

Daß die $n \rightarrow \pi^*$ -Anregungsenergie des gelben Silylketons niedriger ist als die des farblosen tert.-Butylketons, läßt sich — auf der Basis einer σ/π -Separation — somit wie folgt erklären: Der starke induktive Effekt der Trimethylsilyl-Gruppe $+I_{SiR_3} > +I_{CR_3}$ hebt alle inneren Molekülorbitale an. Dies wird jedoch nur am freien Elektronenpaar des Carbonylsauerstoffes sichtbar, das orthogonal zum π -System steht und sich in β -Stellung zum Silicium befindet. Die Energien des Grundzustandes und der angeregten Zustände werden demgegenüber durch die gleichzeitig mögliche Elektronenrückgabe $Si \leftarrow C_{\pi}$ aus dem π -System in leere Atomorbitale des hier α -ständigen Siliciums gesenkt. Diese Wechselwirkung ist in den angeregten Zuständen wegen der geringeren Energiedifferenz zu den unbesetzten Si-Acceptororbitalen erwartungsgemäß größer. Für die Acceptorfunktion von Trimethylsilyl-Gruppen, die π -Symmetrie aufweisen muß, läßt sich eine Beteiligung unbesetzter Silicium-3d-Atomorbitale diskutieren.

Eingegangen am 5. August 1968 [Z 861]

[*] Priv.-Doz. Dr. H. Bock, Dipl.-Chem. H. Alt und Dr. H. Seidl
Institut für Anorganische Chemie der Universität
8 München 2, Meiserstraße 1

[1] Vorgetragen auf dem II. Internationalen Symposium über silizium-organische Verbindungen, Bordeaux, Juli 1968. 13. Mitteilung über d-Orbitaleffekte in silicium-substituierten π -Elektronensystemen. — 12. Mitteilung: H. Bock u. H. Seidl, J. chem. Soc. (London) (B) 1968, im Druck.

[2] A. G. Brook, J. Amer. chem. Soc. 79, 4373 (1957); A. G. Brook, J. M. Duff, P. F. Jones u. N. R. Davis, ibid. 89, 431 (1967); E. J. Corey, D. Seebach u. R. Freedman, ibid. 89, 434 (1967).

[3] A. G. Brook u. G. J. D. Peddle, J. organometallic Chem. 5, 107 (1966).

[4] A. G. Brook, M. A. Quigley, G. J. D. Peddle, N. V. Schwarz u. C. M. Warner, J. Amer. chem. Soc. 82, 5102 (1960); A. G. Brook u. J. R. Pierce, Canad. J. Chem. 42, 298 (1964); vgl. auch W. K. Musker u. R. W. Ashby, J. org. Chemistry 31, 4237 (1966); W. K. Musker u. G. L. Larson, J. organometallic Chem. 6, 627 (1966).

[5] D. F. Harnish u. R. West, Inorg. Chem. 2, 1082 (1963); R. West, J. organometallic Chem. 3, 314 (1965).

[6] L. E. Orgel in E. A. V. Ebsworth: Volatile Silicon Compounds. Pergamon Press, London 1963, S. 81.

[7] G. J. D. Peddle, J. organometallic Chem. 5, 486 (1966); F. Agolini, S. Klemenko, J. G. Csizmadia u. K. Yates, Spectrochim. Acta (Oxford), Part A 24, 169 (1968).

[8] Vgl. z.B. L. Salem: Molecular Orbital Theory of Conjugated Systems. Benjamin, New York 1966, S. 155.

[9] H. Bock u. H. Seidl, Chem. Ber. 101, 2815 (1968).

[10] H. Bock u. H. Alt, Angew. Chem. 79, 934 (1967); Angew. Chem. internat. Edit. 6, 943 (1967); Chem. Commun. 1967, 1299; J. organometallic Chem. 13, 103 (1968).

[11] H. Bock u. H. Alt, Angew. Chem. 79, 932 (1967); Angew. Chem. internat. Edit. 6, 941 (1967); vgl. auch F. Gerson, J. Heinzer, H. Bock, H. Alt u. H. Seidl, Helv. chim. Acta 51, 707 (1968).

[12] H. Bock u. H. Seidl, J. organometallic Chem. 13, 87 (1968); J. chem. Soc. (London) (B) 1968, im Druck; J. Amer. chem. Soc. 90 (1968), im Druck.

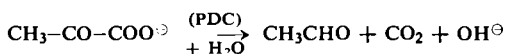
[13] Bei den Phenylketon-Derivaten liegt die CT-Bande im Eigenabsorptionsbereich; deshalb mußten analoge Substanzen herangezogen werden.

[14] K. Yates u. F. Agolini, Canad. J. Chem. 44, 2229 (1966).

Ein neuer Test zur Bestimmung der Pyruvat-Decarboxylase-Aktivität

Von A. Schellenberger, G. Hübner und H. Lehmann[*]

Die bei der Pyruvat-Decarboxylase-Reaktion (PDC; 2-Oxo-säure-Carboxylase, EC 4.1.1.1) gemäß



gebildeten Hydroxid-Ionen lassen eine genaue Verfolgung der Reaktionsgeschwindigkeit durch pH-Stat-Titration zu. Abbildung 1 zeigt, daß der Säureverbrauch linear mit der Zeit

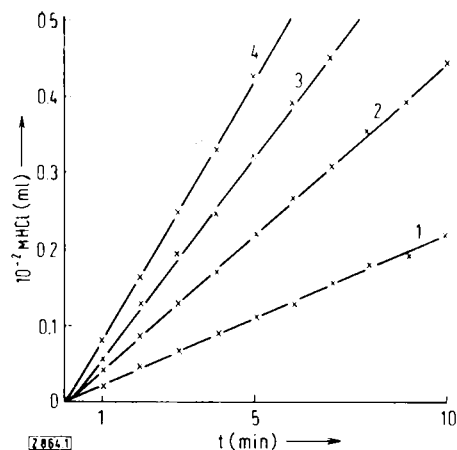


Abb. 1. pH-Stat-Titrationsdiagramme von PDC-Ansätzen unterschiedlicher Enzymaktivität. Kurve 1: 22 I.E.; Kurve 2: 44 I.E.; Kurve 3: 66 I.E.; Kurve 4: 88 I.E.; Ausgangsvolumen = 8 ml; pH = 6,0; Natriumpyruvat-Konzentration = 0,1 M.

zunimmt und daß der Anstieg der Kurven der Enzymkonzentration proportional ist. Bei dem aufgrund der Empfindlichkeit des Tests geringen Umsatz an Pyruvat tritt keine Hemmung der Reaktion durch den entstehenden Acetaldehyd ein. Ein weiterer Vorteil besteht darin, daß in pufferfreien Medien gearbeitet werden kann und damit Salz- und Fremdioneneffekte ausgeschaltet sind. Die im optischen Test nach Holzer^[1] und im Warburg-Test bestimmten Enzymaktivitäten stimmen mit den im pH-Stat-Test gemessenen Aktivitäten in guter Näherung überein (Tabelle 1).

Tabelle 1. Vergleich von Messungen der Enzymaktivität.

pH	Enzymaktivität (I.E.)/0,05 ml Standard (ca. 2 mg PDC/ml)		
	pH-Stat-Test	optischer Test	Warburg-Test
5,2	0,29		
5,6	0,70		
6,0	0,88	0,90	0,82
6,4	0,79	0,80	
6,8	0,62	0,62	
7,5	0,16	0,16	

Der pH-Stat-Test kann zwischen pH = 5,2 und 6,8 angewendet werden. Die bei verschiedenen pH-Werten gemessenen Enzymaktivitäten zeigen mit den von Singer und Pensky^[2] angegebenen Werten gute Übereinstimmung.

Mit dem pH-Stat-Test läßt sich die Decarboxylierungsgeschwindigkeit auch von Substratanalogen wie aliphatischen α -Ketosäuren und substituierten Phenylglyoxylsäuren bestimmen, die im optischen Test nicht gemessen werden können. Da kein Hilfsenzymssystem benötigt wird, kann man auch in Gegenwart von Produkt arbeiten.

Eingegangen am 29. Juli 1968 [Z 864]

[*] Prof. Dr. A. Schellenberger, Dr. G. Hübner u. H. Lehmann
Institut für Biochemie, Chemische Abteilung der Universität
DDR-401 Halle/Saale

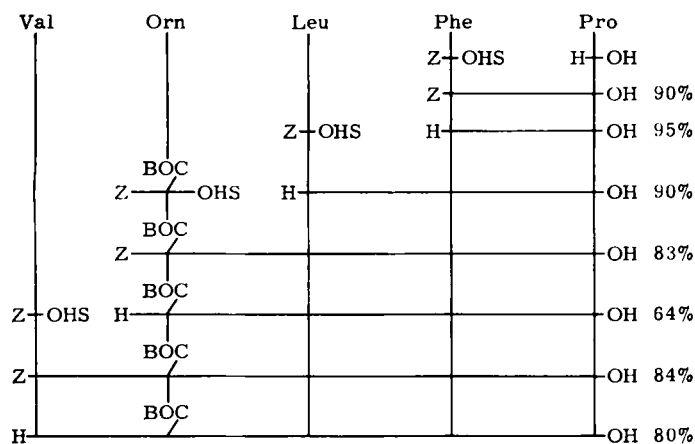
[1] E. Holzer, H.-D. Söling, H. W. Goedde u. H. Holzer in H. U. Bergmeyer: Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße 1962, S. 602.

[2] T. P. Singer u. J. Pensky, J. biol. Chemistry 196, 375 (1952).

Synthese von all-L-Gramicidin S^{[1][**]}

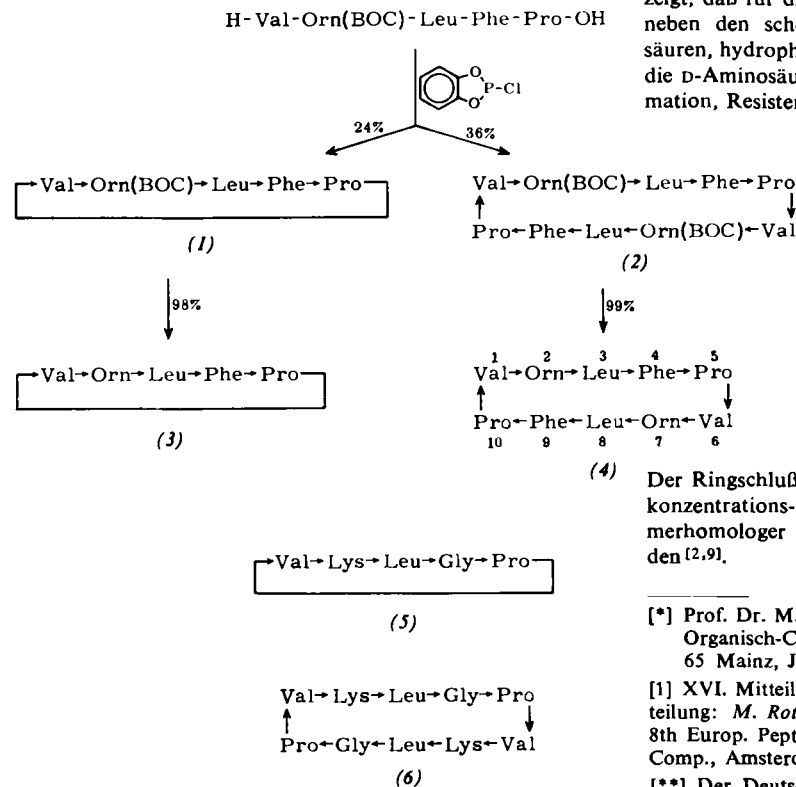
Von M. Rothe und F. Eisenbeiß[*]

Wir haben das langgesuchte^[3] Cyclodecapeptid all-L-Gramicidin S (4) synthetisiert, in dem beide D-Phenylalaninreste des Gramicidins S (aus *Bacillus brevis*) durch den L-Antipoden ersetzt sind^[2].



Schema 1. Synthese von Val-Orn(BOC)-Leu-Phe-Pro. Die Zahlen rechts bedeuten die Ausbeute an umkristallisierten, dünnstichchromatographisch reinen Produkten. BOC = tert.-Butyloxycarbonyl, Z = Benzyloxycarbonyl, OHS = Hydroxysuccinimidester.

Wir stellten zunächst das lineare Pentapeptid Val-Orn(BOC)-Leu-Phe-Pro durch schrittweisen Aufbau vom Carboxyende her nach der Hydroxysuccinimidester-Methode^[4] her. Schemata 1 und 2 zeigen den Syntheseweg. Der Ringschluß gelang in 60-proz. Ausbeute nach der Phosphitmethode^[5] mit Phosphorigsäure-brenzcatechinester-chlorid^[6] in $5 \cdot 10^{-3}$ M



Schema 2. Synthese von Cyclo-semi-all-L-Gramicidin S (3) und all-L-Gramicidin S (4). Analog wurden (5) und (6) dargestellt.

Lösung in Diäthylphosphit bei 100 °C. Dabei entstand neben dem 15-gliedrigen Cyclopentapeptid (1) unter Dimerisierung das gewünschte 30-gliedrige Cyclodecapeptid (2) (Verhältnis etwa 2:3), die an Sephadex LH 20 in methanolischer Lösung getrennt wurden. Die Ringgrößen folgen aus der Mol.-Gew.-Bestimmung [(1): ber. 670,9, gef. 671 durch Massenspektrometrie; (2): ber. 1341,7, gef. 1275 durch Dampfdruck-Osmometrie]. Die δ -BOC-Schutzgruppe des Ornithins wurde mit 1 N HCl/Eisessig bei Raumtemperatur abgespalten.

(4) kristallisiert aus Äthanol/2 N HCl als Dihydrochlorid in Säulen; die Analysendaten weisen auf ein Tetrahydrat hin.

Die quantitative Aminosäureanalyse^[7] lieferte nach Totalhydrolyse (6 N HCl, 110 °C) folgende Werte: Val 0,92, Orn 1,14, Leu 1,01, Phe 1,05, Pro 1,00 (Bezugswert).

Analog konnten das Lys², Gly⁴-Cyclo-semi-gramicidin S (5) als Dihydrochlorid und das Lys², Gly⁴, Lys⁷, Gly⁹-Gramicidin S (6) als Dihydrochlorid gewonnen werden. Einige physikalische Daten von (1)–(6) sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. Physikalische Daten von (1)–(6).

Verb.	Fp (°C)	$[\alpha]_D^{25}$ (°)	t (°C)	c	Lösungsmittel
(1)	136	−111,8	26	0,8	Methanol
(2)	185–190 (Zers.)	−82,1	26	1,54	Methanol
(3) [b]	184	−91,4	25	0,33	Methanol
(4) [a]	246–247	−76,8	24	0,66	60-proz. Äthanol
(5) [b]	204–206	−156,1	25	0,92	Äthanol
(6) [a]	275 (Zers.)	−191,9	23	0,6	Methanol

[a] Dihydrochlorid, [b] Hydrochlorid.

All-L-Gramicidin S und die Cyclopeptide (5) und (6) haben keine antibiotische Wirksamkeit gegenüber gram-negativen Bakterien (*E. coli*); gram-positive (*Staph. aureus*) zeigen bei (6) Wachstumsinhibierung über 40 µg/ml [10^6 Organismen], Glucose-Bouillon; ein nach Merrifield aufgebautes und wie oben cyclisiertes Gramicidin S dagegen unter 1 µg/ml^[8]. Dies zeigt, daß für die Wirksamkeit von Cyclopeptid-Antibiotika neben den schon bekannten Faktoren (basische Aminosäuren, hydrophobe Seitenketten, minimale Ringgröße) auch die D-Aminosäuren verantwortlich sind (spezifische Konformation, Resistenz gegen enzymatische Spaltung).

Der Ringschluß zu (1) und (2) ist ein neues Beispiel für die konzentrations- und lösungsmittelabhängige Bildung polymorphologischer Ringe bei der Cyclisierung von Oligopeptiden^[2,9].

Eingegangen am 5. August 1968 [Z 860a]

[*] Prof. Dr. M. Rothe und Dipl.-Chem. F. Eisenbeiß
Organisch-Chemisches Institut der Universität
65 Mainz, Johann-Joachim-Becher-Weg 18–20

[1] XVI. Mitteilung der Reihe „Cyclische Peptide“. – XV. Mitteilung: M. Rothe, I. Rothe, T. Tóth u. K.-D. Steffen, Proc. 8th Europ. Peptide Sympos., Noordwijk. North-Holland Publ. Comp., Amsterdam 1967, S. 8.

[**] Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für finanzielle Unterstützung, der Farbwerke Hoechst AG für die Gewährung des Karl-Winnacker-Stipendiums an M. R. und der Dr.-G.-Scheuing-Stiftung für ein Stipendium an F. E.

[2] M. Rothe u. F. Eisenbeiß, Z. Naturforsch. 21b, 814 (1966).

[3] E. Schröder u. K. Lübke: The Peptides. Academic Press, New York 1965, Bd. 1, S. 274; R. Schwyzler, CIBA Found. Sympos., Amino Acids and Peptides with Antimetabolic Activity. Little, Brown and Co., Boston 1958, S. 171.

[4] G. W. Anderson, J. E. Zimmerman u. F. M. Callahan, J. Amer. chem. Soc. 85, 3039 (1963); 86, 1839 (1964).

[5] M. Rothe, I. Rothe, H. Brünig u. K.-D. Schwenke, Angew. Chem. 71, 600 (1959).

[6] P. C. Crofts, J. B. M. Markes u. H. N. Rydon, J. chem. Soc. (London) 1959, 3610.

[7] Für die Ausführung der Analysen danken wir Dr. E. Schwerdtfeger, Geisenheim, Bundesanstalt für Qualitätsforschung pflanzlicher Erzeugnisse.

[8] Für die mikrobiologischen Tests danken wir Prof. Dr. P. Klein und Dr. R. Ringelmann, Mainz, Institut für Medizinische Mikrobiologie.

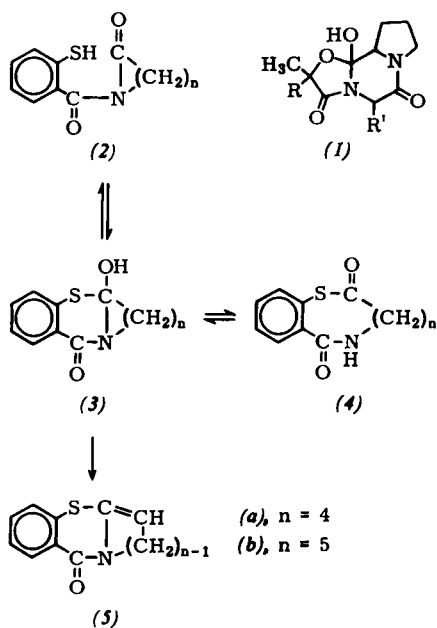
[9] H. Aoyagi u. N. Izumiya, Bull. chem. Soc. Japan 39, 1747 (1966).

Thiacyclole und Cyclo-thiodepsipeptide^[1] [***]

Von M. Rothe und R. Steinberger^[*]

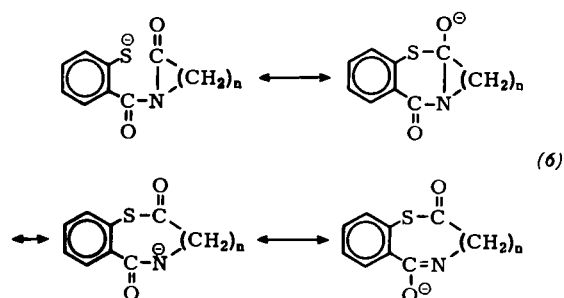
Orthocarbonsäure-Derivate mit einer freien OH-Gruppe sind nur in Ausnahmefällen stabil, z.B. in Form der Cyclolgruppierung^[2], die im Peptidteil der Mutterkornalkaloide (1) vorkommt.

Wir haben die ersten Thiacyclole (3) [***] N-acylierte Orthocarbonsäure-monothioester-monoamide, aus N-(ω-Mercaptoacyl)lactamen (2) synthetisiert, die aus S-geschützten Mercaptocarbonsäure-chloriden und N-Trimethylsilyl-lactamen unter Abspaltung von Trimethylchlorsilan und anschließender Entfernung der Schutzgruppe zugänglich sind^[3]. Aromatische o-Mercaptoacyl-lactame, z.B. N-(o-Mercapto-benzoyl)-δ-valerolactam (2a) und -ε-caprolactam (2b), sind instabil und reagieren spontan zu den Thiacyclolen (3a) bzw. (3b) oder zu den bisher ebenfalls unbekannten Cyclo-thiodepsipeptiden (4a) bzw. (4b).



Die Struktur von (3) und (4) geht eindeutig aus dem IR-Spektrum hervor (Tabelle 1): Cyclo-thiodepsipeptide zeigen die charakteristischen Thioester- und Amid-II-Banden, die bei den Thiacyclolen fehlen. Bei Thiacyclolen findet man erwartungsgemäß nur eine Carbonyl- und die OH-Bande sowie im Massenspektrum eine schwache Molekülspitze neben einer starken Spitze bei $M - 18$, die dem Dehydro-thiacyclole (5a), $F_p = 60,5 - 61,5^\circ\text{C}$, entspricht, dessen Doppelbindung NMR-spektroskopisch nachgewiesen werden kann (ein Vinylproton bei $\tau = 4,92$, in CCl_4 , TMS als innerer Standard). Diese Wasserabspaltung läßt sich auch im Massenspektrum der Cyclo-thiodepsipeptide nachweisen und zeigt die leichte Cyclolbildung unter transannularer Amid-Thioester-Wechselwirkung in zehn- und elfgliedrigen Ringen. (5a) wurde durch Wasserabspaltung mit saurem Al_2O_3 (Aktivität I) aus (3a) synthetisiert.

Das Vorliegen des Gleichgewichts $(2) \rightleftharpoons (3) \rightleftharpoons (4)$ ergibt sich aus der Umwandlung von (3b) in (4b) in Aceton/Wasser, die durch Zusatz katalytischer Mengen an OH^- be-



schleunigt werden kann, sowie aus der Methylierung von (3b) mit CH_3J unter $\text{S}_\text{N}2$ -Bedingungen, wobei das ambidente Anion (6) den S-Methyläther von (2b), $F_p = 88 - 89^\circ\text{C}$, bildet. — Alle Verbindungen waren dünnschichtchromatographisch und analytisch rein.

Tabelle 1. Schmelzpunkte und IR-Spektren von Thiacyclolen und Cyclo-thiodepsipeptiden.

	F_p ($^\circ\text{C}$)	ν (cm^{-1})				C=O (Thio- ester)	C=O (Thi- azinon)
		OH	NH	Amid I	Amid II		
(3a)	129–130	3236	—	—	—	—	1613
(4a)	195–196	—	3268	1645	1550	1712	—
(3b)	122–123	3236	—	—	—	—	1605
(4b)	222–224	—	3289	1642	1553	1686	—

5a-Hydroxy-6,7,8,9-tetrahydro-5aH,11H-pyrido[2,1-b]benzo-[e]-[1,3]thiazin-11-on (3a):

1,50 g (5,40 mmol) S-Acetyl-thiosialicyloyl-valerolactam ($F_p = 99 - 100^\circ\text{C}$, dargestellt nach^[3]) in 30 ml Methanol werden mit 955 mg Ag-acetat (5% Überschuß) in 30 ml Methanol und 2 ml Pyridin unter Stickstoff versetzt, 30 min bei Raumtemperatur gerührt, in Wasser gegossen und das kolloidal gelöste Ag-thiolat mit NaNO_3 ausgesalzen. Nach Absaugen wird in 50 ml Aceton/Wasser (5:1) gelöst, 15 min unter Rühren H_2S eingeleitet, vom Ag_2S abfiltriert und das Aceton im Vakuum abgezogen. Ausbeute 950 mg (75%) kristallines Thiacyclole (3a) vom $F_p = 129 - 130^\circ\text{C}$, das sich rasch gelb färbt unter Bildung von (5a), in der Kühltruhe bei -15°C aber unverändert haltbar ist. — 10,0 g (3a) werden aus einem Gemisch von 150 ml Aceton, 75 ml Wasser und 0,5 ml Triäthylamin umkristallisiert. Bei Raumtemperatur kristallisieren 700 mg (4a), $F_p = 195 - 196^\circ\text{C}$ (aus Eisessig).

Eingegangen am 5. August 1968 [Z 860b]

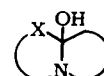
[*] Prof. Dr. M. Rothe und Dipl.-Chem. R. Steinberger
Organisch-Chemisches Institut der Universität
65 Mainz, Johann-Joachim-Becher-Weg 18–20

[1] XIII. Mitteilung der Reihe „Reaktionen mit aktivierten Säureamiden“. — XII. Mitteilung: M. Rothe, Angew. Chem. 80, 245 (1968); Angew. Chem. internat. Edit. 7, 233 (1968).

[**] Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für finanzielle Unterstützung, der Farbwerke Hoechst AG für die Gewährung des Karl-Winnacker-Stipendiums an M. R. und der Dr.-G.-Scheuing-Stiftung für ein Stipendium an R. St.

[2] M. M. Shemyakin, V. K. Antonov, A. M. Shkrob, V. J. Shehelokov u. Z. E. Agadzhanyan, Tetrahedron 21, 3537 (1965); A. Hofmann, H. Ott, R. G. Griot, P. A. Stadler u. A. J. Frey, Helv. chim. Acta 46, 2306 (1963).

[***] Es hat sich eingebürgert, die Gruppierung



mit $\text{X} = \text{O}, \text{S}, \text{NH}$ usw. als Cyclol zu bezeichnen. Vertreter mit $\text{X} = \text{O}$ werden meistens ebenfalls Cyclole (seltener Oxacyclopentane) genannt.

[3] M. Rothe, T. Tóth u. R. Daser, Chem. Ber. 99, 3820 (1966).