

Die Synthese des Gramicidin S

Von Priv.-Doz. Dr. R. SCHWYZER, Universität Zürich
und Dipl.-Chem. (T. B.) P. SIEBER, Forschungslaboratorien
der CIBA-AG., Basel, Pharmazeut. Abteilung

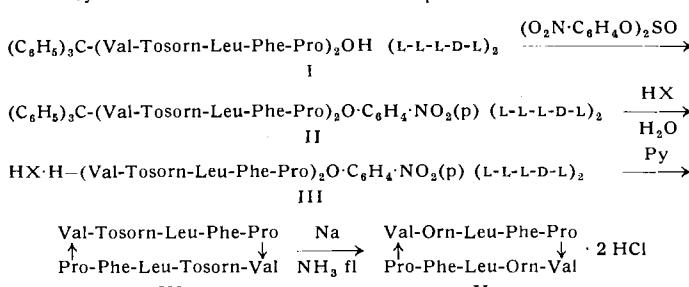
Gramicidin S (Soviet-Gramicidin) wurde 1942 von G. F. Gause und M. G. Brazhnikova¹⁾ aus einem in Rußland vorkommenden Stamm von *Bacillus brevis* (var. *Gause-Brazhnikova*) isoliert. Das Antibiotikum, welches auch gewisse Gram-negative Bakterien tötet¹⁾, wurde im Kriege verwendet und lokal appliziert. Es soll regenerationsfördernd und z. T. schmerzstillend wirken.

Die Konstitutionsaufklärung verdanken wir ausgezeichneten Untersuchungen von R. L. M. Syngle²⁾, F. Sanger³⁾ und von R. Consden, A. H. Gordon, A. J. P. Martin und R. L. M. Syngle⁴⁾. Danach besitzt das Gramicidin S (welches immer als Di-hydrochlorid isoliert wird) die Struktur eines homodeten⁵⁾ cyclischen Dekapeptides mit der zweimal auftretenden Aminosäure-Sequenz (Valin-Ornithin-Leucin-Phenylalanin-Prolin) (L-L-L-D-L) (V). Die δ -Amino-Gruppen der beiden Ornithin-Reste sind frei und verleihen dem 30-gliedrigen Peptid-Ring die basischen Eigenschaften. Das Molekulargewicht wurde von D. C. Hodgkin⁶⁾ und von A. R. Battersby und L. C. Craig⁷⁾ bestätigt. Konstitutionell nahe verwandt mit Gramicidin S sind die Antibiotika Tyrocidin A und B⁸⁾.

Synthese:

Das Trityl-dekapeptid (I) mit der richtigen Sequenz der Aminosäure Reste wurde neuartig durch Umsetzung mit Di-(p-nitrophenyl)sulfit⁹⁾ in den p-Nitrophenyl-ester (II) übergeführt. Aus diesem wurde der Trityl-Rest mit kalter, wäßriger Trifluoressigsäure hydrolytisch entfernt. Das entstandene Salz des Dekapeptid-p-nitrophenylesters (III) wurde in heißem Pyridin nach dem Verdünnungsprinzip cyclisiert¹⁰⁾. Das Reaktionsprodukt wurde mit Ionenaustauschern und durch Chromatographie an Aluminiumoxyd auf Neutralprodukte aufgearbeitet (Entfernung offenkettiger Peptide). Kristallisation aus 65 proz. Äthanol lieferte in 28 % Ausbeute (bezogen auf II) das bisher unbekannte Ditosyl-gramicidin S (IV). Zum Vergleich wurde Ditosyl-gramicidin S aus einem natürlichen Gramicidin S-Präparat¹¹⁾ hergestellt. Die beiden Verbindungen waren (auch in Bezug auf das IR-Spektrum) identisch.

Die beiden Tosyl-Reste ließen sich aus dem Zwischenprodukt IV mit Natrium in flüssigem Ammoniak entfernen. Das synthetische Gramicidin-S-dihydrochlorid wurde aus Methanol-Wasser umkristallisiert. Die Verbindung erwies sich als antibiotisch gleich wirksam wie der Naturstoff (Gram-positive und Gram-negative Organismen). Löslichkeit, IR-Spektrum, papierchromatographisches Verhalten sowie andere physikalische Daten weisen auf Identität des synthetischen und des natürlichen Präparates hin.



Tosorn = N^{δ} -p-Toluolsulfonyl-ornithin. Die Pfeile geben bei cyclischen Peptiden die Richtung der $-\text{CO} \rightarrow \text{NH}$ -Bindungen an.

¹⁾ Vgl. Lancet 247, 715 [1944].

²⁾ Biochem. J. 39, 363 [1945].

³⁾ Ebenda 40, 261 [1946].

⁴⁾ Ebenda 40, XLIII [1946]; 41, 596 [1947].

⁵⁾ Zur Bezeichnungsweise vgl. R. Schwwyer, B. Iselin, W. Rittel u. P. Sieber, Helv. chim. Acta 39, 872 [1956].

⁶⁾ D. C. Hodgkin, Cold Spring Harbor Symposia 14, 65 [1949].

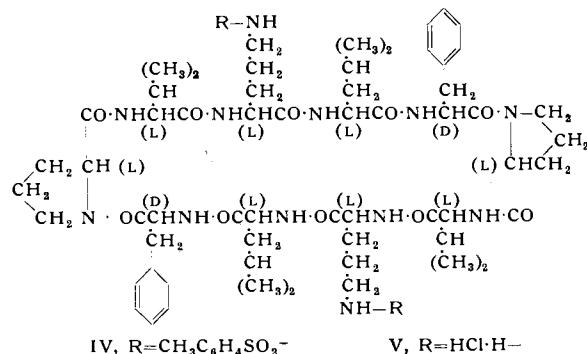
⁷⁾ Amer. chem. Soc. 73, 1887 [1951].

⁸⁾ L. C. Craig u. Mitarb., ebenda 76, 688 [1954]; 77, 6627 [1955].

⁹⁾ B. Iselin, W. Rittel, P. Sieber u. R. Schwwyer, unveröffentl.

¹⁰⁾ R. Schwwyer, B. Iselin, W. Rittel u. P. Sieber, Helv. chim. Acta 39, 872 [1956].

¹¹⁾ Von Prof. R. L. M. Syngle wurden uns zwei Präparate von Gramicidin-S-dihydrochlorid zur Verfügung gestellt. Aus dem einen relativ stark verfärbten (XII 00 B) wurde das Ditosyl-Derivat hergestellt (analog einer Vorschrift für Diacetyl-gramicidin S, welche uns ebenfalls von Prof. Syngle überlassen wurde). Das andere, ein von L. C. Craig durch multiplikative Verteilung hochgereinigtes Präparat, wurde als Vergleichssubstanz für unser synthetisches Gramicidin-S-dihydrochlorid (V) verwendet. Herrn Prof. Syngle möchten wir auch an dieser Stelle für seine freundliche Hilfsbereitschaft herzlich danken.



Struktur von Ditosyl-gramicidin S (IV) und von Gramicidin S dihydrochlorid (V).

Mit dieser ersten Synthese eines cyclischen Peptid-antibiotikums hat die aktivierte Ester-Methode neue Wege zur Erforschung dieser wichtigen, hochkomplizierten Stoffklasse eröffnet.

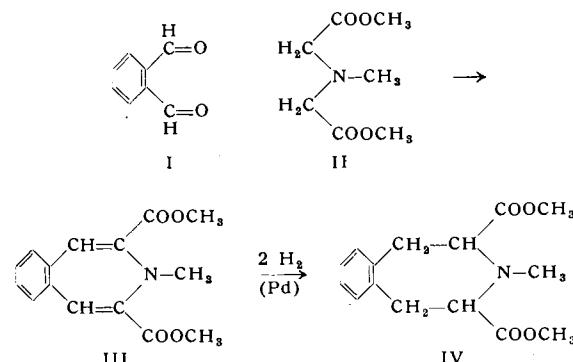
Eingegangen am 23. Juli 1956 [Z 367]

Ein Stickstoff-haltiges ungesättigtes 7-Ring-System mit aromatischen Eigenschaften

Von Prof. Dr. K. DIMROTH
und cand. chem. H. FREYSCHLAG

Aus dem Chemischen Institut der Universität Marburg/Lahn

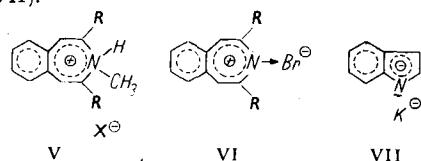
Durch Kondensation von o-Phthalaldehyd (I) mit Methyliminodiessigsäure-dimethylester (II) erhielten wir 4,5-Benzo-N-methylaza-tropiliden-2,7-dicarbonsäure-dimethylester (III):



III kristallisiert in prächtigen roten Prismen (Fp 146 °C, λ_{max} 230, 260, 296 und 340 m μ). Mit Alkalien, besonders beim Erwärmen, wird unter Verharzung Stickstoff abgespalten; Oxydation in alkalischer Lösung mit Kaliumpermanganat liefert Phthal säure. Katalytische Hydrierung in Gegenwart von Pd/BaSO_4 ergibt unter Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff die hydrierte Verbindung IV, die wir als freie Säure (Fp 81–82 °C) und als quartäres Jodmethyletat (Fp 133–134 °C) erhalten haben. Diazomethan wird an III nicht addiert. Auch Jodmethyl lässt sich nicht ohne weiteres an die ungesättigte Stammsubstanz III anlagern.

III löst sich in konz. Schwefelsäure zu einem farblosen Salz; die Absorptionsbanden liegen bei 265 und 325 m μ , das Spektrum ist also gegenüber III stark verändert. Ähnlich wie konz. Schwefelsäure verhalten sich andere starke Säuren. Beim Ausgießen auf Eis wird III wieder unverändert zurückgewonnen. Die Stabilität von III in Säuren und einige weitere Reaktionen, mit denen wir noch beschäftigt sind, sprechen dafür, daß hier das Kation eines Stickstoff-haltigen aromatischen 7-Ring-Systems vorliegt, das Azatropylium-Kation (IV). Besonders interessant ist auch die Reaktion von III mit Brom in Gegenwart von Pyridin-Tetrachlorkohlenstoff: Es entsteht ein Bromid $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_4\text{NBr}$, (Fp 150–151 °C), dem wir die Konstitution VI zuschreiben. Es stellt sozusagen das vinylige Pyrrol- bzw. Indol-Derivat der 7-Ring-Reihe dar, das durch Elektronenentzug durch das elektroaffine Brom-Atom kationisch stabilisiert und aromatisch geworden ist. Beim Pyrrol oder Indol entsteht gerade umgekehrt durch

Elektronenaufnahme von einem nucleophilen Metall-Kation (z. B. K^+ im Pyrrol-Kalium) das relativ stabile Pyrrol oder Indol-Anion (VII).



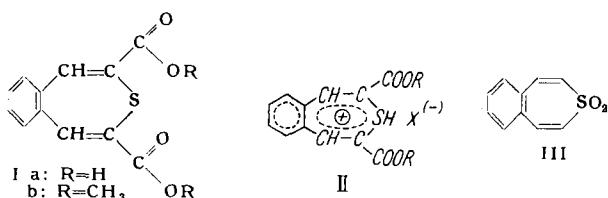
Eingegangen am 12. Juli 1956 [Z 366]

Ein Schwefel-haltiges ungesättigtes 7-Ring-System

Von Prof. Dr. K. DIMROTH und Dipl.-Chem. G. LENKE

Aus dem Chemischen Institut der Universität Marburg/Lahn

Im Zusammenhang mit der Synthese Stickstoff-haltiger ungesättigter Siebenringe¹⁾, wurde die Schwefel enthaltende isologe Verbindung, die bereits G. P. Scott²⁾ dargestellt hatte, von uns näher untersucht. Scott beschreibt die durch Hinsberg-Kondensation³⁾ aus o-Phthalaldehyd und Thioglykol-diessigsäureester entstandene orangefarbene Säure Ia als instabilen Stoff, der besonders in Lösung außerordentlich rasch in die Naphthalin-2,3-dicarbonsäure übergeht, wobei anscheinend gleichzeitig Schwefel gebildet wird. Es ist ihm nicht gelungen, ein genaues Absorptionspektrum zu messen, oder irgendwelche Derivate herzustellen, weil der Stoff sich zu rasch verändert.



Wir haben gefunden, daß man die Säure Ia entweder durch vorsichtiges Einwirken von Diazomethan oder durch Behandeln mit Thionylchlorid und nachfolgende Umsetzung mit Pyridin-Methanol sehr glatt in ihren Dimethylester Ib (Fp 95–97 °C) überführen kann, der – ebenso wie der auf dem 2. Weg mit Äthanol-Pyridin hergestellte Diäthylester (Fp 76 °C) – sehr viel stabiler ist. Eine alkoholische Lösung hat sich selbst nach 24-tägigem Stehen nur ein wenig unter Bildung des Naphthalin-Derivates zerstellt. Rasch allerdings tritt die Zersetzung in alkalischer Lösung ein; hierbei verlieren alle diese Substanzen Schwefel; die konzentrierte Lösung färbt sich allmählich tiefrot. Beim Ansäuern scheidet sich ein Niederschlag ab, aus dem sich die Naphthalin-2,3-dicarbonsäure isolieren läßt. Bei der thermischen Zersetzung gewinnt man neben den Naphthalin-Derivaten glatt elementaren, rhombischen Schwefel.

Nach alledem scheint sich die Substanz I im Gegensatz zu ihrem Stickstoff-Isologen¹⁾ nicht wie eine aromatische Verbindung zu benehmen. Hierfür spricht auch die große Reaktionsfähigkeit der Doppelbindungen, die, wie bei anderen Styrol-Abkömlingen, glatt ein oder zwei Mol Diazomethan addieren und Pyrazolin-Derivate mit relativ fest gebundenem Schwefel liefern.

Und doch ist dieser Schluß falsch: Sorgt man nämlich dafür, daß durch Bindung von Elektronen dem ungesättigten Siebenring Elektronen entzogen werden, dann erhält man auch hier ein durchaus stabiles Kation II, das in seinem Verhalten dem Azatropylium-Kation weitgehend ähnlich ist. So läßt sich der Ester Ib ohne Veränderung in konz. Schwefelsäure lösen und durch Eiswasser wieder ausfällen. Diese und einige andere Reaktionen, über die an anderer Stelle berichtet wird, zeigen, daß der ungesättigte Schwefel enthaltende 7-Ring trotz größerer Raumfüllung des S gegenüber dem N¹⁾ oder C-Atom⁴⁾ und trotz der andersartig aufgebauten Elektronenschale durchaus noch in der Lage ist, aromatische Eigenschaften anzunehmen; sie sind allerdings gegenüber dem Azaisogen deutlich schwächer ausgeprägt. Noch ungünstiger scheinen die Verhältnisse bei dem kürzlich von Truce und Lotspeid⁵⁾ dargestellten ungesättigten 7-Ring-sulfon III zu liegen, da dort die Forderung ebener Struktur des Ringes noch weniger als beim Thioäther I erfüllt ist; die SO₂-Gruppe bildet zudem eine Art Elektronensperre.

Eingegangen am 12. Juli 1956 [Z 365]

¹⁾ Vgl. die vorhergehende Mitteilg. K. Dimroth u. H. Freyschlag, diese Ztschr. 67, 518 [1956].

²⁾ G. P. Scott, J. Amer. chem. Soc. 75, 6332 [1953].

³⁾ O. Hinsberg, Ber. dtsch. chem. Ges. 43, 901 [1910].

⁴⁾ W. von E. Doering u. L. H. Knox, J. Amer. chem. Soc. 74, 5683 [1952].

⁵⁾ W. E. Truce u. F. J. Lotspeid, J. Amer. chem. Soc. 78, 848 [1956].

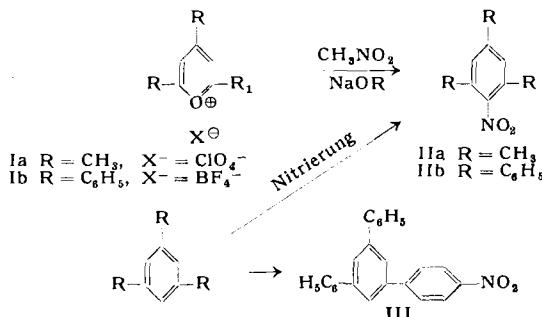
Aromatische Nitro-Verbindungen aus Pyrylium-Salzen

Von Prof. Dr. K. DIMROTH und Dr. G. BRÄUNIGER

Aus dem Chemischen Institut der Universität Marburg/Lahn

Pyrylium-Salze, die an den Stellen 2, 4 und 6 Alkyl- oder Arylgruppen tragen, setzen sich mit nucleophilen Reagentien unter Öffnung des Oxonium-Ringes und u. U. unter Bildung eines neuen Rings um: Man erhält mit Hydroxyl-Ionen die Pseudobasen¹⁾ („Pyranhydride“), mit Sulfiden Thiopyrylium-Salze²⁾, mit Ammoniak Pyridin-Derivate³⁾, mit Anilin, Phenylhydrazin, Benzylamin usw. substituierte Pyridinium-Verbindungen, die sich z. T. durch reeht eigenartige physikalische und chemische Eigenschaften auszeichnen⁴⁾.

Wir haben gefunden, daß sich Pyrylium-Salze, wie 2,4,6-Trimethyl-pyrylium-perchlorat oder 2,4,6-Triphenyl-pyrylium-fluorborat sehr glatt mit Nitromethan-Natrium umsetzen und bei Einwirken von einem weiteren Mol Alkali in guter Ausbeute (80–90%) Nitrobenzol-Derivate liefern. Aus dem 2,4,6-Trimethyl-pyrylium-perchlorat Ia erhält man Nitromesitylen IIa vom Fp 41–42 °C. 2,4,6-Triphenylpyrylium-fluorborat Ib liefert bei der Nitromethan-Reaktion Triphenyl-nitro-benzol IIb vom Fp 144–145 °C, das durch Reduktion ein Triphenylanilin vom Fp 123–124,5 °C ergibt. Beide Stoffe sind identisch mit Verbindungen, die Vorländer⁵⁾ durch direkte Nitrierung und nachfolgende Reduktion von symmetrischem Triphenylbenzol erhielt. Auf Grund langwieriger Abbauversuche schrieb Vorländer dem Nitrokörper die Struktur III zu. Unsere unabhängige Synthese beweist jedoch, daß die direkte Nitrierung trotz sterischer Hinderung den trisubstituierten Benzol-Kern substituiert und zu IIb führt.



Durch diese Synthese lassen sich sonst schwer zugängliche aromatische Nitro- und Amin-Verbindungen und alle ihrer Umwandlungsprodukte darstellen, zumal viele Pyrylium-Verbindungen durch Aufbaureaktionen aus kleineren Bruchstücken oft leicht zugänglich sind. Sie erlaubt auch markierten Kohlenstoff durch den Nitromethan-Rest in den Benzol-Kern an genau definierter Stelle einzuführen. Wir sind damit beschäftigt, die Nitromethan-Reaktion noch auf andere nucleophile Agentien zu übertragen, mit denen entweder ausgehend von Pyrylium-Salzen oder von Glutaconaldehyd (aus Pyridin) aromatische Systeme aufgebaut werden können.

Eingegangen am 12. Juli 1956 [Z 364]

Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie für die Unterstützung unserer Untersuchungen.

Reaktion aliphatischer Amine mit wasserfreiem FeCl₃

Von Prof. Dr. H. v. DOBENECK und Dr. W. LEHNERER

Weitz und Mitarbeiter¹⁾ haben gefunden, daß sich sek. und tert. aromatische Amine mit oxydierend wirkenden Metallhalogeniden zu Aminiumsalzen umsetzen lassen. So bildet sich z. B. aus Tri-tolylamin mit FeCl₃ das tiefblaue Tritolylaminium-tetrachloroferrat (III). Eine entsprechende Reaktionsweise wurde bei aliphatischen Aminen nicht für möglich gehalten.

Wir stellten fest, daß sich auch aliphatische Amine zu offenbar ähnlich gebauten Salzen umsetzen lassen. Versetzt man die

¹⁾ W. Schneider u. F. Seebach, Ber. dtsc. chem. Ges. 54, 2285 [1921].

²⁾ R. Wizinger u. P. Ullrich, Helv. Chim. Acta 39, 207, 317 [1956].

³⁾ A. Bayer u. J. Piccard, Liebigs Ann. Chem. 384, 208 [1911].

⁴⁾ W. Schneider u. W. Riedel, Ber. dtsc. chem. Ges. 74, 1252 [1941]; K. Dimroth, S.-B. Ges. Beförd. ges. Naturwiss., Marburg 76, 3 [1953].

⁵⁾ D. Vorländer, Z. physik. Chem. 105, 245 [1923]; D. Vorländer, E. Fischer u. H. Wille, Ber. dtsc. chem. Ges. 62, 2836 [1929].

⁶⁾ Diese Ztschr. 66, 670 [1954].