (1974).

- <sup>21)</sup> S. Bruker und G. Pitacco, *Gazz. Chim. Ital.* **104**, 693 (1974); M. Calligaris, G. Manzini, G. Pitacco und E. Valentin, *Tetrahedron* **31**, 1501 (1975).
- <sup>22)</sup> IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1970), *J. Mol. Biol.* **52**, 1 (1970).
- <sup>23)</sup> A. V. Lakshminarayanan, V. Sasisekharan und G. N. Ramachandran in *Conformation of Biopolymers*, Herausgeb. G. N. Ramachandran, Vol. 1, S. 61 ff., Academic Press, London, 1967.
- <sup>24)</sup> E. Schnabel, *Liebigs Ann. Chem.* **702**, 188 (1967).
- <sup>25)</sup> H. Zahn und K. Hammerström, *Chem. Ber.* **102**, 1048 (1969).
- <sup>26)</sup> D. E. Worrall, *Organic Synthesis*, Coll. Vol. 1, S. 413, Wiley and Sons, New York 1941.

[2/79]