

Peptidkonformationen, 27¹⁾

***cyclo*-[L-Pro-(Bzl)Gly-D-Pro].**

Synthese und Konformation im Kristall und in Lösung

Horst Kessler *^a, Wolfgang Bermel^a, Gerhard Krack^a, Jan Willem Bats^b,
Hartmut Fuess^b und William E. Hull^c

Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt^a,
Niederurseler Hang, D-6000 Frankfurt/Main 50,

Institut für Kristallographie und Mineralogie der Universität Frankfurt^b,
Senckenberganlage 30, D-6000 Frankfurt/Main 1, und

Bruker Analytische Meßtechnik GmbH^c,
Silberstreifen, D-7512 Rheinstetten-Fo

Eingegangen am 24. Januar 1983

270-, 300- und 500-MHz-¹H- sowie 67.89-MHz-¹³C-NMR-Spektren von *cyclo*[L-Pro-(Bzl)Gly-D-Pro] (1) (Bzl = *N*-Benzyl) wurden mit Hilfe ein- und zweidimensionaler Techniken analysiert. Ein 300-MHz-spin-echo-korreliertes ¹H-NMR-Spektrum (SECSY) lieferte die Kopplungsinformation. Für Zuordnungen wichtige sehr kleine Weitbereichskopplungen wurden durch eine spezielle Modifikation der Jeener-Spektroskopie erkannt. Dieses Spektrum wird mit dem konventionellen Jeener-Spektrum verglichen. Die Verknüpfung von Kohlenstoff- und Wasserstoff-Atomen ergab sich aus einem 2D-verschiebungskorrelierten ¹H-¹³C-NMR-Spektrum. Die Kopplungskonstanten und chemischen Verschiebungen der Protonen wurden durch Simulation der beiden 7-Spin-Systeme der Prolinringe erhalten. Die Interpretation der NMR-Daten ergibt ein schnelles Gleichgewicht zweier Bootkonformationen, von denen jedoch eine deutlich überwiegt (80%). Diese Konformation wurde durch Röntgenstrukturanalyse auch im Kristall nachgewiesen.

Peptide Conformations, 27¹⁾

***cyclo*-[L-Pro-(Bzl)Gly-D-Pro]. Synthesis and Conformation in the Crystal and in Solution**

270, 300, and 500 MHz ¹H and 67.89 MHz ¹³C NMR spectra of *cyclo*[L-Pro-(Bzl)Gly-D-Pro] (1) (Bzl = *N*-Benzyl) were analyzed with the aid of two-dimensional techniques. A 300 MHz spin echo correlated ¹H NMR spectrum (SECSY) yielded the information about coupling pattern. Small long range couplings, which are important for signal assignments, were detected by a special modification of the Jeener spectroscopy. This spectrum is compared with the conventional Jeener spectrum. Carbon- and proton-connectivities result from a 2D-¹H-¹³C shift correlation. Coupling constants and chemical shift values in the proline rings were obtained by iterative simulation of both seven-spin systems. The interpretation of the NMR parameters yields a rapid equilibrium between two boat conformations; one of them is strongly preferred (80%). This conformation was also found in the X-ray crystal structure.

Das Peptidgerüst eines cyclischen Tripeptids kann eine starre Kronen- oder eine flexible Bootkonformation einnehmen²⁾. Diese beiden Konformationen sind durch eine Barriere von ca. 20 kcal mol⁻¹ voneinander getrennt³⁾. Die „Krone“ kann in zwei zueinander enantiomeren Formen existieren, während die Bootform ein durch Pseudorotation schnell äquilibrierendes Gleichgewicht von 6 Konformationen darstellt. Welche der Konformationen eingenommen werden kann, wird durch die Chiralität der beteiligten Aminosäuren bestimmt²⁾. Tab. 1 zeigt die möglichen Konformationen cyclischer Tripeptide in Abhängigkeit von der Chiralität der Aminosäuren sowie bisher bekannte Beispiele.

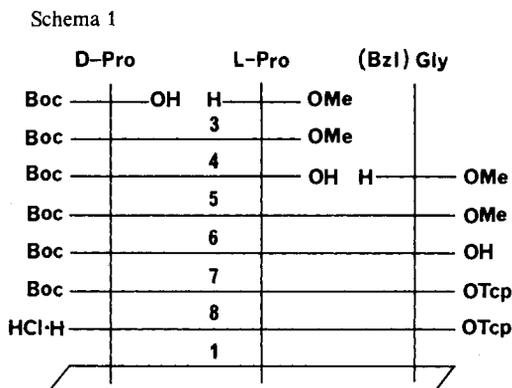
Tab. 1. Mögliche Konformationen cyclischer Tripeptide in Abhängigkeit von der Chiralität (*R,S*) der darin enthaltenen Aminosäuren^{a)}

<i>SSS/RRR</i> 1 Krone	<i>SSO/RR0</i> ^{b)} 1 Krone + 1 Boot	<i>S00/R00</i> 1 Krone + 3 Boote	<i>000</i> 2 Kronen + 6 Boote
<i>c</i> [Pro ₃] ⁵⁻¹⁰⁾	<i>c</i> [Pro ₂ -(Bzl)Gly] ^{4,11-13)}	<i>c</i> [Pro-(Bzl)Gly ₂] ^{4,11-13,17)}	<i>c</i> [(Bzl)Gly ₃] ^{4,11,12)}
<i>c</i> [Pro ₂ -Hyp] ⁶⁻⁸⁾	<i>c</i> [Pro ₂ -(NB)Gly] ¹⁴⁾ <i>c</i> [Pro ₂ -Sar] ^{15,16)}	<i>c</i> [Pro-Sar ₂] ^{15,18)}	<i>c</i> [Sar ₃] ^{3,19)}
<i>SSR/RRS</i> ^{b)} 1 Boot	<i>SR0/RS0</i> 2 Boote		
<i>c</i> [L-Pro ₂ -D-Pro] ^{17,20-26)}	diese Arbeit		

a) Achirale Aminosäuren sind mit 0 bezeichnet. – b) Weitere Cyclotripeptide mit zwei oder drei chiralen Aminosäuren wurden synthetisiert²⁷⁾. Konformationsangaben liegen nicht vor.

Wie man der Tabelle entnimmt, sind fast alle denkbaren Kombinationen experimentell verifiziert; es fehlte bisher lediglich ein cyclisches Tripeptid aus zwei chiralen Aminosäuren unterschiedlicher Chiralität und einer achiralen Aminosäure. Diese Lücke soll durch die hier beschriebene Verbindung *cyclo*-[L-Pro-(Bzl)Gly-D-Pro] (**1**) (Bzl = *N*-Benzyl) geschlossen werden.

Die Synthese der Titelverbindung **1** ist in Schema 1 dargestellt.



Die Peptidkupplungen erfolgten nach der DCC-Methode; die Cyclisierung wurde unter Beachtung des Verdünnungsprinzips am aktivierten Ester in Pyridin bei 90°C durchgeführt.

Röntgenstrukturanalyse

Farblose Kristalle geeigneter Größe wurden durch Umkristallisieren aus Benzol erhalten. Die kristallographische Elementarzelle enthält zwei unabhängige Moleküle, die durch ein Wassermolekül über Wasserstoffbrücken verbunden sind. Die $O \cdots O$ Abstände von 284.4(3) und 283.9(4) pm bei $O-H \cdots O$ -Winkeln von 178 und 168° charakterisieren diese Bindung als schwache Wasserstoffbrücke ($O-H$ -Bindungslängen 104 und 110 pm; $H \cdots O$ -Abstände 180 und 176 pm). Beide Moleküle nehmen die Bootkonformation ein (Abb. 1). Tab. 2 gibt die Positions- und Temperaturparameter aller Atome außer Wasserstoff.

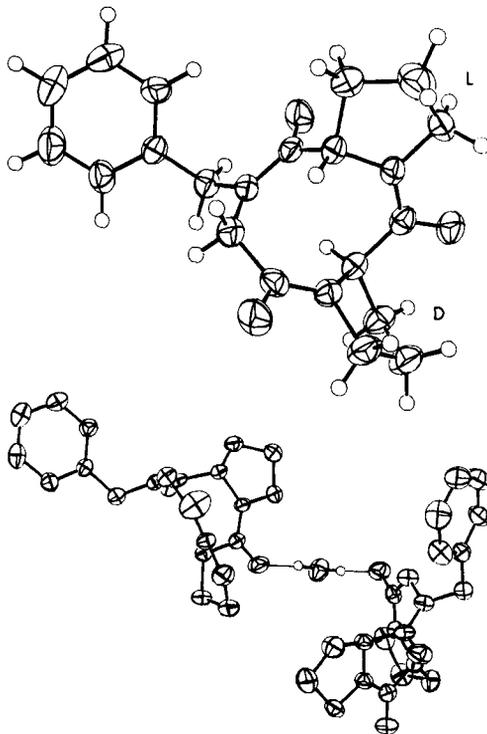


Abb. 1. Kristallstruktur von *cyclo*-[L-Pro-(Bzl)Gly-D-Pro] (1). Oben: Stereoskopische Ansicht von Molekül II. Unten: Ansicht zur Verdeutlichung der Packung im Kristall. Die thermischen Ellipsoide entsprechen den Oberflächen mit 50% Wahrscheinlichkeit

Neben den beiden Wasserstoffbrücken wurden keine intermolekularen Kontakte gefunden, die kürzer sind als die Summe der van der Waals-Radien der beteiligten Atome. Die Bindungsabstände und -winkel der beiden unabhängigen Moleküle sind sehr ähnlich (Abb. 2 und 3).

Die Bindungswinkel im 9gliedrigen Ring sind generell größer als in *cyclo*-[L-Pro₂-(Bzl)Gly], das in der Kronenkonformation vorliegt¹³. Dies gilt vor allem für die C_α-Atome der *N*-Benzylglycin-Gruppe (C12 und C31). Offensichtlich ist die Bootform stärker gespannt als die „Krone“.

Tab. 2. Parameter der Atomlagen und Temperaturfaktoren von *cyclo*-[L-Pro-(Bzl)Gly-D-Pro] (I)

Atom	x	y	z	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₁₂	U ₁₃	U ₂₃
O(1)	0.5094(3)	0.2525(2)	0.0454(1)	0.049(1)	0.045(1)	0.051(1)	-0.009(1)	0.005(1)	-0.007(1)
O(2)	0.1565(3)	0.4353(3)	0.1664(1)	0.042(1)	0.070(2)	0.097(2)	0.017(1)	0.030(1)	0.034(2)
O(3)	0.7396(3)	0.6992(3)	0.1773(1)	0.061(2)	0.075(2)	0.099(2)	-0.017(2)	0.001(1)	-0.040(2)
N(1)	0.4000(3)	0.3327(3)	0.1707(1)	0.029(1)	0.038(2)	0.049(2)	0.007(1)	0.011(1)	0.010(1)
N(2)	0.4891(3)	0.6190(3)	0.1441(1)	0.038(2)	0.036(1)	0.045(2)	0.004(1)	0.003(1)	-0.008(1)
N(3)	0.6736(3)	0.4256(3)	0.0693(1)	0.027(1)	0.038(2)	0.042(2)	-0.002(1)	0.008(1)	-0.001(1)
C(1)	0.5842(3)	0.3234(3)	0.0851(1)	0.028(1)	0.032(2)	0.045(2)	0.009(1)	0.006(1)	-0.002(2)
C(2)	0.5688(4)	0.3031(3)	0.1548(1)	0.027(2)	0.043(2)	0.041(2)	0.003(1)	0.005(1)	0.001(2)
C(3)	0.5886(4)	0.1614(3)	0.1742(2)	0.042(2)	0.046(2)	0.061(2)	0.013(2)	0.012(2)	0.012(2)
C(4)	0.4956(5)	0.1532(4)	0.2313(2)	0.061(2)	0.055(2)	0.058(2)	0.014(2)	0.015(2)	0.017(2)
C(5)	0.3439(4)	0.2361(4)	0.2142(2)	0.051(2)	0.049(2)	0.048(2)	0.005(2)	0.013(2)	0.012(2)
C(6)	0.2991(4)	0.4308(3)	0.1505(1)	0.033(2)	0.045(2)	0.046(2)	0.005(1)	0.010(1)	0.004(2)
C(7)	0.3583(4)	0.5377(3)	0.1090(1)	0.034(2)	0.034(2)	0.037(2)	0.003(1)	0.004(1)	-0.003(2)
C(8)	0.2219(4)	0.6349(3)	0.0896(2)	0.044(2)	0.041(2)	0.054(2)	0.013(2)	0.004(2)	0.004(2)
C(9)	0.2268(5)	0.7235(4)	0.1462(2)	0.064(3)	0.053(2)	0.057(2)	0.024(2)	0.011(2)	0.006(2)
C(10)	0.4107(5)	0.7352(4)	0.1690(2)	0.073(3)	0.047(2)	0.055(2)	0.015(2)	0.008(2)	-0.013(2)
C(11)	0.6570(4)	0.6163(3)	0.1471(1)	0.044(2)	0.042(2)	0.050(2)	-0.009(2)	0.002(1)	-0.005(2)
C(12)	0.7560(4)	0.5173(3)	0.1147(1)	0.034(2)	0.040(2)	0.052(2)	-0.010(2)	0.004(1)	-0.008(2)
C(13)	0.6708(4)	0.4625(4)	0.0028(1)	0.036(2)	0.052(2)	0.047(2)	0.001(2)	0.006(1)	0.005(2)
C(14)	0.8426(4)	0.4674(3)	-0.0196(1)	0.032(2)	0.036(2)	0.036(2)	-0.004(2)	0.006(1)	-0.005(2)
C(15)	0.9633(4)	0.3781(3)	0.0003(2)	0.037(2)	0.041(2)	0.048(2)	-0.001(2)	0.008(2)	0.002(2)
C(16)	1.1147(4)	0.3790(4)	-0.0246(2)	0.038(2)	0.056(2)	0.061(2)	0.001(2)	0.005(2)	-0.007(2)
C(17)	1.1459(5)	0.4690(4)	-0.0688(2)	0.052(2)	0.065(3)	0.061(2)	-0.008(2)	0.021(2)	-0.005(2)
C(18)	1.0267(5)	0.5602(4)	-0.0882(2)	0.056(2)	0.061(2)	0.052(2)	-0.014(2)	0.019(2)	0.005(2)
C(19)	0.8741(4)	0.5591(3)	-0.0633(2)	0.047(2)	0.043(2)	0.040(2)	0.000(2)	0.008(2)	0.004(2)
O(4)	0.9773(3)	0.4171(2)	0.5587(1)	0.071(2)	0.039(1)	0.063(1)	-0.011(1)	-0.009(1)	0.008(1)
O(5)	1.4436(3)	0.3371(2)	0.6780(1)	0.037(1)	0.056(1)	0.068(1)	-0.010(1)	-0.004(1)	-0.002(1)
O(6)	1.0201(3)	-0.908(2)	0.6414(1)	0.068(2)	0.041(1)	0.062(2)	-0.012(1)	0.000(1)	0.012(1)
N(4)	1.1670(3)	0.3348(3)	0.6782(1)	0.031(1)	0.044(2)	0.042(1)	-0.003(1)	-0.000(1)	-0.005(1)
N(5)	1.2135(3)	0.0607(3)	0.6355(1)	0.043(2)	0.038(2)	0.042(1)	0.001(1)	-0.001(1)	0.005(1)
N(6)	0.9402(3)	0.2032(3)	0.5489(1)	0.034(1)	0.036(2)	0.046(2)	-0.002(1)	-0.004(1)	-0.001(1)
C(20)	0.9684(3)	0.3103(3)	0.5833(1)	0.026(2)	0.040(2)	0.052(2)	-0.000(1)	-0.002(1)	0.001(2)
C(21)	0.9947(4)	0.2988(3)	0.6549(1)	0.029(2)	0.044(2)	0.046(2)	-0.003(1)	0.001(1)	-0.004(2)
C(22)	0.8906(4)	0.3973(4)	0.6866(2)	0.039(2)	0.065(2)	0.070(2)	0.005(2)	0.009(2)	-0.013(2)
C(23)	1.0005(5)	0.4369(4)	0.7452(2)	0.071(3)	0.068(3)	0.067(2)	0.000(2)	0.018(2)	-0.19(2)
C(24)	1.1729(4)	0.4381(3)	0.7251(1)	0.056(2)	0.040(2)	0.045(2)	-0.006(2)	0.001(2)	-0.009(2)
C(25)	1.3080(4)	0.2888(3)	0.6586(1)	0.038(2)	0.042(2)	0.041(2)	-0.001(2)	-0.000(1)	0.009(1)
C(26)	1.2992(4)	0.1747(3)	0.6124(1)	0.033(2)	0.047(2)	0.040(2)	0.002(2)	0.003(1)	0.003(2)
C(27)	1.4725(4)	0.1216(4)	0.6074(2)	0.038(2)	0.065(2)	0.057(2)	0.013(2)	0.011(2)	0.002(2)
C(28)	1.5073(4)	0.0355(4)	0.6653(2)	0.046(2)	0.068(3)	0.068(2)	0.019(2)	-0.002(2)	0.003(2)
C(29)	1.3375(4)	-0.0194(4)	0.6747(2)	0.059(2)	0.057(2)	0.055(2)	0.018(2)	-0.005(2)	0.009(2)
C(30)	1.0603(4)	0.0124(3)	0.6200(1)	0.053(2)	0.038(2)	0.036(2)	0.002(2)	-0.005(1)	-0.004(2)
C(31)	0.9238(4)	0.0748(3)	0.5751(2)	0.040(2)	0.041(2)	0.056(2)	-0.003(2)	-0.001(2)	0.001(2)
C(32)	0.9004(4)	0.2131(3)	0.4796(1)	0.040(2)	0.052(2)	0.041(2)	-0.001(2)	0.005(1)	-0.001(2)
C(33)	0.7145(4)	0.2084(3)	0.4602(1)	0.040(2)	0.049(2)	0.038(2)	-0.000(2)	0.001(1)	0.006(2)
C(34)	0.6084(5)	0.3031(4)	0.4792(2)	0.056(2)	0.046(2)	0.056(2)	0.013(2)	-0.003(2)	-0.001(2)
C(35)	0.4379(5)	0.2966(4)	0.4609(2)	0.050(2)	0.075(3)	0.069(3)	0.025(2)	0.005(2)	0.009(2)
C(36)	0.3724(5)	0.1971(5)	0.4238(2)	0.040(2)	0.103(4)	0.066(3)	-0.008(3)	-0.002(2)	0.002(3)
C(37)	0.4755(5)	0.1025(5)	0.4050(2)	0.058(3)	0.092(3)	0.065(3)	-0.012(3)	-0.004(2)	-0.021(3)
C(38)	0.6453(5)	0.1078(4)	0.4234(2)	0.057(2)	0.061(2)	0.047(2)	-0.006(2)	-0.004(2)	-0.011(2)
O(7)	0.0623(3)	0.7949(3)	0.7635(1)	0.051(1)	0.088(2)	0.069(2)	0.010(1)	0.011(1)	0.013(2)

Tab. 3. Torsionswinkel im Peptidring cyclischer Tripeptide mit Bootkonformation (Standardabweichung 0.5–0.7° für *cyclo*-[L-Pro-(Bzl)Gly-D-Pro] (I) und *cyclo*-[L-Pro₂-(NB)Gly]¹⁴⁾ und 1–2° für *cyclo*-[L-Pro₂-D-Pro] (2)¹⁷⁾)

	c[L-Pro-(Bzl)Gly-D-Pro] 1		c[L-Pro ₂ -D-Pro] 2		c[L-Pro ₂ -(NB)Gly]			
	Mol. I	Mol. II	Mol. I	Mol. II				
φ	L-Pro	-41.6	-51.9	L-Pro	-45	-47	L-Pro	-50.9
	(Bzl)Gly	-73.8	-58.3	L-Pro	-52	-50	L-Pro	-53.1
	D-Pro	97.4	103.4	D-Pro	104	108	(NB)Gly	107.8
ψ		108.0	113.6		107	109		110.4
		9.0	-6.9		-21	-20		-14.2
		68.5	-55.2		-56	-48		-61.4
ω		-5.0	-7.9		-12	-17		-6.7
		0.0	3.3		6	7		2.4
		-3.1	-5.5		3	-8		-2.9
Θ'		137.8	124.3		131	120		128.7
		96.8 ^{a)}	129.8 ^{a)}		137	133		124.2
		-95.5	-87.7		-77	-89		-73.5
φ: C'–C _α –N–C';		ψ: N–C _α –C'–N';		ω: C'–C'–N–C _α ;		Θ': C _δ –N–C _α –C'		

a) Θ': Bzl-C–N–C_α–C',

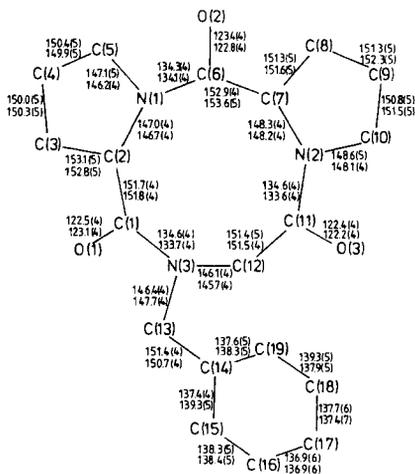


Abb. 2. Bindungslängen (pm). Der obere Wert gilt für Molekül I, der untere für Molekül II. Das Numerierungsschema entspricht dem für Molekül I

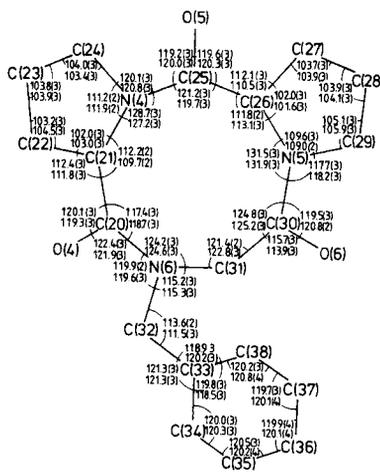


Abb. 3. Bindungswinkel ($^{\circ}$). Der obere Wert gilt für Molekül I, der untere für Molekül II. Das Numerierungsschema entspricht dem für Molekül II

Die Torsionswinkel im Tripeptidring werden in Tab. 3 mit denen anderer Bootkonformationen verglichen. Trotz der Übereinstimmung zwischen den beiden Molekülen der Elementarzelle bei den Bindungsabständen und -winkeln fallen Unterschiede in den Torsionswinkeln auf, die bei der Benzylglycinegruppe am stärksten ausgeprägt sind und bis zu 30° betragen. Dies könnte auf Packungseffekte zurückgeführt werden, die die flexible (Bzl)Gly-Gruppe stärker beeinflussen als die Prolinreste. Vergleicht man damit die Unterschiede in den Bindungswinkeln bei den beiden Molekülen von *cyclo*-[L-Pro₂-D-Pro] (Tab. 3), so fällt auf, daß sie viel geringer als in der Titelverbindung sind. Der Ersatz des (Bzl)Gly-Restes in 1 durch ein weiteres Prolin bewirkt offenbar eine Versteifung des gesamten Moleküls.

Die Planarität der Peptidbindung wird durch den Torsionswinkel ω charakterisiert, der für eine planare *cis*-Peptidgruppe null betragen sollte. Kleine, aber signifikante Abweichungen von diesem Wert werden in fünf der sechs Peptidbindungen beobachtet. Die Nichtplanarität der Peptidgruppe läßt sich durch die Abweichung des N-Atoms von der Ebene, die durch seine drei Nachbaratome gebildet wird, beschreiben: 0.5(6), 8.8(6), 6.8(6), 2.8(6), 7.5(6) und 5.8(6) pm für N1 bis N6. Die Bindungsumgebung der meisten N-Atome weist daher leicht pyramidalen Charakter auf.

NMR-Ergebnisse

Zur Bestimmung der Konformation von 1 in Lösung wurden die 270-, 300- und 500-MHz-¹H- und die 67.89-MHz-¹³C-NMR-Spektren untersucht. Da das 500-MHz-¹H-NMR-Spektrum in C₆D₆ mit Ausnahme der δ -Protonen von Pro¹ (Zuordnung s. u.) keine Signalüberlappung mehr zeigte, wurde dieses zur Analyse der Spinsysteme herangezogen (Abb. 4). Unter Vernachlässigung der Weitbereichskopplungen über die

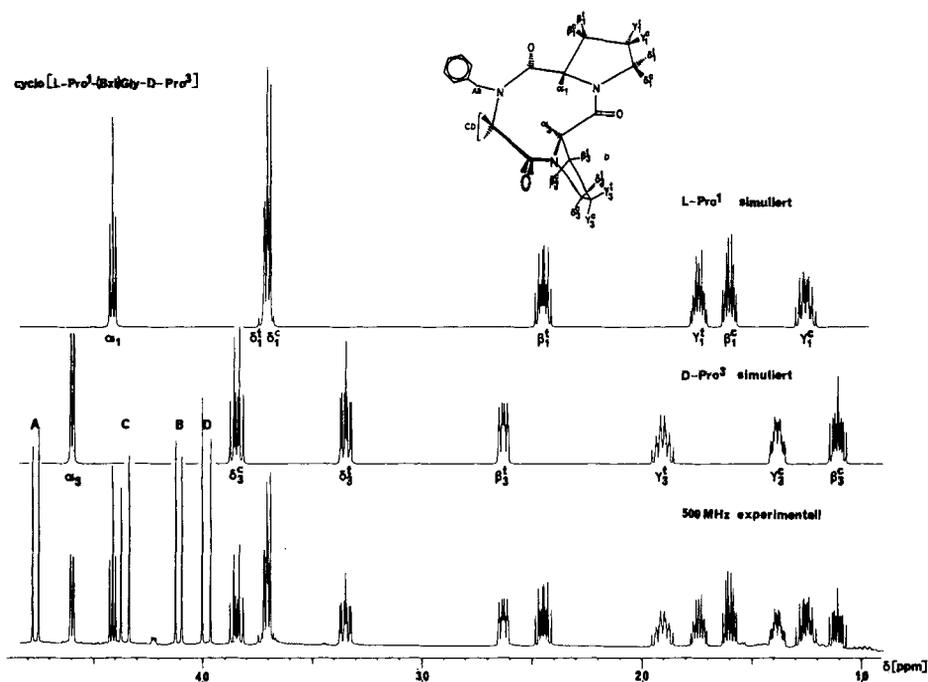


Abb. 4. 500-MHz-¹H-NMR-Spektrum von 1 in C₆D₆ (unten) und die simulierten Spektren der beiden 7-Spin-Prolinsysteme (oben)

Amidbindung und der benzylichen Protonen mit den aromatischen Protonen kann das ¹H-NMR-Spinsystem in erster Näherung in zwei 7-Spin-Systeme und ein 4-Spin-System separiert werden. Die Zuordnung der Signale zu den Spinsystemen innerhalb der Aminosäuren erfolgte durch zweidimensionale Spin-Echo-korrelierte Spektroskopie (SECSY)²⁸ (Abb. 5). Die Auswertung dieses Spektrums, das durch zahlreiche, z. T. kleine Kopplungen charakterisiert ist, erfolgt vorteilhaft durch Einzeichnen von parallelen Linien, die durch die Mutterpeaks ($\omega_1 = 0$) und sämtliche ihrer Kreuzpeaks laufen²⁴. Die vicinalen Kopplungen drücken sich durch intensive Kreuzpeaks aus, die dazu benutzt werden, die drei separaten Spinsysteme aufzufinden. Die außerdem deutlich hervortretenden Weitbereichskopplungen zwischen den benzylichen und aromatischen Protonen (a in Abb. 5) dienen zur Unterscheidung der AB-Systeme der α -ständigen (C, D) und der benzylichen (A, B) Protonen des (Bz)Gly-Restes. Die ebenfalls zu beobachtenden long-range-Kopplungen über die Amidbindungen dienen zur sequentiellen Zuordnung. Kopplungen der δ -Protonen des Prolins können nur mit den α -Protonen der in der Sequenz *vorangehenden* Aminosäure auftreten („homo-allylische“ Stellung). Das α -Proton der *folgenden* Aminosäure ist 7 Bindungen entfernt und läßt daher keine skalare Kopplung erkennen. Kreuzpeaks werden beobachtet zwischen α_3 und δ_1 (b in Abb. 5) sowie zwischen einem der beiden Glycin- α -Protonen (C) und δ_2 (c in Abb. 5).

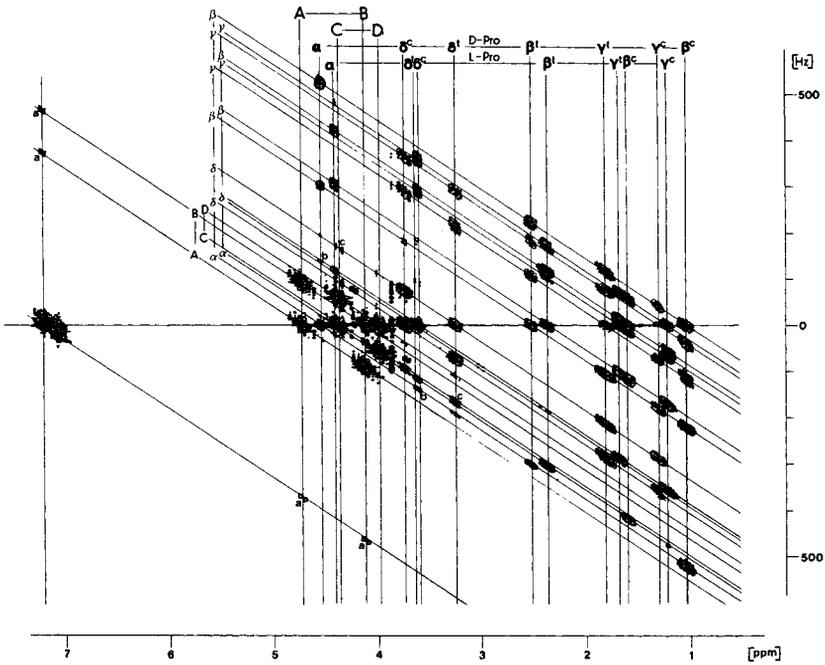


Abb. 5. 300-MHz-2D-Spin-Echo-korreliertes ^1H -NMR-Spektrum (SECSY) von **1** in C_6D_6

Kleine Kopplungen, die im eindimensionalen Spektrum nicht mehr auflösbar sind, werden vorteilhaft in 2D-korrelierten Spektren erkannt. Legt man besonderen Wert auf den Nachweis derselben, so bietet sich eine Variante der Jeener-Spektroskopie an, in der vor und nach dem zweiten 90° -Impuls ein konstanter Delay eingebaut ist²⁸⁾. Da der Magnetisierungstransfer proportional zu $\sin \pi J t_1$ ist, bewirkt die Einschubung des Delays eine Verstärkung der kleinen Kopplungen im Vergleich zu den normalen Kopplungen. Dies ist in Abb. 6 verdeutlicht, in dem ein Ausschnitt des Spektrums von 2.7–7.4 ppm einem normalen Jeener-Spektrum gegenübergestellt ist. In diesem Bereich liegen die interessanten Weitbereichskopplungen über die Amidbindungen und der α, δ -Kopplungen innerhalb eines Prolinsystems. Es wird deutlich, daß die im SECSY-Spektrum erkennbaren Weitbereichskopplungen durch den Delay deutlich verstärkt erscheinen. Darüber hinaus findet man jedoch noch eine ganze Reihe weiterer Kreuzpeaks für kleine Kopplungen. Es sind vor allem die Kopplungen zwischen den Methylengruppen und die für die Sequenzierung wichtigen Kopplungen der α -Protonen mit den δ -Protonen der vorangehenden Aminosäure. Wie bereits in den *cyclo*-Triprolinen gefunden^{10,24)}, koppelt das α -Proton des Prolins auch in nachweisbarem Ausmaß mit δ -Protonen innerhalb des gleichen Ringes ($\alpha_3 \delta_3^1$, $\alpha_1 \delta_1$). In Tab. 4 sind die zu beobachtenden Weitbereichskopplungen aufgelistet.

Während die Weitbereichskopplungen innerhalb der Prolinringe in die Simulation der 7-Spin-Systeme miteinbezogen wurden, haben wir die Kopplungen über die Amidbindungen nicht berücksichtigt. Im Unterschied zur Simulation des Spektrums von

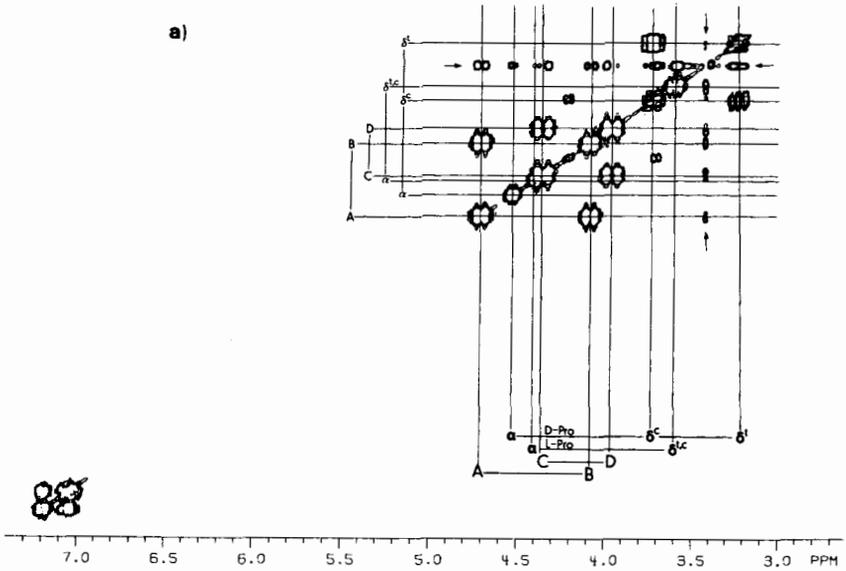


Abb. 6a. Ausschnitt aus dem Jeener-Spektrum (2.7–7.4 ppm) von **1** in C_6D_6 . Artefakte durch die Senderfrequenz und axiale Peaks sind durch Pfeile gekennzeichnet

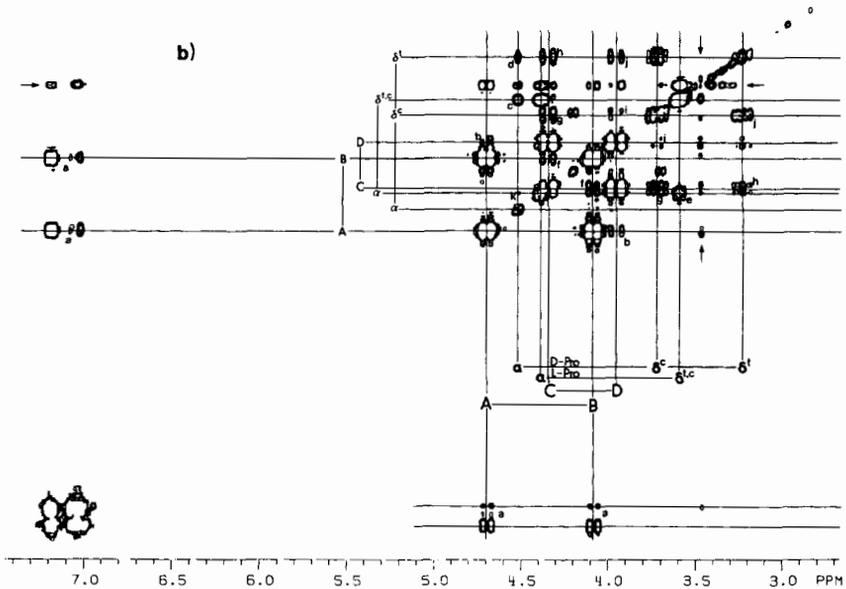


Abb. 6b. Gleicher Ausschnitt wie 6a, jedoch mit modifizierter Impulssequenz (s. Text). Weitbereichs-Kreuzpeaks sind mit Buchstaben indiziert (s. Tab. 4). Artefakte sind ebenfalls gekennzeichnet

Tab. 4. Die im modifizierten Jeener-Spektrum erkennbaren Weitbereichskopplungen im α, δ -Bereich

in Abb. 6	Kopplung zwischen	in Abb. 6	Kopplung zwischen
a	A,B-Aromat	g	C- δ_3^c
b	A-D	h	C- δ_3^t
c	α_3 - δ_1^{*1})	i	D- δ_3^c
d	α_3 - δ_3^{*1})	j	D- δ_3^t
e	α_1 - δ_1	k	α_3 - α_1^{*1})
f	B-C		

*) In Abb. 6 ist nur jeweils ein Kreuzpeak zu erkennen. Bei einem entsprechenden Experiment mit einem Delay von 0.1 s sind jedoch auch für diese Fälle beide Kreuzpeaks vorhanden.

Tab. 5a. ^1H -chemische Verschiebung von **1** in C_6D_6 (in ppm) bei Raumtemperatur durch Simulation des 500-MHz- ^1H -NMR-Spektrums

	L-Pro ¹	D-Pro ³		(Bzl)Gly ²
α	4.415	4.599	A	4.766
β^c	1.602	1.110	B	4.110
β^t	2.450	2.631	C	4.356
γ^c	1.253	1.383	D	3.986
γ^t	1.741	1.906		
δ^c	3.701	3.847		
δ^t	3.711	3.349		

Tab. 5b. ^1H -NMR-Kopplungskonstanten für **1** durch Simulation des 500-MHz-Spektrums

	L-Pro ¹	D-Pro ³		(Bzl)Gly ²
$^3J_{\alpha\beta^c}$	6.88	6.75	AB	14.08
$^3J_{\alpha\beta^t}$	6.95	1.55	CD	18.62
$^4J_{\alpha\gamma^c}$	-0.01	0.30		
$^4J_{\delta\gamma^t}$	0.50	0.50	RMS ^{a)}	0.002
$^5J_{\alpha\delta^c}$	0.50	0.10		
$^5J_{\alpha\delta^t}$	0.50	0.45		
$^2J_{\beta^c\beta^t}$	-12.22	-12.04		
$^3J_{\beta^c\gamma^c}$	7.20	7.89		
$^3J_{\beta^c\gamma^t}$	4.69	11.03		
$^4J_{\beta^c\delta^c}$	0.26	0.01		
$^4J_{\beta^c\delta^t}$	0.17	0.20		
$^3J_{\beta^t\gamma^c}$	9.39	2.27		
$^3J_{\beta^t\gamma^t}$	7.08	7.23		
$^4J_{\beta^t\delta^c}$	0.09	0.39		
$^4J_{\beta^t\delta^t}$	0.01	0.00		
$^2J_{\gamma^c\gamma^t}$	-12.16	-12.57		
$^3J_{\gamma^c\delta^c}$	8.33	8.59		
$^3J_{\gamma^c\delta^t}$	8.21	3.47		
$^3J_{\gamma^t\delta^c}$	3.28	8.80		
$^3J_{\gamma^t\delta^t}$	8.33	9.49		
$^2J_{\delta^c\delta^t}$	-11.63	-12.53		
RMS ^{a)}	0.17	0.18		

a) Mittlere Fehler nach Iteration.

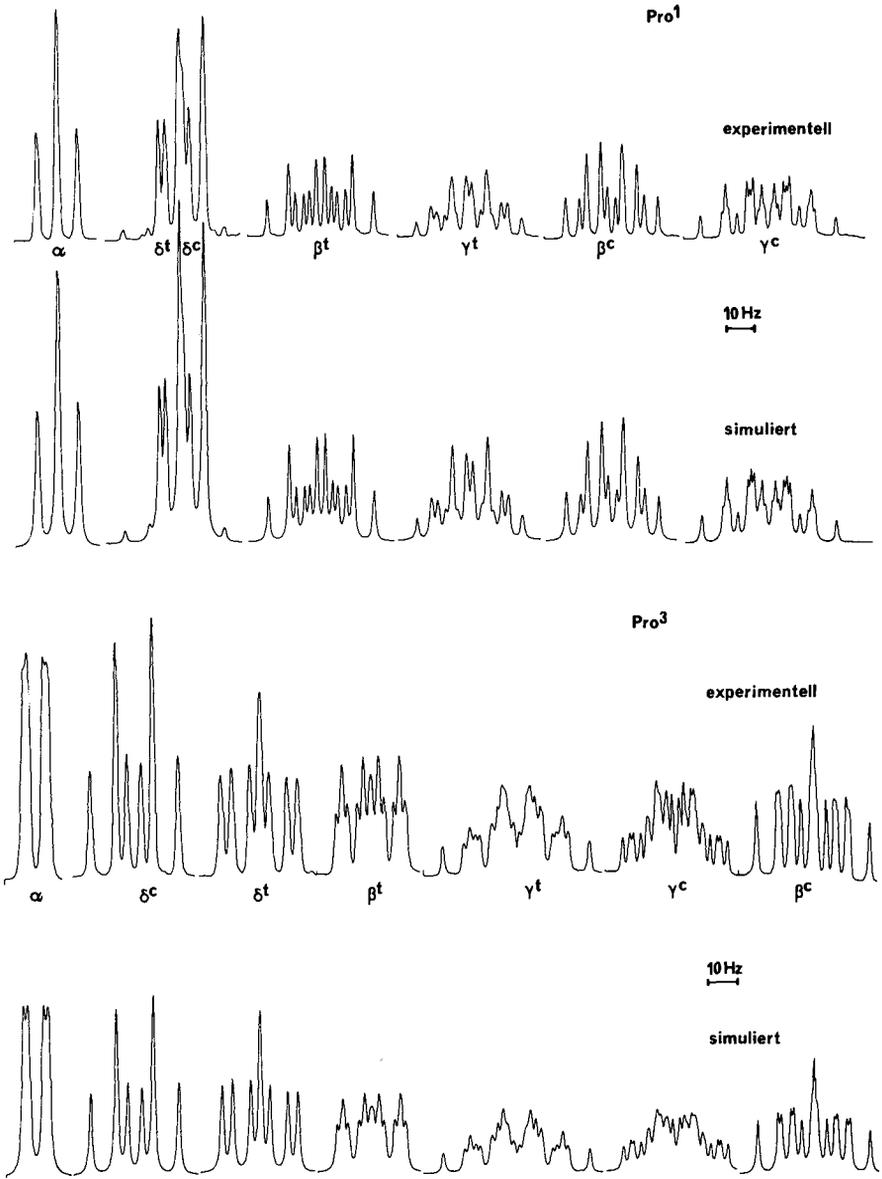


Abb. 7. Simulierte (unten) und experimentelle (oben) 500-MHz- ^1H -NMR-Spektren der beiden Prolinsysteme in **1** in C_6D_6

cyclo-[L-Pro₂-D-Pro], wo wegen starker Signalübertragung die Startparameter der chemischen Verschiebung durch 2D-J-aufgelöste Spektroskopie entnommen werden mußten²⁴⁾, reichte hier schon das 500-MHz-Spektrum aus. Als Ausgangsparameter für eine Berechnung mit dem PANIC-Programm²⁹⁾ dienen die für *cyclo*-[L-Pro₂-D-Pro]

erhaltenen Kopplungskonstanten. Diese Werte wurden zunächst manuell und dann, als der Vergleich des experimentellen und berechneten Spektrums bereits gute Übereinstimmung zeigte, nach Linienzuordnung iterativ optimiert. Die Qualität einer Spektrumsimulation kann man nur an einem gespreizt ausgeschriebenen Spektrum (Abb. 7) erkennen, in dem auch geringfügige Unterschiede deutlich auffallen. Die Übereinstimmung der simulierten mit den experimentellen Spektren ist gut. Lediglich die Signale der α - und δ -Protonen unterscheiden sich in den Linienbreiten, was auf die vernachlässigten Kopplungen über die Amidbindungen zurückgeführt werden kann. Die Zuordnung der Protonen wurde durch die Analogie zu dem Spektrum von *cyclo*-[L-Pro₂-D-Pro] getroffen. Die spektroskopischen Daten sind in Tab. 5 aufgeführt.

Die Zuordnung der ¹³C-NMR-Spektren erfolgte durch 2D-¹H-¹³C-Verschiebungskorrelation²⁸⁾ (Abb. 8). Die in der zweidimensionalen Kontur-Zeichnung auftretenden Peaks zeigen die direkte Verknüpfung der Kohlenstoffatome mit ihren Protonen an³⁰⁾. Da die Zuordnung und Verknüpfung der Protonen über ihre skalare Kopplung zwei-

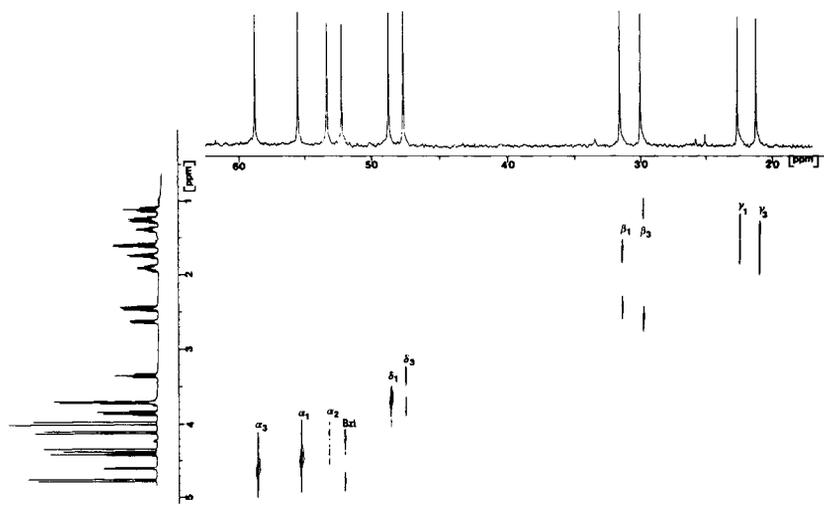


Abb. 8. 67.92-MHz-2D-verschiebungskorreliertes ¹H-¹³C-NMR-Spektrum von **1** in C₆D₆

Tab. 6. ¹³C-NMR-chemische Verschiebung und NT_1 -Werte^{a)} in C₆D₆

	L-Pro ¹		(Bzl)Gly ²		D-Pro ²	
	δ [ppm]	NT_1 [s]	δ [ppm]	NT_1 [s]	δ [ppm]	NT_1 [s]
α	55.51	0.83	53.56	1.19	58.83	0.84
β	31.57	1.39			30.02	1.01
γ	22.65	1.49			21.21	1.10
δ	48.75	1.15			47.66	1.30
Benzyl			52.21	1.20		

^{a)} N = Zahl der direkt an den Kohlenstoff gebundenen H-Atome, T_1 = Spin-Gitter-Relaxationszeit.

felsfrei feststeht (s. o.), wird auf diesem Wege die Verknüpfung der C-Atome erhalten. Zur Untersuchung der molekularen Beweglichkeit in Lösung wurden die Relaxationszeiten T_1 nach der Inversion-Recovery-Methode nach *Freeman* und *Hill* bestimmt³¹⁾. Diese Daten sind zusammen mit den Werten der chemischen Verschiebungen in Tab. 6 aufgeführt. Zur Sicherung des dipolaren Relaxationsmechanismus wurden die NOE-Effekte durch Gated-Overhauser-Messung bestimmt. Sie lagen für sämtliche C-Atome innerhalb des Fehlers (± 0.2) nahe am erwarteten Wert von $\eta = 1.98$.

Diskussion

Das gesamte Datenmaterial beweist durch die Analogie zu *cyclo*-[L-Pro₂-D-Pro] die erwartete Bootkonformation des Peptidgerüsts. Aus bereits früher dargelegten topochemischen Überlegungen^{2,12)} ist für **1** ein schnelles Gleichgewicht zweier diastereotoper Bootkonformationen in Betracht zu ziehen, die in Abb. 9 dargestellt sind. Welche der beiden Formen in Lösung *bevorzugt* wird, läßt sich aus den ¹³C-NMR-Daten ableiten. Eine Gegenüberstellung der Strichspektren von **1** und von *cyclo*-[L-Pro₂-D-Pro] (**2**) (Abb. 10) läßt deutlich erkennen, daß in **1** sämtliche Signale des Prolinsystems 2 von **2** fehlen. Daher muß der (Bzl)Gly-Rest diese Position besetzen, d. h. im Gleichgewicht überwiegt das Konformere **A**. Für das andere Boot-Konformere würde man einen Ersatz des Prolinsystems 1 durch (Bzl)Gly erwarten. Die Röntgenstrukturanalyse ergibt auch im Kristall eine Bevorzugung von **A**.

Die Interpretation der ¹H-NMR-Parameter liefert ein detaillierteres Bild. Zunächst stellt man auch bei den chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten eine starke Analogie zwischen den Prolinsystemen 1 bzw. 3 in den beiden Peptiden *cyclo*-[L-Pro¹-L-Pro²-D-Pro³] (**2**) und *cyclo*-[L-Pro¹-(Bzl)Gly²-D-Pro³] fest. In der Konformation **B** würde die Sequenz *cyclo*-[(Bzl)Gly¹-D-Pro²-L-Pro³] vorliegen, die in den spektroskopischen Daten (dem Enantiomeren von) **2** vergleichbar wäre³²⁾. Wenn das Konformere **B** im (schnellen) Gleichgewicht



meßbar beteiligt ist, sollte sich das in den chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten ausdrücken. Die Parameter der einzelnen Protonen von L-Pro¹ in Konformation **A** würden sich dann dem System von L-Pro³ in **B** (= D-Pro³ in **2**) und diejenigen von D-Pro³ in **A** dem von D-Pro² in **B** (= L-Pro² in **2**) nähern. Dieser Trend zeigt sich in einigen chemischen Verschiebungen, allerdings muß man bedenken, daß der Ersatz eines Prolinrestes durch *N*-Benzylglycin zusätzliche Veränderungen der chemischen Verschiebung induzieren sollte.

Eindeutige Resultate erhält man dagegen durch den Vergleich von vicinalen Kopplungskonstanten, die empfindlich auf Änderungen der Konformationswinkel χ im Prolinsystem ansprechen. In der folgenden Diskussion gehen wir davon aus, daß die Prolinkonformation wesentlich durch die „Backbone“-Konformation bestimmt wird, daß also die Kopplungskonstanten innerhalb eines Prolinsystems durch eine sequentielle Stellung in der Bootkonformation determiniert sind. Daher sollte man für L-Pro in der Konformation **A** analoge Werte wie für L-Pro¹ in **2**, in **B** jedoch wie für D-Pro³ in **2** erwarten. Entsprechendes gilt für D-Pro (**A**: D-Pro³ in **2**, **B**: L-Pro² in **2**). Die Gegenüber-

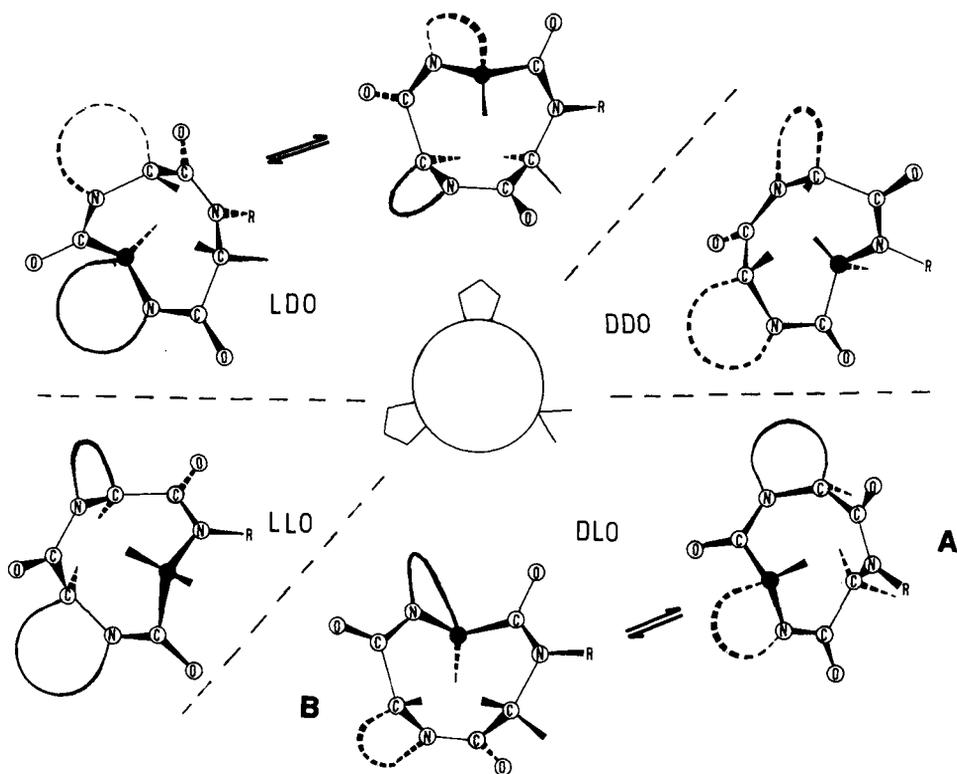


Abb. 9. Mögliche Bootkonformationen verschiedener *cyclo*-Tripeptide der Formel *cyclo*-[(L,D)-Pro₂-(Bzl)Gly]

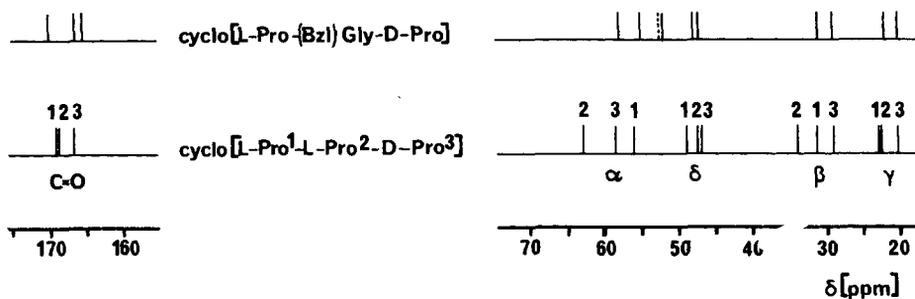


Abb. 10. Vergleich der ¹³C-Strichspektren von 1 und *cyclo*-[L-Pro₂-D-Pro] (2)

stellung der experimentellen Werte in Tab. 7 läßt übereinstimmend mit den Befunden der ¹H- und ¹³C-chemischen Verschiebungen ein Überwiegen von **A** erkennen. Sämtliche Kopplungskonstanten weichen jedoch in Richtung auf die in der Konformation **B** zu erwartenden Werte ab. Die relative Größe der Abweichung kann als Maß für die Population der Konformation **B** dienen. Die Auswertung ergibt eine Beteiligung von 20%

($\pm 8\%$) **B** am Gleichgewicht. Dieser Befund steht im Einklang mit der beobachteten Gleichgewichtslage in *cyclo*-[Pro-(Bzl)Gly₂]. Diese Verbindung erlaubt ein schnelles Gleichgewicht dreier Bootkonformationen²⁾, von denen diejenige dominiert, die das Prolin in Position 1 besitzt^{2,12)}. Es zeigt sich also, daß das Prolin die 1-Position bevorzugt, wenn es die Wahl hat, die 1- oder 2-Position eines Bootes einzunehmen.

Tab. 7. Vergleich der vicinalen Kopplungskonstanten von *cyclo*-[L-Pro₂-D-Pro] (**2**) (LLD) und **1** (LOD)

	LLD Pro ¹	LOD Pro ¹ → Pro ³	LLD Pro ³	LOD Pro ³ → Pro ²	LLD Pro ²
$\alpha\beta^c$	7.07	6.88	6.51	6.75	6.99
$\alpha\beta^t$	7.59	6.95	0.58	1.55	8.22
$\beta^c\gamma^c$	7.00	7.20	8.29	7.89	5.92
$\beta^c\gamma^t$	3.40	4.69	11.94	11.03	4.90
$\beta^t\gamma^c$	10.78	9.39	1.25	2.27	8.29
$\beta^t\gamma^t$	7.09	7.08	7.31	7.23	7.15
$\gamma^c\delta^c$	7.78	8.33	9.11	8.59	6.88
$\gamma^c\delta^t$	9.89	8.21	3.30	3.47	7.61
$\gamma^t\delta^c$	3.07	3.28	8.98	8.80	4.90
$\gamma^t\delta^t$	6.69	8.33	10.23	9.49	8.04

Wegen des schnellen Gleichgewichtes **A** \rightleftharpoons **B** ist eine Diskussion der Kopplungskonstanten im Hinblick auf die Konformation der Prolinringe problematisch. Es ist aber zu erwarten, daß die Prolinkonformationen sich nicht allzuweit von denen in *cyclo*-[L-Pro₂-D-Pro] unterscheiden sollten. Weitergehende Schlüsse auf die Konformationen der Prolinringe und deren Beweglichkeit wurden durch eine Diskussion der NMR-Daten im Zusammenhang mit Kraftfeldberechnungen gezogen. Sie sind in Lit.²⁵⁾ bereits ausführlich diskutiert. Informationen über die Dynamik erhält man auch aus den Relaxationszeiten der C-Atome (Tab. 6). In *cyclo*-Triprolinen^{8,26)} nimmt die Beweglichkeit innerhalb der Prolinringe in der Reihenfolge $\alpha < \delta \approx \beta < \gamma$ zu (größere NT_1 -Werte). Dies wird auch in Pro¹ von **1** gefunden. In Pro³ weicht allerdings der NT_1 -Wert für den δ -Kohlenstoff nach oben ab. Generell läßt sich wiederum feststellen, daß das System Pro³ eine geringere Beweglichkeit als Pro¹ aufweist. Die Daten zeigen, daß die Relaxationszeiten durch die dominierende Konformation **A** bestimmt werden.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* für Sachbeihilfen. Der *Degussa AG* sind wir für die Überlassung von D-Prolin zu Dank verpflichtet.

Experimenteller Teil

Synthese von **1**

Sofern nicht anders angegeben, wurden Reagenzien in der Qualität „pro analysi“ bzw. DAB 6 oder DAB 7 eingesetzt. Alle Lösungsmittel wurden vor Verwendung destilliert und/oder absolutiert.

Dünnschicht-Chromatogramme: DSC-Fertigplatten der Fa. Macherey-Nagel (SIL G/UV₂₅₄); Laufmittel: A: *n*-Butanol/Eisessig/Wasser (3 : 1 : 1); B: Chloroform/Methanol (9 : 1); C: Chloroform/Methanol/Eisessig (95 : 5 : 3).

Die Identifizierung der Flecke erfolgte unter einer UV-Lampe oder durch Entwickeln: a) in einer Iodkammer; b) durch Besprühen mit Ninhydrin-Lösung (die Boc-Schutzgruppe wurde zuvor auf der DSC-Platte bei ca. 100 °C im Trockenschrank abgespalten).

Schmelzpunkte: Apparatur nach Tottoli oder Kofler-Heiztisch, nicht korrigiert. – IR-Spektren: Perkin-Elmer Modell 257. Es wurden nur die Carbonylbanden ausgewertet.

Boc-D-Pro-L-Pro-OMe (3): 21.5 g (0.10 mol) Boc-D-Pro-OH und 16.6 g (0.10 mol) HCl · H-Pro-OMe wurden zusammen mit 14.3 ml Triethylamin in 700 ml absol. Ethylacetat im Eisbad gelöst. Eine Lösung von 21 g (0.11 mol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) in 100 ml absol. Ethylacetat wurde unter Rühren zugegeben. Nach 6 h wurde vom ausgefallenen Harnstoff abfiltriert und die verbliebene Lösung i. Vak. zur Trockne eingengt. Es wurde mehrmals in Ethylacetat aufgenommen, abfiltriert und zur Trockne eingengt, bis beim Aufnehmen in Ethylacetat kein Harnstoff mehr ausfiel. Die organische Phase wurde jeweils dreimal mit 0.5 N HCl, gesätt. NaCl-, 5proz. NaHCO₃- und nochmals mit gesätt. NaCl-Lösung gewaschen und dann über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. verblieb ein farbloses Öl. Es konnte aus Ethylacetat/Petrolether kristallisiert werden. Ausb. 28.5 g (85%), Schmp. 88 °C, DSC: $R_F = 0.77$ (C). – IR (KBr): 1745, 1685, 1650 cm⁻¹.

Boc-D-Pro-L-Pro-OH (4): Zur Lösung von 28 g (85 mmol) **3** in 280 ml Ethanol wurden 88 ml frisch bereitete 1 N NaOH gegeben. Es wurde 2 h bei Raumtemp. gerührt, auf die Hälfte eingengt und mit Ether gewaschen, um unverseiftes Edukt zu entfernen. Die wäßrige Phase wurde mit 4 N HCl auf pH 2 angesäuert und dreimal mit je 80 ml Ethylacetat extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und zur Trockne eingengt. Man erhielt ein farbloses Öl, das aus Ethylacetat/Petrolether kristallisierte. Ausb. 23.1 g (87%), Schmp. 204 °C, DSC: $R_F = 0.54$ (A). – IR (KBr): 1750, 1660, 1650 cm⁻¹. – ¹H-NMR (60 MHz, CDCl₃): δ = 9.6 (s, 1H, CO₂H); 4.7–4.3 (m, 2H, Pro-C_αH); 3.8–3.3 (m, 4H, C_βH₂); 2.6–1.6 (m, 8H, C_βH₂, C_γH₂); 1.4 und 1.35 (2 s, 9H, Boc).

Boc-D-Pro-L-Pro-(Bzl)Gly-OMe (5): 5.0 g (16 mmol) **4** wurden zusammen mit 3.45 g (16 mmol) HCl · H-(Bzl)Gly-OMe unter Zugabe von 1.65 g (2.3 ml) Triethylamin in 150 ml absol. Ethylacetat gelöst. Unter Eiskühlung wurden 3.4 g (17 mmol) DCC in 60 ml absol. Ethylacetat zugegeben, und über Nacht wurde unter Feuchtigkeitsausschluß gerührt. Es wurde analog zu **3** aufgearbeitet. Man erhielt ein farbloses Öl, das im Hochvak. zu einem amorphen Schaum getrocknet wurde. Ausb. 7.5 g (97%), DSC: $R_F = 0.63$ (A). – IR (Film): 1755, 1685, 1660, 1650 cm⁻¹.

Boc-D-Pro-L-Pro-(Bzl)Gly-OH (6): 7.15 g (15 mmol) **5** wurden analog **3** in 50 ml Ethanol mit 15.5 ml 1 N NaOH verseift. Man kristallisierte das Produkt aus Ether/Petrolether, Ausb. 5.1 g (74%), Schmp. 195 °C (Zers.), DSC: $R_F = 0.54$ (A). – IR (KBr): 1745, 1660 (breit) cm⁻¹. – ¹H-NMR (60 MHz, CDCl₃): δ = 9.1 (s, breit, 1H, CO₂H); 7.5–7.15 (m, 5H, H_{aromat.}); 5.5–3.3 (m, 10H, Pro-C_αH, C_αH₂, PhCH₂, C_βH₂); 3.5–1.6 (m, 8H, C_βH₂, C_γH₂); 1.4 und 1.3 (2 s, 9H, Boc).

Boc-D-Pro-L-Pro-(Bzl)Gly-OTcp (7): Die Lösung von 4.6 g (10 mmol) **6** und 1.98 g (10 mmol) 2,4,5-Trichlorphenol (Tcp) in 250 ml absol. Tetrahydrofuran wurde nach Zugabe einer äquimolaren Menge (2.1 g) DCC 3 Tage unter Feuchtigkeitsausschluß bei Raumtemp. gerührt. Vom ausgefallenen Harnstoff wurde abfiltriert, zur Trockne eingengt, in Ethylacetat aufgenommen, nochmals filtriert und eingengt. Diese Prozedur wurde wiederholt, bis beim Aufnehmen in Ethylacetat kein Harnstoff mehr ausfiel. Es wurde zur Trockne eingengt. Man erhielt ein blaßgelbes Öl,

das im Hochvak. zu einem Schaum getrocknet wurde. Ausb. 6.3 g (98%). Die Substanz wurde sofort weiter zu **8** umgesetzt.

HCl · H-D-Pro-L-Pro-(Bzl)Gly-OTcp 8: 5.0 g (7.8 mmol) **7** wurden 2 h in 150 ml 2 N HCl in Dioxan unter Feuchtigkeitsausschluß gerührt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. abgezogen. Trocknen des Öls führte zu einem amorphen Schaum. Ausb. 4.3 g (96%), DSC: $R_F = 0.30$ (B). – IR (KBr): 1780, 1645 cm^{-1} . – $^1\text{H-NMR}$ (60 MHz, DMSO): $\delta = 10.3$ und 8.7 (2 s, 2H, NH_2^+); 8.1 und 7.8 (2 s, 2H, $\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_3$); 7.6–7.2 (m, 5H, $\text{H}_{\text{aromat.}}$); 4.2–3.2 (m, 10H, Pro- C_αH , $\text{C}_\alpha\text{H}_2$, PhCH_2 , C_βH_2); 2.4–1.1 (m, 8H, C_βH_2 , $\text{C}_\gamma\text{H}_2$).

cyclo-[L-Pro-(Bzl)Gly-D-Pro] (1): Die Lösung von 2.3 g (4.0 mmol) **8** in 2 l absol. Pyridin wurde 3 h bei 90 °C gehalten. Das Cyclisierungsgemisch wurde zur Trockne eingengt und in Methanol aufgenommen. Es wurde 10 h über Ionenaustauscher (Mischbetaustauscher V) gerührt, abfiltriert und zur Trockne eingengt. Das Rohprodukt wurde an Sephadex LH 20 chromatographiert (Säulenlänge 1.5 m, $\varnothing = 5$ cm), Laufmittel DMF. Die einzelnen Fraktionen wurden mit einem UVICHORD (Fa. LKB) bei 280 nm sowie einem Durchflußpolarimeter 143 D der Fa. Thorn-Automation analysiert. Die das *cyclo*-Tripeptid enthaltende Fraktion wurde zur Trockne eingengt und NMR-spektroskopisch identifiziert. Man erhielt 200 mg eines blaßgelben Öls, das nochmals über Kieselgel chromatographiert wurde (Laufmittel Methanol). Das farblos erhaltene Öl zeigte die erwarteten NMR-Signale. Aus Benzol konnten Kristalle erhalten werden. Ausb. 130 mg (11%), Schmp. 108 °C, DSC: $R_F = 0.44$ (B). – IR (KBr): 1650, 1630 cm^{-1} .

NMR-Spektroskopie: Die eindimensionalen $^1\text{H-NMR}$ -Spektren wurden mit einem Bruker WH 500 (mit ASPECT 2000 Computer), die $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren, die T_1 -Messungen sowie die Verschiebungskorrelation mit einem Bruker WH 270 (mit ASPECT 2000 Computer und DRI 3 Mega Byte Disk Einheit) aufgenommen. Das SECSY-Spektrum sowie die Jeener-Spektren wurden mit einem Nicolet NT 300 WB (mit Nicolet Computer 1280 und CDC 12 Mega Byte Disk Einheit) gemessen. Die Konzentration betrug 30 bzw. 60 mg/0.6 ml Lösungsmittel (C_6D_6). Die Spektrensimulation erfolgte mit einem ASPECT 2000 Computer mit 24K Datenpunkten.

SECSY-Spektrum: Zur Aufnahme des Spektrums wurde folgende Puls-Sequenz verwendet: $\text{RD} - 90^\circ - t_1/2 - 90^\circ - t_1/2 - t_2$. Es wurde mit 512 Inkrementen in t_1 und 1K Datenpunkten in t_2 sowie Quadratur-Detektion in t_1 und t_2 aufgenommen. Die FIDs wurden in beiden Dimensionen mit einer Sinus-Funktion multipliziert. In t_1 wurde außerdem Zero-Filling durchgeführt. Die spektrale Breite betrug 2400 Hz in t_2 und 1200 Hz in t_1 . Der 90° -Impuls lag bei 6.9 μs .

Jeener-Spektrum: Zur Aufnahme des normalen Jeener-Spektrums wurde die Impulssequenz $\text{RD} - 90^\circ - t_1 - 90^\circ - t_2$ verwendet. Es wurde mit 256 Inkrementen in t_1 und 1K Datenpunkten in t_2 sowie Quadratur-Detektion in t_1 und t_2 aufgenommen. Die FIDs wurden in beiden Dimensionen mit einer Sinus-Funktion multipliziert. Ferner wurde in t_1 und t_2 Zero-Filling durchgeführt. Die spektrale Breite betrug 2400 Hz in beiden Dimensionen. Der 90° -Impuls lag bei 10.3 μs .

Bei der Aufnahme der Jeener-Variante wurde folgende Impulssequenz verwendet: $\text{RD} - 90^\circ - t_1 - \Delta - 90^\circ - \Delta - t_2$. Die Aufnahmebedingungen entsprachen denen des Jeener-Spektrums. Der 90° -Impuls betrug 6.9 μs . Die Delay-Zeit lag bei 0.3 s.

Verschiebungskorrelation: Es wurde folgende Impuls-Sequenz verwendet: $\text{RD} - 90^\circ(^1\text{H}) - t_1/2 - 180^\circ(^{13}\text{C}) - t_1/2 - \text{D3} - 90^\circ(^1\text{H}) - 90^\circ(^{13}\text{C}) - \text{D4} - t_2$. Das Spektrum wurde mit 64 Inkrementen in t_1 und 4K Datenpunkten in t_2 sowie Quadratur-Detektion in t_1 und t_2 aufgenommen. Die FIDs wurden in beiden Dimensionen mit einer exponentiellen Funktion ($\text{LB} = 2$ Hz) multipliziert. Außerdem wurde in t_1 und t_2 Zero-Filling durchgeführt. Die spektrale Breite betrug 4000 Hz in t_2 und 1300 Hz in t_1 . Der 90° -Beobachtungs-Impuls lag bei 21.5 μs , der 90° -Entkoppler-Impuls bei 68 μs . Die Delay-Zeiten D3 und D4 betragen 4 bzw. 2.67 ms.

Röntgenstrukturanalyse von $\text{cyclo-[L-Pro-(Bz)Gly-D-Proj} \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}^*)$: Ein farbloser, plättchenförmiger Kristall mit den Abmessungen $0.10 \times 0.25 \times 0.45$ mm wurde in eine Glaskapillare eingeschmolzen. Präzessionsaufnahmen zeigten ein monoklines Gitter. Die genaue Bestimmung der Gitterkonstanten erfolgte mit einem Enraf-Nonius-CAD4-Diffraktometer. Sie betragen $a = 804.8(2)$, $b = 1037.8(2)$, $c = 2129.7(4)$ pm, $\beta = 96.61(2)^\circ$, $V = 1767(1) \times 10^6$ pm³, Raumgruppe $P2_1$. Die Elementarzelle enthält vier Formeleinheiten und damit zwei kristallographisch unabhängige Moleküle. Die berechnete Dichte unter Einbeziehung des Lösungsmittels beträgt $D_{\text{ber}} = 1.317$ g cm⁻³. Die Intensitäten wurden mit einem Enraf-Nonius-CAD4-Diffraktometer mit Mo- K_α -Strahlung (Graphit-Monochromator) in zwei Quadranten bis zu $\sin \Theta/\lambda = 0.48$ bzw. 0.54 \AA^{-1} vermessen. Der gesamte Datensatz bestand aus 4793 Reflexen, von denen 2425 symmetrieunabhängig waren. Drei Standard-Reflexe zeigten keine auffallenden Fluktuationen. Nach einer Mittelung der äquivalenten Reflexe hatten 2373 Intensitäten von $I > 0.2\sigma(I)$, die zur Strukturanalyse herangezogen wurden. Die Struktur wurde mit MULTAN 80³³⁾ gelöst und nach der Methode der kleinsten Quadrate mit dem X-Ray-System³⁴⁾ verfeinert. Eine Differenz-Fourier-Synthese ergab die Positionen fast aller H-Atome, allerdings wurden lediglich diejenigen des Wasser-Moleküls aus der Dichtekarte entnommen, während die übrigen Positionen berechnet wurden.

Die Wasserstoffatome wurden in die Berechnung der Strukturparameter einbezogen, aber nicht verfeinert. Die Verfeinerung konvergierte bei $R(F) = 0.040$ und $R_w(F) = 0.040$. Eine abschließende Differenz-Synthese zeigte keine Maxima über $0.15 e \text{ \AA}^{-3}$. Eine stereoskopische Ansicht eines der Moleküle zeigt Abb. 1 oben, die Verknüpfung der beiden Tripeptide durch das Wassermolekül Abb. 1 unten. Die Positions- und Temperaturparameter sind in Tab. 2 zusammengestellt, Bindungslängen und -winkel in Abb. 2 und 3.

*) Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Energie Physik Mathematik, D-7514 Eggenstein-Leopoldshafen, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD 50393, des Autors und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.

- 1) 26. Mittel.: H. Kessler und H. Kogler, Liebigs Ann. Chem. **1983**, 316.
- 2) H. Kessler, Stereodynamics of Molecular Systems, Ed. R. H. Sarma, S. 187, Pergamon Press, Oxford 1979, und dort zitierte Literatur.
- 3) J. Schaug, Acta Chem. Scand. **25**, 2771 (1971).
- 4) H. Kessler, P. Kondor, G. Krack und P. Krämer, J. Am. Chem. Soc. **100**, 2548 (1978).
- 5) M. Rothe, K. D. Steffen und I. Rothe, Angew. Chem. **77**, 347 (1965); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **4**, 356 (1965).
- 6) C. M. Deber, D. A. Torchia und E. R. Blout, J. Am. Chem. Soc. **93**, 4893 (1971).
- 7) G. Kartha, G. Ambady und P. V. Shankar, Nature (London) **247**, 204 (1974); G. Kartha und G. Ambady, Acta Crystallogr., Sect. B **31**, 2035 (1975).
- 8) R. Deslaurier, I. C. P. Smith und M. Rothe, Peptides, Eds. R. Walter und J. Meienhofer, S. 91, Ann Arbor Science Publ., Ann Arbor, Mich., USA 1975.
- 9) M. E. Druyan, C. L. Coulter, R. Walter, G. Kartha und G. Ambady, J. Am. Chem. Soc. **98**, 5496 (1976).
- 10) H. Kessler, A. Friedrich und W. E. Hull, J. Org. Chem. **46**, 3892 (1981).
- 11) H. Kessler, G. Krack und P. Krämer, Peptides 1978, Eds. J. Z. Siemion und G. Kupryszewski, S. 301, Wroclaw University Press, Wroclaw, Polen 1979.
- 12) H. Kessler, G. Krack und P. Krämer, Isr. J. Chem. **20**, 188 (1980).
- 13) J. W. Bats und H. Fuess, Acta Crystallogr., Sect. B **38**, 1004 (1982).
- 14) H. Kessler, R. Schuck, R. Siegmeier, J. W. Bats, H. Fuess und H. Förster, Liebigs Ann. Chem. **1983**, 231.
- 15) M. Rothe, R. Theysohn, D. Mühlhausen, F. Eisenbeiß und W. Schindler, Chemistry and Biology of Peptides, Ed. J. Meierhofer, S. 51, Ann Arbor Science Publ., Ann Arbor, Mich., USA 1972.

- 16) *P. Kondor*, Dissertation, Univ. Frankfurt 1980.
- 17) *J. W. Bats* und *H. Fuess*, *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 2065 (1980).
- 18) *G. Krack*, Dissertation, Univ. Frankfurt 1981.
- 19) *J. Dale* und *K. Titlestad*, *Chem. Commun.* **1969**, 656; *Acta Chem. Scand.* **29**, 153 (1975).
- 20) *W. Mästle* und *M. Rothe*, in Lit.¹¹⁾, S. 179.
- 21) *J. W. Bats*, *A. Friedrich*, *H. Fuess*, *H. Kessler*, *W. Mästle* und *M. Rothe*, *Angew. Chem.* **91**, 573 (1979); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **18**, 538 (1979).
- 22) *M. Rothe* und *W. Mästle*, *Angew. Chem.* **94**, 223 (1982); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **21**, 220 (1982).
- 23) *H. Kessler*, *W. Bermel* und *H. Förster*, *Angew. Chem.* **94**, 703 (1982); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **21**, 689 (1982).
- 24) *H. Kessler*, *W. Bermel*, *A. Friedrich*, *G. Krack* und *W. E. Hull*, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 6297 (1982).
- 25) *F. A. A. M. de Leeuw*, *C. Altona*, *H. Kessler*, *W. Bermel*, *A. Friedrich*, *G. Krack* und *W. E. Hull*, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 2237 (1983).
- 26) *H. Kessler*, *A. Friedrich*, *G. Krack* und *W. E. Hull*, *Peptides* 1981, Ed. *D. H. Rich* und *E. Gross*, S. 335, *Pierce Chem. Comp.*, Rockford Ill. 1981.
- 27) *M. Rothe*, *M. Fähnle* und *W. Mästle* in Lit.²⁶⁾, S. 89.
- 28) *A. Bax*, *Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance in Liquids*, Delft University Press, D. Reidel Publ. Comp., Dordrecht, Holland 1982.
- 29) PANIC, Program for iterative spin simulation, Bruker NMR software.
- 30) *H. Kessler* und *D. Ziessow*, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **30**, 488 (1982).
- 31) *R. Freeman* und *H. D. W. Hill*, *J. Chem. Phys.* **51**, 3140 (1969).
- 32) Enantiomere liefern unter achiralen Bedingungen natürlich übereinstimmende NMR-Spektren.
- 33) *G. Germain*, *P. Main* und *M. M. Woolfson*, *Acta Crystallogr., Sect. A* **27**, 368 (1971); *P. Main*, MULTAN 80 – a system of computer programs for the automatic solution of crystal structures from X-ray diffraction data. University of York, England 1980.
- 34) *J. M. Stewart*, *G. J. Kruger*, *H. L. Ammon*, *C. Dickinson* und *S. R. Hall*, *The X-Ray System – Version of June 1972*. Tech. Rep. TR – 192. Computer Science Center, University of Maryland, College Park, Maryland 1972.

[16/83]