Metallkomplexe von biologisch wichtigen Liganden, CXLVIII [1]. Katalytische Peptidsynthese aus Glycinester mit Hilfe von Triflaten und Cloriden der Seltenen Erden, sowie von Metall(III), (IV), (V) und (VI)-Chloriden

Metal Complexes of Biologically Important Ligands, CXLVIII [1]. Synthesis of Peptides from Glycine Ester Catalysed by Triflates and Chlorides of Metal(III, IV, V and VI) Ions

Jan Schapp und Wolfgang Beck

Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität, Butenandtstraße 5–13, D-81377 München Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. W. Beck. E-mail: wbe@cup.uni-muenchen.de

Z. Naturforsch. 58b, 85-91 (2003); eingegangen am 23. August, 2002

Herrn Professor Armin Weiß zum 75. Geburtstag gewidmet

Formation of di- and triglycine ethylester which were determined by HPLC after derivatisation with dansyl chloride was observed in medium to high yields from CH₂Cl₂ solutions of glycine ethylester in the presence of metal triflates and metal chlorides: FeCl₃ (yield 82%), AlCl₃ (73%), GdCl₃ (56%), La(OTf)₃ (59%), Sc(OTf)₃ (55%), ZrCl₄ (62%), HfCl₄ (60%), VOCl₃ (43%), TaCl₅ (29%). Esters of higher α -amino acid esters (AlaOMe, PheOMe) gave lower yields in peptide formation.

Key words: Peptides Synthesis, Rare Earth Elements, Transition Metals, Catalysts, α -Amino Acid Esters

Einleitung

Der Aufbau von Peptiden in der Koordinationssphäre von Metallionen interessierte in der Vergangenheit schon mehrere Arbeitsgruppen. So gelang Buckingham [2], Collman [1] und Busch [2] die erste gezielte Peptidsynthese aus α -Aminosäureestern an Amin-Cobalt(III)-Komplexen, wobei das Co(III)-Ion als Amino-Schutzgruppe und aktivierend für die Esterfunktion wirkt. Yamada, Terashima und Wagamatsu [3,5] berichteten erstmals über die katalytische Bildung von Peptiden nicht definierter Sequenz aus α -Aminosäureestern mit Hilfe von Metallsalzen, unter denen Cu(II)-Ionen besonders effektiv waren. Der vorgeschlagene Mechanismus beinhaltet im zentralen Schritt eine Templat-Reaktion zwischen zwei koordinierten Aminosäureestern, wobei ein koordiniertes Amid-Anion die Esterfunktion des zweiten Aminosäureesters angreift. β -Aminosäureester kondensieren schon in Anwesenheit von Alkalimetallalkoholaten [6]. Wiederum Cu(II) spielt als Katalysator in den Modellreaktionen von Rode [7] für die präbiotische Entstehung von Proteinen aus a-Aminosäuren in

konzentrierter wässriger NaCl-Lösung eine entscheidende Rolle. Als Mechanismus gilt ebenfalls eine Templat-Reaktion, in diesem Fall zwischen zwei α -Aminosäuren, die über die Carboxylatfunktion koordiniert sind. Ein ähnlicher Mechanismus liegt der Dipeptidsynthese aus N-geschütztem, an Cp2M (Ti,Zr,Ta) Okoordiniertem α -Aminocarboxylat (als formales Analogon zu einem aktivierten organischen Ester) zugrunde [8]. Interessant ist auch die Bildung von Peptiden aus α-Aminosäuren an der Oberfläche von Aluminiumoxid oder in Tonmineralien [7,9]. Die katalytische Wirkung von Schichtsilikaten auf Kondensationsreaktionen wie z.B. von Ammoniumsalzen von Aminosäuren zu Peptiden wurde von A. Weiss entdeckt [9]. Die Bildung von Aminosäuren (und auch Peptiden) erfolgt auch aus Formaldehyd und Hydroxylamin in Gegenwart von Übergangsmetallionen und Kaolin [10].

Unser Arbeitskreis beschäftigte sich vorwiegend mit dem sequenzspezifischen Aufbau von Peptiden [11] und Cyclopeptiden [12] an Halbsandwich-Komplexen des Ru(II), Rh(III) und Ir(III) und in der quadratisch planaren Koordinationssphäre von Ni(II), Pd(II)

0932-0776 / 03 / 0100-0085 \$ 06.00 © 2003 Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen · http://znaturforsch.com

Tab. 1. Bildung von Di- und Triglycinethylester aus GlyOEt in CH₂Cl₂ in Gegenwart von Metall(III)-Verbindungen.

	-				-
Metall-	Effektiver	Zeit	Ausbeute	Peptidester	Gesamt
verbindung	Ionenradius	(h)		(%)	
	KZ 6 (Å)		DiglyOEt	TriglyOEt	
La(OTf)3	1.17	25	44	2	46
Lu(OTf)3	1.00	21	52	2,5	54,5
Sc(OTf) ₃	0.89	18	50	5	55
FeCl ₃	0.79^{*}	20	41	41	82
AlCl ₃	0.68	20	68	5	73

* Für d⁵-high-spin.

und Cu(II). Die gezielte Verlängerung am Amino-Terminus der koordinierten Peptide erfolgt dabei vermutlich nach einem Mechanismus, der mit dem von Yamada et al. [4] postulierten vergleichbar ist. Auch höhere Peptide konnten letztlich durch sukzessive Zugabe von Glycinester am Ruthenium-Komplex dargestellt werden [13]. In diesem Zusammenhang interessierte uns, ob auch Salze oder Chloride der Seltenen Erdmetalle und der Übergangsmetalle in hohen Oxidationsstufen als Katalysatoren für die Peptidbildung aus Glycinester fungieren können. Besonders interessant ist die katalytische Aktivität der Triflat-Salze der Seltenen Erdmetalle, vor allem des Sc(OTf)₃ das eine Reihe von Reaktionen zu beschleunigen vermag [14,15]. Die Lewis-Acidität geht in diesen Fällen mit einer außergewöhnlichen Toleranz gegenüber protischen, insbesondere wässrigen Solventien einher. Yamamoto et al. fanden, dass HfCl₄·2THF sehr effektiv die Veresterung von Carbonsäuren katalysiert [16]. Krämer [17] konnte zeigen, dass Zr(IV)-Ionen die Hydrolyse von Phosphorsäurediester stark beschleunigen; dies sind zur Peptidbildung verwandte Reaktionen. Erste Arbeiten zur metallionenkatalysierter Hydrolyse von Peptiden [18] und Phosphorsäureestern [19] stammen von Baumann et al. in München, wobei speziell Lanthanoid-Verbindungen eingesetzt wurden. Die Hydrolyse von Phosphorsäureestern ist heute wegen der möglichen Spaltung von DNA durch Metallionen hochaktuell [20].

Ergebnisse und Diskussion

Für unsere Versuche zum katalytischen Peptidaufbau mit Hilfe verschiedener Metalltriflate oder -chloride wählten wir Glycinesterhydrochlorid als Ausgangsmaterial. Der α -Aminosäureester wurde in dem wenig koordinierenden Lösungsmittel Dichlormethan (wasserfrei) oder im koordinierenden Solvens Ethanol (wasserfrei) mit Triethylamin als Base deprotoniert. Die wasserfreie Metallverbindung wurde dann im Mol-Verhältnis α -Aminosäureester : Metallion von 6 : 1 zugesetzt. Nach der Abtrennung der Metallsalze als Hydroxide durch Zusatz von wässriger LiHCO₃-Lösung wurden die gebildeten Di- und Tripeptide mit Dansylchlorid derivatisiert [21], chromatographisch aufgetrennt (HPLC), und durch Integration des Signals aus der UV-Detektion quantifiziert.

$$6 \text{ H-Gly-OEt*HCl} \xrightarrow{\text{MCl}_n+6 \text{ NEt}_3}_{\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{R.T.}}$$

H-Gly-OEt+H-(Gly)2-OEt+H-(Gly)3-OEt

Wir vermuten, dass die Peptidbildung nach einem Mechanismus abläuft, der dem von Yamada [4] postulierten gleicht (Schema 1); ein durch Koordination am Metallzentrum stabilisiertes Amid wird durch Deprotonierung des Amino-Terminus unter Baseneinwirkung in einem ersten Schritt erzeugt. Der eigentliche Peptidaufbau erfolgt in einem zweiten Schritt durch Angriff der Amidgruppe auf die in räumlicher Nähe befindliche Ester-Gruppe eines weiteren koordinierten α -Aminosäureesters.

Die Peptid-Gesamtausbeute steigt mit abnehmendem effektiven Radius des als Katalysator genutzten Metallions von 46 % für La(OTf)₃ bis auf 55 % für Sc(OTf)₃ (Tab. 1). Die besten Ergebnisse erzielten wir mit wasserfreiem AlCl₃ (73 %) und FeCl₃ (82 %) in Dichlormethan. Mit diesen Metallsalzen konnten Terashima *et al.* [4] bei der Reaktionsführung im koordinierenden Lösungsmittel Ethanol nur vergleichsweise geringe Ausbeuten verzeichnen: FeCl₃ (22 %), AlCl₃ (21 %). Die Koordination von Ethanol führt im Fall dieser starken Lewissäuren vermutlich zur Deaktivierung des Katalysators.

Die besten Ergebnisse wurden von Brack *et al.* [5] mit CuCl₂ bei der Wiederholung der Versuche von Yamada *et al.* [4] erzielt (lange Reaktionszeiten, in Methanol bzw. Ethanol, bis zu 88 % Umsatz an GlyOMe), wobei chromatographisch die Peptidester Gly(gly)_nOMe (*n* bis 8) nachgewiesen wurden.

Die katalytische Peptidbildung in ethanolischer Lösung mit den Triflat-Salzen und Chloriden der Seltenen Erdmetalle verläuft mit durchschnittlichen Ausbeuten von 16-56 % (Tab. 2). Hier ist jedoch keine Beziehung zwischen Umsatz und effektivem Ionenradius zu erkennen.

Im Laufe der Peptidbildung wird während der ersten 24 h eine hohe Bildungsrate des Dipeptids verzeichnet (Tab. 3). Nach 48 h erreicht die Ausbeute an Dipeptid ihr Maximum. Im weiteren Verlauf der



Tab. 2. Bildung von GlyglyOEt und GlyglyglyOEt aus GlyOEt in Ethanol in Gegenwart von Metall(III)-Verbindungen.

-					
Metall-	Effektiver	Dauer	Ausbeute	Peptidester	Gesamt
salz	Ionenradius	(h)		(%)	
	für KZ 6 (Å)		DiglyOEt	TriglyOEt	
La(OTf)3	1.17	17	36	3	39
La(OTf)3	1.17	21	33	_	33
GdCl ₃	1.08	21	50	6	56
GdCl ₃	1.08	46	43	9	52
DyCl ₃	1.05	18	34	5	39
Sc(OTf) ₃	0.89	17	14	2	16

Reaktion nimmt die Konzentration dieses ersten Produkts zugunsten der Bildung des Tripeptids kontinuierlich ab. Dass sich die Peptidbildungsrate nach etwa 24 h deutlich verringert, lässt auf eine zunehmende Vergiftung des Katalysators schließen. Verantwortlich dafür könnte eine Produkthemmung durch Komplexierung der gebildeten Peptide sein. Nahezu alle getesteten Metallsalze ergeben einen entsprechenden Reaktionsverlauf, mit etwas variierenden Reaktionsgeschwindigkeiten. Einzig die FeCl3-Katalyse schien nach geringer Tripeptidbildung nicht zum Erliegen zu kommen.

Im IR-Spektrum des sich mit GlyOEt und Sc(OTf)₃ bildenden Präzipitats sind die für Peptide charakteristischen Absorptionsbanden der NH-Schwingungen

Schema 1. Aufbau von Peptiden am Cu(II)-Templat.

Tab. 3. Kinetik der Bildung von DiglyOEt und TriglyOEt aus GlyOEt in CH₂Cl₂ in Gegenwart von La(OTf)₃.

	Aus	beute an Peptidester	(%)
Dauer (h)	DiglyEOt	TriglyOEt	Gesamt
5	24	_	24
25	44	2	46
47	50	6	56
73	47	8	55
190	45	14	59

bei 3360 und 3080 cm⁻¹ sichtbar. Außerdem ist die Absorption der Carbonylschwingung in dem für Carbonsäureester typischen Bereich (1746 cm⁻¹) zu sehen und die Amid-I und II-Schwingungsbanden bei 1685 und 1566 cm⁻¹ sind deutlich ausgeprägt. Im ¹H-NMR-Spektrum des Produkts aus GlyOEt und Sc(Tfl)₃ treten drei Signalsätze für Ethylester- und α -CH₂-Gruppen auf. Das ¹³C-NMR-Spektrum weist ebenfalls die Signalsätze dreier verschiedener Peptide auf, darunter die Signale für quartäre Kohlenstoffatome bei 168.0, 168.5 und 171.9 ppm. Das FAB+-Massenspektrum dieses Produkts zeigt die Ionen m/z =104 (GlyOEt + H^+), 161 (DiGlyOEt + H^+) und 218 (TriGlyOEt + H⁺). Das Ergebnis der Elementaranalyse (C,H,N und Sc mit ICP-AES) lässt darauf schließen, dass aus Sc(OTf)₃ und GlyOEt·HCl im Laufe der fortschreitenden Peptid-Bildung durch

Tab. 4. Bildung von GlyglyOEt und GlyglyglyOEt aus GlyOEt in CH_2Cl_2 in Gegenwart von Metall(IV)-chloriden.

-	-		
Metall-	DiglyOEt	TriglyOEt	Gesamt
chlorid		- Ausbeute (%) —	
TiCl ₄	32	2	34
$ZrOCl_2 * 8 H_2O$	8	_	8
ZrCl ₄	30	32	62
HfCl ₄	37	23	60

Komplexierung eine Verbindung der Zusammensetzung Sc(GlyOEt)(DiglyOEt)(TriglyOEt)Cl₃ × 4H₂O entsteht. Das dreiwertige Scandium-Ion kann von drei, über Amino-Gruppen koordinierten, Aminosäure- und Peptidliganden, sowie entweder drei Chlorid-Liganden (KZ 6) oder vier Wassermolekülen (KZ 7) umgeben sein. Oxophilie ist für das Scandium(III) typisch, wie auch die Koordinationszahl 7, die in vielen Sc-Verbindungen realisiert wird [15]. Durch Komplexierung wird hier somit der aktive Katalysator der Lösung entzogen. Im Gegensatz dazu bleibt die FeCl₃-Katalyse wirksam, da das Fe³⁺-Ion nur eine geringe Neigung zur Komplexbildung mit Stickstoffdonor-Liganden zeigt [22].

Die Chloride der Metalle der vierten Nebengruppe, die bei der katalytischen Veresterung von Carbonsäuren sehr hohe Ausbeuten von bis zu 99 % erbrachten [16], sind unter den Bedingungen der Peptidsynthese aktiver als die Salze der Seltenen Erdmetalle. An die überdurchschnittlichen Ergebnisse der starken Lewissäuren AlCl₃ und FeCl₃ können die mit TiCl₄ (34 %), ZrCl₄ (62 %) und HfCl₄ (60 %) erzielten Ausbeuten jedoch nicht anknüpfen (Tab. 4). Mit TiCl₄ und HfCl₄ und Glycinester ist wie mit einfachen primären Aminen [23] die Bildung von Metall-Amiden möglich.

Die Peptidausbeuten aus den Katalyseversuchen mit Chloriden der Übergangsmetalle der fünften und sechsten Gruppe in ihrer höchsten Oxidationsstufe fielen erwartungsgemäß unterdurchschnittlich (Tab. 5) aus: VOCl₃ (Ø 39 %), NbCl₅ (27 %), TaCl₅ (Ø 25 %), MoOCl₄ (30 %), WCl₆ (22 %). Die stark oxidierende Wirkung dieser Metallionen führt hier eher zur Oxidation der Aminosäureester denn zur Peptidbildung.

Ebenso wie Terashima *et al.* [4] und Rode *et al.* [7] untersuchten wir den Einfluss der sterischen Hinderung auf die Peptidbildung. Erwartungsgemäß fanden wir eine Abnahme der Ausbeuten in der Reihenfolge GlyOEt>AlaOMe>PheOMe unter Einsatz von ZrCl₄ als Katalysator. Die beiden sterisch anspruchsvollsten Aminosäureester bilden hierbei nur mehr Dipeptide, während für AlaOMe noch die Bildung von

Tab. 5. Bildung von GlyglyOEt und GlyglyglyOEt in CH_2Cl_2 in Gegenwart von Metall(IV)-chloriden.

Metall salz	DiglyOEt	TriglyOEt — Ausbeute (%) —	Gesamt
VOC13	38	5	43
VOCl ₃	33	2	35
NbCl ₅	22	5	27
TaCl ₅	16	6	22
TaCl ₅	23	6	29
MoOCl ₄	22	8	30
WCl ₆	19	3	22

Tab. 6. Bildung von Dipeptid- und Tripeptidestern aus verschiedenen Aminosäureestern in CH_2Cl_2 und in Gegenwart von $ZrCl_4$.

Aminosäure- ester	Metallsalz	Dipeptid — Ausbeu	Tripeptid te (%) —	Gesamt
GlyOEt	ZrCl ₄	30	32	62
AlaOMe	ZrCl ₄	31	21	52
PheOMe	$ZrCl_4$	37	-	37

TriAlaOMe in mäßigen Ausbeuten von 21 % beobachtet wird (Tab. 6).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass aus Glycinester in Dichlormethan mit Triflaten und Trichloriden der SE sowie FeCl₃ und AlCl₃ hohe Umsätze zu Di- und Triglycinestern erreicht werden können. Hierfür ist u.a. das nicht koordinierende Lösungsmittel CH_2Cl_2 verantwortlich. Für die präbiotische Bildung von Peptiden sind diese Reaktionen sicher keine Modelle, da sie nicht in wässriger Lösung ablaufen [5].

Experimenteller Teil

1 = GlyOEt; 2 = GlyglyOEt; 3 = GlyglyglyOEt

Standardansatz: 279 mg (2 mmol) 1-HCl werden in 10 ml Ethanol/CH₂Cl₂ gelöst und mit 280 μ l (2 mmol, d = 0,726) Triethylamin umgesetzt. Die Lösung wird mit vorgelegten 0,333 mmol der Metallverbindung vereinigt. Im Laufe der Zeit stellt sich eine geringfügige Eintrübung der farblosen Lösung ein. Nach 22 h wird eine Probe von 1 ml der Reaktionslösung entnommen. Das Lösungsmittel wird im Stickstoffstrom vertrieben. Den Rückstand löst man in 50 ml einer wässrigen LiHCO₃-Pufferlösung (40 mM, pH = 9,5). Wenige ml der Lösung werden mit Hilfe eines Spritzenfilters vom Metall-Hydroxid-Niederschlag abgetrennt.

Mit $Sc(O_3SCF_3)_3$: Der farblose Rückstand, der sich während der Reaktion gebildet hat, wird von der Lösung abgetrennt und nach mehrmaligem Waschen mit CH₂Cl₂ im Hochvak. getrocknet.

IR (KBr): *v* NH 3360s, *v* NH 3077s, *v* C=O 1746, *v* (C-N) + δ (CNH) 1566 cm⁻¹. - ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ = 1,1 (3 OCH₂CH₃, t, 9H), 3,73 (α -H, s, 2H), 3,74 (α -H, s, 2H), 3,86 (α -H, s, 1H), 3,91 (α -H, s, 2H), 4,06 (OCH₂CH₃, q), 4,07 (OCH₂CH₃, q, 2H), 4,13 (OCH₂CH₃, q, 2H). – ¹³C-NMR (270 MHz, D₂O): 13,52 (OCH₂CH₃), 13,60 (OCH₂CH₃), 17,14 OCH₂CH₃; 40,53 (α -C), 40,69 (α -C), 40,82 (α -C), 41,66 (α -C), 41,71 (α -C), 44,09 (α -C), 47,04 (NCH₂CH₃), 57,78 (OCH₂CH₃), 63,02 OCH₂CH₃, 63,67 OCH₂CH₃; 167,99 (C=O), 168,53 (C=O), 171,85 (C=O).

C₁₈Cl₃H₃₆N₆O₉Sc·4H₂O (703.35): ber. C30.71, H6.26, N11.94, Sc6.40; gef. C30.04, H6.35, N11.69, Sc8.14.

La(O_3SCF_3)₃: a) t = 5 h (CH₂Cl₂); 0.024 mmol/ml **2** (24 %); b) t = 25 h (CH₂Cl₂); 0.044 mmol/ml **2** (44 %), 0.001 mmol/ml **3** (2 %); c) t = 47 h (CH₂Cl₂); 0.050 mmol/ml **2** (50 %), 0.004 mmol/ml **3** (6 %); d) t = 73 h (CH₂Cl₂); 0.047 mmol/ml **2** (47 %), 0.005 mmol/ml **3** (8 %); e) t = 190 h (CH₂Cl₂); 0.045 mmol/ml **2** (45 %), 0.009 mmol/ml **3** (14 %); f) t = 17 h (EtOH); 0.036 mmol/ml **2** (36 %), 0.002 mmol/ml **3** (3 %); g) t = 21 h (EtOH); 0.033 mmol/ml **2** (33 %).

Lu(O_3SCF_3)₃: a) t = 21 h (CH₂Cl₂); 0.053 mmol/ml **2** (53 %), 0.001 mmol/ml **3** (2 %); b) t = 21 h (CH₂Cl₂); 0.051 mmol/ml **2** (51 %), 0.002 mmol/ml **3** (3 %).

 $Sc(O_3SCF_3)_3$: t = 18 h (CH₂Cl₂); 0.050 mmol/ml **2** (50 %), 0.003 mmol/ml **3** (5 %).

*GdCl*₃: a) t = 21 h (EtOH); 0.050 mmol/ml **2** (50 %), 0.004 mmol/ml **3** (6 %); b) t = 46 h (EtOH); 0.043 mmol/ml **2** (43 %), 0.006 mmol/ml **3** (9 %).

 $DyCl_3$: t = 18 h (EtOH); 0.034 mmol/ml **2** (34 %), 0.003 mmol/ml **3** (5 %).

 $Sc(O_3SCF_3)_3$: t = 17 h (EtOH); 0.014 mmol/ml **2** (14 %), 0.001 mmol/ml **3** (2 %).

Probennahme: Nach 20-24 h wird eine Probe von 1 ml der Reaktionslösung entnommen. Das Lösungsmittel wird im Stickstoffstrom vertrieben. Den Rückstand löst man in 50 ml einer LiHCO₃-Pufferlösung (40 mM, pH = 9,5). Wenige ml der Lösung werden mit Hilfe eines Spritzenfilters vom Metall-Hydroxid-Niederschlag abgetrennt.

*Wasserfreies FeCl*₃: 139.58 mg (1 mmol) **1**·HCl werden in 5 ml CH₂Cl₂ mit 139 μ 1 (1 mmol) NEt₃ deprotoniert und mit einer Kanüle zu vorgelegtem wasserfreiem FeCl₃ (27.03 mg, 0,167 mmol) überführt. Aus der rotbraunen Lösung scheidet sich bald farbloser Niederschlag ab. Die Probennahme erfolgt nach 20 h. – 0.041 mmol/ml **2** (41 %), 0.027 mmol/ml **3** (41 %).

 $AlCl_3$: 139.58 mg (1 mmol) **1**·HCl werden in 5 ml CH₂Cl₂ mit 139 μ l (1 mmol) NEt₃ deprotoniert und mit einer Kanüle zu vorgelegtem wasserfreiem AlCl₃ (22.22 mg, 0.167 mmol) überführt. Aus der farblosen Lösung scheidet sich nach kurzer Zeit ein farbloser Niederschlag ab. Die Probennahme erfolgte nach 20 h. -0.068 mmol/ml 2 (68 %), 0.003 mmol/ml 3 (5 %).

*ZrOCl*₂: 279 mg (2 mmol) **1**·HCl werden in 10 ml EtOH gelöst und mit 280 μ l (2 mmol) NEt₃ deprotoniert. Die Lösung wird mit einer Kanüle zu vorgelegtem ZrOCl₂·8 H₂O (107 mg, 0.332 mmol) überführt. Die Lösung bleibt während der Reaktion klar. Die Probennahme erfolgt nach 24 h. – 0.008 mmol/ml **2** (8 %).

*ZrCl*₄: a) 279 mg (2 mmol) **1**·HCl werden in 10 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 280 μ l (2 mmol) NEt₃ deprotoniert. Die erhaltene Lösung wird mit einer Kanüle zu vorgelegtem ZrCl₄ (78 mg, 0.334 mmol) überführt. Aus der farblosen Lösung scheidet sich nach kurzer Zeit ein ebenfalls farbloser Niederschlag ab. Die Probennahme erfolgte nach 21 h. – 0.030 mmol/ml **2** (30 %), 0.021 mmol/ml **3** (32 %).

279 mg (2 mmol) **1**·HCl werden in 10 ml EtOH gelöst und mit 280 μ l (2 mmol) NEt₃ deprotoniert. Die Lösung wird mit einer Kanüle zu vorgelegtem ZrCl₄ (83 mg, 0.356 mmol) überführt. Über Nacht fällt wenig farbloser Niederschlag aus der farblosen Lösung an. Die Probennahme erfolgt nach 17 h. – 0.015 mmol/ml **2** (15 %).

*TiCl*₄: 279 mg (2 mmol) **1**·HCl werden in 10 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 280 μ l (2 mmol) NEt₃ deprotoniert. Zu dieser Lösung werden 335 μ l (0.335 mmol, 1M Lösung in CH₂Cl₂) TiCl₄ zugegeben, wobei sofort Schwarzfärbung auftritt. Über Nacht erfolgt eine Aufhellung der Lösung nach hellbraun und eine Abscheidung eines farblosen Niederschlags. Die Probennahme erfolgt nach 20 h. – 0.032 mmol/ml **2** (32 %), 0.001 mmol/ml **3** (2 %).

HfCl₄: 558 mg (4 mmol) **1**·HCl werden in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 560 μ l (4 mmol) NEt₃ deprotoniert. Die Lösung wird mit einer Kanüle zu vorgelegten 212 mg HfCl₄ (0.662 mmol) überführt. Aus der zunächst farblosen Lösung scheidet sich schon nach kurzer Zeit ein farbloser Niederschlag ab. Die Probennahme erfolgt nach 24 h.

Probennahme: Nach 24 h wird eine Probe von 2 ml der Reaktionslösung entnommen. Das Lösungsmittel wird im Stickstoffstrom vertrieben. Den Rückstand löst man in 100 ml einer LiHCO₃-Pufferlösung (40 mM, pH = 9,5). Wenige ml der Lösung werden mit Hilfe eines Spritzenfilters vom Metall-Hydroxid-Niederschlag gereinigt. – 0.037 mmol/ml **2** (37 %), 0.015 mmol/ml **3** (23 %).

NbCl₅: 279 mg (2 mmol) **1**·HCl werden in 10 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 280 μ l (2 mmol) NEt₃ deprotoniert. Die Lösung wird mit einer Kanüle zu vorgelegten 97 mg NbCl₅ (0.360 mmol) überführt. Die zunächst gelbe Lösung färbt sich innerhalb von 1 min nach rot-braun um. Die Probennahme erfolgte nach 20 h. – 0.022 mmol/ml **2** (22 %), 0.003 mmol/ml **3** (5 %).

*TaCl*₅: a) 279 mg (2 mmol) **1**·HCl werden in 10 ml CH₂Cl₂ durch Zugabe von 280 μ l NEt₃ deprotoniert. Die er-

haltene Lösung wird mit einer Kanüle zu vorgelegten 119 mg (0.332 mmol) TaCl₅ überführt. Aus der anfangs klaren, gelben Lösung fällt rasch ein farbloser Niederschlag an. Die Probennahme erfolgte nach 19.5 h. – 0.016 mmol/ml **2** (16 %), 0.004 mmol/ml **3** (6 %).

b) 139 mg (1 mmol) **1**·HCl werden in 5 ml CH₂Cl₂ durch Zugabe von 139 μ l NEt₃ deprotoniert. Die erhaltene Lösung wird mit einer Kanüle zu vorgelegten 60 mg (0.167 mmol) TaCl₅ überführt. Aus der anfangs klaren gelben Lösung fällt schnell ein farbloser Niederschlag an. Die Probennahme erfolgte nach 20 h. – 0.023 mmol/ml **2** (23 %), 0.004 mmol/ml **3** (6 %).

 WCl_6 : 279 mg (2 mmol) **1**·HCl werden in 10 ml CH₂Cl₂ durch Zugabe von 280 μ l NEt₃ (2 mmol, d = 0.726) deprotoniert. Überführt man die Lösung mit einer Kanüle zu vorgelegten 135 mg (0.340 mmol) WCl₆, so erhält man eine dunkelgelbe Lösung. Die Probennahme erfolgt nach 21 h. – 0.019 mmol/ml **2** (19 %), 0.002 mmol/ml **3** (3 %).

MoOCl₄: 279 mg (2 mmol) **1**·HCl werden in 10 ml CH₂Cl₂ durch Zugabe von 280 μ l NEt₃ (2 mmol, d = 0.726) deprotoniert. Überführt man die Lösung mit einer Kanüle zu vorgelegten 85 mg (0.333 mmol) MoOCl₄, so resultiert eine dunkelgrüne Lösung. Die Probennahme erfolgt nach 22 h. – 0.022 mmol/ml **2** (22 %), 0.005 mmol/ml **3** (8 %).

*VOCl*₃: a) 139.58 mg **1**·HCl (1 mmol) werden in 5 ml CH₂Cl₂ durch Zugabe von 139 μ l NEt₃ (1 mmol, d = 0.726) deprotoniert. Bei Zugabe von 16 μ l (0.170 mmol, d = 1.840) VOCl₃ erhält man eine grüne Lösung, aus der sich nach einiger Zeit ein farbloser Niederschlag abscheidet. – 0.038 mmol/ml **2** (38 %), 0.003 mmol/ml **3** (5 %).

b) 139.58 mg 1·HCl (1 mmol) werden in 5 ml CH₂Cl₂ durch Zugabe von 139 μ l NEt₃ (1 mmol, d = 0.726) deprotoniert. Bei Zugabe von 16 μ l (0.170 mmol, d = 1.840) VOCl₃ erhält man eine grüne Lösung, aus der sich nach einiger Zeit ein farbloser Niederschlag abscheidet. Die Probennahme erfolgt nach 20 h. – 0.033 mmol/ml **2** (33 %), 0.001 mmol/ml **3** (2 %).

AlaOMe: 279 mg (2 mmol) AlaOMe·HCl werden in 5 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 280 μ l NEt₃ (2 mmol, d = 0.726)

deprotoniert. Die Lösung wird mit einer Kanüle zu vorgelegten 80 mg (0.343 mmol) ZrCl₄ überführt und nach 19 h aus der gelblichen, klaren Lösung eine Probe entnommen. – 0.031 mmol/ml Ala-alaOMe (31 %), 0.014 mmol/ml Ala-ala-ala-OMe (21 %).

PheOMe: 216 mg (1 mmol) PheOMe·HCl werden in 5 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 139 μ l NEt₃ (1 mmol, d = 0.726) versetzt. Nach der Überführung mit einer Kanüle zu vorgelegten 39 mg (0.167 mmol) ZrCl₄ klart die farblose Suspension nach 1 h auf. Die Probennahme erfolgt nach 20 h. – MS (FAB⁺): m/z = 327 [H-Phe-Phe-OMe + H⁺], 0.037 mmol/ml Phe-Phe-OMe (37 %).

Derivatisierung nach der Dansylmethode

Darstellung des LiHCO₃-Puffers (40 mM, pH = 9,5): 1,478 g (20 mmol) Li₂CO₃ werden in 500 ml HPLC-reinem Wasser (Acros) gelöst. Durch Zugabe von 1M HCl-Lösung wird der pH-Wert mit Hilfe eines geeichten pH-Meters eingestellt.

Darstellung des Derivatisierungsreagenzes (6,84 mM): 36,9 mg (0,137 mmol) Dansylchlorid werden in 20 ml Acetonitril (Acros Gradient Grade) gelöst.

Derivatisierung: 400 μ l (Ø = 1,2 μ mol, je nach Produktumsatz) der klaren Probenlösung werden mit 200 μ l (1,4 μ mol) der Dansylchlorid-Lösung versetzt. Nach 40 min wird die Reaktion durch Zugabe von 20 μ l einer EtNH₂-Lösung (2 %) beendet.

HPLC: Zur Chromatographie wurden ein Gerät der Fa. Waters W600, ein Zweiwellenlängen-Detektor W 2486 sowie Trennsäulen Waters Novapack 15 cm \cdot 3.9 mm verwendet.

Dank

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gilt unser herzlicher Dank für großzügige Förderung. Herrn Professor Th. Klapötke, München, danken wir für die Hilfe bei der Beschaffung des HPLC-Geräts.

- 147. Mitteilung: O.E. Woisetschläger, K. Polborn, W. Beck, Z. Anorg. Allg. Chem. **628**, 2244 (2002).
- [2] a) D. A. Buckingham, L. G. Marzilli, A. M. Sargeson, J. Am. Chem. Soc. 89, 2772, 4539 (1967);
 b) Übersicht: R. J. Browne, D. A. Buckingham, Ch. R. Clark, P. A. Sutton, Adv. Inorg. Chem. 49, 307 (2000);
 c) J. P. Collman, E. Kimura, J. Am. Chem. Soc. 89, 6096 (1967).
- [3] Y. Wu, D.H. Busch, J. Am. Chem. Soc. 94, 4115 (1972).
- [4] S. Yamada, M. Wagatsuma, Y. Takeuchi, S. Terashima, Chem. Pharm. Bull. **19**, 2380 (1971); M. Wagatsuma, S. Terashima, S. Yamada, Tetrahedron **29**, 1497 (1973); M. Wagatsuma, S. Terashima, S. Yamada, Chem. Pharm. Bull. **21**, 422 (1973); S. Terashima, M. Wagatsuma, S. Yamada, Tetrahedron **29**, 1487 (1973). S. Yamada, S. Terashima, M. Wagatsuma, Kokai, JP 48032802, 19730502; C. A. 442838 (1973).
- [5] A. Brack, D. Louembe, G. Spach, Origins of Life 6, 407 (1975).

- [6] S. Kudo, K. Fujii, N. Nakamizo, Jpn Tokkyo Koho (1967) JP 42006195 19630216 Showa, CAN 67:54615, AN 1967:454615.
- [7] B. M. Rode, Y. Suwannachot, Coord. Chem. Rev. 190 192, 1085 (1999); J. Bujdak, B. M. Rode, J. Inorg. Biochem. 90, 1 (2002) und dort zitierte Literatur; K. Plankensteiner, A. Righi, B. M. Rode, Origins of Life 32, 225 (2002).
- [8] K. Joshi, J. Bao, A. S. Goldman, J. Kohn, J. Am. Chem. Soc. **114**, 6649 (1992); J. Recht, B. I. Cohen, A. S. Goldman, J. Kohn, Tetrahedron Lett. **31**, 7281 (1981).
- [9] A. Weiss, Angew. Chem. 93, 843 (1981); Angew. Chem. Int. Ed. 20, 850 (1981); J. Bujdak, B. M. Rode, Amino Acids 21, 281 (2001); J. Bujdak, H. Slosiarikova, N. Texler, M. Schwendinger, B. M. Rode, Monatshefte für Chemie 125, 1033 (1994); B. M. Rode, W. Flader, C. Sotriffer, A. Righi, Peptides (New York) 20, 1513 (1999).
- [10] M. Ventilla, F. Egami, J. Mol. Evol. 9, 105 (1977).
- [11] W. Beck, R. Krämer, Angew. Chem. 103, 1492 (1991); Angew. Chem. Int. Ed. 30, 1467 (1991); R. Krämer, M. Maurus, K. Polborn, K. Sünkel, C. Robl, W. Beck, Chem. Eur. J. 2, 1518 (1996); J. Schapp, W. Beck, J. Naturforsch. 57b, 280 (2002); K. Haas, W. Beck, Z. Anorg. Allg. Chem. 628, 788 (2002).
- [12] K. Haas, W. Beck, Eur. J. Inorg. Chem. 2485 (2001);
 K. Haas, W. Ponikwar, H. Nöth, W. Beck, Angew. Chem. 110, 1200 (1998); Angew. Chem. Int. Ed. 37, 1086 (1998);
 K. Haas, E.-M. Ehrenstorfer-Schäfers

K. Polborn, W. Beck, Eur. J. Inorg. Chem. 465 (1999); K. Haas, H. Dialer, H. Piotrowski, J. Schapp, W. Beck, Angew. Chem. **114**, 1969 (2002); Angew. Chem. Int. Ed. **41**, 1879 (2002).

- [13] W. Hoffmüller, M. Maurus, K. Severin, W. Beck, Eur. J. Inorg. Chem. 729 (1998).
- [14] S. Kobayashi, Eur. J. Org. Chem. 15 (1999).
- [15] Übersicht: S. A. Cotton, Polyhedron 18, 1691 (1999).
- [16] K. Ishihara, S. Ohara, H. Yamamoto, Science 290, 1140 (2000); J. Otera, Angew. Chem. 113, 2099 (2001); Angew. Chem. Int. Ed. 40, 2044 (2001).
- [17] R. Ott, R. Krämer, Angew. Chem. 110, 2064 (1998); Angew. Chem. Int. Ed. 37, 1957 (1998).
- [18] E. Bamann, H. Trapmann, A. Rother, Chem. Ber. 91, 1744 (1958), siehe z. B. auch H. Kroll, J. Am. Chem. Soc. 74, 2036 (1952); N. Milovic, N. M. Kostic, Met. Ions Biol. Syst. 38, 145 (2001).
- [19] E. Bamann, H. Trapmann, J. Riehl, A. Gerl, B. Oechsner, Arch. Pharm. 296, 174 (1963) und frühere dort zitierte Arbeiten von E. Bamann.
- [20] Übersicht: A. Sreedhara, J. A. Cowan, J. Biol. Inorg. Chem. 6, 337 (2001).
- [21] Y. Tapuhi, D.E. Schmidt, W. Lindner, B.L. Karger, Anal. Biochem. 115, 123 (1981).
- [22] S. A. Cotton, Coord. Chem. Rev. 8, 185 (1972).
- [23] M. F. Lappert, P. P. Power, A. R. Sanger, R. C. Srivastava, Metal and Metaloid Amides, Ellis Horwood, Chichester (1980).