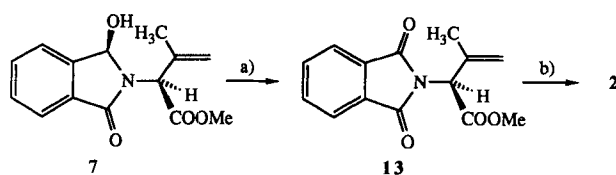


Cyclisierung des 1,4-Diradikals **i** zum Vierring-N/O-halbacetal und Ringöffnung zum benzanellierten Siebenring **ii** erklären (Schema 2). Diese Abfolge wurde bereits von Kanaoka et al. für entsprechende achirale *N*-alkylierte Phthalimide postuliert^[14]. In diesem Zusammenhang ist es bedeutend zu erwähnen, daß Aminosäurederivate, die keine H-Atome in δ - oder ε -Position tragen, wie z.B. die *N*-Phthaloylverbindungen des Alanins oder des Phenylalanins, keinerlei Reaktion, selbst nach über 100 h Belichtungszeit, eingehen. Tragen die nach dem obigen Mechanismus gebildeten Dihydrobenzazepindione **ii** noch einen Ethylsubstituenten α zur Ketogruppe, findet eine zweite Norrish-Typ-II-Reaktion statt, und Ethylen wird abgespalten (in Schema 2 ist dies für die Isoleucinverbindung **4** gezeigt). Die Tautomerisierung zum Endprodukt ist für **11** (aus **4**) hoch stereoselektiv (nur das *cis*-konfigurierte Produkt konnte beobachtet werden). Eine Alternative zu diesem Mechanismus ist eine ε -H-Abstraktion^[15] mit nachfolgender S_H2 -Reaktion am 1,6-Diradikal **iv** (Schema 2). Dies würde auch erklären, warum die intermediär angenommenen ethylsubstituierten Benzazepindione (wie **ii**) niemals beobachtet werden konnten. Diese Reaktion sollte unter Inversion der Konfiguration (also stereospezifisch) ablaufen, und auch dies stimmt mit der relativen Konfiguration des Produkts **11** überein. Wird nun eine 60:40-Mischung aus dem Isoleucinderivat **4** und dem entsprechenden *allo*-Isoleucinderivat (*2S,3R*) belichtet, so werden neben 88% des Isomerisierungsproduktes **9** 12% einer 60:40-Mischung aus *cis*-**11** und *trans*-**11** isoliert. Die Analyse der Massenbilanz ergab, daß *trans*-**11** ausschließlich aus *allo*-**4** gebildet wird, eine Reaktion über ein gemeinsames Intermediat wie **iii** kann deshalb ausgeschlossen werden.

Um zu sichern, daß während der Bestrahlung der *N*-Phthaloylaminosäureester keine Epimerisierung am α -Zentrum eintritt, haben wir das Dehydrogenierungsprodukt **7** wieder in **2** überführt. Durch Umsetzung mit Pyridiniumchlorochromat (PCC) auf Aluminiumoxid^[6] konnte der *N*-Phthaloylgeschützte Isodehydrovalinmethylester **13** nach 50–60 h quantitativ isoliert werden. Die Hydrierung mit Pd-Kohle als Katalysator führte dann zu **2**. Aus dem Vergleich des Drehwertes mit dem der aus (*S*)-Valin dargestellten Verbindung konnte auf einen Erhalt der absoluten Konfiguration von >95% geschlossen werden (Schema 3). Wir nehmen an, daß auch bei der Belichtung der anderen Aminosäurederivate die absolute Konfiguration des α -Chiralitätszentrums erhalten bleibt.



Schema 3. Umwandlung des Photoproduktes **7** ($[\alpha]_D^{25}$ 6.1 (MeOH, $c = 1.0$)) in **2**. a) Pyridiniumchlorochromat (PCC) auf Alox/CH₂Cl₂ {80%, $[\alpha]_D^{25}$ –70.1 (MeOH, $c = 1.0$)}; b) H₂/Pd auf Kohle {98%, $[\alpha]_D^{25}$ –62.4 (MeOH, $c = 1.5$)}. Edukt **2**: $[\alpha]_D^{25}$ –66.7 (MeOH, $c = 1.2$)

Was ist nun aber der Grund für die bemerkenswert hohe Diastereoselektivität bei der Bildung der Produkte **7–9** und **12** aus **2–5**, die ja bei Belichtung des 2-Aminobuttersäurederivates **1** nicht festgestellt wurde? Eine Analyse der Temperaturabhängigkeit der ¹³C-NMR-Spektren der Verbindung **5** zeigte, daß die Rotation um die N-C_α-Einfachbindung eine Aktivierungsbarriere von ca. 12 kcal mol^{–1} aufweist, d.h. bei Temperaturen unter $T_{\text{koal.}} = -35^\circ\text{C}$ werden zwei Signalsätze im ¹³C-NMR-Spektrum beobachtbar. Photochemische Transformationen von *N*-substituierten Phthalimiden laufen zumeist über den ersten angeregten Singulett-Zustand ab^[17].

Das nach der Abstraktion des ersten Wasserstoffatoms in γ - oder δ -Position^[18] durch die ¹[n π^*] angeregte Carbonylfunktion gebildete Diradikal sollte deshalb ein 1,4 bzw. 1,5-Singulett-Diradikal sein. Aus diesem sehr kurzlebigen Intermediat kann dann die Übertragung des zweiten H-Atoms wesentlich schneller ablaufen als die Rotation um die gehinderte N-C_α-Einfachbindung, so daß die hohe Diastereoselektivität bei der Bildung des zweiten Chiralitätszentrums verständlich wird. Bei dem 2-Aminobuttersäurederivat **1** konnte eine Rotationsbehinderung wie bei **5** oder **2** (Valinderivat **2**, ΔG^\ddagger ca. 9 kcal mol^{–1} nicht mehr bestimmt werden, dementsprechend verlaufen die Photoreaktionen stereounselektiv.

Diese neue Methode zur Synthese von β,γ -ungesättigten α -Aminosäuren, die vielfach als Enzyminhibitoren diskutiert werden^[9], wie Isodehydrovalin^[10] oder Vinylglycin^[11], ist wesentlich einfacher als bekannte Verfahren und kann sich auch mit eleganten Synthesesequenzen, z.B. dem kürzlich von Duthaler berichteten Weg über *N*-Acylthiazolidine^[12], messen lassen.

Eingegangen am 10. Juli,
veränderte Fassung am 18. September 1991 [Z 4787]

- [1] a) J. D. Coyle in *Synthetic Organic Photochemistry* (Hrsg.: W. A. Horspool), Plenum Press, New York, 1984, S. 259; b) P. H. Mazzocchi, *Org. Photochem.* **1981**, 5, 421–471.
- [2] Y. Sato, H. Nakai, T. Mizoguchi, M. Kawanishi, Y. Hatanaka, Y. Kanaoka, *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, 30, 1263–1270.
- [3] G. H. L. Nefkens, *Nature* **1960**, 185, 309.
- [4] Y. Kanaoka, Y. Migata, K. Koyama, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 1193–1196.
- [5] ε -Wasserstoffabstraktionen sind bekannt; siehe z.B.: a) M. A. Meador, P. J. Wagner, *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 419–420; b) H. A. J. Carless, G. K. Fekarurhobo, *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 5943–5946.
- [6] Y.-S. Cheng, W.-L. Liu, S. Chen, *Synthesis* **1980**, 223–224.
- [7] Eine Vielzahl von Beispielen für δ -Wasserstoff-Abstraktionen sind bekannt, z.B.: a) M. A. Meador, P. J. Wagner, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 4484–4486; b) P. J. Wagner, M. A. Meador, B. P. Giri, J. C. Scaiano, *ibid.* **1985**, 107, 1087–1088; c) P. J. Wagner, *Acc. Chem. Res.* **1989**, 22, 83–91.
- [8] J. D. Coyle, A. Harriman, G. L. Newport, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1979**, 799–802.
- [9] R. R. Rando, *Acc. Chem. Res.* **1975**, 8, 281–288.
- [10] J. E. Baldwin, S. B. Haber, C. Hoskins, L. I. Kruse, *J. Org. Chem.* **1977**, 42, 1239–1241.
- [11] A. Afzali-Ardakani, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 4817–4820.
- [12] R. O. Duthaler, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 729–731; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 705.

Konkav verpackte Protonen: Reagentien für contra-thermodynamische Protonierungen**

Von Ulrich Lüning* und Michael Müller

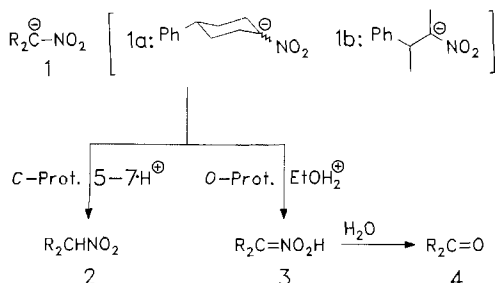
Professor Horst Prinzbach zum 60. Geburtstag gewidmet

Für selektive, vor allem stereoselektive^[1] Protonierungen ist noch kein breit einsetzbares Reagens bekannt. Vielerprechend für die Lösung dieses Problems sind konkave Reagentien, die eine Kombination von Standardreagentien der Organischen Chemie mit konkav gebauten Struktureinheiten sind^[2]. Die Klasse der Verbindungen, die konkav angeordnete Pyridinringe enthalten (konkave Pyridine), wurde

[*] Priv.-Doz. Dr. U. Lüning, Dipl.-Chem. M. Müller
Chemisches Laboratorium der Universität
Albertstraße 21, W-7800 Freiburg

[**] Konkave Reagentien, 10. Mitteilung. Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie und von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert. Prof. C. Rüchardt danken wir für seine großzügige Unterstützung dieser Arbeit. – 9. Mitteilung: U. Lüning, R. Raumstark, W. Schyja, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 999.

bereits in Reprotonierungsreaktionen von „Nitronat“-Ionen bezüglich ihrer Substrat-^[3] und Chemoselektivität^[4] untersucht (Schema 1). Als Konkurrenz zur C-Protonierung der Nitronat-Ionen **1** zu **2** durch protonierte, konkave Pyridine findet in diesen Puffern auch die Nef-Reaktion^[5] zu den Carbonylverbindungen **4** statt (sanfte Nef-Reaktion^[4]).



Schema 1. Protonierungsreaktionen von Nitronat-Ionen **1**.

Die Stereoselektivität der Nitronat-Ion-Reprotonierung durch Puffer bimakrocyclischer konkaver Pyridine (aber auch durch konkave 1,10-Phenanthroline **7**, siehe Tabelle 1) hingegen war gering^[4]. Verwendete man jedoch Puffer von 2-Aryl-1,10-phenanthrolinen **6**, die sterisch nicht so stark abgeschirmt sind wie ein konkaves Pyridin^[4] oder ein konkaves 1,10-Phenanthrolin **7**, so ließen sich gute Stereoselektivitäten bei der Reprotonierung von Nitronat-Ionen **1** beobachten. Tabelle 2 zeigt diese Selektivitäten sowie den Anteil an Produkt **4** durch die (sanfte) Nef-Reaktion bei der Umsetzung der Anionen **1** mit Puffern verschiedener Basen unter standardisierten Bedingungen^[6]. Am Beispiel der Protonierung von **1a** mit **6c** konnte gezeigt werden, daß die Stereoselektivität wenig von der Konzentration^[7] der Puffer, aber stark vom Lösungsmittel^[8] abhängt. Dabei sind Alkohole die Medien, in denen die größten Selektivitäten gefunden wurden.

Vergleicht man die Stereoselektivitäten in Tabelle 2, so fallen drei Dinge auf: a) Gute Stereoselektivitäten bei den Ver-

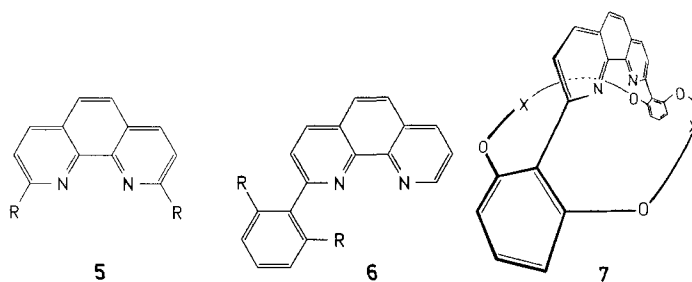


Tabelle 1. Reste R der Verbindungen **5** und **6** sowie verbrückende Einheit X der Verbindungen **7**.

	R	R	—X—
5a	H	6a H	7a —CH ₂ (CH ₂ OCH ₂) ₂ CH ₃ —
5b	Me	6b Me	
5c	Ph	6c OMe	7b —CH ₂ (CH ₂ OCH ₂) ₃ CH ₃ —
		6d OAc	
		6e OCOtBu	7c —(CH ₂) ₁₀ —
5d		6f	
5e		6g	
5f		6h OH	

bindungen **2** werden nur durch die Verwendung von bis-*ortho*-substituierten 2-Aryl-1,10-phenanthrolinen **6** erzielt. b) Eine gute Stereoselektivität ist beim cyclischen Anion **1a**

Tabelle 2. Produktverteilung bei der Reprotonierung der Nitronat-Ionen **1** durch unterschiedlich substituierte 1,10-Phenanthroline **5** und **6** sowie bimakrocyclische 1,10-Phenanthroline **7**.

Protonenquelle [13]	4a [%]	1a → 2a 2a [%]	<i>cis</i> - 2a / <i>trans</i> - 2a	4b [%]	1b → 2b 2b [%]	<i>threo</i> - 2b / <i>erythro</i> - 2b [a]
thermodynamisches Gleichgewicht [17]			0,2–0,25			<1
5a [b]	17	84	3,4	20	80	0,9
5b [b]	67	33	0,7	72	28	1,2
5c [c]	>99	—	—	—	—	—
5d [c]	95	5	1,5	—	—	—
5e [c]	86	14	1,0	—	—	—
5f [c]	17	83	0,8	—	—	—
6a [c]	45	55	1,5	—	—	—
6b [b]	55	45	8,0	—	—	—
6c [c]	3	97	8,7	10	90	1,0
6d [c]	30	70	2,7	22	78	10,4
6e [b]	25	75	16,1	37	63	1,1
6f [b]	10	90	13,3	4	96 [d]	27,4 [d]
6g [b]	17	83	12,6	39	61	0,9
7a [c]	4	96	0,7	—	—	—
7b [c]	6	94	0,7	—	—	—
7c [c]	—	100	0,7	—	—	—

[a] Die Zuordnung der Diastereoisomeren **2b** gelang durch katalytische Reduktion (Pd/C, NH₄⁺HCOO[−], MeOH) [18] eines Isomers zum Amin, das als Hydrochlorid isoliert wurde, Ausb. 86%, Fp (Rohprodukt) = 193 °C, Fp (aus Benzol) = 210 °C (Lit.: *erythro*-**2b**: 212–212,5 °C [19], 218,1–218,5 °C [20], *threo*-**2b**: 137–138 °C [19]). [b] Ansatz homogen. [c] Ansatz inhomogen. [d] Die Verwendung des chiralen Reagens **6f** führte im untersuchten Fall **1b** nicht zu einer Enantioselektivität, da die Anionenmischung **1b** racemisch war und sich zu 96% das *threo*-Material (*RS/SR*) bildete. Die intramolekulare asymmetrische 1,2-Induktion dominiert also. Die Selektivität von **6f** wird also nur durch die sterischen, nicht aber durch die chiralen Eigenschaften der Acylreste bestimmt.

durch eine größere Anzahl von Reagentien zu erreichen als beim flexibleren acyclischen Anion **1b**. c) In beiden Fällen werden die thermodynamisch *instabileren* Produkte bevorzugt gebildet (*cis*-**2a**, *threo*-**2b**).

Wie läßt sich verstehen, daß speziell die bis-*ortho*-substituierten Aryl-phenanthroline **6** so selektiv sind und daß bevorzugt die thermodynamisch instabileren Produkte gebildet werden? Vergleicht man die Daten in Tabelle 2 für 2-Phenyl-1,10-phenanthrolin **6a** mit denen der bis-*ortho*-substituierten 2-Aryl-1,10-phenanthroline **6**, so stellt man einen deutlichen Anstieg der Selektivität durch Einführung der *ortho*-Substituenten fest. Eine mögliche Erklärung wäre, daß durch die *ortho*-Substitution eine stärkere Verdrillung des Moleküls eintritt. Sterisch gesehen bedeutet dies eine Ausdehnung der konkaven (nach innen gewölbten) Form des 2-Phenyl-1,10-phenanthrolins **6a** in eine zweite Dimension (Abb. 1). In protonierter Form ist das zu übertragende Proton dadurch stärker abgeschirmt, d.h. das Reagens wird selektiver.

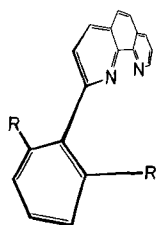


Abb. 1. Durch Verdrillen des 2,6-disubstituierten Phenylringes gegen die 1,10-Phenanthrolineinheit wird die konkave Abschirmung der protonenbindenden Region von 1,10-Phenanthrolin in eine weitere Raumrichtung ausgedehnt.

Geht man von der in Abbildung 1 gezeigten Konformation für **6** aus, sollte eine äquatoriale Protonierung von **1a** leichter erfolgen können als eine axiale, bei der die H-Atome in 3- und 5-Position wechselwirken (1,3-diaxiale Wechselwirkung, siehe^[9]). Bei der Protonierung von **1b** müssen aber auch für das Anion verschiedene Konformationen diskutiert werden. Aus sterischen Gründen dürfte aber ein *anti*-Angriff des protonierten konkaven 1,10-Phenanthrolins **6·H⁺** bezüglich des Phenylrings in **1b** am wahrscheinlichsten sein. In dieser Anordnung kommt es jedoch zu starken Wechselwirkungen zwischen dem Phenylrest und der (solvatisierten) Nitrogruppe, so daß eine Verdrillung wahrscheinlich ist. In dieser verdrillten Form unterscheiden sich die beiden diastereoisomeren Übergangszustände **8** vor allem durch die **6·H⁺/Me-** oder **6·H⁺/H-**Wechselwirkungen (Abb. 2). **8a** ist deswegen der günstigere Übergangszustand und liefert das thermodynamisch instabilere *threo*-Produkt.

Bei beiden Anionen **1a** und **1b** ist also der günstigere Übergangszustand durch die Verwendung der protonierten

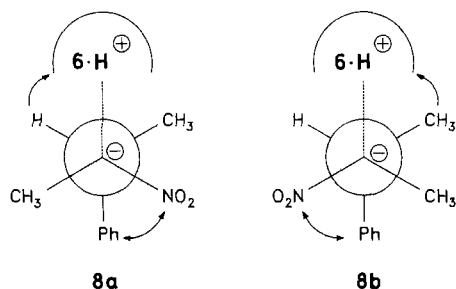


Abb. 2. Diastereoisomere Übergangszustände **8** für den Angriff eines in einem konkaven 2-Aryl-1,10-phenanthrolin **6** „verpackten“ Protons auf das Nitroanion **1b**.

konkaven 1,10-Phenanthroline **6·H⁺** derjenige, der zum thermodynamisch instabileren Produkt führt. Dabei wird jeweils aus dem größten Pseudosubstituenten im Übergangszustand im Produkt der kleinste Substituent, ein H-Atom. Der Trick, durch stereoselektive Protonierung zum thermodynamisch instabileren Stereoisomeren zu gelangen, besteht also darin, die Protonen so zu „verpacken“^[10], daß sie im Übergangszustand die größeren Pseudosubstituenten sind. Dies gilt sicherlich nicht nur für die hier gezeigte stereoselektive Protonierung von Nitronat-Ionen, sondern sollte sich auch auf die meisten anderen Anionen übertragen lassen^[11]. Darüber hinaus sollte eine konkave Verpackung auch für Hydrid-Ionen H⁻ sowie für Wasserstoffatome H⁺ zu hohen Stereoselektivitäten führen, wie Reduktionen an Cyclohexanon^[9] und der stereoselektive H-Einfang von Radikalen^[12] andeuten.

Arbeitsvorschrift

Experimentelle Details siehe [13]. 19 mg (0.17 mmol) Kalium-*tert*-butoxid, 0.11 mmol der Nitroverbindungen **2a** oder **2b** und 51 mg (0.19 mmol) [18]Krone-6 wurden in 2 mL wasserfreiem Ethanol gelöst und 15 h [14] gerührt. Für die Reprotonierungsexperimente wurden jeweils 40 µL dieser Lösung zu Mischungen von 0.22 mmol der Basen und 11.4 mg (0.06 mmol) *p*-Toluolsulfonsäuremonohydrat in 1 mL wasserfreiem Ethanol gegeben. Man rührte anschließend 16 h bei Raumtemperatur, gab dann 0.5–1.0 mL 2 N HCl, 2 mL Wasser sowie 4 mL Diethylether zu und trennte die Phasen. Die wäßrige Phase wurde mit 4 mL Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit ca. 2 mL Wasser gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Einengen wurden die Proben gaschromatographisch untersucht (Carlo-Erba 4130, Carlo-Erba GC 6000 Vega oder Carlo-Erba HRGC 5300 Mega, Säule: SE 30/25 m (Firma J + W [15]), 180 °C isotherm oder OV 17/15 m, Temperaturprogramm: 160 °C für 5 min, Aufheizen mit 5 °C pro min bis 240 °C.

Eingegangen am 17. Juli,
veränderte Fassung am 4. Oktober 1991 [Z 4798]

CAS-Registry-Nummern:

1a, 29916-50-5; **1b**, 128575-88-2; **5a**, 66-71-7; **5b**, 484-11-7; **5c**, 25677-69-4; **5d**, 124318-71-4; **5e**, 124318-69-0; **5f**, 137572-10-2; **6a**, 109559-47-9; **6b**, 124318-72-5; **6c**, 124318-70-3; **6d**, 137572-11-3; **6e**, 137572-12-4; **6f**, 137572-13-5; **6g**, 137594-03-7; **6h**, 137572-14-6; **7a**, 137572-15-7; **7b**, 137572-16-8; **7c**, 137572-17-9.

- [1] Einige Beispiele für stereo- und/oder enantioselektive Protonierungen: a) S. Hünig, N. Klaunzer, R. Schlund, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 1322; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 1281; b) U. Gerlach, S. Hünig, *ibid.* **1987**, *99*, 1323 bzw. **1987**, *26*, 1283; c) D. Potin, K. Williams, J. Rebek, Jr., *ibid.* **1990**, *102*, 1485 bzw. **1990**, *29*, 1420; d) H. E. Zimmermann, *Acc. Chem. Res.* **1987**, *20*, 263; e) C. Fehr, J. Galindo, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 6909; f) L. Duhamel, P. Duhamel, S. Fouquay, J. J. Eddine, O. Peschard, J.-C. Plaquevent, A. Ravard, R. Solliard, J.-Y. Valnot, H. Vincens, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 5495, zit. Lit.; g) J. Jähme, C. Rüchardt, *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 919; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, *20*, 885; h) H. Pracejus, G. Pohl, *Liebigs Ann. Chem.* **1969**, *722*, 1; i) R. D. Larsen, E. G. Corley, P. Davis, P. J. Reider, E. J. Grabowski, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7650; j) G. Coutois, L. Miginiac, *J. Organomet. Chem.* **1974**, *69*, 1; k) J. Tanaka, M. Nojima, S. Kusabayashi, S. Nagase, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1987**, *673*; l) Review: H. Waldmann, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1991**, *39*, 413.
- [2] Concave Reagents **8**: U. Lüning, R. Baumstark, M. Müller, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 987, zit. Lit.
- [3] Concave Reagents **6**: U. Lüning, F. Schillinger, *Chem. Ber.* **1990**, *123*, 2073.
- [4] Concave Reagents **4**: U. Lüning, R. Baumstark, M. Müller, C. Wangnick, F. Schillinger, *Chem. Ber.* **1990**, *123*, 221.
- [5] Review: H. W. Pinnick, *Organic Reactions* **1990**, *38*, 655.
- [6] Durch Veränderung der Konzentrationen im Puffergemisch läßt sich das Verhältnis von O- zu C-Protonierung über weite Bereiche variieren [4].
- [7] Die Konzentration des Puffers ([**6c**] + [**6c·H⁺**]) wurde von 55 bis 220 mM variiert. Obwohl die Mischungen ab 126 mM heterogen waren, änderte sich die *cis/trans*-Stereoselektivität der Protonierung über den gesamten Konzentrationsbereich nur geringfügig (im Durchschnitt 9:1).
- [8] Das Lösungsmittel für die Puffermischung **6c/6c·H⁺** wurde von unpolaren und aprotischen Lösungsmitteln wie Ethern bis zu polaren, protischen Lösungsmitteln wie Alkoholen variiert. Dabei waren nur die Mischungen in Acetonitril, DMF und DMSO homogen.
- [9] Beispielsweise: E. C. Ashby, J. T. Laemmle, *Chem. Rev.* **1975**, *75*, 521.
- [10] Bei der Auswahl der „Verpackung“ ist zu beachten, daß die Geschwindigkeiten der Protonierung und Deprotonierung noch hinreichend schnell sind. Für einen kinetisch extrem gehinderten, protonierten Polymakrocy-

clus siehe: H. Takemura, T. Shinmyozu, T. Inazu, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 1323.

- [11] Auch die α/γ -Selektivität der Protonierung des Triphenylsilyllallyl-Anions läßt sich durch Verwendung von 2,6-Bis(2,6-dimethylphenyl)benzoesäure von 2:1 (Wasser/Essigsäure) auf 1:10 verändern! C. Wangnick, Dissertation, Universität Freiburg, **1991**.
- [12] Zur stereoselektiven Generierung von thermodynamisch instabilen Produkten durch H^+ -Übertragung auf 2,3-disubstituierte Succinsäureanhydrid-2-yl-Radikale siehe: a) B. Giese, J. Meixner, *Tetrahedron Lett.* **1977**, 2783; b) B. Giese, G. Kretzschmar, *Chem. Ber.* **1984**, 117, 3175; c) B. Giese, *Angew. Chem.* **1989**, 101, 993; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, 28, 969. – Zur stereoselektiven Bildung von *cis*-Alkenen bei der H^+ -Übertragung auf 2-substituierte Vinylradikale: c) d) S. Lachhein, Dissertation, Technische Hochschule Darmstadt, **1982**.
- [13] Experimentelle Details siehe auch [3, 4]. Die Aryl-1,10-phenanthroline **5** und **6** sowie die bimakrocyclischen 1,10-Phenanthroline **7** wurden analog zu [16] synthetisiert. Die Ester **6d–g** wurden über die Dihydroxyverbindung **6h** synthetisiert, die man analog zu 2,9-Bis(2,6-dihydroxyphenyl)-1,10-phenanthrolin [16] synthetisieren kann.
- [14] Die Deprotonierung der Nitronat-Ionen ist bereits nach 2 h abgeschlossen.
- [15] Bei Verwendung einer GC-Säule von Macherey & Nagel (SE 30/50 m) wurde Isomerisierung der Stereoisomere von **2a** beobachtet.
- [16] Concave Reagents 5: U. Lüning, M. Müller, *Chem. Ber.* **1990**, 123, 643.
- [17] Bei Verwendung von deutlich basischeren Puffern (z.B. NaOPh/PhOH) werden die unter kinetischer Kontrolle gebildeten Stereoisomere durch ein Protonierungs-/Deprotonierungsgleichgewicht isomerisiert.
- [18] a) S. Ram, R. E. Ehrenkauf, *Synthesis* **1986**, 133; b) A. G. M. Barrett, C. D. Spilling, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 5733.
- [19] F. Y. Rachinskii, N. M. Vinokurova, *Zhur. Obshch. Khim.* **1954**, 24, 272; [*Chem. Abstr.* **1955**, 49, 4553 c].
- [20] D. J. Cram, J. E. McCarty, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 5740.

Struktur der Tunichrome von Tunicaten und deren Rolle bei der Vanadiumanreicherung

Von Ernst Bayer*, Gerhard Schiefer, Dietmar Waidelich, Silvia Scippa und Mario de Vincentiis

Professor Michael Hanack zum 60. Geburtstag gewidmet

Tunicaten (Manteltiere) können in ihren Blutzellen Vanadium auf das millionenfache aus dem Meerwasser anreichern^[1–3]. Obwohl die Vanadiumverbindung der Tunicaten vor über 80 Jahren entdeckt wurde, ist ihre Struktur noch immer nicht aufgeklärt. Gesichert ist nur, daß in *Phallusia mammillata* und *Ascidia nigra* Vanadium überwiegend dreiwertig vorliegt^[4–5]. Neben den vanadiumhaltigen Siegelring- und Kompartimentzellen finden sich weitgehend vanadiumfreie Blutzellen (Maulbeerzellen) in *P. mammillata*^[6] und *A. nigra*^[7]. Nakanishi et al.^[8–11] haben aus den Maulbeerzellen von *A. nigra* in einer sehr aufwendigen und verlustreichen Isolierung Peptide erhalten^[12], die sie Tunichrome nennen. Der Hauptkomponente wurde die Struktur eines Dipeptids aus einem β -(3,4,5-Trihydroxyphenyl)alanin und einem β -(3,4,5-Trihydroxyphenyl)dehydroalanin mit einer C-terminalen 3,4,5-Trihydroxystyrylamideinheit zugeordnet.

Da die Peptide der Blutzellen äußerst instabil und oxidationsempfindlich sind, haben wir eine sehr einfache, schnelle und mit wenig Verlusten verbundene Isolierung für die Peptide aus *P. mammillata* ausgearbeitet. Die Tunichrome lassen sich relativ selektiv aus gefriergetrockneten Zellen mit Methanol extrahieren und durch HPLC an Polystyrolphasen mit Wiederfindungsraten von 80–90% oder durch

Kapillarelektrophorese rein gewinnen oder on-line der Ionenspray-Tandem-Massenspektrometrie zuführen. Die Trennung an Umkehrphasen auf Silicagelbasis ist dagegen sehr verlustreich. Alle Operationen müssen unter Luftausschluß durchgeführt werden.

Abbildung 1 zeigt die HPLC-Trennung des Methanolextrakts. Außer drei Nebenkomponten tritt eine Hauptkomponente auf, die durch Ionenspray-MS, Tandem-MS, 1H - und ^{13}C -NMR- sowie UV/VIS- und IR-Spektroskopie untersucht wurde. Bewährt hat sich auch die Auftrennung des Methanolextrakts durch Kapillarzonenlektrophorese, die ebenfalls eine Hauptkomponente nachweist.

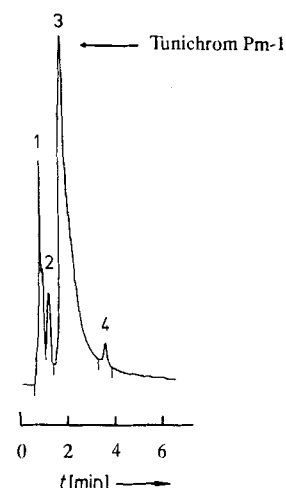


Abb. 1. HPLC des Methanolextrakts von Blutzellen aus *Phallusia mammillata*. Säule: 125 × 4.6 mm, 5 μ m-Hamilton PRP-1; UV-Detektion bei 210 nm; Elution mit CH_3CN/H_2O (50:50), 1 mL min⁻¹; $p = 36$ bar. Fraktionen: 1 *p*-Aminobenzoesäure, 2 Zuckerderivat, 3 Tunichrom Pm-1, 4 Tunichrom Pm-2 und Pm-3.

Das UV-Spektrum der Hauptkomponente zeigt ein Absorptionsmaximum bei 301 nm und nicht das von Nakanishi et al.^[9–11] bei dem aus *A. nigra* isolierten Tunichrom An-1 gefundene Maximum bei 340 nm. Außerdem hat das Tunichrom aus *P. mammillata* Pm-1 mit $(M + H)^+$ 558.4 eine um 2 Da höhere Molekülmasse als das Tunichrom aus *A. nigra*, wie das Ionenspray-Massenspektrum (IMS) zeigt. Das MS-MS-Spektrum des Molekülpeaks 558 im IMS ergibt das Fragmentierungsschema der Abbildung 2. Tunichrom Pm-1 ist danach das Dipeptid **1** aus zwei β -(3,4,5-Trihydroxyphenyl)alanin(Topa)-Molekülen und einem C-terminal gebundenen 3,4,5-Trihydroxystyrylamin. Es unterscheidet sich von dem Tunichrom aus *A. nigra* An-1 dadurch, daß nur eine Doppelbindung und keine durchgehende Konjugation zwischen zwei Trihydroxyphenylresten vorhanden ist. Dieser Unterschied bewirkt eine drastische Änderung der Konformation und der Komplexbildung mit Vanadium.

Die 1H - und ^{13}C -NMR-Spektren des freien und des peracetylierten Tunichroms Pm-1 **1** bestätigen die Strukturzuordnung. Zur Bestimmung der Stereochemie der beiden Asymmetriezentren wurde mit 5 N HCl bei 110 °C hydrolysiert und das gebildete 3,4,5-Trihydroxyphenylalanin chromatographisch isoliert und massenspektroskopisch charakterisiert. Die absolute Konfiguration wurde durch den positiven Cotton-Effekt der Carbonylbande bei 215 nm im Circular dichroismus-(CD)-Spektrum als L-Aminosäure bewiesen und durch dünnschichtchromatographische Enantiomerentrennung an einer Chiralplate (Macherey & Nagel) bestätigt. Die beiden Chiralitätszentren weisen demnach L-Konfiguration auf. Die Stereochemie der Styrylamidgruppe im dritten, dehydrierten

[*] Prof. Dr. E. Bayer, Dr. G. Schiefer, Dipl.-Chem. D. Waidelich
Institut für Organische Chemie der Universität
Auf der Morgenstelle 18, W-7400 Tübingen 1
Prof. Dr. S. Scippa, Prof. Dr. M. de Vincentiis
Il Cattedra di Istologia ed Embriologia
Facolta di Scienze Fisiche Matematiche e Naturali
Universita di Napoli
Via Mezzocannone 8, I-80134 Napoli (Italien)