

Peptidkonformationen, VI<sup>1)</sup>

## Festlegung von intramolekularen Wasserstoffbrücken in *cyclo(-Phe-Gly-Xxx-Val-Ala-)* durch <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie

Horst Kessler\* und Peter Kondor

Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt a. M.,  
Niederurseler Hang, D-6000 Frankfurt a. M. 50

Eingegangen am 29. Januar 1979

Die Titelverbindungen mit Xxx = Aib (1) und Leu (2) wurden synthetisiert und <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopisch in DMSO untersucht. Aus der Temperaturabhängigkeit der chemischen Verschiebung der NH-Signale und deren Veränderung bei Zugabe von Chloroform bzw. Trifluorethanol wird auf das Dominieren einer Konformation geschlossen, die zwei interne NH-Orientierungen aufweist. Die Interpretation der NH-C<sup>\*</sup>H-Kopplungen läßt im Zusammenhang mit Modellbetrachtungen nur eine  $\beta\gamma^1$ - oder eine  $\gamma^1\gamma^1$ -Struktur zu. Die Ergebnisse werden den Konformationen anderer Cyclopentapeptide gegenübergestellt und gewisse allgemeine Regeln daraus abgeleitet. So wird die Struktur der  $\beta$ -Schleife ( $\beta$ I oder  $\beta$ II) durch bestimmte Aminosäuren determiniert. Sterisch anspruchsvolle Aminosäuren sind vorwiegend in der mittleren Position ( $j + 1$ ) einer  $\gamma$ -Schleife zu finden.

### Conformation of Peptides, VI<sup>1)</sup>

#### Determination of Intramolecular Hydrogen Bonds in *cyclo(-Phe-Gly-Xxx-Val-Ala-)* by <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy

The title compounds with Xxx = Aib (1) and Leu (2) were synthesized and their structures in DMSO were investigated by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. From the temperature dependence of the NH proton signals and the changes of chemical shifts on titration with chloroform or trifluoroethanol, we conclude the dominance of a single conformation with two internal oriented NH groups. The evaluation of the NH-C<sup>\*</sup>H coupling constants, combined with model building leads to a conformation with a  $\beta\gamma^1$  or a  $\gamma^1\gamma^1$  structure. The results are compared with the conformation of other cyclic pentapeptides and some general rules are deduced. The structure of a  $\beta$ -turn ( $\beta$ I or  $\beta$ II) is found to be determined by certain amino acids. Amino acids with bulky side chains are mainly to be found in the central position ( $j + 1$ ) of a  $\gamma$ -turn.

Unsere Untersuchungen an phenylalanin- und glycinhaltigen Cyclopentapeptiden<sup>2-6)</sup> führten zu dem Schluß, daß in Lösung ein sich schnell (im Sinne der NMR-Zeit-Skala) einstellendes Gleichgewicht mehrerer Konformationen vorliegt. Dominiert eine Konformation deutlich, so läßt sich für diese eine Struktur mit zwei intramolekularen NH-Orientierungen nachweisen<sup>4,6)</sup>. Soweit bisher überprüfbar war, scheint die stabilste Konformation eine  $\gamma$ -(1  $\leftarrow$  3)- und eine  $\beta$ -(1  $\leftarrow$  4)-Schleife aufzuweisen<sup>7)</sup>. Kürzlich konnte auch für das Pentapeptid *cyclo(-Pro-Gly-Pro-Gly-D-Ala-)* durch NMR-Spektroskopie<sup>8)</sup> und Röntgenstrukturanalyse<sup>9)</sup> eine  $\beta\gamma$ -Struktur gesichert werden. Die Frage, inwiefern

der  $\beta\gamma$ -Strukturtyp in Cyclopentapeptiden generell bevorzugt ist, konnte bisher aus Mangel an genügend vielen genau untersuchten Verbindungen noch nicht beantwortet werden.

Wir berichten hier über zwei weitere Beispiele, in denen wir durch lipophile Seitenketten eine Verbesserung der Löslichkeit erhofften, da die nicht-prolin-haltigen Cyclopentapeptide bisher nur in Dimethylsulfoxid (DMSO) und Dimethylformamid (DMF) einigermaßen befriedigend löslich waren. Die Seitenketten sollten die polaren, assoziationsfähigen NH- und CO-Gruppen abschirmen und damit die Löslichkeit in lipophilen Medien, die für die Komplexierung von Ionen durch Peptide und für Transportphänomene von Interesse sind, erhöhen.

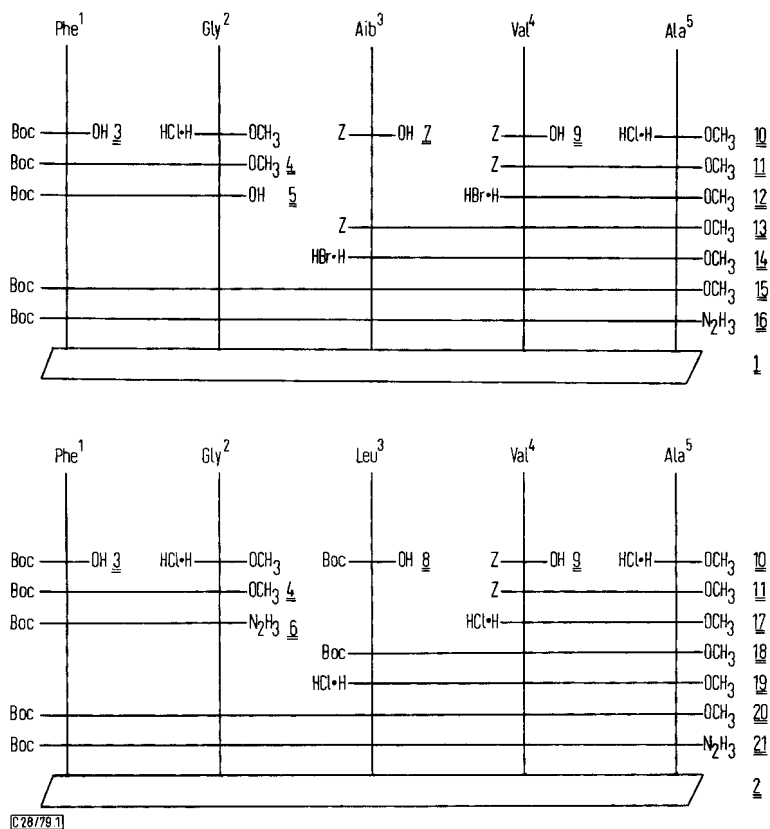


Abb. 1. Synthesen der cyclischen Pentapeptide 1 und 2

Bei der Auswahl der Aminosäuren gingen wir, im Gegensatz zu unseren früheren Arbeiten<sup>2-6</sup>, von fünf verschiedenen Aminosäuren aus. Dadurch wurde die Analyse im NMR-Spektrum ohne aufwendige Deuterierung möglich. Außerdem sollte die Phe-Gly-Sequenz erhalten bleiben, da Glycin sterisch auch als quasi-D-Aminosäure fungieren kann und somit bestimmte Stellungen in der Konformation bevorzugt.

Wir synthetisierten daher die beiden Cyclopentapeptide *cyclo*-(Phe<sup>1</sup>-Gly<sup>2</sup>-Xxx<sup>3</sup>-Val<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-) mit Xxx = Aib ( $\alpha$ -Aminoisobuttersäure) in **1** und Xxx = Leu in **2** nach dem in Abb. 1 gezeigten Schema.

Die Cyclisierungsausbeuten betragen 38 (**1**) bzw. 21% (**2**). Durch FD-Massenspektrometrie wurde sichergestellt, daß es sich nicht um Cyclodimerisierungsprodukte, wie sie wiederholt bei Cyclisierungen beobachtet wurden<sup>10)</sup>, handelt.

## Ergebnisse

Die Hoffnungen auf eine verbesserte Löslichkeit hatten sich nicht erfüllt. **1** und **2** sind lediglich in DMSO so weit löslich, daß eine NMR-spektroskopische Konformationsanalyse möglich ist. In Abb. 2 sind die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren beider Substanzen und die sich aus den Doppelresonanzexperimenten ergebenden Zuordnungen dargestellt. Die Analyse der Spektren ergibt die in Tab. 1 aufgeführten Daten.

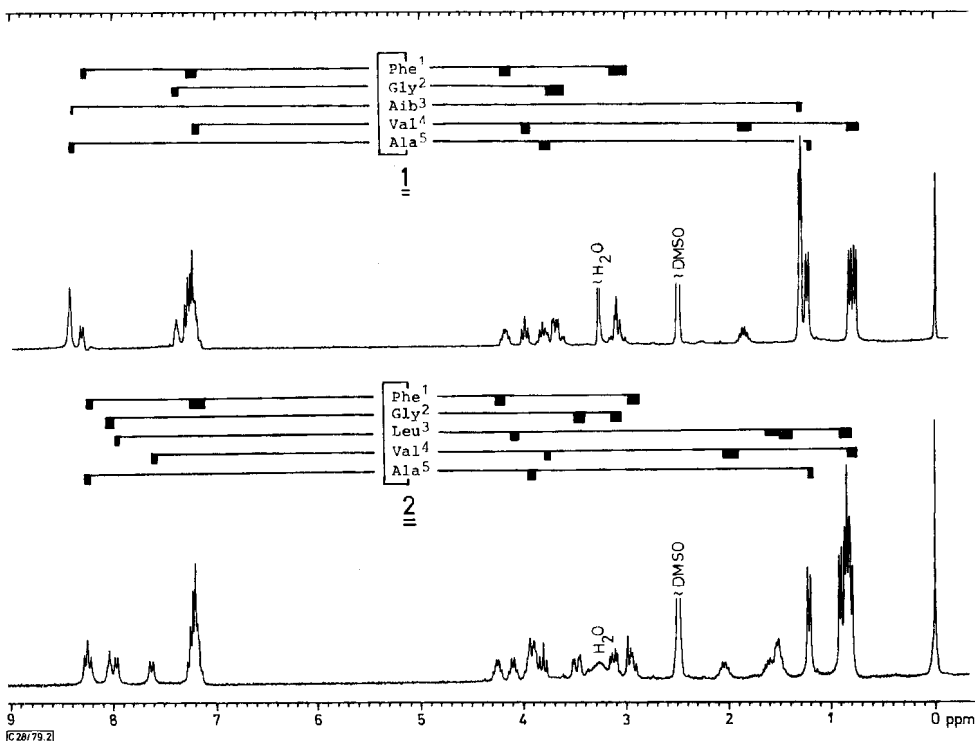


Abb. 2. 270-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren von **1** und **2** bei 305 K in [D<sub>6</sub>]DMSO

Einen ersten Anhaltspunkt für die Festlegung des Peptidgerüsts gibt die Temperaturabhängigkeit der NH-Signale<sup>11)</sup> (Abb. 3). Im Bereich von 70°C tritt in einigen Kurven beider Peptide ein Knick auf (in **1** besonders bei Phe-, Gly- und Val-NH; in **2** bei Leu-NH). Solche Abweichungen von der Linearität werden normalerweise durch Konformations-

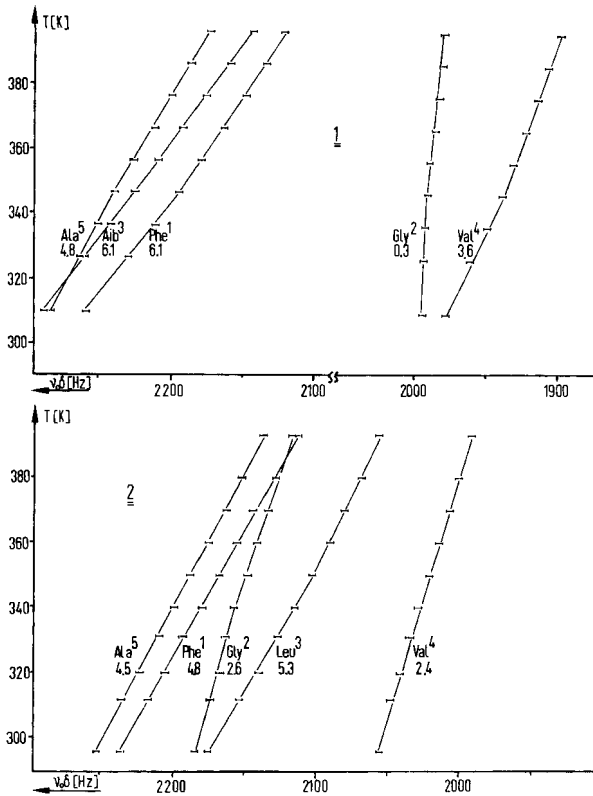
Tab. 1. <sup>1</sup>H-NMR-Daten von *cyclo*-(Phe<sup>1</sup>-Gly<sup>2</sup>-Aib<sup>3</sup>-Val<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-)(1) und *cyclo*-(Phe<sup>1</sup>-Gly<sup>2</sup>-Leu<sup>3</sup>-Val<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-)(2) in [D<sub>6</sub>]DMSO bei 298 K. δ-Werte, bezogen auf TMS, Kopplungskonstanten in Hz

1	Phe <sup>1</sup>	Gly <sup>2</sup>	Aib <sup>3</sup>	Val <sup>4</sup>	Ala <sup>5</sup>
NH	8.33	7.33	8.47	7.20	8.45
C <sup>α</sup> H	4.17	A 3.58 <sup>a)</sup> B 3.77 <sup>a)</sup>	—	4.02	3.84
C <sup>β</sup> H	A 3.03 B 3.14	—	A 1.34 B 1.38	1.91	1.27
Aromat. H	≈ 7.21	—	—	—	—
C <sup>γ</sup> H	—	—	—	A 0.86 B 0.82	—
<sup>3</sup> J <sub>HNC<sup>α</sup>H</sub>	8.4	A 5.2 B 4.5	—	8.7	7.2
<sup>2</sup> J <sub>HC<sup>α</sup>H</sub>	—	14.9	—	—	—
2	Phe <sup>1</sup>	Gly <sup>2</sup>	Leu <sup>3</sup>	Val <sup>4</sup>	Ala <sup>5</sup>
NH	8.28	8.06	8.05	8.62	8.33
C <sup>α</sup> H	4.24	A 3.92 B 3.53	4.09	3.81	3.94
C <sup>β</sup> H	A 3.13 B 2.97	—	≈ 1.52	2.05	1.23
Aromat. H	≈ 7.25	—	—	—	—
C <sup>γ</sup> H	—	—	1.71	A 0.83 B 0.81	—
C <sup>δ</sup> H	—	—	A 0.90 B 0.88	—	—
<sup>3</sup> J <sub>HNC<sup>α</sup>H</sub>	8.2	A 7.3 B 3.2	≈ 7.1	8.6	7.6
<sup>2</sup> J <sub>HC<sup>α</sup>H</sub>	—	14.7	—	—	—

<sup>a)</sup> Bei 363 K. Die chemischen Verschiebungen dieser Protonen sind temperaturabhängig.

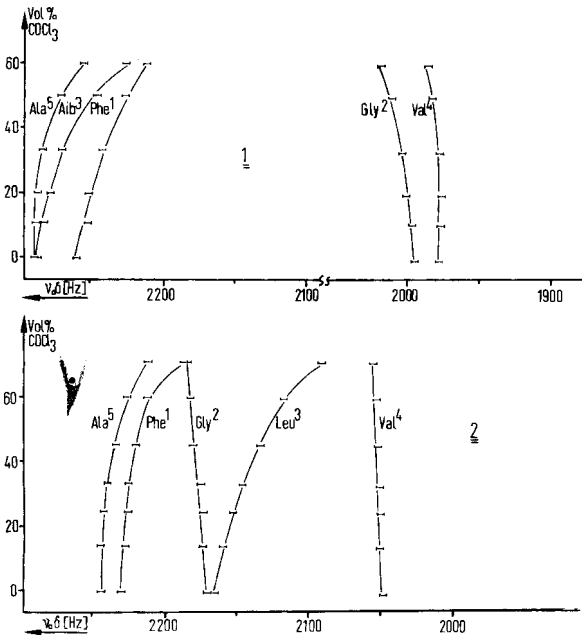
änderungen interpretiert<sup>12)</sup>. Da die Einstellung des Konformationsgleichgewichtes in Cyclopentapeptiden schnell im Sinne der NMR-Zeit-Skala ist<sup>2,4,6)</sup>, sollte man zur Festlegung der stabilsten Form möglichst nur den Bereich relativ niedriger Temperaturen auswählen. Mit steigender Temperatur vergrößert sich der Anteil der anderen Konformationen. Die Temperaturabhängigkeit der chemischen Verschiebungen der NH-Signale von Glycin und Valin ist in beiden Peptiden kleiner als diejenige der anderen NH-Signale. Das spricht für eine bevorzugt intramolekulare Orientierung dieser beiden NH-Gruppen. Allerdings ist der Temperaturkoeffizient für das NH-Protonensignal von Valin in **1** mit  $3.6 \cdot 10^{-3}$  ppm/K für die intramolekulare Orientierung relativ groß. Eine weitere Bestätigung für die postulierte Abschirmung dieser Gruppe vom Lösungsmittel erscheint daher nötig.

Der Zusatz von [D]Chloroform zur DMSO-Lösung wirkt sich in einer Hochfeldverschiebung der Signale extern orientierter NH-Gruppen aus. Der Effekt, der sich bei einem Chloroformgehalt von über 50% besonders deutlich zeigt, beruht auf der Ausbildung von Wasserstoffbrücken vom CDCl<sub>3</sub> zum DMSO. Das letztere wird dann vom Peptid verdrängt<sup>13,14)</sup>. Die Ergebnisse der Messungen (Abb. 4) bestätigen die Deutungen aus der Temperaturabhängigkeit: Durch die Verschiebung zu tiefem Feld lassen in beiden



C28779.3

Abb. 3. Temperaturabhängigkeit der NH-NMR-Signale von 1 und 2 in  $[D_6]$ DMSO. Meßfrequenz 270 MHz. Die Steigung der Geraden ist in  $\times 10^{-3}$  ppm/K angegeben



C28779.4

Abb. 4. Einfluß des Zusatzes von  $CDCl_3$  zur DMSO-Lösung von 1 und 2 auf die chemische Verschiebung der NH-NMR-Signale

Verbindungen die NH-Signale von Glycin und Valin die interne Orientierung erkennen. In ähnlicher Weise wirkt sich auch ein Zusatz von Trifluorethanol (TFE) aus. Die geringe Löslichkeit erlaubt allerdings nur Messungen bis zu einem Gehalt von ca. 40% TFE. Die Effekte der CO-Protonierung<sup>6, 15)</sup> sind dabei noch nicht deutlich, sondern man beobachtet lediglich Effekte, die der Chloroform-Meßreihe entsprechen.

## Diskussion

**Löslichkeit:** Die zunächst plausibel erscheinende Einführung von großen Alkylseitenketten zur Verbesserung der Löslichkeit brachte im Gegensatz zu Erfahrungen an linearen und größeren cyclischen Peptiden<sup>16)</sup> keinen Effekt. Offenbar genügt es nicht allein, die polaren Amidgruppen abzuschirmen, sondern das Molekül muß flexibel genug sein, die hydrophoben Wechselwirkungen zum lipiden Solvens durch Faltung der polaren Gruppen „nach innen“ genügend groß zu machen. Obwohl Cyclopentapeptide einem schnellen Konformationsgleichgewicht unterliegen können<sup>2, 4, 6)</sup>, ist jedoch jede der backbone-Konformationen des 15-gliedrigen Ringes für sich so fixiert, daß die internen Bewegungsmöglichkeiten im Sinne der hier aufgezeigten Faltung gering sind.

**Konformation der Peptide 1 und 2:** Für eine eindeutige Interpretation von NMR-Ergebnissen zur Konformation von Peptiden muß eine Konformation deutlich gegenüber anderen bevorzugt sein. Andernfalls führen die Mittelungen der NMR-Parameter über sämtliche Konformationen zu scheinbaren Ergebnissen, die mit den Strukturen der einzelnen Konformationen nicht übereinstimmen müssen. Die stark unterschiedlichen Temperaturgradienten der NH-Signale, das differenzierte Verhalten derselben bei Variation des Lösungsmittels und die Differenz der chemischen Verschiebung von 0.2 ppm (in 1) bzw. 0.4 ppm (in 2) für die beiden  $\alpha$ -Protonen des Glycinrestes deuten auf das Dominieren einer Konformation hin.

Die NH-Gruppen von Gly<sup>2</sup> und Val<sup>4</sup> sind intramolekular orientiert. Intramolekulare Wasserstoffbrücken in Cyclopentapeptiden sind für die Aminosäure in Stellung  $x$  nur mit der Carbonylgruppe der Aminosäure  $x - 3$ - ( $\beta$ -Schleife) oder  $x - 2$ -Stellung ( $\gamma$ -Schleife) möglich (Abb. 5).

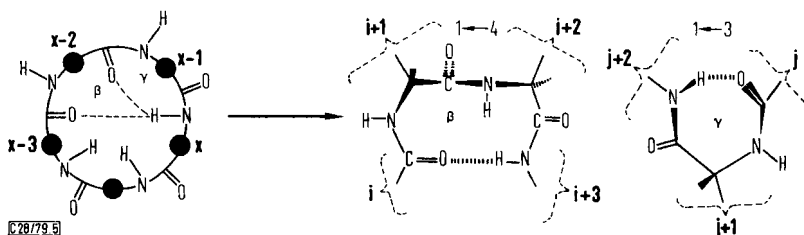


Abb. 5. Definition der in einem Cyclopentapeptid möglichen intramolekularen Wasserstoffbrücken

Für Val<sup>4</sup> entspricht das den Carbonylgruppen von Gly<sup>2</sup> und Phe<sup>1</sup>. Die interne Anordnung des NH-Protons von Gly<sup>2</sup> bedeutet aber gleichzeitig eine externe Carbonyl-orientierung für Phe<sup>1</sup> (*trans*-Peptidbindung). Folglich kann das NH-Proton von Val<sup>4</sup> nur eine  $\gamma$ -Schleife zur CO-Gruppe Gly<sup>2</sup> ausbilden, wenn eine Wasserstoffbrücke ange-

nommen wird. Demgegenüber läßt sich die Orientierung der Glycin-NH-Gruppe nicht ohne weiteres festlegen: sowohl eine 1 ← 4-Schleife ( $\beta$ ) zum Valin-CO als auch eine 1 ← 3-Schleife ( $\gamma$ ) zum Alanin-CO sind möglich.

Für die weitere Diskussion müssen wir die beobachteten Kopplungskonstanten sowie zwei Hilfsmittel, berechnete bzw. aus Röntgenstrukturanalysen erhaltene typische Werte für  $\beta$ - und  $\gamma$ -Schleifen sowie die von *Bystrov*<sup>17)</sup> modifizierte Karplus-Kurve, heranziehen. Letztere ergibt die Korrelation zwischen den  $^3J_{\text{HNC}^*\text{H}}$ -Kopplungskonstanten und den sog.  $\Theta$ -Winkeln (Interplanarwinkel)<sup>18)</sup> neben einer *trans*-Amidbindung. Über die Winkel  $\Theta$  lassen sich die  $\phi$ -Interplanarwinkel  $\text{C}'(\text{O})-\text{N}-\text{C}^\alpha-\text{C}(\text{O})$  einfach berechnen<sup>18)</sup>.

Es soll bemerkt werden, daß das oben erwähnte Korrelationsdiagramm nicht das einzige in der Literatur verwendete ist<sup>19,20)</sup> und daß diese zum Teil erheblich voneinander abweichen. Es zeigt sich, daß die Verwendung der sog. Ferrichromkurve<sup>19)</sup> für die  $^3J$ ,  $\Theta$ -Korrelation bei großzügiger Auslegung der Fehlerbreiten zu den gleichen Resultaten führt wie die *Bystrov*sche Kurve. Bei strenger Anwendung ergeben sich allerdings Widersprüche, die daraus resultieren, daß nach den von uns gemessenen Kopplungskonstanten von über 7 Hz nur negative  $\phi_L$ -Winkel zugelassen sind, die mit einer fixierten, cyclischen Struktur der Verbindungen im Widerspruch stehen.

Tab. 2 zieht einen Vergleich dieser Werte für die Positionen  $i + 1$  bzw.  $i + 2$  der möglichen  $\beta$ -Schleife. Dabei wird zwischen  $\beta\text{I}$  und  $\beta\text{II}$  bzw. ihren Inversen,  $\beta\text{I}'$  und  $\beta\text{II}'$ , differenziert.

Tab. 2. Auswertung und Vergleich der HN-C<sup>2</sup>H-Kopplung in einer  $\beta$ -Schleife (s. Abb. 5)<sup>a, b)</sup>

Position	1		Erlaubte $\phi_L$ -Winkel <sup>c)</sup>				2	
	$^3J_{\text{HNC}^*\text{H}}$ [in Hz]	$\phi_L$ [in °]	$\beta\text{I}$	$\beta\text{I}'$	$\beta\text{II}$ [in °]	$\beta\text{II}'$	$\phi_L \leftarrow ^3J_{\text{HNC}^*\text{H}}$ [in °]	$^3J_{\text{HNC}^*\text{H}}$ [in Hz]
$i + 1$		35 ± 5					40 ± 7	
		83 ± 8		60		60	78 ± 8	
(Ala <sup>5</sup> )	7.2 →							← 7.6
		-82 ± 4		-60		-60	-84 ± 4	
		-162 ± 3					-156 ± 5	
$i \pm 2$		60 ± 20		90		80	58 ± 22	
								← 8.2
(Phe <sup>1</sup> )	8.4 →							
		-88 ± 5		-90		-80	-87 ± 5	
		-153 ± 5					-154 ± 5	

<sup>a)</sup> Die Übereinstimmung von experimentellen und erlaubten Winkeln wird durch Fettdruck angedeutet; Winkel, die zu keiner Korrelation führen, werden kursiv dargestellt.

<sup>b)</sup> Zur Definition der Konformation von  $\beta$ -Schleifen siehe z. B. Lit.<sup>21, 22)</sup>

<sup>c)</sup> Berechnete Werte<sup>21)</sup>. Die Werte aus Röntgenstrukturanalysen<sup>22)</sup> streuen um etwa ± 10°.

Eine eindeutige Korrelation findet man in der  $i + 2$ -Position nur bei der  $\beta\text{I}$ - oder  $\beta\text{II}'$ -Struktur. In der  $i + 1$ -Position ist die Übereinstimmung für diese beiden Möglichkeiten weniger gut; jedoch kann weder die  $\beta\text{I}$ - noch die  $\beta\text{II}'$ -Struktur ausgeschlossen werden. Allerdings zeigt eine Betrachtung der Literaturbefunde, daß bei einer LL-Sequenz der Aminosäuren  $i + 1$  und  $i + 2$ , wie sie in unseren Verbindungen vorkommt, immer eine  $\beta\text{I}$ -, nie jedoch eine  $\beta\text{II}'$ -Schleife beobachtet wird (die  $\beta\text{II}'$ -Schleife wird bei einer DL- bzw. Gly-L-Sequenz gefunden)<sup>22)</sup>. Wir ziehen daher die  $\beta\text{I}$ -Schleife als eine Möglichkeit in Betracht.

Tab. 3. Auswertung und Vergleich der HN-C<sup>\*</sup>H-Kopplung in einer  $\gamma$ -Schleife in der  $\beta\gamma$ -Struktur eines cyclischen Pentapeptids<sup>a)</sup>

Position	<b>1</b>		Erlaubte $\phi_L$ -Winkel <sup>b)</sup>		<b>2</b>		
	${}^3J_{\text{HNC}^*\text{H}} \rightarrow \phi_L$ [in Hz]	$\phi_L$ [in $^\circ$ ]	$\gamma^\uparrow$ [in $^\circ$ ]	$\gamma^\downarrow$ [in $^\circ$ ]	$\phi_L \leftarrow {}^3J_{\text{HNC}^*\text{H}}$ [in $^\circ$ ]	[in Hz]	
$j + 1$ (Leu <sup>3</sup> in <b>2</b> )	—		75	-75	$34 \pm 5$ $84 \pm 8$ $-81 \pm 4$ $-163 \pm 3$		← 7.1
$j + 2$ (Val <sup>4</sup> )	8.7 →	$\left\{ \begin{array}{l} 58 \pm 15 \\ -92 \pm 6 \\ -151 \pm 5 \end{array} \right.$	-105	105	$\left\{ \begin{array}{l} 59 \pm 15 \\ -91 \pm 6 \\ -152 \pm 5 \end{array} \right.$		← 8.6

<sup>a)</sup> S. Anmerkung a) in Tab. 2. — <sup>b)</sup> Die Winkel wurden an einem Dreiding-Modell bestimmt. Für die  $j + 1$ -Position liegen Röntgenstrukturanalysen vor, die Winkel von  $|70 - 85|$  ergaben <sup>22)</sup>.

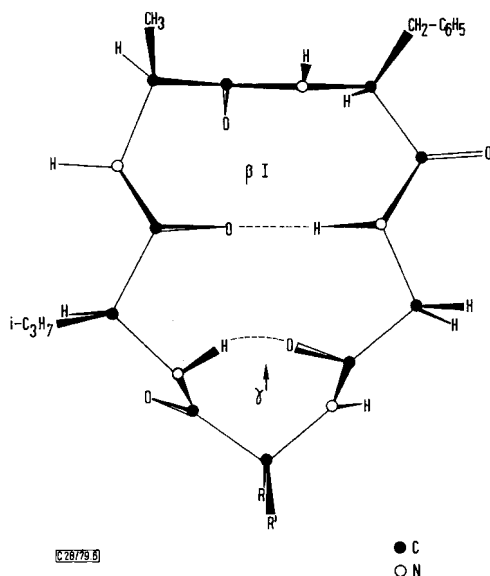


Abb. 6. Erlaubte  $\beta I \gamma^\uparrow$ -Konformation der Peptide **1** ( $R = R' = \text{CH}_3$ ) und **2** ( $R = \text{H}, R' = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ) in DMSO

Die zweite H-Brücke kann oberhalb oder unterhalb des Ringgerüsts gebildet werden. Wir wollen diese Möglichkeiten mit  $\gamma^\uparrow$  und  $\gamma^\downarrow$  kennzeichnen. Die  $\phi_L$ -Winkel der Positionen  $i + 1$  bzw.  $i + 2$  bleiben von dieser Differenzierung unbeeinflusst, während die Frage, ob eine  $\beta I$ - oder  $\beta II$ -Schleife vorliegt, keinen Einfluß auf die  $\phi_L$ -Winkel der Positionen  $j + 1$  bzw.  $j + 2$  hat. Die Position  $j + 2$  ist in **1** und **2** mit L-Valin besetzt. Die aus den  ${}^3J_{\text{HNC}^*\text{H}}$ -Kopplungskonstanten sich ergebenden Winkel lassen sich mit den erwarteten <sup>22)</sup> bzw. an einem Dreiding-Modell abgelesenen Werten vergleichen. Die Position  $j + 1$  ist bei **1** mit Aib besetzt, welches kein  $\alpha$ -Proton besitzt und so keine Auskunft über die  $\phi_L$ -Winkel ergibt. Bei **2** steht in dieser Position L-Leucin. Der Vergleich ist in Tab. 3 zusam-



mengefaßt. Der Wert von  $\phi_L = 105^\circ$  von L-Valin bei einer  $\gamma^1$ -Schleife ist mit den vom NMR-Experiment abgeleiteten Werten unvereinbar. Hieraus ergibt sich für die Verbindungen 1 und 2 die in Abb. 6 mit  $\beta I \gamma^1$  bezeichnete Struktur.

Wie bereits erwähnt, ist jedoch neben dieser  $\beta\gamma$ -Struktur auch eine  $\gamma\gamma$ -Struktur möglich, wobei die zweite  $\gamma$ -Schleife durch eine H-Brücke  $\text{Ala}^5 - \text{CO} \leftarrow \text{HN} - \text{Gly}^2$  gebildet wird. Auch diese H-Brücke kann naturgemäß oberhalb oder unterhalb der Ebene des Ringgerüsts gebildet sein ( $\gamma^1/\gamma^1$ ). Außerdem besitzt diese Struktur eine von keinen intramolekularen Wasserstoffbrücken gebundene *trans*-Amidbindung, welche wiederum zwei Positionen einnehmen kann (vgl. dazu die Peptidbindung zwischen  $i + 1$  und  $i + 2$  an der  $\beta$ I- bzw.  $\beta$ II-Schleife). Wir bezeichnen diese analog zur Konvention bei der  $\beta$ -Schleife mit I und II.

Da die Ausrichtung einer der  $\gamma$ -Schleifen keinen Einfluß auf die  $\phi$ -Interplanarwinkel von jeweils zwei Aminosäuren hat, ist eine getrennte Betrachtung möglich (Tab. 4).

Tab. 4. Auswertung und Vergleich der  $\text{HN}-\text{C}^2\text{H}$ -Kopplung in einer  $\gamma_1\gamma_2$ -Schleifenstruktur eines cyclischen Pentapeptids<sup>a), b), c)</sup>

Position	I		Erlaubte $\phi_L$ -Winkel <sup>d)</sup>				II		$\phi_L \leftarrow {}^3J_{\text{HNC}^2\text{H}}$ [in $^\circ$ ]	${}^3J_{\text{HNC}^2\text{H}}$ [in Hz]	
	${}^3J_{\text{HNC}^2\text{H}} \rightarrow \phi_L$ [in Hz]	[in $^\circ$ ]	$\gamma_1^1$	$\gamma_1^2$	$\gamma_2^1$	$\gamma_2^2$	$\gamma_1^1$	$\gamma_1^2$			
1 (Phe)	8.4	$\left\{ \begin{array}{l} 60 \pm 20 \\ -88 \pm 5 \\ -153 \pm 5 \end{array} \right.$	75	-70			75	-70			$\left\{ \begin{array}{l} 58 \pm 22 \\ -87 \pm 5 \\ -154 \pm 5 \end{array} \right. \leftarrow 8.2$
3 (Leu in 2)	-	-			75	-75			75	-75	$\left\{ \begin{array}{l} 34 \pm 5 \\ 84 \pm 8 \\ -81 \pm 4 \\ -163 \pm 4 \end{array} \right. \leftarrow 7.1$
4 (Val)	8.7	$\left\{ \begin{array}{l} 58 \pm 15 \\ 92 \pm 6 \\ -151 \pm 5 \end{array} \right.$			100 bis 140				80 bis 120		$\left\{ \begin{array}{l} 59 \pm 15 \\ -91 \pm 6 \\ -152 \pm 5 \end{array} \right. \leftarrow 8.6$
5 (Ala)	7.2	$\left\{ \begin{array}{l} 35 \pm 5 \\ 83 - 8 \\ -82 - 4 \\ -162 \pm 3 \end{array} \right.$	-90	-95			90	95			$\left\{ \begin{array}{l} 40 \pm 7 \\ 79 \pm 8 \\ -85 \pm 4 \\ -156 \pm 4 \end{array} \right. \leftarrow 7.6$

<sup>a)</sup> S. Anmerkung a) in Tab. 2. — <sup>b)</sup> Die schraffierten Bereiche deuten die Unabhängigkeit der  $\phi$ -Winkel von der jeweils betrachteten  $\gamma$ -Schleife an. — <sup>c)</sup> In dieser Tabelle bezieht sich  $\gamma_1$  auf die Schleife  $\text{Ala}^5 \leftarrow \text{Gly}^2$  und  $\gamma_2$  auf die Schleife  $\text{Gly}^2 \leftarrow \text{Val}^4$ . — <sup>d)</sup> Siehe Anmerkung <sup>b)</sup> in Tab. 3.

Demnach erlauben die beobachteten Kopplungskonstanten beider Peptide eine  $\gamma^1\gamma^1$ -Struktur, wobei über die Ausrichtung der  $\text{Val}^4 - \text{CO} \leftarrow \text{HN} - \text{Ala}^5$ -Amidbindung (I oder II) keine Aussage gemacht werden kann (Abb. 7).

Da Glycin keine  $\alpha$ -Substituenten trägt, ermöglicht dies von vornherein erhebliche Unterschiede der möglichen Torsions- und Interplanarwinkelwerte. Ein Heranziehen

der  ${}^3J_{AX}$ - und  ${}^3J_{BX}$ -Werte von Glycin zu der Diskussion erscheint aber auch deshalb wenig sinnvoll, da eine Unterscheidung zwischen den NMR-Signalen, chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten des *pro(R)*- bzw. *pro(S)*-Protons ohne stereospezifische Deuterierung an der  $C^\alpha$ -Position nicht möglich ist.

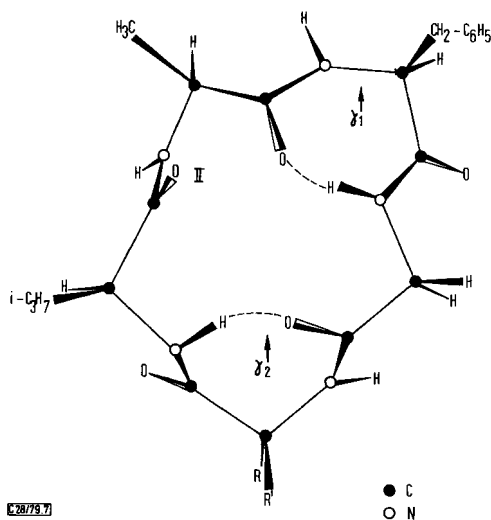


Abb. 7. Erlaubte  $\gamma^1\gamma^1$ -Konformation der Peptide 1 ( $R = R' = \text{CH}_3$ ) und 2 ( $R = \text{H}$ ,  $R' = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ) in DMSO. Die relative Anordnung der nicht an einer intramolekularen Wasserstoffbrücke beteiligten  $\text{Val}^4 - \text{Ala}^5$ -Peptidbindung (in der Abbildung vom Typ II gezeichnet) ist nicht belegt

Bei der  $\gamma_1\gamma_2$ -Struktur kommt hinzu, daß nach den Modellbetrachtungen die  $\phi$ -Interplanarwinkel des Glycins nicht nur von der Ausrichtung beider Wasserstoffbrücken abhängen, sondern auch in einer sonst fixierten Struktur noch eine erhebliche Flexibilität um die  $C^\alpha$ -Bindung besitzen.

Von den geminalen Kopplungskonstanten des Glycins läßt sich auf den  $\Psi$ -Torsionswinkel schließen (Abb. 2 in Lit.<sup>17</sup>). Die geminalen  ${}^2J_{AB}$ -Werte von 14.9 (1) bzw. 14.7 (2) Hz führen zu Winkeln von  $\Psi = \pm (30 - 50)^\circ$  oder  $\pm (120 - 150)^\circ$ <sup>17</sup>. Bei einer  $\beta I\gamma^1$ -Struktur findet man am Dreiding-Modell  $\Psi$ -Winkel von  $-40^\circ$ , für eine  $\gamma\gamma$ -Struktur von  $(0 - 90)^\circ$ . Die geminalen Kopplungskonstanten stehen also in keinem Widerspruch zu den abgeleiteten Strukturen.

### Vergleichende Interpretation

In den letzten Jahren sind eine ganze Reihe von Cyclopentapeptiden durch NMR-Spektroskopie untersucht worden (s. Abb. 8). In allen diesen Peptiden sind zwei intramolekulare Wasserstoffbrücken vorhanden, wobei mindestens eine  $\gamma$ -Schleife sowie eine  $\beta$ - oder eine weitere  $\gamma$ -Schleife vorliegen können. In einigen Fällen<sup>3, 6, 8</sup>) konnte der  $\beta$ -Schleife gegenüber einer zweiten  $\gamma$ -Schleife der Vorzug gegeben werden (Abb. 8).

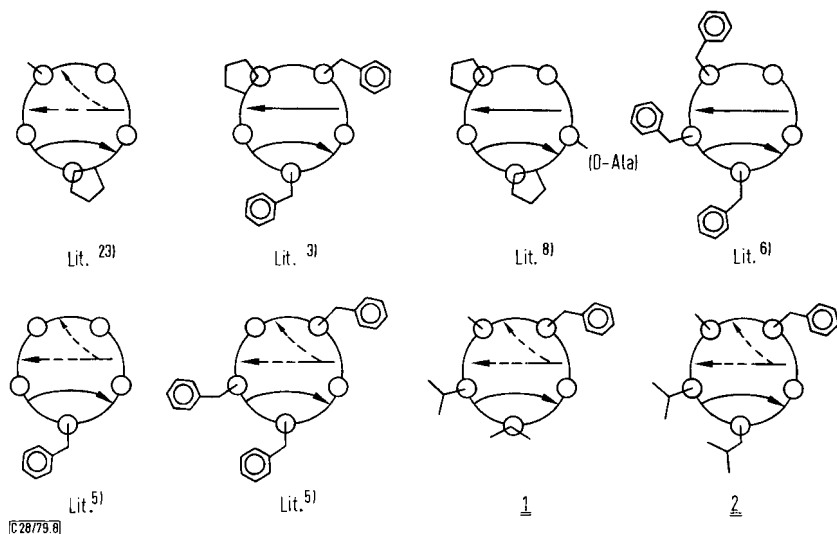


Abb. 8. Schematische Darstellung der bisher bekannten Konformationen cyclischer Pentapeptide. Die Sequenz der Aminosäuren ist in Uhrzeigerrichtung; die Richtung der Pfeile gibt die Richtung der H-Brücke  $\text{NH} \rightarrow \text{CO}$  an. Gestrichelte Linien zeigen zweideutige Zuordnung an

Ein Vergleich der verschiedenen Aminosäuren in den einzelnen Positionen zeigt gewisse Gesetzmäßigkeiten. So fällt beispielsweise auf, daß Prolin entweder die  $j + 1$ -Position der  $\gamma$ -Schleife<sup>8, 23)</sup> oder die  $i + 1$ -Position der  $\beta$ -Schleife zu bevorzugen scheint. Besonders auffallend ist, daß in der  $i + 3 \equiv j$ -Position jeweils ein Glycin oder D-Alanin<sup>8)</sup> zu finden ist. Gerade für  $\beta$ -Schleifen kennt man eine ganze Reihe von allgemeinen Regeln: so ist Glycin bevorzugt in den Positionen  $i$ ,  $i + 1$  und  $i + 3$  in den  $\beta$ -Schleifen zu finden<sup>24-26)</sup>. Außerdem fällt auf, daß die  $j + 1$ -Position der  $\gamma$ -Schleife wenig anfällig gegenüber sterisch aufwendigen Seitenketten ist. Man findet Phenylalanin im Peptid *cyclo*-(Phe-Gly<sub>4</sub>-) und auch die sterisch aufwendigen Aminosäuren Aib, Leu und Pro in einer solchen  $\gamma$ -Schleife. Das entspricht unseren früheren Erfahrungen über die Konformation der *tert*-Butoxycarbonylamino-säuren<sup>27)</sup>, in denen wir zeigen konnten, daß die der  $\gamma$ -Schleife entsprechende cyclische Konformation  $Z''$  in der Reihe Glycin, Phenylalanin, Alanin und Leucin praktisch keine Destabilisierung im Vergleich zur gestreckten Konformation erleidet. Mit anderen Worten: Die  $\gamma$ -Schleife erlaubt die Unterbringung von Aminosäuren mit großen Seitengruppen, ohne die entsprechende Wasserstoffbrücke zu destabilisieren.

Im Unterschied zur  $\beta$ -Schleife liegen über die  $\gamma$ -Schleife bisher nur relativ wenige Röntgenstrukturanalysen vor<sup>22, 28, 29)</sup>. Die bisherigen Resultate zeigen, daß die Peptidbindung  $j + 2 \rightarrow j + 3$  bei der Bildung einer  $\gamma$ -Schleife, zumindest im Kristallgitter, nicht mehr planar ist. Die Abweichungen betragen um  $20^\circ$ . Solche Abweichungen lassen sich natürlich am einfachen Modell nicht voraussagen bzw. sind in unsere Modellbetrachtungen auch nicht eingegangen. Bisher sehen wir keine Möglichkeit, aufgrund der NMR-Daten exakte Rückschlüsse auf die Verdrillung der Peptidbindung selbst zu ziehen. Da die Energie der Rotation um die Peptidbindung bei kleinen Interplanarwinkeln noch nicht

stark ansteigt, sind solche Verdrillungswinkel bei Rückgewinnung der Energie an anderen Stellen des Moleküls leicht möglich. Die gilt natürlich insbesondere für kleinere cyclische Peptide.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* für Sachbeihilfen. Herrn Dr. *H.-J. Veith*, Universität Darmstadt, danken wir für die Anfertigung der FD-Massenspektren, der *Höchst AG* für die Durchführung der Analysen.

### Experimenteller Teil

Abkürzungen: Z = Benzyloxycarbonyl; Boc = *tert*-Butoxycarbonyl; EE = Essigsäure-ethyl-ester; NMM = *N*-Methylmorpholin; DCC = Dicyclohexylcarbodiimid; HOBT = 1-Hydroxybenzotriazol.

Schmelzpunkte: Kofler-Heizbank, nicht korrigiert. – Dünnschichtchromatographie: Fertigfolien von Riedel-de Haën (SI F); Laufmittel A *n*-Butanol/Eisessig/Wasser (3:1:1), B Chloroform/Methanol/Eisessig (95:5:1), C Essigsäure-ethylester/Pyridin/*n*-Butanol/Wasser (20:3:10:5). Die Entwicklung erfolgte nach Chlorierung mit *o*-Toluidin.

Glycin-methylester-hydrochlorid wurde von der Fa. Merck/Darmstadt erworben. Die folgenden Verbindungen wurden nach der Literatur dargestellt: Boc-Phe-OH (3)<sup>30</sup>, Boc-Phe-Gly-OCH<sub>3</sub> (4)<sup>5</sup>, Boc-Phe-Gly-OH (5)<sup>5</sup>, Boc-Leu-OH (8)<sup>30</sup>, Z-Val-OH (9)<sup>31</sup> und H-Ala-OCH<sub>3</sub>·HCl (10)<sup>32</sup>.

Z-Aib-OH (7): 10.3 g (0.1 mol)  $\alpha$ -Aminoisobuttersäure (Fa. Merck) wurden mit 30 ml 4 N NaOH versetzt und in ein Eis/Kochsalz-Bad gestellt. Aus zwei Tropftrichtern wurden langsam und gleichzeitig 30 ml 4 N NaOH und 25 g einer über 90 proz. Chlorameisensäure-benzylester/Toluollösung zugetropft. Es wurde 75 min im Eisbad und 30 min bei Raumtemp. weitergerührt und danach mit 50 ml 1 N NaOH versetzt. Dann wurde einmal mit Ether geschüttelt, die wäßrige Phase mit 4 N HCl auf pH 1 gebracht und das Produkt mit EE mehrmals extrahiert. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> über Nacht getrocknet und zum trockenen, festen Rohprodukt einrotiert und bei Raumtemp./10 Torr über P<sub>4</sub>O<sub>10</sub> getrocknet. Es wurde aus Ether/Petrolether (40–80°C) umkristallisiert. Ausb. 13.0 g (55%), Schmp. 82–84°C (Lit.<sup>33</sup> 87°C). R<sub>F</sub>: I 0.63, II 0.53, III 0.51.

Z-Val-Ala-OCH<sub>3</sub> (11): Die Kupplung erfolgt nach der üblichen DCC-Methode<sup>5</sup> aus Z-Val-OH und H-Ala-OCH<sub>3</sub>·HCl mit Zusatz von HOBT und Triethylamin als Base. Ausb. 57%, Schmp. 155°C. R<sub>F</sub>: I 0.73, II 0.52, III 0.65.

H-Val-Ala-OCH<sub>3</sub>·HBr (12): Die Lösung von 1.01 g (3mmol) 11 in 10 ml 4 N HBr/Eisessig (40 mmol) wurde 2 h gerührt. Dann wurde zum Öl einrotiert, mit Ether mehrmals aufgenommen, einrotiert und i. Vak. zum festen Schaum getrocknet (600 mg Rohausb., 80%). Die Substanz wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Z-Aib-Val-Ala-OCH<sub>3</sub> (13): Die Kupplung erfolgte nach der üblichen DCC-Methode<sup>5</sup> aus Z-Aib-OH und H-Val-Ala-OCH<sub>3</sub>·HBr, mit Zusatz von HOBT und NMM als Base. Ausb. 90%, Schmp. 113–114°C. R<sub>F</sub>: I 0.68, II 0.92, III 0.83.

H-Aib-Val-Ala-OCH<sub>3</sub>·HBr (14): Die Abspaltung der Z-Gruppe erfolgte, wie bei 12 beschrieben. Die Eisessig-Lösung wurde auf 250 ml absol. Ether gegossen, wobei das Produkt als amorpher Stoff ausfiel. Beim Abnutschen schmolz das Produkt bei Berührung mit der Luftfeuchtigkeit und ließ sich nur als Schaum trocknen (90% Rohausb.). Die Substanz wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Boc-Phe-Gly-Aib-Val-Ala-OCH<sub>3</sub> (15): Die bei 0°C hergestellte Lösung von 2.0 g (5.2 mmol) 14 in 50 ml absol. EE wurde mit 0.58 ml (5.2 mmol) NMM, 1.68 g (5.2 mmol) Boc-Phe-Gly-OH in absol. EE, 1.0 g HOBT und 1.0 g [3-(Dimethylamino)propyl]ethylcarbodiimid (gelöst in 10 ml

absol. EE und 0.58 ml NMM) versetzt und 1 h bei 0°C und 3.5 h bei Raumtemp. gerührt. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei anderen DCC-Kupplungen<sup>5)</sup>. Ausb. 1.2 g (40%), Schmp. 185–187°C.  $R_F$ : I 0.69, II 0.47, III 0.51.

*Boc-Phe-Gly-Aib-Val-Ala-N<sub>2</sub>H<sub>3</sub>* (16): 1.9 g (3.2 mmol) **15** wurden in wenig heißem Methanol gelöst. Bei Raumtemp. wurde stündlich mit 2 ml Hydrazinhydrat versetzt. Nach 3 h wurde die Zugabe beendet und bei Raumtemp. 4 Tage weitergerührt. Das Lösungsmittel wurde abgezogen, der Rückstand mit Methanol mehrfach aufgenommen, das Solvens bis zum Entfernen des Hydrazins abrotiert und der Rückstand aus Methanol/Ether umkristallisiert. Ausb. 1.67 g (87%), Schmp. 144°C.  $R_F$ : I 0.54, II 0.05, III 0.20.

*cyclo(-Phe-Gly-Aib-Val-Ala-)* (1): Die Lösung von 1.51 g (2.5 mmol) **16** in 50 ml 1 N HCl/Eisessig wurde 2 h gerührt, anschließend mit Methanol bis zum Entfernen der Säure mehrmals einrotiert und der Rückstand bei Raumtemp./10 Torr über P<sub>4</sub>O<sub>10</sub> getrocknet. Das Produkt wurde in 36 ml absol. DMF gelöst und die Lösung bei –10°C mit 1 ml (12 mmol) konz. Salzsäure und 2 ml 14proz. Natriumnitrit-Lösung versetzt. Nach 30 min wurde mit 2.51 DMF ( $c = 10^{-3}$  mol/l) verdünnt und bei 0°C langsam mit 1.89 ml (17 mmol) NMM neutralisiert. Nach 6 Tagen Rühren bei 4°C wurde das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand bei 10 Torr/40°C über P<sub>4</sub>O<sub>10</sub> getrocknet, mit heißem Wasser digeriert, dann in 500 ml siedendem Aceton gelöst und in der Kälte mit Ether ausgefällt. Ausb. 430 mg (38%), Schmp. 337°C (Zers.).  $R_F$ : I 0.54, II 0.04, III 0.63.

C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> (459.5) Ber. C 60.11 H 7.24 N 15.24 Gef. C 59.9 H 7.0 N 14.8

Das Vorhandensein von Dimeren wurde mit einem FD-Massenspektrum (M<sup>+</sup>-Peak bei  $m/e = 459$ ) ausgeschlossen und damit auch die Molmasse bestätigt. <sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO): siehe Tab. 1.

*Boc-Phe-Gly-N<sub>2</sub>H<sub>3</sub>* (6): Die Lösung von 3.1 g (9 mmol) **4** in 100 ml absol. Methanol wurde mit 9 ml Hydrazinhydrat versetzt und 16 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Abziehen des Lösungsmittels wurde aus Methanol/Ether umkristallisiert. Ausb. 2.7 g (87%), Schmp. 129–130°C.  $R_F$ : I 0.54, II 0.20, III 0.67.

*H-Val-Ala-OCH<sub>3</sub> · HCl* (17): 8.41 g (25 mmol) **11** in 200 ml absol. Methanol wurden nach Zugabe von 1.25 g 5% Pd/Aktivkohle 30 h durch langsames Durchleiten von Wasserstoff hydriert. Der Verbrauch von Edukt wurde auf Dünnschichtplatten kontrolliert. Die Lösung wurde filtriert, mit 10 ml 4 N HCl in Dioxan versetzt und zum festen Schaum einrotiert (Trockengewicht 4.5 g, 75% Rohausb.).

*Boc-Leu-Val-Ala-OCH<sub>3</sub>* (18): Die Kupplung erfolgte nach der üblichen DCC-Methode<sup>5)</sup> aus Boc-Leu-OH und **17**, mit Zusatz von HOBt und NMM als Base. Rohausb. 7.4 g (95%). Das Produkt kristallisierte aus keinem Lösungsmittel bzw. Gemisch, sondern fiel entweder nicht aus oder gelierte (Methanol/Ether, EE/Petrolether, usw.).

*H-Leu-Val-Ala-OCH<sub>3</sub> · HCl* (19): Die Lösung von 7.4 g (18 mmol) **18** in 300 ml 2 N HCl/Dioxan wurde 2 h bei Raumtemp. gerührt. Dann wurde einrotiert, mit Methanol mehrfach aufgenommen und bis zur HCl-Freiheit abrotiert. Das Produkt wurde aus Methanol/Ether umkristallisiert. Ausb. 5.5 g (88%), Schmp. 208°C.  $R_F$ : I 0.38, II 0.30, III 0.54.

*Boc-Phe-Gly-Leu-Val-Ala-OCH<sub>3</sub>* (20): Azid-Kupplung nach Medzihradsky<sup>34)</sup>. 4.73 g (14 mmol) **6** in 75 ml absol. DMF wurden bei –20°C mit 7 ml konz. Salzsäure versetzt. Bei –15°C wurden 10.4 ml einer 14proz. Natriumnitrit-Lösung zugetropft und 25 min bei –25°C weiter gerührt. Die Temperatur stieg dann auf 0°C, und eine kalte Lösung von 4.93 g (14 mmol) **19** in 75 ml DMF und 1.55 ml NMM wurde zugetropft. Es wurde 5 Tage bei 4°C gerührt, dann auf die Hälfte des Volumens eingengt und auf 1.51 0°C kalte 1proz. Essigsäure gegossen. Das ausgefallene Produkt wurde aus Methanol umkristallisiert. Ausb. 4.5 g (52%), Schmp. 215°C.  $R_F$ : I 0.70, II 0.94, III 0.83.

*Boc-Phe-Gly-Leu-Val-Ala-N<sub>2</sub>H<sub>3</sub>* (**21**): 3.1 g (5mmol) **20** in wenig 40°C warmem Methanol wurden mit 5 ml Hydrazinhydrat versetzt. Nach wenigen min erfolgte bereits eine Fällung. Es wurde über Nacht bei Raumtemp. weitergerührt, die Fällung abgenutscht und aus Methanol umkristallisiert. Ausb. 2.8 g (90%), Schmp. 224°C, *R<sub>F</sub>*: I 0.45, II 0.03, III 0.15.

*cyclo(-Phe-Gly-Leu-Val-Ala-)* (**2**): Azid-Cyclisierung aus **21** analog **1**. Die wasserunlöslichen Produkte wurden mit Methanol/Ether und Methanol digeriert, in DMF gelöst und mit Ether umgefällt. Das Rohprodukt wurde an Sephadex LH 20 in DMF gereinigt. Ausb. 15%, Schmp. über 280°C (Zers.). *R<sub>F</sub>*: I 0.63, II 0.81, III 0.81.

C<sub>25</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> (487.6) Ber. C 61.2 H 7.6 N 14.2 Gef. C 61.6 H 7.6 N 14.4

Das Vorhandensein von Dimeren wurde mit einem FD-Massenspektrum (M<sup>+</sup>-Peak bei 487) ausgeschlossen und damit auch die Molmasse bestätigt. <sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO): siehe Tab. 1.

## Literatur

- <sup>1</sup>) V. Mittel.: H. Kessler, G. Krack und P. Krämer, *Peptides* 1978, Eds. J. Z. Siemion und G. Kupryszewski, Wrocław, Polen 1979.
- <sup>2</sup>) M. Molter, Dissertation, Univ. Frankfurt/M. 1975.
- <sup>3</sup>) D. Demel und H. Kessler, *Tetrahedron Lett.* **1976**, 2801.
- <sup>4</sup>) H. Kessler, Y. A. Bara, A. Friedrich, W. Hehlein, P. Kondor und M. Molter, *Peptides* 1977, S. 343, Eds. M. Goodman und J. Meienhofer, John Wiley Verlag, New York 1977.
- <sup>5</sup>) Y. A. Bara, A. Friedrich, W. Hehlein, H. Kessler, P. Kondor, M. Molter und H.-J. Veith, *Chem. Ber.* **111**, 1029 (1978).
- <sup>6</sup>) Y. A. Bara, A. Friedrich, H. Kessler und M. Molter, *Chem. Ber.* **111**, 1045 (1978).
- <sup>7</sup>) Eine zweite  $\gamma$ -Schleife anstelle der  $\beta$ -Schleife konnte in einigen Cyclopentapeptiden nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.
- <sup>8</sup>) <sup>8a</sup>) L. G. Pease und C. Watson, *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 1279 (1978). — <sup>8b</sup>) L. G. Pease und C. Watson, *Peptides* 1977, in Lit.<sup>4)</sup>, S. 346.
- <sup>9</sup>) I. L. Karle, *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 1286 (1978).
- <sup>10</sup>) Vgl. z. B. K. D. Kopple und A. Go, *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 7698 (1977).
- <sup>11</sup>) Yu. A. Ovchinnikov und V. T. Ivanov, *Tetrahedron* **31**, 2177 (1975), und dort zitierte Literatur.
- <sup>12</sup>) N. G. Kumar, N. Izumiya, M. Miyoshi, H. Sugano und D. W. Urry, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 4105 (1975).
- <sup>13</sup>) Voraussetzung dieser Methode ist natürlich, daß sich die Konformation unter dem Lösungsmiteleinfluß nicht ändert.
- <sup>14</sup>) M. Llinas und M. P. Klein, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 4731 (1975).
- <sup>15</sup>) D. W. Urry und M. M. Long, *CRC Crit. Rev. Biochem.* **4**, 1 (1976).
- <sup>16</sup>) K. D. Kopple, A. Go, R. H. Logan jr. und J. Šavrdá, *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 973 (1972).
- <sup>17</sup>) V. F. Bystrov, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **10**, 41 (1976).
- <sup>18</sup>) IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, *J. Mol. Biol.* **52**, 1 (1970).
- <sup>19</sup>) A. DeMarco, M. Llinas und K. Wütrich, *Biopolymers* **17**, 673 (1978).
- <sup>20</sup>) M. T. Cung, M. Marraud und J. Néel, *Macromolecules* **7**, 606 (1974).
- <sup>21</sup>) C. M. Venkatachalam, *Biopolymers* **6**, 1425 (1968).
- <sup>22</sup>) J. A. Smith und L. G. Pease, *CRC Crit. Rev. in Biochem.* im Druck (1979)
- <sup>23</sup>) J. P. Meraldi, R. Schwyzer, A. Tun-Kyi und K. Wütrich, *Helv. Chim. Acta* **55**, 186 (1972).
- <sup>24</sup>) J. L. Crawford, W. N. Lipscomb und C. G. Schellmann, *Rev. Nat. Acad. Sci. USA* **70**, 538 (1973).
- <sup>25</sup>) P. Y. Chou und G. D. Fasman, *Biochemistry* **13**, 222 (1974).
- <sup>26</sup>) P. Y. Chou, A. J. Adler und G. D. Fasman, *J. Mol. Biol.* **96**, 29 (1975).
- <sup>27</sup>) M. Branik und H. Kessler, *Chem. Ber.* **108**, 2176 (1975).
- <sup>28</sup>) J. L. Flippen und I. L. Karle, *Biopolymers* **15**, 1081 (1976).
- <sup>29</sup>) T. J. Petcher, H. P. Weber und A. Ruegger, *Helv. Chim. Acta* **59**, 1480 (1976).
- <sup>30</sup>) E. Schnabel, *Liebigs Ann. Chem.* **702**, 188 (1967).
- <sup>31</sup>) E. Schröder, *Liebigs Ann. Chem.* **692**, 241 (1966).
- <sup>32</sup>) G. R. Petit, *Synthetic Peptides*, van Nostrand Reinhold Co., New York, N. Y. 1970.
- <sup>33</sup>) G. Faust und H. Lange, *J. Prakt. Chem.* **11**, 153 (1960).
- <sup>34</sup>) Y. S. Klausner und M. Bodánszky, *Synthesis* **1974**, 549.