

## 196. Einlagerung hochenergetischer Tritiumatome in *cis*-Cycloocten

von P. Jordan und W. Reichen<sup>1)</sup>

Laboratorium für Organische Chemie, Eidg. Technische Hochschule, Zürich

(30. VI. 72)

*Summary.* The substitution, in liquid *cis*-cyclooctene, of thermal tritiumatoms and recoil tritiumatoms from the nuclear reaction  ${}^6\text{Li}(n, \alpha){}^3\text{H}$  was studied, and compared to earlier results obtained with cyclohexene. An explanation for the observed very distinct differences is proposed.

**1. Einleitung.** – In zwei vor kurzem erschienenen Arbeiten [1] [2] wurde die intramolekulare Verteilung von Tritium aus dem  ${}^6\text{Li}(n, \alpha){}^3\text{H}$  Kernprozess in flüssigem Cyclohexen untersucht. Im Hinblick auf die teilweise noch ungeklärte Konformation ungesättigter mittlerer Ringe und der dabei beobachteten Eigenart der transannularen Reaktionen radikalischer [3]–[5] oder ionischer [5] [6] Art, erschien es von einigem Interesse, die Rückstoss-Markierung auf solche Systeme auszudehnen. Zu diesem Zweck wurde ein inniges Gemisch aus Lithiumcarbonat und *cis*-Cycloocten in einem Kernreaktor mit thermischen Neutronen bestrahlt. Das Leichtere der beiden Lithiumisotopen ( ${}^6\text{Li}$ ) geht dabei durch Neutroneneinfang die Kernreaktion  ${}^6\text{Li}(n, \alpha){}^3\text{H}$  ein. Es entstehen Tritiumatome mit einer Rückstossenergie von 2,73 MeV, die sie durch Wechselwirkungen verschiedener Art dem umgebenden Medium abgeben. Unterhalb 100 eV erreichen diese Atome von der Seite der hohen Energien her den Energiebereich, in welchem sie dann chemische Reaktionen mit dem organischen Substrat eingehen können. In der vorliegenden Arbeit wird lediglich über die intramolekulare Verteilung der Tritiumatome in *cis*-Cycloocten Molekeln berichtet. Um quantitative Aussagen über die Substitution heisser Tritiumatome im Substrat machen zu können, muss der Einbau thermalisierter Tritiumatome, der sich diesem Prozess überlagert, getrennt bestimmt werden. Dies geschah durch die Untersuchung der Wechselwirkung freier Tritiumatome thermischer Energie in den untersuchten Systemen. Diese Atome wurden erzeugt, indem diese Systeme nach einer Methode, die schon ausführlich beschrieben wurde [2], mit einer kleinen Menge von tritiumindiziertem Anthracen versetzt und der Wirkung ionisierender Strahlen ausgesetzt wurden.

**2. Experimenteller Teil.** – Zur Bestrahlung wurden die in Tab. 1 angegebenen Substanzmengen in Quarzampullen eingefüllt und am Hochvakuum bei  $10^{-5}$  Torr entgast und abgeschmolzen. Nach den Bestrahlungen, die im «Saphir»-Reaktor des Eidgenössischen Institutes für Reaktorforschung in Würenlingen erfolgten, wurden diese Ampullen in einer Hochvakuumlinie gebrochen und die vorhandenen gasförmigen Anteile über drei mit flüssigem Stickstoff gekühlte Kühlfallen abgesaugt. Die kondensierbaren Anteile wurden nach dreimaliger Destillation im Hochvakuum radio-gaschromatographisch analysiert, worauf die bestrahlte Ausgangssubstanz von den Radiolyseprodukten abgetrennt und nach Schema I abgebaut wurde.

<sup>1)</sup> In vorliegender Arbeit wird über einen Teil der Doktorarbeit des zweitgenannten Autors berichtet (Dissertation ETH Zürich, Nr. 4731 (1971)).

Schema 1. Abbau des bestrahlten Cyclooctens

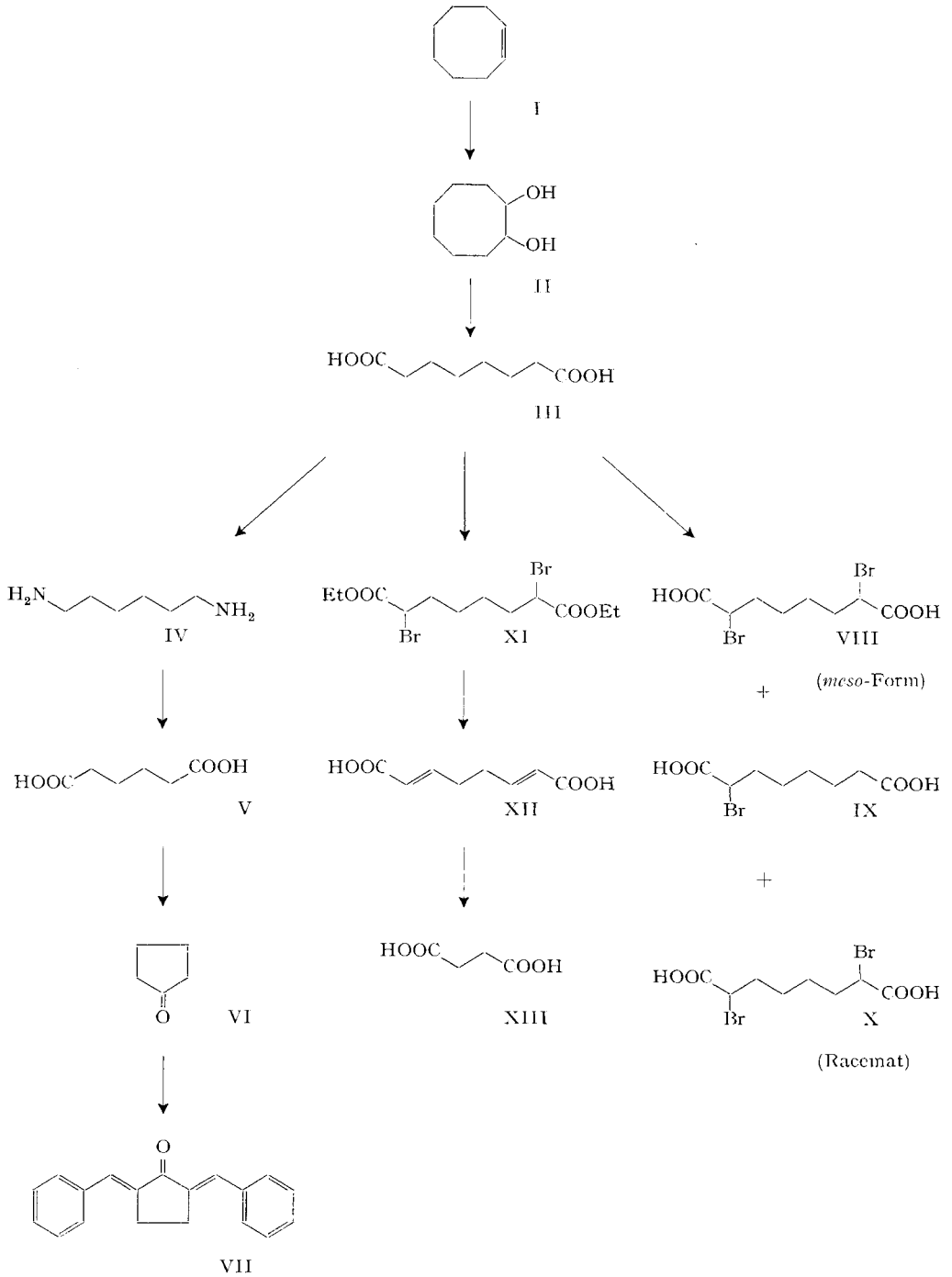


Tabelle 1. *Bestrahlte Systeme*

Probe	A	B	C	D	E <sup>a)</sup>
Cycloocten mg	420	433	417	472	454
Lithiumcarbonat mg	425	430	418	473	–
Boroxid mg	–	–	–	–	68
Neutronenfluss $n \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$	$2 \cdot 10^{11}$	$2 \cdot 10^{11}$	$2 \cdot 10^{11}$	$2 \cdot 10^{11}$	$2 \cdot 10^{11}$
Neutronendosis $n \cdot \text{cm}^{-2}$	$5 \cdot 10^{15}$	$10^{16}$	$5 \cdot 10^{16}$	$7,5 \cdot 10^{16}$	$5 \cdot 10^{16}$

a) + 500 mg Quarzpulver und 10 mg Anthracen- $\text{H}^3$  mit einer Gesamtaktivität von 1,4 mCi

Das gaschromatographisch gereinigte *cis*-Cycloocten I wurde mit Osmiumtetroxid in *cis*-Cyclooctandiol-(1,2) II übergeführt, und die Tritiumaktivität an den beiden labilen Hydroxylwasserstoffstellen durch mehrmaligen Isotopenaustausch eliminiert. Das Diol II wurde mit Bleitetraacetat gespalten und zur Korksäure III oxydiert. Die Korksäure baute man einerseits nach *Curtius-Schmid* über das 1,6-Diamino-hexan IV zur Adipinsäure V ab [7] [8]. Das Bariumsalz der Adipinsäure wurde zum Cyclopentanon VI pyrolysiert, welches mit Benzaldehyd zum 2,5-Dibenzyliden-cyclopentan-1-on VII kondensiert wurde. Die Korksäure wurde andererseits auf dem Wege eines modifizierten Abbaus [9] nach *Hunter-Popjak* mit rotem Phosphor und Brom unter Belichtung bromiert und das Reaktionsprodukt einerseits mit 50proz. Ameisensäure hydrolysiert [10] und andererseits mit absolutem Alkohol alkoholysiert [11]. Aus dem Alkoholysat konnten die höher schmelzende Modifikation der  $\alpha, \alpha'$ -Dibrom-korksäure VIII (*meso*-Form) [12] und geringe Mengen an  $\alpha$ -Monobromkorksäure IX rein isoliert werden. Der Rest bestand aus racemischer  $\alpha, \alpha'$ -Dibromkorksäure X und nicht bromierter Korksäure. Das Alkoholysat, das im wesentlichen aus  $\alpha, \alpha'$ -Dibromkorksäure-diäthylester XI bestand, wurde in Dimethylanilin zweifach dehydrobromiert [11], worauf nach anschließender Destillation und Verseifung die 1,5-Hexadien-1,6-dicarbonensäure XII erhalten wurde. Diese konnte mit einer Oxydationslösung nach *Rudloff* an den Doppelbindungen gespalten und durch weitere Oxydation in die Bernsteinsäure übergeführt werden XIII [13]. Die Verteilung der Tritiumaktivität in den Cycloocten-Molekeln wurde aus den Differenzen der molaren spezifischen Aktivitäten der Abbauprodukte erhalten. Auf diese Weise wurde die Radioaktivität von jeweils zwei symmetrisch zur Doppelbindung des *cis*-Cyclooctens liegenden Wasserstoffatomgruppen erhalten. Die Radioaktivität der Präparate wurde durch Flüssig-Szintillationspektrometrie gemessen, und zwar entweder nach direkter Lösung derselben oder nach deren Verbrennung nach *Kalberer & Rutschmann* [14], wenn die Fluoreszenzlösung es erforderlich machte<sup>2)</sup>.

### 3. Resultate. – a) *Einbauverteilung der energiereichen Tritiumatome*

Versuch A: Das rohe Bestrahlungsprodukt wurde in zwei Fraktionen geteilt und die beiden Fraktionen Aa und Ab getrennt voneinander abgebaut, um die durch die Arbeitsweise bedingte Streuung zu ermitteln.

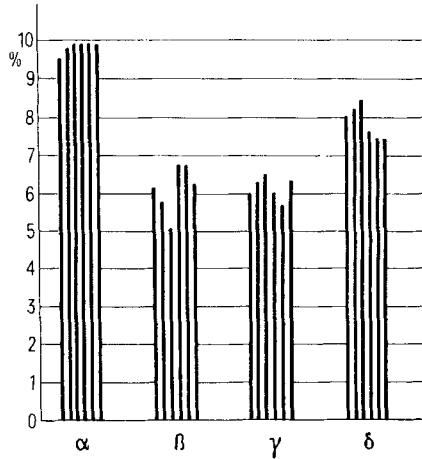
Versuch C: Das Bestrahlungsprodukt wurde gesamthaft bis zur Korksäure abgebaut und von dort an getrennt nach *Curtius-Schmid* (Ca) und dem von uns modifizierten *Hunter-Popjak* Abbau (Cb) [9] weiterverarbeitet.

Die Zahlenwerte sind Prozente der gesamten im Molekül vorhandenen Aktivität pro einzelnes Wasserstoffatom in den Ringstellungen  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  und  $\delta$ , wobei  $\alpha$  die zwei doppelbindungsständigen H-Atome bezeichnet.

<sup>2)</sup> Eine ausführliche Mitteilung über die im hiesigen Laboratorium verwendeten Radioaktivitätsmesstechniken soll demnächst erscheinen [31].

Tabelle II. *Einbauverteilung der energiereichen Tritiumatome*  
Numerische (A) und graphische (B) Zusammenstellung der Resultate

Versuch Stellung	Aa	Ab	B	Ca	Cb	D
$\alpha$	9,5	9,8	9,9	9,9	9,9	9,9
$\beta$	6,2	5,7	5,1	6,7	6,7	6,2
$\gamma$	6,0	6,3	6,5	6,0	5,7	6,3
$\delta$	8,0	8,2	8,4	7,6	7,4	7,5



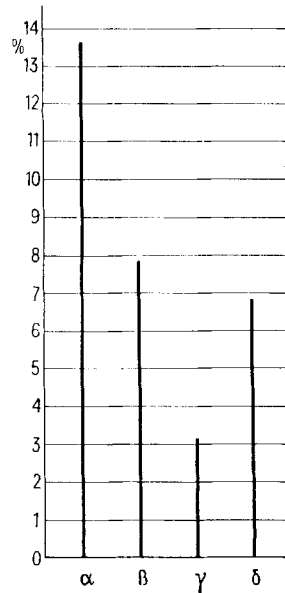
B

b) *Einbauverteilung der Tritiumatome thermischer Energie.*

Tabelle III. *Einbauverteilung der Tritiumatome thermischer Energie*

Stellung	Versuch E
$\alpha$	13,4
$\beta$	8,2
$\gamma$	3,2
$\delta$	6,8

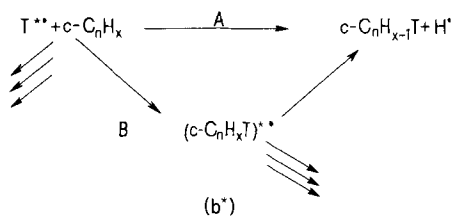
A



B

**4. Diskussion.** – Wie anlässlich der Beschreibung analoger Versuche mit Cyclohexen und verwandten Verbindungen schon besprochen wurde [2], führen grundsätzlich zwei Wege von der Ausgangssubstanz zur markierten Verbindung (Schema 2). Der Prozess A ist eine einschrittige Substitution, bei welcher das heisse Rückstoss-Tritiumatom vornehmlich mit einem Wasserstoffatom der Muttermolekel in direkte Wechselwirkung tritt, etwa in Form des Substitutionsmechanismus, den *Wolfgang et al.* [15]–[17] in ihren Arbeiten über die sterischen Stossmodelle vorschlagen. Es ist

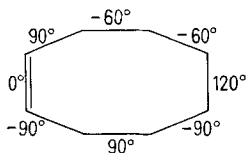
Schema 2. *Prinzipielle Einbaumechanismen für Tritiumatome hoher und thermischer Energie*



dabei zu beachten, dass diese Modelle primär für die Reaktionen in der Gasphase postuliert wurden. Aber die Resultate, die bei Experimenten in der flüssigen Phase [17]–[20] erhalten wurden, weisen mit jenen in der Gasphase auffallende Analogien auf, so dass das Stossmodell auch für die Deutung der Prozesse in der flüssigen Phase herangezogen werden darf.

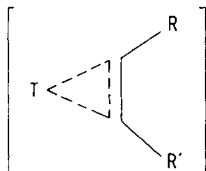
Prozess B verläuft über ein angeregtes Zwischenstadium (b\*), das auf verschiedenen Wegen zu einer stabilen Molekel weiterreagieren kann, von welcher einer wiederum zur markierten Muttermolekel führt.

Die Versuche zum Einbau energiereicher Tritiumatome zeigen, dass neben der Substitution an der Doppelbindung – wie beim Cyclohexen – auch diejenige in  $\delta$ -Stellung bevorzugt ist. Die räumliche Struktur des *cis*-Cyclooctens ist noch nicht genau bekannt. *Dunitz* [21] schliesst jedoch die beiden Konformationen, die eine Spiegelebene senkrecht zur Doppelbindung enthalten, i.e. Sessel- und Wannenform, auf Grund zu hoher *Pitzer*-Spannung aus, und begründet eine chirale Konformation mit folgenden, angenäherten Torsionswinkeln:



Am räumlichen Modell lässt sich zeigen, dass der für die Substitution massgebende freie Raumwinkel, der bezüglich der Doppelbindungsprotonen zur Verfügung steht, grösser ist als jener für die anderen Ringprotonen. Die Protonen an der  $\beta$ -Stellung sind ihrerseits gegenüber jenen in  $\gamma$ - und  $\delta$ -Stellung bevorzugt, während letztere einander praktisch äquivalent sind. Aufgrund ausschliesslich sterischer Betrachtungen liessen diese Verhältnisse eine andere Tritiumverteilung erwarten, als diejenige, die experimentell festgestellt wurde. Dem Prozess A kann somit keine ausschlaggebende Rolle zugemessen werden, und es drängt sich die Frage nach der Beschaffenheit des Zwischenstadiums (b\*) auf, über welches ein nennenswerter Teil des Tritiumeinbaus

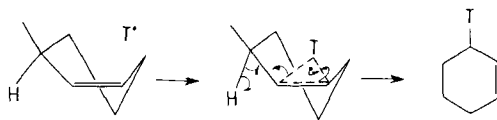
vor sich gehen muss. Einige Autoren [22]–[26] schlagen einen aktivierten Komplex des Rückstoss-Tritiumatoms mit der Muttermolekel an der Doppelbindung, unter Bildung eines lokalisierten angeregten Zentrums vor:



Nach Dispersion der Anregungsenergie käme es zur Bildung eines Radikals, das über verschiedene Wege weiterreagieren könnte, z.B. unter Wasserstoffaddition zur gesättigten Verbindung, unter Rekombination mit einem zweiten Radikal zum Dimeren, mit einem Radiolyseprodukt zu einem Derivat. Kompetitiv mit diesen Reaktionen kommt die Wiederabspaltung eines Wasserstoffatoms in Frage, wobei es sich um einen sehr schnellen Prozess handelt, der 40 kcal/Mol erfordert [27] und somit noch im Zeitraum hoher Anregung stattfinden muss. (Die Anlagerung eines weiteren Wasserstoffatoms geht ohne Aktivierungsenergie und mit einem hohen Kollisionsausbeutefaktor vor sich.)

Andererseits hat man bei der Rückstossritierung einfach ungesättigter aliphatischer Ketten aus der Analyse der Reaktionsprodukte das Vorkommen von Radikal-Verschiebungen über mehrere Zentren festgestellt [28]. Diese Tatsache und die Möglichkeit einer transannularen Wasserstoffradikalverschiebung, für welche nach der von *Dunitz* [21] vorgeschlagenen Struktur vor allem eines der vier  $\delta$ -Protonen in der günstigsten Position liegt, könnten die erhöhte Tritiumhäufigkeit in der  $\delta$ -Stellung erklären.

Verglichen mit dem Einbau hochenergetischer Atome, sind die Verteilungen aus der Substitution mit thermischen Tritiumatomen wesentlich differenzierter. Dies gilt sowohl für die Häufigkeiten an den verschiedenen Stellen einer gleichen Molekel, als auch hinsichtlich der Unterschiede, die zwischen den Verteilungen im Cyclohexen



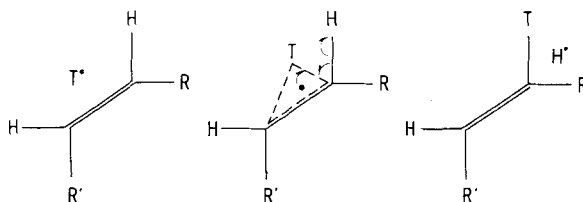
und im Cycloocten beobachtet wurden. Der Mechanismus, der von *Bieler et al.* [1] [2] im Falle des Cyclohexens postuliert wurde, sieht zur Erklärung der festgestellten hohen Tritiumkonzentration in  $\beta$ -Stellung eine Verschiebung der Doppelbindung vor. Dieser Mechanismus scheidet im Falle des Cyclooctens aus folgenden Gründen aus, die auf der von *Dunitz* vorgeschlagenen Struktur basieren:

a) Die Orientierung der relevanten Orbitale der Kohlenstoffatome in Allylstellung ist für die Verschiebung der Doppelbindung ausgesprochen ungünstig, da die Konformation des Übergangszustandes sterisch stark gehindert ist.

b) Diese Doppelbindungsverschiebung würde somit grössere intermediäre konformative Änderungen voraussetzen, und erheblichen Hindernissen begegnen, da

1. die Struktur des Cyclooctens wesentlich starrer ist, als diejenige des Cyclohexens, und 2. eine zusätzliche sterische Hinderung durch Nachbarmolekeln in kondensierter Phase hinzukommen dürfte, wobei noch mit einer kompetitiven Stossdesaktivierung des angeregten Komplexes zu rechnen ist.

So dürfte der postulierte angeregte Komplex im Falle von Cycloocten auf zwei Arten zu stabilen Strukturen führen. Da die allylischen Protonen zur radikalischen Elimination aus den genannten Gründen ungeeignet sind, muss man annehmen, dass direkt die Vinylprotonen eliminiert werden:



Diese Annahme ist auch durch die experimentellen Ergebnisse gestützt. Darüber hinaus dürfte auch, wie im Falle der heissen Versuche, eine transannulare Radikalverschiebung (eventuell 1,5) zu der beobachteten erhöhten Tritiumaktivität in  $\delta$ -Stellung führen.

Der erstgenannte Autor möchte Herrn *K. May* für nützliche Diskussionen sowie für seine Beteiligung beim Verfassen des Manuskriptes aufrichtig danken. Diese Arbeit wurde durch den *Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der Wissenschaftlichen Forschung* finanziell unterstützt.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *H. Bieler*, ETH-Dissertation Nr. 4159 (1968).
- [2] *H. Bieler, F. Battig & P. Jordan*, Z. physik. Chem. Neue Folge 72, 1 (1970).
- [3] *J. L. Convillon*, Dissertation Abstracts 27, 100 (1966).
- [4] *M. Fisch & G. Ourisson*, Chem. Commun. 17, 407 (1965).
- [5] *A. C. Cope*, Quart. Rev. 20, 119 (1966).
- [6] *V. Prelog*, Angew. Chem. 70, 145 (1958).
- [7] *V. Prelog, H. J. Urech, A. A. Bothner-By & J. Würsch*, Helv. 38, 1095 (1955).
- [8] *H. J. Urech & V. Prelog*, Helv. 40, 477 (1957).
- [9] *P. Jordan & W. Reichen*, Helv. im Druck.
- [10] *B. Teichmann*, Z. Chem. 5, 106 (1955).
- [11] *A. Lüttringhaus & H. Merz*, Arch. Pharm. 293, 886 (1960).
- [12] *F. R. Gross & C. K. Ingold*, J. chem. Soc. 1926, 1473.
- [13] *E. V. Rudloff*, Can. J. Chemistry 34, 1413 (1956).
- [14] *F. Kalberer & J. Rutschmann*, Helv. 44, 1956 (1961).
- [15] *R. Wolfgang*, Progress in Reaction Kinetics 3, 97 (1965).
- [16] *M. Henchmann, D. Urch & R. Wolfgang*, Can. J. Chemistry 38, 1722 (1960).
- [17] *D. Urch & R. Wolfgang*, J. Amer. chem. Soc. 83, 2982 (1961).
- [18] *P. J. Estrup & R. Wolfgang*, J. Amer. chem. Soc. 82, 2661 (1960).
- [19] *R. Wolfgang, J. Eigner & F. S. Rowland* J. phys. Chem. 60, 1137 (1956).
- [20] *E. K. C. Lee & F. S. Rowland*, J. Amer. chem. Soc. 84, 3085 (1962).
- [21] *J. D. Dumitz*, Perspectives in Structural Chemistry II, 44 (1968).
- [22] *W. G. Burns & J. A. Winter*, Discuss. Faraday Soc. 36, 124 (1963).
- [23] *V. V. Pozdeev, A. N. Nesmeyanov & B. G. Dzantiev*, Radiokhimiya 4, 398 (1962).
- [24] *J. K. Lee, B. Musgrave & F. S. Rowland*, J. Amer. chem. Soc. 82, 3545 (1960).

- [25] *A. N. Nesmeyanov, B. G. Dzantiev, V. V. Pozdeev & E. F. Simonov*, Radiokhimiya 4, 116 (1962).  
 [26] *V. V. Pozdeev, A. N. Nesmeyanov & B. G. Dzantiev*, Radiokhimiya 4, 401 (1962).  
 [27] *T. G. Majury & E. W. R. Steacie*, Discuss. Faraday Soc. 14, 45 (1953).  
 [28] *A. S. Gordon & J. R. McNesby*, J. chem. Physics 31, 853 (1959).  
 [29] *A. C. Cope, C. R. Ganellin, H. W. Johnson, T. V. van Auken & H. J. S. Winkler*, J. Amer. chem. Soc. 85, 3276 (1963).  
 [30] *A. C. Cope & B. A. Pawson*, J. Amer. chem. Soc. 87, 3649 (1965).  
 [31] *P. Jordan, E. Büchler & K. May*, zu erscheinen im J. Radioanal. Chem.

## 197. Synthese von [2,7-Cystin]-Gramicidin S, einem künstlichen homodet-heterodet-bicyclischen Decapeptid

von **Urs Ludescher** und **Robert Schwyzler**

Institut für Molekularbiologie und Biophysik,  
Eidg. Technische Hochschule Zürich, 8049 Zürich

(10. VI. 72)

*Summary.* The first synthesis of a homodetic-heterodetic-bicyclic polypeptide, [2,7-cystine]-gramicidin S, is described. For the protection of the C-terminal carboxyl and the cysteine sulfhydryl functions, the 2-(toluene-*p*-sulfonyl)-ethyl- (Tsa) and the acetamidomethyl- (Acm) groups, respectively, were used. Stepwise synthesis from the C-terminus, using N<sup>α</sup> Boc-amino acids, and selective removal of protecting groups yielded the two pentapeptide derivatives: Boc·Val-Cys(Acm)-Leu-phe-Pro·OH and H·Val-Cys(Acm)-Leu-phe-Pro·OTsa. They were condensed with dicyclohexyl-carbodiimide and 1-hydroxybenzotriazole to give the crystalline decapeptide Boc·[Val-Cys(Acm)-Leu-phe-Pro]<sub>2</sub>·OTsa. Removal of the Tsa group by β-elimination at pH 11.5 yielded the crystalline free acid, which was further converted (by treatment with di-*p*-nitrophenyl sulfite followed by TFA) to TFA, H·[Val-Cys(Acm)-Leu-phe-Pro]<sub>2</sub>·ONp. Cyclization of the active ester in warm pyridine gave a mixture of (2,7-bis-S-acetamidomethyl-cysteine)-gramicidin S (27% yield) and (2,7-cysteine)-gramicidin S (4%). The former compound was readily converted to the latter by treatment with I<sub>2</sub> in MeOH. In the bicyclic peptide, the decapeptide ring is contained in a β-type secondary structure, identical with that in gramicidin S; the disulfide bridge shows P-helical chirality and gives rise to a negative Cotton effect at 271 nm [3].

**Einleitung.** – Noch bevor die für Gramicidin S vorgeschlagene β-Faltblattstruktur [1] in Lösung durch NMR.-Studien erhärtet worden war [2] [3], schien es uns sinnvoll zu versuchen, den Cyclodecapeptidring zwischen den Stellungen 2 und 7 (beides Ornithinreste) mit einer Cystin-Disulfidgruppe zu überbrücken. Im [2,7-Cystin]-Gramicidin S<sup>1)</sup> wäre die Sekundärstruktur des Peptidruckgates voraussichtlich im Sinne der β-Faltblattstruktur stabilisiert. Mit dieser Verbindung ergäbe sich daher die Möglichkeit, die physikalisch-chemischen Eigenschaften dieser Sekundärstruktur und die chiroptischen Eigenschaften der Cystin-Disulfidgruppe zu studieren,

<sup>1)</sup> Nomenklatur und Abkürzungen nach den Regeln der «IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature», z. B. Biochemistry 5, 2485 (1966); 6, 362 (1967); European J. Biochemistry 1, 375 (1967). Zusätzliche Abkürzungen: Acm = Acetamidomethyl-; Boc = *t*-Butoxycarbonyl-; DCCI = Dicyclohexyl-carbodiimid; DCHA = Dicyclohexylamin; DMF = Dimethylformamid; HOBT = 1-Hydroxy-benzotriazol; Np = *p*-Nitrophenyl-; phe = *D*-Phenylalanin (γ<sup>1</sup>-); Su- = 1-Succinimidyl-; TFA = Trifluoressigsäure; Tsa = 2-(Toluol-*p*-sulfonyl)-äthyl.