

54. Elektronen-Donator-Acceptor-Komplexe bei Polypeptiden

II. Problemstellung und orientierende Versuche mit Acceptoren des neuen Phthalimid-Typs¹⁾

von J. P. Carrión, D. A. Deranleau, B. Donzel, K. Esko, P. Moser und R. Schwyzer
Laboratorium für Molekularbiologie, Eidg. Techn. Hochschule, 8006 Zürich

(13. II. 68)

Summary. Phthalimides, 4-nitrophthalimides, and tetrachlorophthalimides (exemplified by methyl N^α-phthalyl-glycinate, 4-nitrophthalimide, ethyl N^α-(4-nitrophthalyl)-glycinate, and methyl N^α-tetrachlorophthalyl-glycinate) give *colored molecular complexes* with N^α-benzyloxy-carbonyl-*ar*-pentamethyl-phenylalanine, N^α-acetyl-*p*-dimethylamino-phenylalanine, and N^α-acetyl-tryptophane, as well as with the simpler compounds hexamethylbenzene, N,N-dimethylaniline, N,N-dimethyl-*p*-toluidine, and indole, in various organic solvents.

The association constants are small, and vary between 0.4 and 1.2 l/mol as measured spectroscopically. Enthalpies of complex formation lie between (-) 0.5 and (-) 2.5 kcal/mole. They are within the range assumed for VAN DER WAALS interactions between hydrophobic side-chains of amino-acids. This is essential if one would want to use such complexes as intra- or intermolecular conformational probes in synthetic polypeptides.

The broad absorption maxima of the complexes lie between 350 and 490 nm, extinction coefficients are in the range reported for *charge transfer complexes*, 500 to 2000. Assignment of the long wavelength absorption to a charge transfer transition seems quite justified by the calculated values of energy coefficients (HMO-method) for the new class of *phthalimide acceptors* and the donors, as well as by the applicability of the BRIEGLER relationship between $h\nu_{max}$, ionisation energy, electron affinity, and distance between the planes of donor and acceptor in the complex between ethyl N^α-(4-nitrophthalyl)-glycinate and hexamethylbenzene. On the basis of absorption maxima, the relative acceptor strengths are: 4-nitrophthalimide > tetrachlorophthalimide > phthalimide.

Phthalyl, nitrophthalyl, and tetrachlorophthalyl derivatives of tryptophane, pentamethyl-phenylalanine, and *p*-dimethylamino-phenylalanine are colored compounds and behave like *intramolecular charge transfer complexes*.

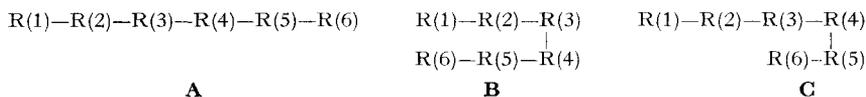
The syntheses of all required compounds are described. N-Ethoxycarbonyl derivatives of 4-nitrophthalimide and of tetrachlorophthalimide are used to prepare 4-nitrophthalyl and tetrachlorophthalyl derivatives of amino-acids.

1. Einleitung. – 1.1. *Polypeptid-Konformation und Seitenketteninteraktionen.* In freier Lösung oder für die Assoziation mit Substrat- und Rezeptor-Molekeln stehen einem gegebenen Polypeptid sehr viele Konformationsmöglichkeiten offen. Welche Konformation oder welche Konformationen unter bestimmten äusseren Umständen schliesslich verwirklicht werden, ist in hohem Masse eine Folge von anziehenden und abstossenden Interaktionen der Aminosäure-Seitenketten, und zwar untereinander, mit dem Polypeptid-Rückgrat, mit Lösungsmittelmolekeln und mit andern Teilchen, z.B. Substraten, Membranoberflächen usw. Daneben spielen natürlich auch Wasserstoffbrücken und Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zwischen Peptidbindungen innerhalb des Polypeptid-Rückgrates eine Rolle. Die sterischen und energetischen Konfor-

¹⁾ Diese Arbeit wurde vom SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG (Gesuch Nr. 3426) und von der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT in Basel unterstützt. Erste Mitteilung dieser Reihe, s. [1].

mationsdeterminanten eines Polypeptids (Übersichten s. z. B. [2]) sind also eindeutig durch dessen Primärstruktur, d. h. die Aminosäuresequenz gegeben. Da auch die biologische Aktivität eng mit der Primärstruktur verknüpft ist, darf man annehmen, dass die Festlegung der Konformationsmöglichkeiten durch die Aminosäuresequenz einen wichtigen Schritt bei der Übersetzung von Sequenzinformation in biologische Wirkung darstellt [3].

Welche Konformation oder welche Konformationen nimmt ein gegebenes Polypeptid in Lösung ein? Diese Frage ist experimentell noch nicht allgemein beantwortbar. Könnte man auf einfache Weise VAN-DER-WAALS-Kontakte zwischen den Seitenketten bestimmter Aminosäurereste feststellen oder ausschliessen, so wären damit schon wichtige Hinweise gegeben. Zur Illustration möge folgendes Schema einer Polypeptidkette mit Aminosäureresten R (zur Vereinfachung nur in einer Ebene und nur mit Winkeln von 180° und 90° dargestellt):



Polypeptid-Konformation und Seitenketteninteraktionen

R(1) bis R(6): verschiedene Aminosäurereste, bzw. deren Seitenketten **A**, **B**, **C**: verschiedene mögliche Konformationen

Liesse sich mit irgendeiner Methode eine intramolekulare Wechselwirkung zwischen R(1) und R(6) spezifisch nachweisen, eine solche zwischen R(3) und R(6) aber ausschliessen, so kämen nur Konformationen in Frage, die wie z. B. **B** die Reste R(1) und R(6) in Nachbarschaft bringen; andere, wie z. B. **A** und **C**, wären offenbar nicht verwirklicht. Die Auskunft könnte man noch verfeinern, wenn die Interaktion auch quantitativ erfasst werden könnte. Wenn man z. B. feststellen würde, dass R(6) sowohl zu R(1) als auch zu R(3) benachbart wäre, und zwar in einem bestimmten quantitativen Verhältnis, so müsste man auf ein Gleichgewicht zwischen den Konformationsmöglichkeiten **B** und **C** schliessen.

Die Methode könnte aber nicht nur zum Nachweis intramolekularer, sondern auch intermolekularer Seitenkettenbeziehungen dienen: erstere wären unabhängig vom Grad der Verdünnung, letztere aber konzentrationsabhängig.

1.2. *Seitenketteninteraktionen und Molekelkomplexe.* Seitenketten-Assoziat innerhalb von oder zwischen Polypeptiden kann man als Molekelkomplexe auffassen. Bei Assoziaten zwischen «neutralen» Seitenketten wie z. B. denjenigen von Valin, Methionin, Tyrosin usw. dürfte die Bildungsenergie hauptsächlich von VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen (Dipol-Dipol- und Dipol-induzierten Dipol-Interaktionen, sowie HEITLER-LONDON-Dispersionskräften) herrühren und in wässrigen Systemen durch «hydrophobe Kräfte» ganz entscheidend verstärkt werden (Entropievergrößerung des wässrigen Systems; Übersichtsarbeit [4]).

Ähnliche energetische Verhältnisse finden wir auch bei andern, besser untersuchten, oft farbigen und spektroskopisch leicht nachweisbaren Molekelkomplexen: den π -Molekelkomplexen, Elektronen-Donator-Acceptor-(EDA)-, oder Charge-Transfer-(CT)-Komplexen, wie sie oft genannt werden. Bei schwachen bis relativ starken Assoziaten mit $K \approx 0,2$ bis 15, eventuell bis 50, z. B. zwischen Aromaten und Tetracyanäthylen, scheint der überwiegende Teil der Komplexbildungsenergie im Grundzustand eben-

falls von VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen zu stammen; die Bindung durch «Elektronenüberführung» (charge transfer) vom Donator auf den Acceptor ist von untergeordneter Bedeutung [5]²⁾. Es ist anzunehmen, und es bestehen auch Anzeichen dafür (s. Fussnote 5), dass schwache EDA-Komplexe in *wässriger* Lösung eine ähnliche Stabilisierung erfahren wie Molekelkomplexe zwischen hydrophoben Aminosäure-Seitenketten.

Gelänge es nun, der einen von zweien an einem intra- oder intermolekularen Komplex teilnehmenden Aminosäuren-Seitenketten (z.B. R(1) im Schema, S. 460) durch Substitution Elektronen-Donator-Eigenschaften, der andern (z.B. R(6)) aber Elektronen-Acceptor-Eigenschaften zu verleihen, so würden unter geeigneten Bedingungen die sterischen und besonders die energetischen Verhältnisse gegenüber den ursprünglichen Seitenketten nur wenig geändert werden, hingegen liesse sich das Assoziat R(1) ... R(6) in **B** nun als typischer EDA-Komplex an seiner Farbe erkennen und auf Grund seiner spektroskopischen Eigenschaften näher charakterisieren³⁾.

Die Absorptionsbanden, welche für die Farbe der meisten EDA-Komplexe verantwortlich sind, erklärt man oft mit Elektronenübergängen aus besetzten Niveaus hoher Energie des Donators auf unbesetzte Niveaus niedriger Energie des Acceptors, nach Art einer intermolekularen Mesomerie [9] oder zwischen «supermolecular orbitals» [10] (neuere Übersichten bei BRIEGLER [11] und KOSOWER [12]). Energie und Wahrscheinlichkeit der Übergänge sind voraussichtlich vom Grad der Überlappung besetzter Donator- und unbesetzter Acceptor-Orbitale abhängig; d.h. die spektralen Eigenschaften eines Komplexes werden vom Abstand und der gegenseitigen räumlichen Orientierung von Donator und Acceptor abhängen. Leider weiss man über diese Zusammenhänge, die für unser Vorhaben wichtig sind, nicht sehr viel, denn es sind erst recht wenige *intramolekulare* EDA-Komplexe mit bekannter Geometrie untersucht worden [13–16].

Um also mit Hilfe von EDA-Komplexen inter- und intramolekulare Seitenketteninteraktionen bei Polypeptiden untersuchen zu können, müsste man

1. geeignete Aminosäuren oder Aminosäurederivate haben, deren Seitenketten miteinander nicht zu starke, spektroskopisch aber gut auswertbare EDA-Komplexe geben, und

2. das spektrale Verhalten solcher Komplexe in Abhängigkeit von der gegenseitigen räumlichen Lage von Donator- und Acceptor-Molekelteilen kennen, d.h. mittels Modellsubstanzen eingehend studieren.

Seit 1964⁴⁾ bearbeiten wir (mit äusserlich bedingten Unterbrechungen) dieses neue Gebiet; vorläufige Mitteilungen sind inzwischen erschienen [1] [17].

²⁾ Vgl. auch SCHNEIDER [6], der Komplexe zwischen Aromaten und polaren Molekeln wie CH₃CN und CHCl₃ NMR.-spektroskopisch untersucht hat.

³⁾ Dies gilt wahrscheinlich für Abstände von ca. 3–6 Å zwischen Donator und Acceptor; grössere Abstände könnte man unter gewissen Umständen mit Fluoreszenz-Methoden unter Zugrundlegung z. B. der FÖRSTER-Gleichung messen [7], wenn der eine Partner (z. B. der Donator) eine durch den andern löschrbare oder sensibilisierbare Fluoreszenz besässe (vgl. auch [8]).

⁴⁾ Herrn Prof. H. NEURATH verdankt der eine von uns (R. S.) eine Gastprofessur während des Jahres 1964 und grosszügige Arbeitsmöglichkeiten am Department of Biochemistry, University of Washington, Seattle, USA.

Im folgenden beschreiben wir orientierende Versuche mit neuartigen Acceptoren der Phthalimidreihe und Donatoren vom Typus des Tryptophans, des *p*-Dimethylamino-*L*-phenylalanins und des *ar*-Pentamethyl-*L*-phenylalanins.

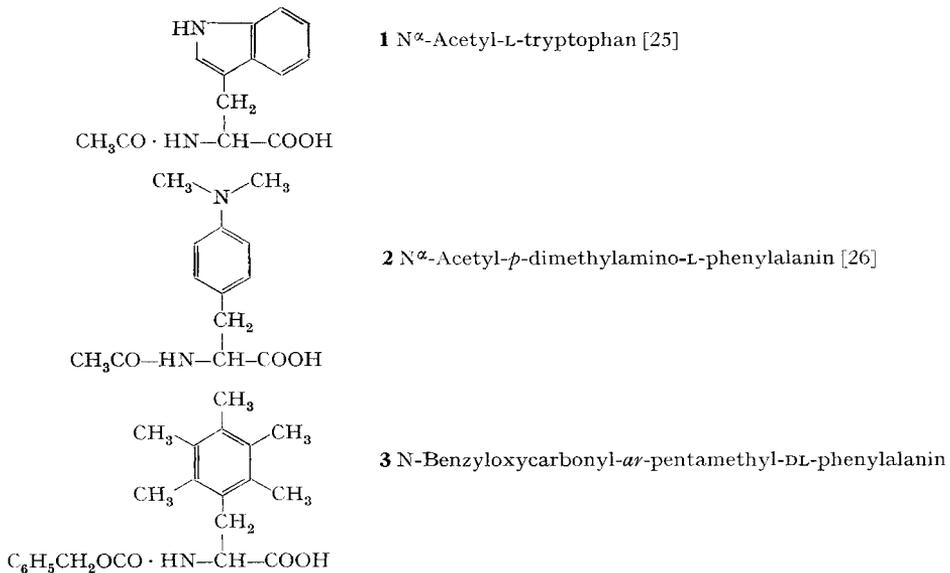
2. Suche nach geeignete Aminosäuren und Aminosäurederivaten mit Donator- und Acceptor-Eigenschaften. – 2.1. *Donatoren.* Natürliche Aminosäuren geben mit starken Acceptoren (z.B. Chloranil und Tetracyanäthylen) farbige EDA-Komplexe (SLIFKIN [18] und dort aufgeführte, frühere Publikationen); die gemeinsame Grundlage ist die Basizität freier Aminogruppen (Bildung von n, π -Komplexen; Klassifizierung s. BRIEGLEB [11], S. 5). Mit schwachen Acceptoren, z.B. mit den von uns verwendeten Phthalimiden, bilden Aminogruppen von α -Aminosäuren und von α, ω -Diaminosäuren keine sichtbaren EDA-Komplexe. Schützt man die Aminogruppen durch Acylierung (Acy-, *t*-Butoxycarbonyl-), so verschwindet ihre Donatoreigenschaft auch gegenüber starken Acceptoren und es bleibt nur noch diejenige gewisser Aminosäure-Seitenketten bestehen.

Als Donatoren kommen die Seitenketten folgender natürlicher Aminosäuren in Frage:

1. Tryptophan (Indol) [15] [19–21],
2. Tyrosin (Phenol) [15],
3. Phenylalanin (Benzol) [15],
4. Histidin (Imidazol) [15],
5. Methionin (Thiomethyläther) [15],
6. Cystin (Dialkyl-disulfid) [22].

Unter diesen ist Tryptophan der stärkste Donator und gibt als einzige Aminosäure auch mit schwachen Acceptoren für unsere Zwecke brauchbare Komplexe. Noch besser geeignet als Indol erwiesen sich in unseren Versuchen die bekannten Donatoren *N*-Dimethyl-*p*-toluidin (z.B. [23]) und Hexamethylbenzol (z.B. [24]). Wir haben deshalb neben Tryptophan auch *p*-Dimethylamino-phenylalanin und das bisher unbekannt Pentamethyl-phenylalanin in unsere ersten Versuche einbezogen.

N α -Acyl-aminosäuren mit Donator-Seitenketten



2.2. *Acceptoren*. Als einzige Aminosäure mit Acceptoreigenschaften der Seitenkette ist das Histidin bekannt. Die protonierte Imidazolgruppe gibt mit der Indolgruppe des Tryptophans Molekel-Verbindungen [27], die als EDA-Komplexe angesprochen wurden [28], obschon weder eine Färbung noch eine spektroskopisch auswertbare Absorptionsbande zu beobachten ist (vgl. auch [29]). Unter diesen Umständen kommt Histidin als Acceptor-Aminosäure für unsere Zwecke kaum in Betracht.

In Kombination mit Indol, N-Dimethylamino-*p*-toluidin und Hexamethylbenzol sind Nitrotoluol und *p*-Nitrophenylalanin [30] als Acceptoren eher zu schwach, um brauchbare EDA-Komplexe zu geben. Dasselbe gilt für Trinitrotoluol; ausserdem erwies sich das 2,4,6-Trinitrophenylalanin als schwer herstellbar. N-(2,4,6-Trinitrobenzoyl)-aminosäuren sind in Gegenwart von Donatoren chemisch instabil (eigene Versuche).

Da Tetrachlorphthalsäure-*anhydrid* als Acceptor bekannt ist [11], haben wir N-Tetrachlorphthalyl-Derivate von Glycin und andern Aminosäuren als Acceptoren untersucht [1] [17]. Tatsächlich erwiesen sich solche *Tetrachlorphthalimid*- und in noch stärkerem Masse *4-Nitrophthalimid*-Derivate als für unsere Zwecke geeignet. Lysin, Ornithin, Diaminobuttersäure und Diaminopropionsäure mit Tetrachlorphthalyl- und 4-Nitrophthalyl-Substituenten an den ω -Aminogruppen sind Aminosäurederivate mit typischen, hydrophoben Acceptor-Seitenketten.

Die Acceptoreigenschaften des Phthalimids werden von den Chlor- und Nitro-Substituenten beträchtlich erhöht; immerhin zeigte es sich, dass auch die unsubstituierte Phthalimidgruppe selbst, in Verbindung mit einem starken Donator wie *p*-Dimethylaminophenylalanin, ein recht brauchbarer Acceptor ist.

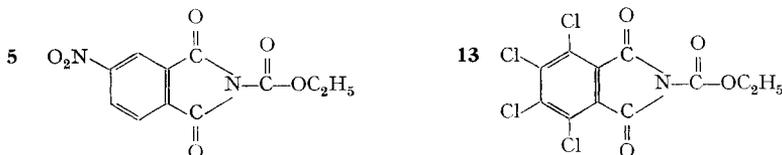
Da einfache Acceptormolekeln auf Phthalimidbasis (also ohne grössere, wasserlösliche Polypeptidketten) nur in organischen, weniger aber in wässrigen Lösungsmitteln gelöst werden können, haben wir auch einige wasserlösliche Acceptoren studiert [31]. Sehr gut bekannt sind solche vom Typus der N-Alkylpyridinium-Salze [12] [14] [15] [20] [32].

Im Rahmen unserer orientierenden Versuche haben wir EDA-Komplexe von N-Acetyltryptophan mit den Acceptoren 1-Methyl-3-carbamyl-pyridinium-chlorid, 1-Benzyl-3-carbamyl-pyridinium-chlorid, 1-Methyl-4-cyano-pyridinium-chlorid und Nicotinamid-adenosin-dinucleotid (NAD) untersucht und relativ starke Komplexbildung⁵⁾ beobachtet. Über das Verhalten solcher Acceptoren (und über deren Einbau in Aminosäuren) soll in späteren Arbeiten berichtet werden, vgl. z.B. [31].

3. Synthesen. – 3.1. *4-Nitrophthalyl- und Tetrachlorphthalyl-aminosäuren*. Zur Einführung der 4-Nitrophthalyl- und der Tetrachlorphthalyl-Gruppen in die Aminofunktion von Aminosäuren eignen sich das N-Äthoxycarbonyl-4-nitro-phthalimid (**5**) und das N-Äthoxycarbonyl-tetrachlorphthalimid (**13**), welche wir in Analogie zum entsprechenden Derivat des Phthalimids [33] herstellten. Beide Reagentien sind wegen der Substitution gegenüber Hydrolyse und Alkoholyse (Vorsicht beim Umkristallisieren!) weni-

⁵⁾ Es ist noch nicht klar, ob dies auf eine Stabilisierung des Komplex-Grundzustandes durch hydrophobe Kräfte oder durch spezifische Assoziationskräfte (starke COULOMB- oder Dipol-Dipol-Wechselwirkungen?) zwischen Donator und Acceptor zurückzuführen ist. Jedenfalls ist die Assoziationskonstante von der gleichen Grössenordnung ($K = \text{ca. } 4,5 \text{ bis } 10$) wie bei einer hydrophoben Bindung; beim Übergang zur alkoholischen Lösung ist auch der erwartete Abfall um eine Zehnerpotenz festzustellen.

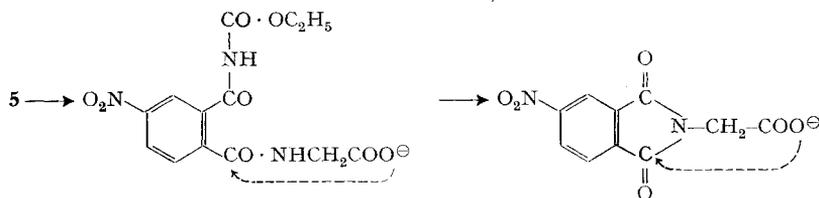
ger stabil als N-Äthoxycarbonyl-phtalimid. Infolgedessen reagieren sie zwar einwandfrei mit Aminosäureestern und deren Acetaten in organischen Lösungsmitteln (Exp. Teil, **10**, **12**) oder Wasser (**7**), geben aber beim Umsatz mit freien Aminosäuren in wässrig-alkalischer Lösung oft nur unbefriedigende Ausbeuten.



Offenbar tritt in diesem Falle eine durch die Carboxylatgruppe der Aminosäure inter- oder intramolekular katalysierte [34] Hydrolyse entweder des fertig gebildeten Imid-Ringes oder eines Phtalsäurediamid-Zwischenproduktes [35] nach Schema 1 ein.

Schema 1

(→ erwünschter Reaktionsweg; → intramolekularer Angriff der Carboxylatgruppe, der zu Nebenreaktionen führt)



N-(4-Nitroptalyl)-glycin (**8**) konnten wir nur über den Umweg über den Methyl-ester **7** mit anschliessender Säurehydrolyse, welche den 4-Nitroptalimidring intakt lässt, herstellen. Das freie 4-Nitroptalyl-glycin liess sich sowohl mit Di-(*p*-nitrophenyl)-sulfid [36] als auch mit *p*-Nitrophenol und Dicyclohexyl-carbodiimid [37] in den *p*-Nitrophenylester **9** verwandeln.

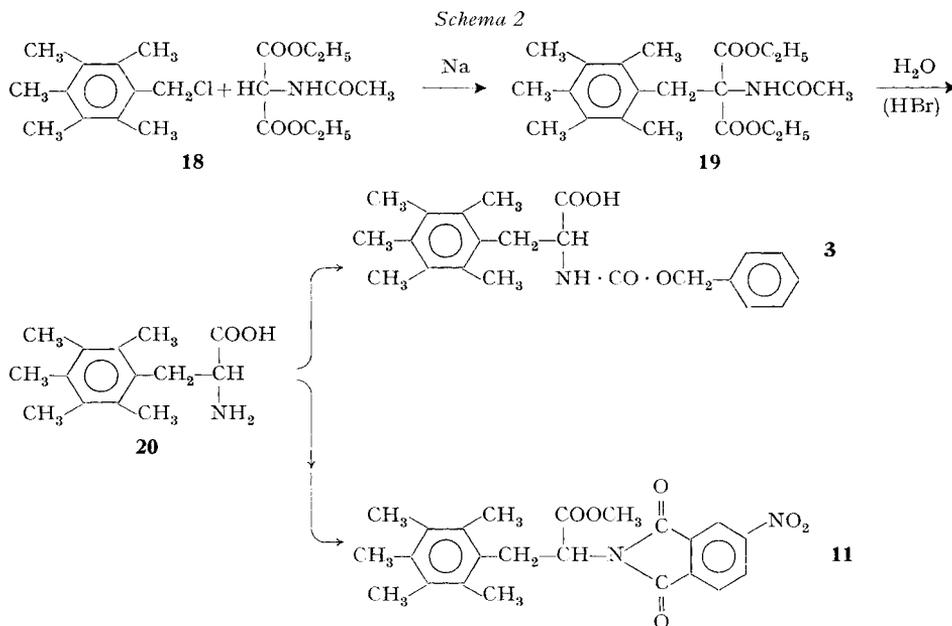
In Tabelle 1 sind einige Derivate des 4-Nitroptalimids und des Tetrachlorptalimids aufgeführt; sie wurden nach den im experimentellen Teil geschilderten allgemeinen Verfahren hergestellt. Die Verbindungen wurden auch mittels ihrer Infrarot-Spektren charakterisiert. Alle 4-Nitroptalyl- und Tetrachlorptalyl-Derivate von Aminosäureestern sind an den Imidcarbonyl-Absorptionsbanden (1780–1783 und 1745 bis 1752 cm^{-1}) und der Estercarbonyl-Bande (1720–1730 cm^{-1}) erkennbar; erstere auch an einer scharfen Bande bei 1530–1540 cm^{-1} (Ar-NO_2).

3.2. DL-*ar*-Pentamethyl-phenylalanin (**20**) haben wir nach Schema 2 synthetisiert. Pentamethylbenzylchlorid (**18**) stellten wir aus Pentamethylbenzol mittels Chlor-methyl-methyl-äther und Zinntetrachlorid analog der Methode von MERRIFIELD [38] her, wobei wir eine um 80° tiefer schmelzende Modifikation erhielten, die sich aber in die höher schmelzende umwandeln liess. – Umsatz mit Acetamidomalonsäure-diäthylester nach ALBERTSON und ARCHER [39] ergab α -Acetamido- α -pentamethylbenzylmalonsäure-diäthylester (**19**), der als Rohprodukt mit 48-proz. HBr zu DL-Pentamethyl-phenylalanin (**20**) verseift wurde. Dieses hat man mit Chlorameisensäurebenzylester in das Benzoyloxycarbonyl-Derivat **3** und (nach Veresterung mit Methanol-Thionylchlorid [40] mit N-Äthoxycarbonyl-4-nitro-ptalimid (**5**) in das 4-Nitroptalyl-Derivat **11** übergeführt.

Tabelle 1. 4-Nitrophenyl-(Npt=) und Tetrachlorphenyl-(Tcp=) Derivate

Nr.	Verbindung	Aussehen, Summenformel	Krist. aus	Smp. °C	Mol.-Gew.	Analyse			
						C	H	N	Cl
4	Npt=(NH ₂) ^{a)} [52]	fl. Kr. ^{b)} C ₈ H ₆ N ₂ O ₄	Aceton-Wasser	200,5–201,5	192,19	59,26	3,73	17,28	
5	Npt=N-CO-OEt ^{c)}	fl. Kr. C ₁₁ H ₈ N ₂ O ₆	Aceton-Diisopropyläther	120–121,5	264,20	50,01	3,05	10,60	
6	Npt=Gly-OEt ^{d)}	fl. Kr. C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O ₆	Äthanol-Wasser	80–81,5	275,22	51,81	3,63	10,06	
7	Npt=Gly-OMe	fl. Kr. C ₁₁ H ₈ N ₂ O ₆	Methanol-Wasser	120–121,5	264,20	50,01	3,46	10,25	
8	Npt=Gly-OH	fl. Kr. C ₁₀ H ₆ N ₂ O ₆	Äther-Petroläther	191–193	202,13	49,78	3,33	10,68	
9	Npt=Gly-ONp	fl. Kr. C ₁₆ H ₉ N ₃ O ₈	Äthanol	156–158	371,26	51,76	2,44	11,32	
10	Npt=Trp-OMe (L)	orange Kr. C ₂₀ H ₁₅ N ₃ O ₆	Äthanol-Wasser (60°)	135–137	393,36	61,07	3,84	10,68	
11	Npt=Phe(Me ₂)·OMe (DL) ^{e)}	gelbe Kr. C ₂₃ H ₂₄ N ₂ O ₆	Äthanol-Wasser (60°)	162–165	424,46	65,08	5,70	6,60	
12	Npt=Phe(-NMMe ₂)·OMe (L) ^{f)}	violette Kr. C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₆	Methanol-Wasser (60°)	145–146	397,40	60,45	4,82	10,58	
13	Tcp=N-CO-OEt ^{g)}	fl. Kr. C ₁₁ H ₅ Cl ₄ NO ₄	Aceton-Diisopropyläther	180–182	357,00	37,01	1,41	10,30	39,72
14	Tcp=Gly-OMe	fl. Kr. C ₁₁ H ₅ Cl ₄ NO ₄	Methanol	183–184	357,00	37,01	1,41	3,92	39,75
15	Tcp=Met-OMe (L)	fl. Kr. C ₁₄ H ₁₁ Cl ₄ NO ₄ S	Methanol-Wasser	120–121,5	431,14	37,24	1,68	4,01	39,97
16	Tcp=Trp-OMe (L)	gelbe Kr. C ₂₀ H ₁₅ Cl ₄ N ₂ O ₄	Methanol-Wasser (60°)	201,5–202	486,16	49,41	2,49	3,35	7,16
17	Tcp=Phe(-NMMe ₂)-OMe (L)	rote Kr. C ₂₀ H ₁₆ Cl ₄ N ₂ O ₄	Methanol-Wasser (60°)	162–163	490,20	49,53	2,67	5,84	28,87

a) 4-Nitrophenalimid
 b) farblose Kristalle
 c) N-Äthoxycarbonyl-4-nitro-phtalimid
 d) Abkürzungen von Aminosäuren und deren Derivaten vgl. z. B. European J. Biochem. 7, 375 (1967)
 e) Phe(Me₂) = *α*-Pentamethyl-phenylalanin
 f) Phe(-NMMe₂) = *p*-Dimethylamino-phenylalanin
 g) N-Äthoxycarbonyl-tetrachlorphtalimid
 h) Nicht Cl, sondern S



4. Elektronen-Donator-Acceptor-Komplexe zwischen Derivaten von 4-Nitroptalimid bzw. Tetrachloptalimid und verschiedenen Donatoren. – 4.1. *Intramolekulare Komplexe.* Die 4-Nitroptalyl- und Tetrachloptalyl-Derivate des L-Tryptophanmethylesters (**10**, **16**) und des L-*p*-Dimethylamino-phenylalanin-methylesters (**12**, **17**), das 4-Nitroptalyl-derivat des DL-Pentamethyl-phenylalanin-methylesters (**11**), aber auch der N-Phtalyl-L-*p*-dimethylamino-phenylalanin-methylester (hergestellt nach [30]) sind farbige Verbindungen (violett, orange, gelb [1]), obwohl die beiden aromatischen Zentren nicht durch Konjugation, sondern über zwei gesättigte Kohlenstoffatome miteinander verbunden sind. Offenbar handelt es sich um Beispiele von «intramolekularen EDA-Komplexen» [1], ähnlich wie die von SHIFRIN [14] untersuchten Verbindungen vom Typus der N-(Aryl-äthyl)-pyridinium-chloride. Insbesondere gehorchen die langwelligen Absorptionsbanden dem LAMBERT-BEER'schen Gesetz. Über diese und andere intramolekulare EDA-Komplexe werden wir in späteren Arbeiten eingehend berichten.

4.2. *Intermolekulare Komplexe.* Vereinigt man Lösungen unserer Donatoren und Acceptoren, so entsteht eine gelbe bis braune Farbe, die besonders gut beim Ineinanderfliessen zweier Tropfen auf Fliesspapier zu beobachten ist. Im Spektrum treten neue Absorptionsbanden auf, die sich entweder als Schultern oder als breite, getrennte Banden niedriger Intensität an die langwellige Absorption der Komponenten anschliessen.

Handelt es sich dabei um Absorptionsbanden von Molekel-Komplexen? Diese Frage ist von grundsätzlicher Bedeutung im Hinblick auf eine praktische Verwendung zur Bestimmung von Seitenketten-Interaktionen. Zu ihrer Beantwortung haben wir die in Tabelle 2 mit X angegebenen Donator-Acceptor-Kombinationen in verschiedenen Konzentrationen und Lösungsmitteln und bei verschiedenen Temperaturen

spektroskopisch untersucht. Spektren der mit X* bezeichneten Kombinationen finden sich in Fig. 1–6. Die Resultate sind in den Tabellen 3 und 4 zusammengefasst. Alle Versuche sprechen eindeutig für das Vorliegen schwacher Elektronen-Donator-Acceptor-Komplexe.

Tabelle 2. *Genauer untersuchte Donator-Acceptor-Kombinationen, X*
(Spektren von X* in Fig. 1–6)

Donatoren	Acceptoren		
	4-Nitro-phtalimid 4	4-Nitrophtalyl-glycin-äthylester 6	Tetrachlorphtalyl-glycin-methylester 14
<i>Einfache Donatoren</i>			
Hexamethylbenzol	X	X*	X*
N, N-Dimethylanilin	X	X	
N, N-Dimethyl- <i>p</i> -toluidin	X*	X	X*
Indol	X	X*	X*
<i>«Seitenketten-Donatoren»</i>			
Z-Phe(Me ₂)-OH (3)	X	X	
Ac-Phe(NMe ₂)-OH (2)	X	X	
Ac-Trp-OH (1)		X	

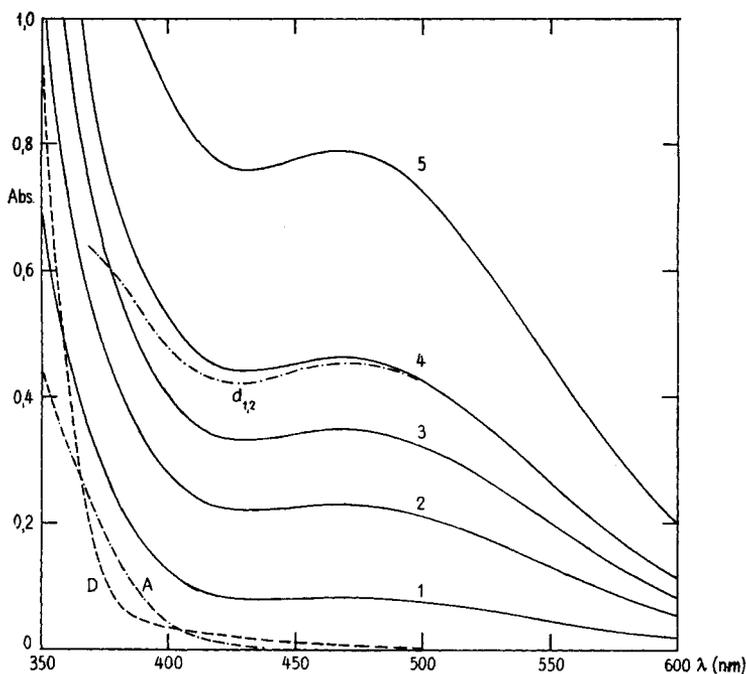


Fig. 1. Langwellige Absorption des Komplexes aus 4-Nitrophtalimid (A) plus N,N-Dimethyl-*p*-toluidin (D) in Äthanol bei 25°

A: $c_1^\circ = 2,58 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, konstante Konzentration für alle Kurven 1 bis 5; D: $c_2^\circ = 0,837 \text{ M}$ (reiner Donor); 1: $c_2^\circ = 0,085 \text{ M}$; 2: $c_2^\circ = 0,256 \text{ M}$; 3: $c_2^\circ = 0,426 \text{ M}$; 4: $c_2^\circ = 0,596 \text{ M}$; 5: $c_2^\circ = 1,380 \text{ M}$; $d_{1,2}$: Spektrum des Komplexes nach (1), ausgehend von Kurve 4.

4.2.1. *Spektren, relative Acceptor- und Donatorstärken*: Fig. 1–6 zeigen Spektren, die mit den drei Acceptoren und einfachen Donatoren (Tab. 2) bei gleichbleibenden Acceptor-, aber verschiedenen, z.T. sehr hohen Donator-Konzentrationen, erhalten wurden. Die übrigen in Tab. 2, 3 und 4 genannten Kombinationen ergeben prinzipiell ähnliche Bilder; in einzelnen Fällen konnten allerdings wegen geringerer Löslichkeit der Donatoren nicht so hohe Konzentrationen erzielt werden. Die Schultern oder breiten Maxima der neuen Absorptionsbanden liegen zwischen ca. 350 und 490 nm. Ihre Intensitäten lassen sich in völlig reversibler Weise durch Verdünnung oder Temperaturänderung beeinflussen, was auf ein Gleichgewicht zwischen freien und assoziierten Molekeln hinweist. In andern von uns untersuchten Fällen, bei denen der EDA-Komplexbildung eine chemische Reaktion überlagert ist (z.B. bei Acceptoren wie 2,4,6-Trinitrobenzoyl-glycin-äthylester), ändern sich λ_{max} und Absorption mit der Zeit, und die Färbung wird irreversibel.

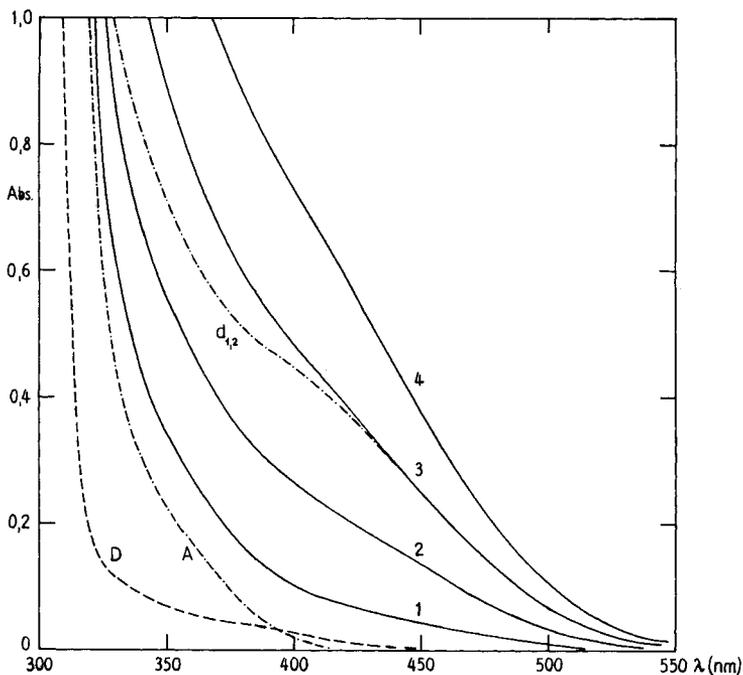


Fig. 2. Langwellige Absorption des Komplexes aus 4-Nitrophenyl-glycin-äthylester (A) plus Indol (D) in Chloroform bei 25°

A: $c_1^\circ = 1,28 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, konstante Konzentration für alle Kurven 1 bis 4; D: $c_2^\circ = 0,854 \text{ M}$ (reiner Donor); 1: $c_2^\circ = 0,085 \text{ M}$; 2: $c_2^\circ = 0,339 \text{ M}$; 3: $c_2^\circ = 0,762 \text{ M}$; 4: $c_2^\circ = 1,670 \text{ M}$; $d_{1,2}$: Spektrum des Komplexes nach (1), ausgehend von Kurve 3

Die genaue Form der Absorptionsbande, welche durch die Komplexbildung hervorgerufen wird (Komplex-Absorptionsbande), errechnet sich als Differenz zwischen der totalen Absorption und der Absorption der nicht im Komplex gebundenen Donator- und Acceptor-Molekeln (s. Gleichung (1), exp. Teil). Mit grösseren Absorptionsinkrementen der freien Komplex-Komponenten gegen kürzere Wellen hin werden die Re-

sultate unsicherer; wir haben deshalb nur den langwelligen Teil der Komplex-Absorptionsbanden dargestellt (oberhalb etwa 340–360 nm, strichpunktierte Kurven in Fig. 1–6).

Die Absorption der Komplexe scheint aus mindestens zwei Banden zusammengesetzt zu sein. Eine Auflösung der neuen Bandensysteme in Anteile, die einerseits auf Änderung lokaler Excitationen, andererseits aber auf Elektronenüberführung im

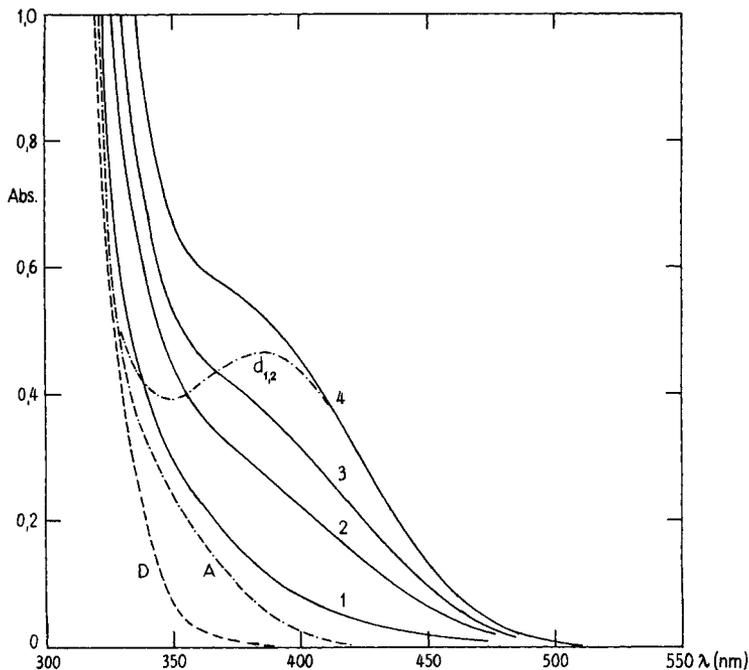


Fig. 3. Langwellige Absorption des Komplexes aus 4-Nitroptalyl-glycin-äthylester (**A**) plus Hexamethylbenzol (**D**) in Chloroform bei 25°

A: $c_1^\circ = 1,28 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, konstante Konzentration für alle Kurven 1 bis 4; **D**: $c_2^\circ = 1,210 \text{ M}$ (reiner Donor); 1: $c_2^\circ = 0,116 \text{ M}$; 2: $c_2^\circ = 0,448 \text{ M}$; 3: $c_2^\circ = 0,672 \text{ M}$; 4: $c_2^\circ = 1,010 \text{ M}$; $d_{1,2}$: Spektrum des Komplexes nach (1), ausgehend von Kurve 4

Komplex beruhen, lässt sich im Moment nicht durchführen. Wir nehmen aber an (obwohl dies für praktische Zwecke unwesentlich ist), dass gewisse Teile der neuen Absorption (ev. die langwellige Bande) durch Elektronenüberföhrungs-Übergänge bedingt seien, da nämlich die Energie-Eigenwerte (-Koeffizienten) x_j [41] der höchsten besetzten und der niedrigsten unbesetzten Orbitale unserer Donatoren, resp. Acceptor, zwischen etwa +0,5 und -0,5 liegen [1]. Dieser Bereich wird als charakteristisch für gute Elektronenüberföhrungs- (charge transfer)-Komplexbildner angesehen [42].

Nimmt man die Wellenlänge des langwelligen Maximums (Elektronenüberföhrungsbande) als relatives Mass für die «Acceptorstärke» [43], so finden wir die Reihenfolge 4-Nitroptalyl- > Tetrachlorptalyl- > Phtalyl-, sowohl gegenüber Hexamethylbenzol (Maxima in HCCl_3 ca. 385, 360 und 300 nm) als auch N,N-Dimethyl-*p*-toluidin

(ca. 485, 469 und 350–400 nm). Als relative «Donatorstärken» erhalten wir *Hexamethylbenzol* > *Benzoyloxycarbonyl-pentamethyl-DL-phenylalanin* gegenüber 4-Nitrophtalyl-glycin-äthylester (Maxima in HCCl_3 ca. 384 und 370 nm), und *N,N-Dimethyl-p-toluidin* > *N $^{\alpha}$ -Acetyl-p-dimethylamino-L-phenylalanin* > *N,N-Dimethylanilin* sowohl gegenüber 4-Nitrophtalyl-glycin-äthylester (Maxima in Äthanol ca. 474, 458 und 445 nm) als auch gegenüber 4-Nitrophtalimid (ca. 470, 450 und 435 nm). Es ist hier nicht beabsichtigt, sterische und elektronische Effekte, die offenbar beide für diese Sequenzen verantwortlich sind, näher zu untersuchen; es sei einzig auf die acceptorverstärkende Rolle der Nitro- und Chlor-Substituenten sowie auf den donatorverstärkenden Einfluss der *ar*-Methyl- bzw. *ar*-Methylen-Gruppen (bei den *N,N*-Dimethylaminophenyl-Verbindungen) hingewiesen. Unter denselben Voraussetzungen erwies sich Indol in unseren Systemen leider als sehr schwacher Donator (nicht separierbare Schulter bei höchstens ca. 380 nm), dessen Spektren sich aber gut reproduzieren liessen.

Wenn wir annehmen, dass der Komplex zwischen Hexamethylbenzol und 4-Nitrophtalyl-glycin-äthylester in Chloroform zum π,π -Typ gehört und infolgedessen die beiden aromatischen Ringe flach aufeinander liegen, lässt sich die BRIEGLEB'sche Beziehung ([11], S. 38) zwischen Absorptionsmaximum, Ionisierungsenergie des Donators, Elektronenaffinität des Acceptors und mittlerem Abstand zwischen Donator-

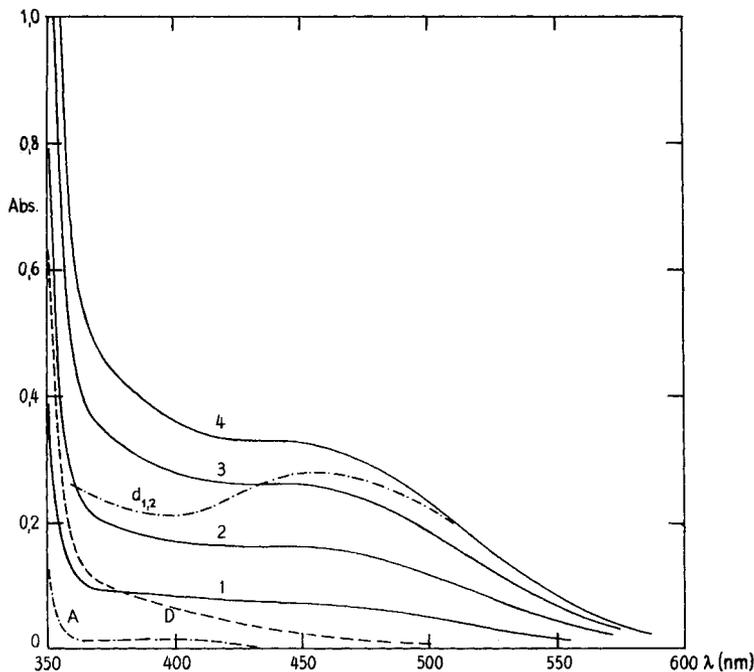


Fig. 4. Langwellige Absorption des Komplexes aus Tetrachlorphtalyl-glycin-methylester (A) plus *N,N*-Dimethyl-*p*-toluidin (D) in Essigester bei 25°

A: $c_1^\circ = 6,50 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, konstante Konzentration für alle Kurven 1 bis 4; D: $c_2^\circ = 1,110 \text{ M}$ (reiner Donor); 1: $c_2^\circ = 0,224 \text{ M}$; 2: $c_2^\circ = 0,674 \text{ M}$; 3: $c_2^\circ = 1,384 \text{ M}$; 4: $c_2^\circ = 2,067 \text{ M}$; $d_{1,2}$: Spektrum des Komplexes nach (1), ausgehend von Kurve 4

und Acceptor-Ebenen anwenden. Die notwendigen Parameter (ausser Abstand) sind nämlich für diese Kombination bekannt oder sie lassen sich abschätzen. Es ergibt sich aus $\lambda_{max} = 383 \text{ nm}$ ein mittlerer Abstand von $3,4 \text{ \AA}$ [1], der in dem für Elektronenüberführungskomplexe charakteristischen Bereiche liegt. Obschon man sich auf diesen berechneten Abstand nicht absolut verlassen kann, zeigt doch die Anwendbarkeit der Formel die Analogie zwischen diesem und andern EDA-Komplexen.

4.2.2. *Gleichgewichtskonstanten und Extinktionskoeffizienten*: Bei allen Kombinationen unserer Donatoren und Acceptoren werden *schwache* Molekelkomplexe gebildet. Die Werte von Gleichgewichtskonstanten (K) und Extinktionskoeffizienten ($\epsilon_{1,2}$) sowie deren Produkte ($K \cdot \epsilon_{1,2}$), die sich aus den spektroskopischen Versuchen errechnen

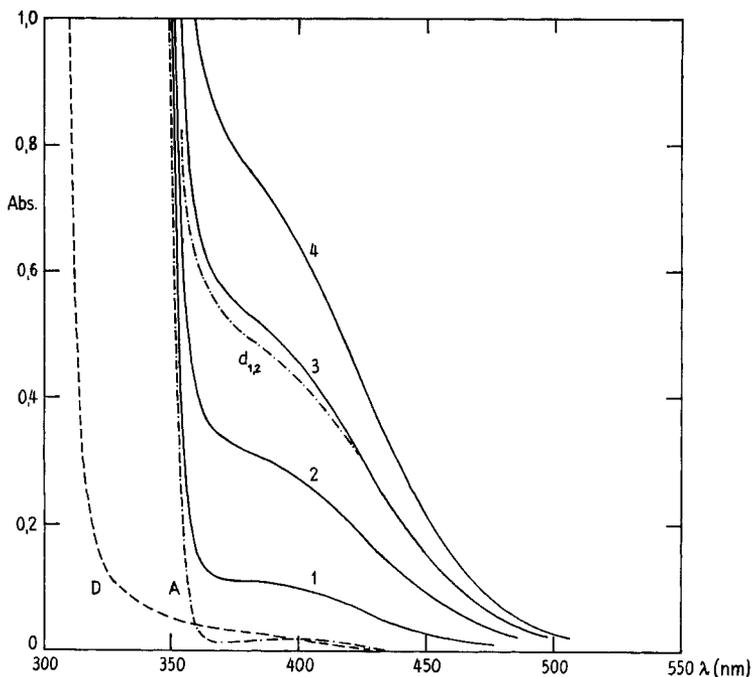


Fig. 5. Langwellige Absorption des Komplexes aus Tetrachlorphthalyl-glycin-methylester (A) plus Indol (D) in Chloroform bei 25°

A: $c_1^\circ = 9,78 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, konstante Konzentration für alle Kurven 1 bis 4; D: $c_2^\circ = 0,853 \text{ M}$ (reiner Donor); 1: $c_2^\circ = 0,086 \text{ M}$; 2: $c_2^\circ = 0,342 \text{ M}$; 3: $c_2^\circ = 0,768 \text{ M}$; 4: $c_2^\circ = 1,707 \text{ M}$; $d_{1,2}$: Spektrum des Komplexes nach (1), ausgehend von Kurve 3

lassen, sind deshalb relativ ungenau (Streuungen bis $\pm 20\%$), besonders wenn der erreichbare Grad der Sättigung (\bar{s}_{max}) der unterschüssigen Komplexbildungskomponente (Acceptor) mit überschüssiger Komponente (Donator) wegen beschränkter Löslichkeit klein ist (s. exp. Teil, 5.3.). Bei Versuchen mit $\bar{s}_{max} < \sim 0,1$ wird die Trennung von K und $\epsilon_{1,2}$ nach den hier verwendeten Verfahren (Abs. 5.3.) sehr fragwürdig (vgl. auch dazu PERSON [44]), weshalb wir in solchen Fällen nur die (etwas genauer bestimmbar [45]) Werte $K \cdot \epsilon_{1,2}$ angeben, obwohl auch diese bei kleinem \bar{s}_{max} ausserordentlich ungenau werden können (Tab. 4).

Fig. 7 ist ein Beispiel für die graphische Auswertung spektroskopischer Versuche nach Gleichung (2) (s. S. 479). Neben den numerischen Werten für K , $\varepsilon_{1,2}$ und $K \cdot \varepsilon_{1,2}$ werden daraus folgende erwähnenswerte Eigenschaften der Komplexbildung zwischen 4-Nitroptalimid und *N,N*-Dimethyl-*p*-toluidin ersichtlich:

a) Bei 25° ändert sich K mit der Wellenlänge kaum (im Gegensatz zu andern Komplexen [5]); insbesondere ist K bei 469 nm und 530 nm gleich (Parallelität der Geraden).

b) K ändert sich mit der Temperatur (verschiedene Steigungen der Geraden: $K_{13^\circ} > K_{25^\circ} > K_{50^\circ}$).

c) Der Wert des Extinktionskoeffizienten ist unabhängig von der Temperatur (die Geraden für 13°, 25° und 50° schneiden sich auf der x -Achse).

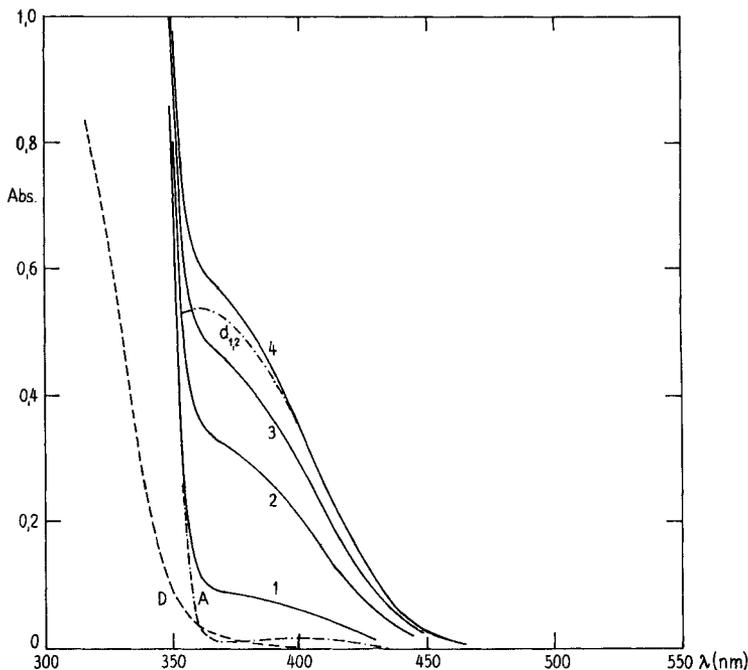


Fig. 6. Langwellige Absorption des Komplexes aus Tetrachlorphthalyl-glycin-methylester (A) plus Hexamethylbenzol (D) in Chloroform bei 25°

A: $c_{1^\circ} = 9,52 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, konstante Konzentration für alle Kurven 1 bis 4; D: $c_{2^\circ} = 1,230 \text{ M}$ (reiner Donor); 1: $c_{2^\circ} = 0,114 \text{ M}$; 2: $c_{2^\circ} = 0,458 \text{ M}$; 3: $c_{2^\circ} = 0,606 \text{ M}$; 4: $c_{2^\circ} = 1,029 \text{ M}$; $d_{1,2}$: Spektrum des Komplexes nach (1), ausgehend von Kurve 4

d) Alle Punkte liegen im gemessenen Bereich der Sättigungsgrade ($0,05 < \bar{s} < 0,5$) innerhalb der Fehlergrenzen auf Geraden. Dies deutet, zusammen mit c), auf das Vorliegen einfacher 1:1-Komplexe hin. Starke kooperative Bindung sowie multiple Bindungen mit unterschiedlichen K -Werten ergäben gekrümmte Kurven (multiple Bindungen mit *gleichem* K sind allerdings nicht auszuschließen, da die Krümmung eventuell erst im Bereiche von $\bar{s} \approx 0,75$ sichtbar würde).

Tabelle 3. Spektroskopische und thermodynamische Angaben über EDA-Komplexe verschiedener Donatoren mit Aczeptoren des Phthalimid-Typs (25°C)

Acceptor	Donator	Lösungsmittel	λ_{max} nm ± 5 nm	$K \cdot \epsilon_{1,2}$	K l/mol	$\epsilon_{1,2}$	ΔG° kcal/mol	ΔH° kcal/mol	$T \Delta S^\circ$ kcal/mol	\bar{s}_{max}^a
4-Nitroptalyl- glycin-äthylester (6)	N,N-Dimethyl- <i>p</i> -toluidin	Äthanol	475	400	0,6	700	+0,3	-1,7	-2,0	0,41
	Indol	HCCl ₃ *	Schulter ^{b)}	660	0,97	670	0	-1,8	-1,8	0,6
4-Nitroptalimid (4)	N,N-Dimethyl- <i>p</i> -toluidin	Äthanol*	470	410	0,65	630	+0,3	-2,3	-2,6	0,5
Tetrachlorptalyl-	Hexamethylbenzol	HCCl ₃	~360	860	0,4	2100	+0,6	-2,1	-2,7	0,3
glycin-methylester (14)	N,N-Dimethyl- <i>p</i> -toluidin	HCCl ₃	470	350	0,4	880	+0,5			0,33
		Essigester*	455	540	0,9	~620	+0,2	-0,6	-0,8	0,6
Indol	Essigester	HCCl ₃	Schulter ^{b)}	760	1,2	650	-0,1	-2,0	-1,9	0,67
		Essigester	Schulter ^{b)}	550	0,8	680	+0,1			0,32

a) \bar{s}_{max} ist der maximale im betr. Experiment erreichte Sättigungsgrad.

b) Bezugswellenlänge: 420 nm

*) Mittelwerte aus zwei Experimenten

Tabelle 4. Spektroskopische Angaben über EDA-Komplexe verschiedener Donatoren mit Aczeptoren des Phthalimid-Typs (25°C)^{a)}

Acceptor	Donator	Lösungsmittel	λ_{max} nm ± 5 nm	$K \cdot \epsilon_{1,2}$ l./Mol	$\epsilon_{1,2}$	\bar{s}_{max}
4-Nitroptalyl-glycin- äthyl-ester (6)	Hexamethylbenzol	Aceton	372	730	(0,1)	(3000)
		HCCl ₃	385	370		0,1
		Essigester	375	730		< 0,1
	Benzoyloxycarbonyl-pentamethyl- phenylalanin (3)	Äthanol	370	1200		< 0,1
		HCCl ₃	370	250		< 0,1
	N,N-Dimethylanilin	Äthanol	445	320	(0,6)	(530)
		Propylencarbonat	471	180	(0,3)	(700)
	N,N-Dimethyl- <i>p</i> -toluidin	Dimethylformamid*)	465	130	(0,1)	(1000)
		H ₂ CCl ₂	485	160		< 0,1
		HCCl ₃	485	160		< 0,1
Dioxan		472	140		< 0,1	
Äthanol		458	420	(0,7)	(650)	
N ^α -Acetyl- <i>p</i> -dimethylamino- phenylalanin (2)	Indol	Dimethylformamid*)	Schulter ^{c)}	150		< 0,1
	Aceton	Schulter ^{c)}	200		< 0,1	
	Dioxan	Schulter ^{c)}	180	(0,2)	(1000)	
N ^α -Acetyl-tryptophan (1)	Dimethylformamid	Schulter ^{c)}	170		< 0,1	
	Dioxan	Schulter ^{c)}	184		< 0,1	
	Essigester	370	1200		< 0,1	
4-Nitroptalimid (4)	Hexamethylbenzol	Äthanol	368	1400	(2,8)	(500)
	Benzoyloxycarbonyl-pentamethyl- phenylalanin (3)	Äthanol	435	320	(0,6)	(530)
N ^α -Acetyl- <i>p</i> -dimethylamino- phenylalanin (2)	Indol	Äthanol	450	420		< 0,1
	Essigester	Schulter ^{c)}	190		< 0,1	
Phthalyl-glycin-methylester	N,N-Dimethyl- <i>p</i> -toluidin	Essigester	Schulter ^{d)}	90		< 0,1

a) Experimente mit $\bar{s}_{max} < 0,3$, also grossen Fehlern in $K \cdot \epsilon$, K und ϵ , vgl. 5.3.b) Die berechneten Werte von K und ϵ sind in Klammern gesetzt, um ihren höchst approximativen Charakter zu betonen.

c) Bezugswellenlänge: 420 nm d) Mittelwerte aus zwei Experimenten

Mit Ausnahme des Komplexes zwischen N-Benzoyloxycarbonyl-pentamethylphenylalanin und 4-Nitrophtalimid (K in Äthanol $\sim 2,8?$; Bindungsbeitrag der Benzoyloxycarbonyl-Gruppe?) liegen alle bestimmbar K -Werte in den verschiedenen Lösungsmitteln zwischen etwa 0,1 und 1,2 (Tab. 3 und 4). Wir haben keine systematische Untersuchung über die Abhängigkeit der Gleichgewichtskonstante vom Lösungsmittel oder von der Konstitution der Komplextelnehmer angestrebt; vorläufig genügt uns die Feststellung der Grössenordnung von K (s. 4.2.3.).

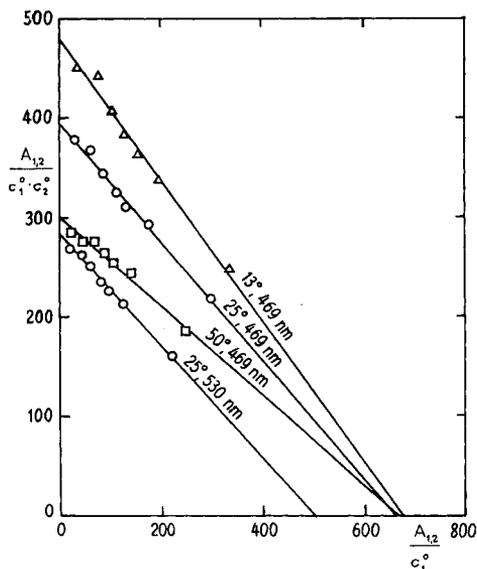


Fig. 7. Auswertung des Komplexes 4-Nitroptalimid plus *N,N*-Dimethyl-*p*-toluidin in Äthanol nach Gleichung (2)

y -Achsenabschnitt = ${}^{\circ}K \cdot \epsilon_{1,2}$, Steigung = $-{}^{\circ}K$; x -Achsenabschnitt = $\epsilon_{1,2}$. Die Werte bei 25° sind der Fig. 1 entnommen.

Die Extinktionskoeffizienten bei den Maxima der langwelligen Banden liegen im Bereiche der auch bei andern EDA-Komplexen gefundenen Werte [43], nämlich zwischen etwa 500 und 2000 (Tab. 3).

4.2.3. *Enthalpie und Entropie der Komplexbildung*: Die Temperaturabhängigkeit der Komplexbildungskonstanten (bzw. von $K \cdot \epsilon_{1,2}$ ⁶⁾) ergibt Komplexbildungsenthalpien (zur Hauptsache aus VAN-DER-WAALS-Interaktionen und der Differenz der Solvationsenthalpien von Komponenten und Komplex im Grundzustand zusammengesetzt) zwischen $(-)$ 0,5 und $(-)$ 2,5 kcal/Mol, also durchaus im Bereiche von Interaktionen zwischen aromatischen und aliphatischen Aminosäuren-Seitenketten. So wurde für die VAN-DER-WAALS-Interaktionen (ohne Berücksichtigung der Solvationsenthalpien) zwischen zwei Phenylalanin-Seitenketten $Z_R E_R \sim (-)$ 3 kcal/Mol, zwischen zwei Isoleucin-Seitenketten $\sim (-)$ 0,75 und zwischen zwei Alanin-Seitenketten $\sim (-)$ 0,3 kcal/Mol angenommen [4] [47]. Unsere Werte sind auch vergleichbar

⁶⁾ $\epsilon_{1,2}$ ist weitgehend unabhängig von den benötigten Temperaturänderungen, s. Fig. 7, was u. a. auch für Komplexe mit Trinitrobenzol nachgewiesen wurde [46].

mit der intramolekularen Interaktionsenthalpie zwischen aromatischer Seitenkette und Dioxopiperazin-Ring in verschiedenen *cyclo*-Dipeptiden vom Typus des *cyclo*-Glycyl-tyrosins; diese beträgt in verschiedenen Lösungsmitteln (Trifluoressigsäure, Dimethylsulfoxid- d_6 und Deuteriumoxid) im Mittel $\sim (-)3$ kcal/Mol [48].

Die Komplexbildungsentropie ist in den hier verwendeten organischen Lösungsmitteln negativ; $T \cdot \Delta S$ liegt bei 25° zwischen $(-)0,8$ und $(-)2,7$ kcal/Mol. Der Energieaufwand für diesen Gewinn an Ordnung der Systeme gleicht die negative Enthalpie ungefähr aus, was aus den kleinen Gleichgewichtskonstanten und den Komplexbildungsenergien der Grössenordnung 0 bis $(+)1$ kcal/Mol hervorgeht.

Es wird interessant sein zu untersuchen, ob bei Komplexen dieser Art, die mit wasserlöslichen Gruppen ausgerüstet sind, ein starker «hydrophober» Entropiegewinn bei der Komplexbildung in wässriger Lösung beobachtet werden kann (s. Fussnote 5).

5. Experimenteller Teil

5.1. Chemische Verbindungen. – Smp. wurden in einer Kapillare im Smp.-Apparat nach Dr. TOTTOLI der Fa. BÜCHI bestimmt und sind nicht korrigiert. Mikroanalysen verdanken wir der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT in Basel (Dr. PADOWETZ).

Für die Spektralaufnahmen verwendeten wir käufliche *Lösungsmittel* spektroskopischer oder analytischer Qualität. Das Chloroform enthielt 1% Äthanol als Stabilisator; dieses beeinflusst nach FOSTER und THOMSON [49] die Assoziationskonstanten nicht.

Indol (*puriss.* FLUKA) wurde mit Chloroform über neutrales Aluminiumoxid (WOELM) chromatographiert und bei 51° im Hochvakuum sublimiert. *Hexamethylbenzol* (*p. anal.* EASTMAN) und *N,N*-Dimethyl-*p*-toluidin (*p. anal.* FLUKA) wurden ohne weitere Reinigung verwendet.

Für die Herstellung gebräuchlicher Derivate von Aminosäuren (Ester usw.) als Zwischenprodukte sei auf GREENSTEIN und WINITZ [50] sowie SCHRÖDER und LÜBKE [51] verwiesen.

4-Nitrophthalimid (**4**) (modifizierte Darstellung nach BOGERT und BOROSHEK [52]): 21,11 g (100 mMol) 4-Nitrophthalsäure und 8,025 g (150 mMol) Ammoniumchlorid wurden miteinander verrieben und in einer Retorte zuerst 1 Std. unter Atmosphärendruck, dann 1 Std. bei 10–15 Torr. auf 225° (Ölbad) erhitzt. Das feste Reaktionsgemisch hat man fein zerrieben und aus 500 ml 99-proz. Äthanol umkristallisiert. Das Produkt wurde auf der Nutsche mit kaltem Wasser gewaschen, um Ammoniumchlorid zu entfernen: 13,49 g (70,2% d. Th.), Smp. 198–199°. Aus den Mutterlauge, die man mit Wasser versetzte, hat man weitere 1,57 g (8,2%) des Imids gewonnen. Analysenpräparat aus Aceton-Wasser kristallisiert.

N-Äthoxycarbonyl-*4-nitro*-phtalimid (**5**): 3,156 g (16,42 mMol) 4-Nitrophthalimid wurden in 50 ml Aceton gelöst und unter heftigem Rühren mit einer Lösung von 921 mg (16,42 mMol) Kaliumhydroxid in 15 ml 99,9-proz. Äthanol tropfenweise versetzt. Der voluminöse, sehr feine Niederschlag von 4-Nitrophthalimid-kalium wurde auf einem grossen, mit Filterpapier versehenen BÜCHNER-Filter (Glasfilternutschen werden verstopft) abfiltriert und mit Aceton gewaschen: 3,3 g (87,37%) Kalium-Salz.

9,741 g (42,3 mMol) 4-Nitrophthalimid-kalium hat man in 40 ml Dimethylformamid suspendiert und bei -5° bis 0° tropfenweise mit 4,59 ml (5,22 g; 4,8 mMol) Chlorameisensäure-äthylester versetzt. Man liess das Gemisch noch 1 Std. bei 20° stehen und goss es dann unter starkem Rühren in 350 ml kaltes Wasser hinein, worauf das Rohprodukt auskristallisierte (9,87 g, Smp. 110–114,5°). Umkristallisieren aus Essigester-Petroläther oder (besser) aus Aceton-Diisopropyläther: 9,24 g (82,62%).

N-(*4-Nitrophthalyl*)-glycin-methylester (**7**): 0,753 g Glycin-methylester-hydrochlorid und 1,716 g Na_2CO_3 , $10\text{H}_2\text{O}$ (je 6 mMol) wurden in 10 ml Wasser gelöst und mit 1,452 g (5,6 mMol) *N*-Äthoxycarbonyl-*4-nitro*phtalimid versetzt. Unter Rühren setzte sich das schwerlösliche Reagens mit dem Aminosäureester um. Nach $1\frac{1}{2}$ Std. hat man den Niederschlag abgenutscht, mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus Methanol-Wasser umkristallisiert: 0,939 g (63,5% Ausbeute). – Die Verbindung ist isomer mit *N*-Äthoxycarbonyl-*4-nitro*phtalimid und besitzt denselben Smp. Dagegen ist sie im Gegensatz zu dieser in Äther löslich. Der Misch-Smp. zeigt erhebliche Depression. Glycin

lässt sich nach Verseifen mit 6N HCl auf dem Dünnschichtchromatogramm mit Silicagel und *n*-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:1 *v/v*) nachweisen und durch semiquantitativen Vergleich in der richtigen Menge bestimmen.

N-(4-Nitrophenyl)-glycin (**8**): 200 mg **7** wurden mit 2,5 ml 2N HCl während 1 $\frac{1}{4}$ Std. auf 100 bis 105° erhitzt. Nach dem Abkühlen konnte man 128 mg (83,8% Ausbeute) farbloser Kristalle, Smp. 188–192°, isolieren. Zur Analyse hat man das Produkt aus Äther-Petroläther umkristallisiert.

N-(4-Nitrophenyl)-glycin-*p*-nitrophenylester (**9**): – a) Mit Di-(*p*-nitrophenyl)-sulfit: 1,7 g (8,4 mMol) 4-Nitrophenyl-glycin hat man in einem Gemisch von 17 ml Essigester und 1,34 ml (16,8 mMol) Pyridin suspendiert. Danach wurden 2,73 g (8,4 mMol) Di-(*p*-nitrophenyl)-sulfit zugegeben, wobei man sofort eine klare Lösung erhielt. Reaktion 3 Std. bei 50°, Aufarbeitung mit Essigester, Natriumhydrogencarbonat, Salzsäurelösung und Wasser. Kristallisation aus Alkohol: 0,775 g (24,8%); Ausbeute schlecht wegen der Natriumhydrogencarbonat-Stufe!).

b) Mit Dicyclohexyl-carbodiimid: 1,7 g (8,4 mMol) Glycin, 1,29 g (9,26 mMol) *p*-Nitrophenol und 1,91 g (9,26 mMol) Dicyclohexyl-carbodiimid hat man während 1 Std. bei 0° und 3 Std. bei 25° in 30 ml Essigester reagieren lassen. Aufarbeitung nach Entfernung des ausgeschiedenen Dicyclohexyl-harnstoffs wie oben: 0,977 g (31,2% Ausbeute).

N^α-(4-Nitrophenyl)-*p*-dimethylamino-*L*-phenylalanin-methylester (**12**): 600 mg (2,88 mMol) *p*-Dimethylamino-*L*-phenylalanin [Herstellung nach BERGEL und STÖCK [30], Smp. 211–212°, $[\alpha]_D^{25} = +11,4^\circ$ ($c = 1,0$; 80-proz. Essigsäure)] hat man in einem auf –5° bis –10° gekühlten Gemisch von 30 ml Methanol und 1,04 ml (14,4 mMol) Thionylchlorid aufgelöst und die Lösung 15 Std. bei ca. 20° aufbewahrt. Die klare Lösung wurde eingedampft; den farblosen Rückstand hat man mit Eiswasser, Essigester und Ammoniak geschüttelt, den organischen Extrakt (nach Trocknen und Einengen auf ca. 20 ml) auf –10° gekühlt und direkt mit 888 mg *N*-Äthoxycarbonyl-4-nitro-phtalimid (**5**) umgesetzt (1 Std. 0°, 5 Std. 20°). Die dunkelrote Lösung verdampfte man, löste den Rückstand in 30 ml 0,2N HCl und entfernte Neutralprodukte durch Ausschütteln mit Essigester. Das gewünschte Produkt isolierte man aus der mit Soda alkalisch gemachten Wasserphase mittels Essigester: 799,4 mg Rohprodukt, Smp. 60–62°. Kristallisation aus Methanol-Wasser (zweimal): 458,2 mg (40,1%) violette Nadeln.

N-Äthoxycarbonyl-tetrachlorphtalimid (**13**): Tetrachlorphtalimid [53] wurde zu Tetrachlorphtalimid-kalium [54] umgesetzt. 7,8 g (24,3 mMol) des Salzes hat man in 80 ml Dimethylformamid unter Rühren suspendiert und bei –10° mit 3,30 ml (3,75 g; 34,6 mMol) Chlorameisensäure-äthylester versetzt, wobei die Temperatur auf 0° anstieg. Nach 1 Std. bei ca. 0° und 4 Std. bei ca. 25° goss man die schwach grün gefärbte Mischung in 280 ml Wasser. Den farblosen Niederschlag hat man abgenutscht und mit Wasser gründlich gewaschen (Smp. 178–180°). Umkristallisation aus 500 ml Äthanol ergab starke Verluste; man erhielt nur 4,19 g (48,3%) *N*-Äthoxycarbonyl-tetrachlorphtalimid, Smp. 180–182° (Zers.). Die Verluste lassen sich (wie bei der Herstellung von *N*-Äthoxycarbonyl-4-nitro-phtalimid) vermeiden, wenn man z. B. aus Essigester-Petroläther oder Aceton-Diisopropyläther umkristallisiert.

N-Tetrachlorphenyl-*L*-methionin-methylester (**15**): 800 mg (4 mMol) *L*-Methionin-methylesterhydrochlorid hat man in 10 ml Wasser gelöst und mit 25 ml Essigester überschichtet. Die wässrige Phase wurde mit 4N Kaliumcarbonat-Lösung alkalisch gemacht (Phenolphthalein) und mit Kochsalz gesättigt. Nun hat man 5mal mit je 25 ml Essigester ausgeschüttelt, die Essigester-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet und auf ca. 30 ml eingengt. Diese Lösung wurde auf –5° gekühlt und mit 1,0 g (4 mMol) *N*-Äthoxycarbonyl-tetrachlorphtalimid versetzt, welches unter Rühren sehr langsam in Lösung ging. Nach 15 Std. bei 25° hat man die Lösung zur Trockene verdampft: kristalliner Rückstand (1,47 g, Smp. 105–109°). Umkristallisieren aus Äthanol und aus Methanol-Wasser: 0,91 g (54,5% auf Met·OCH₃, HCl berechnet).

Pentamethylbenzylchlorid (**18**): 6,0 g Pentamethylbenzol hat man in 25 ml Chloroform gelöst, auf 0° gekühlt und mit der Lösung von 1 ml Zinntetrachlorid in 6,5 g Chlormethyl-methyl-äther versetzt. Nach 16 Std. bei 0–3° wurde mit Wasser und Chloroform aufgearbeitet: 6,52 g (77,3%) Rohprodukt. Kristallisation (2×) aus Petroläther: 6,01 g (75,3%), Smp. 80–82,5° (Lit.: 161–165° [38]).

C₁₂H₁₇Cl (196,72) Ber. C 73,27 H 8,71 Cl 18,02% Gef. C 73,42 H 8,55 Cl 17,77%

Aus späteren Ansätzen wurde auch die höher schmelzende Modifikation erhalten.

ar-Pentamethyl-DL-phenylalanin (bzw. -hydrobromid) (**20**): Man löste 403 mg Natrium und 3,8 g Acetamidomalonsäure-diäthylester in 90 ml Äthanol (abs.), gab 3,65 g Pentamethylbenzylchlorid zu und kochte 20 Std. unter Rückfluss. Kühlen, filtrieren, verdampfen. Kristallisation aus Essigester-Petroläther: 4,7 g (68%) roher α -Acetamido- α -pentamethylbenzyl-malonsäure-diäthylester (**19**), Smp. (99°) 112–114° (125°).

3 g dieser Verbindung wurden in 300 ml 48-proz. Bromwasserstoffsäure unter sehr starkem Rühren suspendiert und 30 Std. unter Rückfluss gekocht. Dabei verklumpte ein wesentlicher Teil des Ausgangsmaterials und wurde nicht verseift (man verwendete es wieder in späteren Ansätzen). Die Reaktionsmischung filtrierte man noch heiss und kühlte das Filtrat auf 3°, wobei 1,3 g *Pentamethyl-DL-phenylalanin-hydrobromid*, Smp. 270°, auskristallisierten. Die freie Aminosäure konnte man durch Neutralisation mit Ammoniak bis pH = 6,5 von wässrigen Lösungen sowohl dieses Salzes als auch des Rückstandes, der nach Verdampfen der HBr-Mutterlaugen der Kristallisation verblieb, gewinnen (im letzteren Falle ca. 60 mg). Smp. 229–230°.

$C_{14}H_{21}NO_2$ (235,33) Ber. C 71,45 H 9,00 N 5,95% Gef. C 71,23 H 9,06 N 5,85%

N-Benzyloxycarbonyl-*ar*-pentamethyl-DL-phenylalanin (**3**): 158 mg Pentamethyl-DL-phenylalanin-hydrobromid hat man unter Erwärmen in 8 ml 0,5N NaOH gelöst und auf 0° gekühlt (da dabei das Natriumsalz der Aminosäure auskristallisierte, wurden die weiteren Umsetzungen bei 20° vorgenommen). Man liess zu diesem Gemisch unter Konstanthaltung des pH-Wertes (10,5) die Lösung von 170 mg Chlorameisensäure-benzylester in 1 ml *t*-Butanol tropfen. Nach 1 Std. bei 20° wurde aufgearbeitet. Man entfernte überschüssige Neutralprodukte mit Äther, säuerte die wässrige Phase mit 2N HCl auf pH = 2 an und sammelte das auskristallisierte Produkt: 170 mg (92%). Umkristallisieren (2×) aus Äthanol-Wasser: 156 mg (84%), Smp. (176°) 180–181°.

$C_{22}H_{27}NO_4$ (369,47) Ber. C 71,52 H 7,37 N 3,79% Gef. C 71,74 H 7,43 N 3,69%

N-(4-Nitrophenyl)-*ar*-pentamethyl-DL-phenylalanin-methylester (**11**): Etwa 400 mg Pentamethyl-DL-phenylalanin hat man mit einer Lösung von 600 mg Thionylchlorid und 30 ml Methanol bei –10° gemischt und nach 1/2 Std. während 15 Std. unter Rückfluss gekocht. Man verdampfte die Lösung zur Trockene und kristallisierte den Rückstand aus Methanol-Äther um. Das erhaltene Salz (342 mg) schüttelte man mit Essigester und K_2CO_3 -Lösung (ca. 4N). Nach Trocknen und Einengen behandelte man den Rückstand mit einer Lösung von 320 mg Äthoxycarbonyl-4-nitrophenylimid in 20 ml Essigester. Nach 3 Tagen bei Zimmertemperatur hat man in üblicher Weise aufgearbeitet und das Produkt zuerst aus Essigester-Petroläther, dann dreimal aus Äthanol- H_2O umkristallisiert (warme Lösung in Äthanol in die 10- bis 15-fache Menge Wasser bei 60–70° einlaufen lassen, gut rühren): 160 mg.

5.2. Aufnahme der Spektren. – Die Spektren wurden mit einem Spektrophotometer BECKMAN, Mod. DK2A, aufgenommen; Eichung der Wellenlängenskala mit einer Hg-Lampe (ULTRAVIOLET PRODUCTS, INC.). Thermostatisierung der Zellen auf $\pm 0,2^\circ$; bei Temperaturen unter Zimmertemperatur wurde das Cuvetten-Abteil mit trockenem N_2 gespült, um Taubildung zu verhindern. Die totalen Konzentrationen der unterschüssigen Komponenten (c_{1°) lagen zwischen $0,6$ und $7 \cdot 10^{-3}M$; diejenigen der überschüssigen Komponenten (c_{2°) wurden, wenn immer möglich, mindestens 10mal so gross gemacht, um die Bedingung $c_{2^\circ} \gg c_{1,2}$ der Gleichungen (2) und (3) zu erfüllen ($c_{1,2}$ = Konzentration des Komplexes). Die Messlösungen wurden entweder durch Vermischen von Stammlösungen des Donators und des Acceptors oder durch Zugabe der reinen, unverdünnten Überschusskomponente zur Lösung der konstanten Komponente (Berücksichtigung der Verdünnung!) hergestellt. Die Resultate stimmten dabei innerhalb der Fehlergrenzen überein. Für eine Konzentration c_{1° wurden zwischen 6 und 10 Spektren mit verschiedenen c_{2° aufgenommen (in Fig. 1–6 sind etliche Kurven weggelassen). Die Absorption wurde auf die Basislinie bezogen.

5.3. Auswertung der Spektren. – Die Komplexabsorption $A_{1,2}$ folgt im Bereiche der Absorption der Komponenten 1 und 2 der Gleichung:

$$A_{1,2} = A - (c_{1^\circ} - c_{1,2}) \cdot \epsilon_1 - (c_{2^\circ} - c_{1,2}) \cdot \epsilon_2. \quad (1)$$

Dabei ist A die gemessene Absorption bei der betr. Wellenlänge; ϵ_1 und ϵ_2 sind die Extinktionskoeffizienten der Komponenten 1 und 2. Im Gebiete, wo neben dem Komplex nur noch Komponente 2 absorbiert, und da c_{2° viel grösser ist als $c_{1,2}$, vereinfacht sich (1) zu: $A_{1,2} = A - c_{2^\circ} \cdot \epsilon_2$.

Im langwelligen Ast, wo weder Komp. 1 noch Komp. 2 Eigenabsorption aufweisen, ist eine Korrektur unnötig: $A_{1,2} = A$.

K , $\epsilon_{1,2}$ und $K \cdot \epsilon_{1,2}$ wurden im langwelligen Bereiche der neu auftretenden Komplex-Absorptionsbande mit den einfachen Beziehungen (2), nach FOSTER, HAMMICK und WARDLEY [55], oder (3), nach BENESI und HILDEBRAND [56], bestimmt:

$$\frac{A_{1,2}}{c_{1^{\circ}} \cdot c_{2^{\circ}}} = K \left(\epsilon_{1,2} - \frac{A_{1,2}}{c_{1^{\circ}}} \right); \quad c_{2^{\circ}} \gg c_{1,2}, \quad (2)$$

$$\frac{c_{1^{\circ}}}{A_{1,2}} = \frac{1}{\epsilon_{1,2}} + \frac{1}{K \cdot \epsilon_{1,2} \cdot c_{2^{\circ}}}; \quad c_{2^{\circ}} \gg c_{1,2}. \quad (3)$$

$K = c_{1,2}/c_1 \cdot c_2$ ist die Gleichgewichtskonstante der Komplexbildungsreaktion in Liter pro Mol; c_1 und c_2 sind die Konzentrationen der unkomplexierten Komp. 1 und 2, $\epsilon_{1,2}$ ist der Extinktionskoeffizient des EDA-Komplexes. Beziehung (2) wurde der Bez. (3) vorgezogen, da bei der Auswertung nach (3) die ungenaueren Messpunkte bei niederen Konzentrationen $c_{2^{\circ}}$ statistisch zu stark gewichtet werden; bei (2) ist der Gewichtfaktor für konstante Inkremente von A gleich 1 [57]. Die Daten wurden bei verschiedenen Wellenlängen und Temperaturen graphisch dargestellt (z.B. Fig. 7); Ordinatenabschnitt und Steigung wurden mittels linearer Regression berechnet.

Die Fehler von $K \cdot \epsilon_{1,2}$ und K sind abhängig von K und vom höchsten, erreichten Sättigungsgrad $\bar{s} = c_{1,2}/c_{1^{\circ}}$ und können nur aus mehreren gleichen Experimenten erhalten werden [57]. Doppelt ausgeführte Versuche (* in Tab. 3 und 4) erlauben nur grobe Schätzungen der zu erwartenden Genauigkeit: bei $0,3 < K < 1$ gilt für $K \cdot \epsilon_{1,2}$ etwa ± 5 bis $\pm 10\%$, für K und $\epsilon_{1,2}$ etwa ± 10 bis $\pm 20\%$; für $K < 0,3$ sind noch grössere Fehler zu erwarten. Diese Fehler beziehen sich nur auf die experimentelle Streuung der Werte; sie sind wohl nur ein Teil des gesamten Fehlers von $K \cdot \epsilon$, K oder ϵ .

5.4. Wahl der Lösungsmittel. – Die Lösungsmittel-Auswahl war wegen der Löslichkeiten unserer Komplex-Komponenten beschränkt. Wir mussten deshalb von besonders geeigneten Lösungsmitteln wie z. B. Hexan absehen und solche verwenden, die polar sind und deshalb mit Aromaten relativ gute, kompetitive Komplexe geben (s. SCHNEIDER [6]). Die Beeinflussung von K beim Übergang von EDA-Komplexen des Trinitrobenzols aus Cyclohexan in Chloroform oder Methylenechlorid ist schon beobachtet worden [46]; trotz der Eigenschaften solcher Lösungsmittel als *sigma*-Donatoren (Chloroform, Ionisationsenergie, $I_D = 11,4$ eV [58]) oder *n*-Donatoren (Dioxan [59], Äthanol, $I_D = 10,5$ eV [60]) dürfte dieser spezielle Umstand im Vergleich zur VAN-DEER-WAALS-Beziehung nicht wesentlich zur eben erwähnten kompetitiven Wirkung auf K beitragen. Unsere Resultate sind in Tab. 3 und 4 innerhalb der Donator-Acceptor-Gruppen nach fallender Polarität der Lösungsmittel auf der E_T -Skala [61] angeordnet.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J.-P. CARRIÓN, B. DONZEL, D. DERANLEAU, K. ESKO, P. MOSER & R. SCHWYZER, Proc. VIII. Europ. Peptide-Symposium, September 1966, Noordwijk, S. 177 (North-Holland Publ. Co., 1967).
- [2] J. A. SCHELLMAN & C. SCHELLMAN, in «The Proteins» II (H. NEURATH, Ed.), Academic Press, New York, 2. Auflage 1964; W. F. HARRINGTON, R. JOSEPHS & D. M. SEGAL, Ann. Rev. Biochem. 35, 599 (1966).
- [3] R. SCHWYZER, Pure appl. Chemistry 6, 265 (1963).
- [4] G. NÉMETHY, Angew. Chem. 79, 260 (1967).
- [5] M. J. S. DEWAR & C. C. THOMPSON, JR., Tetrahedron, Suppl. 7, 97 (1966).
- [6] W. G. SCHNEIDER, J. phys. Chemistry 66, 2653 (1962); J. V. HATTON & W. G. SCHNEIDER, Canad. J. Chemistry 40, 1285 (1962).
- [7] TH. FÖRSTER, Naturwiss. 33, 166 (1946); Z. Elektrochem. 64, 157 (1960); S. A. LATT, H. T. CHEUNG & E. R. BLOUT, J. Amer. chem. Soc. 87, 995 (1965); L. STRYER & R. P. HAUGLAND, Proc. natl. Acad. Sci. USA 58, 719 (1967).
- [8] M. SHINITZKY & R. GOLDMAN, European J. Biochem. 3, 139 (1967).

- [9] R. S. MULLIKEN, *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 600 (1950); **74**, 811 (1952); *J. chem. Physics* **19**, 514 (1951); *J. phys. Chemistry* **56**, 801 (1952).
- [10] I. A. HILLIER, L. GLASS & ST. A. RICE, *J. Amer. chem. Soc.* **88**, 5063 (1966).
- [11] G. BRIEGLEB, «Elektronen-Donator-Acceptor-Komplexe», Springer-Verlag, Berlin, 1961.
- [12] E. M. KOSOWER, «Molecular Biochemistry», McGraw-Hill Book Co., New York 1962.
- [13] W. N. WHITE, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 2912 (1959).
- [14] S. SHIFRIN, *Biochim. biophysica Acta* **81**, 205 (1964); **96**, 173 (1965).
- [15] S. SHIFRIN, *Biochemistry* **3**, 829 (1964).
- [16] M. SHINITZKY & E. KATCHALSKI, in B. PULLMAN, Ed., «Molecular Association in Biology», Academic Press, New York, im Druck.
- [17] R. SCHWYZER, *Angew. Chem.* **79**, 425 (1967).
- [18] M. A. SLIFKIN, *Spectrochim. Acta* **20**, 1543 (1964).
- [19] B. PULLMAN & A. PULLMAN, *Proc. natl. Acad. Sci. USA* **44**, 1197 (1958).
- [20] G. CILENTO & P. GIUSTI, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 3801 (1959); G. CILENTO & P. TEDESCHI, *J. biol. Chemistry* **236**, 907 (1961).
- [21] A. SZENT-GYÖRGYI, I. ISENBERG & J. McLAUGHLIN, *Proc. natl. Acad. Sci. USA* **57**, 1089 (1961).
- [22] W. M. MOREAU & K. WEISS, *Nature* **208**, 1203 (1965); *J. Amer. chem. Soc.* **88**, 204 (1966).
- [23] H. TSUBOMURA, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 40 (1960).
- [24] G. BRIEGLEB & J. CZEKALLA, *Z. Elektrochem.* **59**, 184 (1965).
- [25] V. DU VIGNEAUD & R. R. SEALOCK, *J. biol. Chemistry* **96**, 511 (1932).
- [26] F. BERGEL & J. A. STOCK, *J. chem. Soc.* **1959**, 90.
- [27] M. SHINITZKY, E. KATCHALSKI, V. GRISARO & N. SHARON, *Arch. Biochem. Biophysics* **116**, 332 (1966).
- [28] M. SHINITZKY & R. GOLDMAN, *European J. Biochem.* **3**, 139 (1967).
- [29] M. D. BENTLEY & M. S. DEWER, *Tetrahedron Letters* **50**, 5043 (1967).
- [30] F. BERGEL & J. A. STOCK, *J. chem. Soc.* **1954**, 2409.
- [31] H. BOSSHARD, D. DERANLEAU, P. MOSER & R. SCHWYZER, in Vorbereitung.
- [32] E. M. KOSOWER, in «The Enzymes» III, 171 (P. BOYER, H. LARDY & K. MYRBÄCK, Eds.), Academic Press, New York 1960; *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 3497 (1956).
- [33] G. H. L. NEFKENS, G. I. TESSER & R. J. F. NIVARD, *Rec. Trav. chim. Pays-Bas* **79**, 688 (1960).
- [34] P. D. HOAGLAND, *J. Amer. chem. Soc.* **89**, 1392 (1967).
- [35] R. SCHWYZER, B. DONZEL, U. LUDESCHER & P. MOSER, in Vorbereitung.
- [36] B. ISELIN, W. RITTEL, P. SIEBER & R. SCHWYZER, *Helv.* **40**, 379 (1957).
- [37] M. BODANSZKY & V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 5688 (1959).
- [38] R. B. MERRIFIELD, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 2149 (1963).
- [39] N. F. ALBERTSON & S. ARCHER, *J. Amer. chem. Soc.* **67**, 308 (1945).
- [40] M. BRENNER, H. R. MÜLLER & R. W. PFISTER, *Helv.* **33**, 568 (1950); M. BRENNER & W. HUBER, *Helv.* **36**, 1109 (1953).
- [41] A. STREITWIESER, JR., «Molecular Orbital Theory for Organic Chemists», Wiley & Sons, New York 1961; E. HEILBRONNER & P. STRAUB, «Hückel Molecular Orbitals», Springer-Verlag, Berlin 1966.
- [42] A. SZENT-GYÖRGYI, «Introduction to a Submolecular Biology», Academic Press, New York 1960; A. R. LEPLEY & J. P. THELMAN, *Tetrahedron* **22**, 101 (1966).
- [43] G. BRIEGLEB, *Angew. Chem.* **76**, 326 (1964).
- [44] W. B. PERSON, *J. Amer. chem. Soc.* **87**, 167 (1965).
- [45] P. H. EMSLIE, R. FOSTER, C. A. FYFE & I. HORMAN, *Tetrahedron* **21**, 2843 (1965); N. M. D. BROWN, R. FOSTER & C. A. FYFE, *J. chem. Soc. (B)* **1967**, 406.
- [46] C. C. THOMPSON, JR. & P. A. D. DE MAINE, *J. phys. Chemistry* **69**, 2766 (1965).
- [47] G. NÉMETHY & H. A. SCHERAGA, *J. phys. Chemistry* **66**, 1773 (1962).
- [48] K. D. KOPPLE & D. H. MARR, *J. Amer. chem. Soc.* **89**, 6193 (1967).
- [49] R. FOSTER & T. J. THOMSON, *Trans. Faraday Soc.* **69**, 2287 (1963).
- [50] J. P. GREENSTEIN & M. WINITZ, «Chemistry of the Amino Acids» Vol. II, Wiley & Sons, Inc., New York 1961.
- [51] E. SCHRÖDER & K. LÜBKE, «The Peptides», Academic Press Inc., New York 1965.
- [52] M. T. BOGERT & L. BOROSHEK, *J. Amer. chem. Soc.* **23**, 740 (1901).
- [53] D. S. PRATT & G. A. PECKNIS, *J. Amer. chem. Soc.* **38**, 205 (1918).

- [54] C. F. H. ALLEN & G. R. V. v. NICHOLLS, J. Amer. chem. Soc. *56*, 1409 (1936).
 [55] R. FOSTER, D. L. HAMMICK & A. A. WARDLEY, J. chem. Soc. *1953*, 3817.
 [56] H. A. BENESI & J. R. HILDEBRAND, J. Amer. chem. Soc. *71*, 2703 (1949).
 [57] D. A. DERANLEAU, in Vorbereitung.
 [58] J. WALKLEY, D. N. GLEW & J. H. HILDEBRAND, J. chem. Physics *33*, 621 (1960).
 [59] J. A. A. KETELAAR, C. VAN DE STOLPE & H. R. GERSMANN, Rec. Trav. chim. Pays-Bas *70*, 499 (1951); J. A. A. KETELAAR, C. VAN DE STOLPE, A. GOUDSMIT & W. DZCUBAS, *ibid.* *71*, 1104 (1952); M. CHOWDHURY, J. physic. Chemistry *65*, 1899 (1961).
 [60] P. A. D. DE MAINE, J. chem. Physics *26*, 1042, 1192 (1957).
 [61] K. DIMROTH, C. REICHARDT, T. SIEPMANN & F. BOHLMANN, Liebigs Ann. Chem. *661*, 1 (1963); C. REICHARDT, Angew. Chem. *77*, 30 (1965).

55. Synthèse des (\pm)-loliolide, (\pm)-actinidiolide, (\pm)-dihydroactinidiolide et dérivés à partir d'acide homosafranique. Photooxygénation sensibilisée de l'homosafranate de méthyle

par **Edouard Demole** et **Paul Enggist**

FIRMENICH & Cie, Laboratoire de Recherches, Genève

(20 II 68)

Summary. We have synthesized (\pm)-loliolide (**7a**), (\pm)-actinidiolide (**11a**), (\pm)-dihydroactinidiolide (**16**), and (\pm)-isodihydroactinidiolide (**18**) through various reaction paths starting from homosafranic acid (**4a**). Thus, (\pm)-actinidiolide has been synthesized for the first time, and this result allows to discard the alternative formula **11b** for that compound [2].

By investigation of the sensitized photooxygenation of methyl homosafranate (**4b**), this reaction is shown to lead to an interesting spiro-peroxylactone **25**, beside the expected *endo*-peroxide **23**. Specific oxygenation of the tetrasubstituted double bond of methyl homosafranate, and cyclisation of the hydroperoxide **24** thus produced, are believed to account for the formation of such a particular compound.

The base-catalysed rearrangement of the *endo*-peroxide **23** gives rise to two compounds, one being the expected keto-hydroxy-ester **26**. The other – to which is assigned the glycidic ester structure **27** – obviously results from an internal displacement reaction on oxygen in **23**. It is noteworthy that the sensitized photooxygenation of methyl homosafranate proceeds directly to the same glycidic ester when it is carried out in an alkaline solution.

Introduction. Nous avons récemment identifié le dihydroactinidiolide (**16**) dans l'essence absolue de cassie (*Acacia farnesiana* WILLD.) au cours d'un travail qui fera l'objet d'une publication ultérieure [1]. Cette même lactone avait été précédemment caractérisée dans l'huile essentielle des feuilles d'*Actinidia polygama* [2], dans l'arôme de thé noir [3] et parmi les produits dérivant de la photooxydation sensibilisée de la β -ionone [4]; elle avait été en outre synthétisée par SAKAN *et al.* [2] à partir de la triméthyl-2,2,6-cyclohexanone.

L'existence du dihydroactinidiolide (**16**) dans une essence florale nous a incités à étudier la synthèse et les propriétés organoleptiques de cette substance, ainsi que celles de plusieurs autres lactones homoterpéniques apparentées. Cette étude, en s'insérant dans le contexte des travaux publiés récemment sur le loliolide (**7a**) [5] [6] et l'actinidiolide (**11a**) [2], nous a permis de préciser la structure de ce dernier et d'en réaliser la première synthèse (*vide infra*).