

Peptolide

Von E. SCHRÖDER und K. LÜBKE *

I. Nomenklatur

Als Sondergruppe der heterodet cyclischen heteromeren Peptide sind in den letzten Jahren Verbindungen im verstärkten Masse interessant geworden, die als Heterobestandteil innerhalb des Ringes Hydroxysäuren enthalten. Während von RUSSEL und BROWN¹ für diese neue Gruppe von Naturstoffen die Bezeichnung «Peptolide» vorgeschlagen wurde, ist sie von SCHEMJAKIN und KHOKHLOV^{2,3} in die Substanzklasse der Depsipeptide einbezogen worden, zu der außerdem noch O-Peptide und Peptidlactone wie z.B. das Etamycin (Viridogrisein)^{4–6}, Ostreogrycin⁷, Staphylocycin Faktor S^{8–11}, Echinomycin^{12–14} sowie die Actinomycine^{15,16} gehören. Obwohl der Begriff Peptolid von RUSSEL¹⁷ daraufhin wieder zurückgezogen worden ist, erscheint es uns angebracht, ihn aufgrund der besonderen Strukturmerkmale beizubehalten. Alle Verbindungen, die Peptid- und Esterbindung im Molekül enthalten, sind entsprechend dem Vorschlag von SCHEMJAKIN als «Depsipeptide» zu bezeichnen, diese sehr vielfältige Gruppe¹⁸ jedoch in die homöomeren O-Peptide und Peptidlactone und in die heteromeren Peptolide zu unterteilen. Charakteristisch für die Peptolide ist also, dass die in allen Depsipeptiden vorhandene Esterbindung mit einer reinen Hydroxysäure gebildet wird, wobei eine alternierende oder nicht alternierende Reihenfolge von Aminosäure und Hydroxysäure in cyclischer oder acyclischer Form möglich sein kann.

II. Die natürlichen Peptolide, ihr Vorkommen und ihre biologischen Eigenschaften

Aus den Fusarienstämmen *F. lateritium*, *F. avanaceum*, *F. sambucinum* und *F. fructogenum* konnten 1947 von COOK, COX und FARMER¹⁹ 5 verschiedene antibiotisch wirksame Substanzen isoliert werden: Lateritiin-I, Lateritiin-II, Avanacein, Sambucinin und Fructigenin. Die Verbindungen hemmen das Wachstum von *Mycobacterium phlei* und sind schwach wirksam gegenüber *Staphylococcus aureus*.

Zwei weitere, gegen Mycobakterien wirksame Antibiotika, das Enniatin A^{20,21} und das Enniatin B^{22,23}, werden von dem Fusarienstamm ETH 1523/8 (*F. orthoceras* var. *enniatinum* später als *F. oxysporum* identi-

fiziert²⁴) bzw. von den Fusarienstämmen ETH 4363 und 1574 produziert. Enniatin A zeigt folgende Wirksamkeiten²⁰: *Mycobact. paratuberculosis* ETH 2001: 1200000 (Verdünnungseinheiten pro g); *Mycobact. phlei* ATCC 354: 310000; *Mycobact. tuberculosis* (human): 100–500000; *Bacillus subtilis* ETH 2016: 320000; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P: 160000; *E. coli*

- * Hauptlaboratorium der SCHERING AG, Berlin-West (Deutschland). Für Anregungen, wertvolle Diskussionen und das rege Interesse an unserer Arbeit sind wir Herrn Dr. H. GIBIAN zu Dank verpflichtet.
- ¹ D. W. RUSSEL und M. E. BROWN, Biochem. biophys. Acta **38**, 382 (1960).
- ² M. M. SCHEMJAKIN und A. S. KHOKHLOV, *Die Chemie der Antibiotika*, 2. Aufl. (Staatl. Verlag für Chemie, Moskau 1953), p. 484.
- ³ M. M. SCHEMJAKIN, Angew. Chem. **72**, 342 (1960).
- ⁴ B. HEINEMANN, A. GOUREVITCH, J. LEIN, D. L. JOHNSON, M. A. KAPLAN, D. VANAS und J. R. HOPPER, Antibiotics annual **1954–55**, 728.
- ⁵ Q. R. BARTZ, J. STANDIFORD, J. D. MOLD, D. W. JOHANESSEN, A. RYDER, A. MARETZKI und T. H. HASKELL, Antibiotics annual, **1954–55**, 777.
- ⁶ J. C. SHEEHAN, H. G. ZACHAU und W. B. LAWSON, J. Amer. chem. Soc. **79**, 3933 (1957); **80**, 3349 (1958).
- ⁷ F. W. EASTWOOD, B. K. SNELL und A. TODD, J. chem. Soc. (London) **1960**, 2286.
- ⁸ P. DE SOMER und P. VAN DIJCK, Antibiotics and Chemotherapy **5**, 632 (1955).
- ⁹ H. VANDERHAEGE, P. VAN DIJCK, G. PARMENTIER und P. DE SOMER, Antibiotics and Chemotherapy **7**, 606 (1957).
- ¹⁰ P. VAN DIJCK, H. VANDERHAEGE und P. DE SOMER, Antibiotics and Chemotherapy **7**, 625 (1957).
- ¹¹ H. VANDERHAEGE und G. PARMENTIER, J. Amer. chem. Soc. **82**, 4414 (1960).
- ¹² R. CORBAZ, L. ETTLINGER, F. GÄUMANN, W. KELLER-SCHIERLEIN, F. KRADOLFER, L. NEIPP, V. PRELOG, P. REUSSER und H. ZÄHNER, Helv. chim. Acta **40**, 199 (1957).
- ¹³ W. KELLER-SCHIERLEIN und V. PRELOG, Helv. chim. Acta **40**, 205 (1957).
- ¹⁴ W. KELLER-SCHIERLEIN, M. LJ. MIHAJOVIĆ und V. PRELOG, Helv. chim. Acta **42**, 305 (1959).
- ¹⁵ H. BROCKMANN, in L. ZECHMEISTER, *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe* (Springer-Verlag, Wien 1956), Bd. 18, p. I.
- ¹⁶ H. BROCKMANN, Angew. Chem. **68**, 66 (1956).
- ¹⁷ D. W. RUSSEL, Biochem. biophys. Acta **45**, 411 (1960).
- ¹⁸ Über eine Zusammenfassung siehe M. M. SCHEMJAKIN, Uspechi chimii **31/3**, 269 (1962).
- ¹⁹ A. H. COOK, S. F. COX, T. H. FARMER und M. S. LACEY, (a) Nature (London) **160**, 31 (1947); (b) J. chem. Soc. (London) **1949**, 1022.
- ²⁰ E. GÄUMANN, ST. ROTI, L. ETTLINGER, PL. A. PLATTNER und U. NAGER, Exper. **3**, 202 (1947).
- ²¹ PL. A. PLATTNER und U. NAGER, Helv. chim. Acta **31**, 2192 (1948).
- ²² PL. A. PLATTNER und U. NAGER, Exper. **3**, 325 (1947).
- ²³ PL. A. PLATTNER und U. NAGER, Helv. chim. Acta **31**, 605 (1948).
- ²⁴ PL. A. PLATTNER und U. NAGER, Helv. chim. Acta **31**, 2203 (1948).

ETH 2018: 1000. Enniatin B besitzt im Bakterientest gegen *Mycobacterium paratuberculosis* ETH 2001 etwa $\frac{1}{4}$ der Aktivität von Enniatin A.

Aus dem Mycel eines zur Spezies *Streptomyces fulvisimus* gehörenden Actinomycetenstammes konnte von BROCKMANN und SCHMIDT-KASTNER²⁵ das Valinomycin isoliert werden. Die gleiche Verbindung wird neuerdings auch von BROWN, BRENNAN und KELLEY²⁶ beschrieben. Als wirksame Grenzkonzentrationen des Valinomycins gegen *St. aureus* und *Bact. subtilis* wird 1:30000 bzw. 1:20000 angegeben. Gegen virulente humane Stämme von *Mycobacterium tuberculosis* war die Wirksamkeit 1:900000. Bei Verwendung anderer Tbc-Stämme lag die Grenzkonzentration bei 1:10000.

Mit der Isolierung des Amidomycins²⁷ aus Kulturen von *Streptomyces* PRL 1642 wurde ein speziell gegen Fungi wirksames Peptolid-Antibiotikum aufgefunden. Pflanzenpathogene Organismen sowie gewisse Hefen werden durch Amidomycin (Grenzkonzentration von 1–2 µg/ml) gehemmt. Das Wachstum von *Candida albicans* ATCC 10231 wird bei einer Konzentration von 0,6 µg/ml für drei Tage inhibiert.

Als Stoffwechselprodukt des Weide-Fungus *Sporidesmium bakeri* [= *Pithomyces chartarum* (Berk. und Curt.) M. B. Ellis] isolierte RUSSEL das Sporidesmolid I^{1,17}, das möglicherweise mit einer als «Gesichtsekzem» bezeichneten Krankheit bei Weidevieh in Zusammenhang steht^{28,29}. Die bei der Strukturaufklärung des Sporidesmolid I erhaltenen Spaltprodukte Sporidesmolsäure A und B zeigen gewisse phytotoxische Eigenschaften bei isolierten Pflanzenstrukturen. Für toxische Effekte an der intakten Pflanze liegen bisher keine Beweise vor. Als Stoffwechselprodukt des Fungus *Isaria cretacea* haben VINING und TABER³⁰ ein als Isariin bezeichnetes Peptolid gefunden. Biologische Eigenschaften wurden bisher nicht publiziert. Das gleiche gilt für das von WASSERMAN, KEGGI und McKEON³¹ aus verschiedenen Serratiastämmen isolierte Serrata-molid.

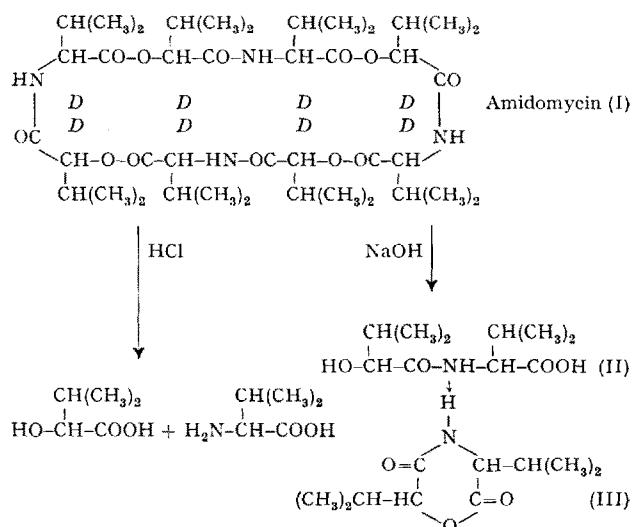
III. Isolierung und Strukturaufklärung

1. Prinzip. Zur Isolierung der bisher bekannten Peptolide werden die Mikroorganismen 14–20 Tage bei 25–27° in einer synthetischen Nährösung belassen und die Peptolide anschliessend aus den getrockneten Mycelien mehrere Tage mit Petroläther, Äther und Methanol extrahiert.

Die Strukturaufklärung erfolgt durch chromatographischen und chemischen Nachweis der bei der sauren Totalhydrolyse entstandenen Aminosäuren und Hydroxysäuren sowie eventuell deren Isolierung, und durch die Identifizierung der bei der alkalischen Partialhydrolyse gebildeten Verbindungen vom Typ Hydroxyacylaminosäuren oder Hydroxyacylpeptide. Nach Ermittlung der Molekulargewichte können meist genaue, jedoch zumindest partielle Angaben über die Struktur gemacht werden.

2. Die Strukturen der bisher bekannten Peptolide. (a) α -Hydroxysäuren als Heterobestandteil

(α) Verbindungen mit alternierenden Hydroxysäuren: Amidomycin (I) liefert bei der sauren Totalhydrolyse 4 Mol D- α -Hydroxyisovaleriansäure (isoliert als β -Phenylphenacylester und papierchromatographisch identifiziert durch Anfärbung mit 2,6-Dichlorbenzenon-indophenol) und 4 Mol D-Valin. Schonende alkalische Hydrolyse führt zum D- α -Hydroxyisovaleryl-D-valin (II), das als Methylester, α -Naphthylurethanderivat sowie durch Hochvakuumsublimation als Lacton (III, 3,6-Diisopropyl-2,5-dioxomorpholin) charakterisiert werden konnte. Aufgrund der Abbauprodukte und dem gefundenen Molekulargewicht wird dem Amidomycin von VINING und TABER³² die Struktur eines 24gliedrigen Ringes mit alternierender Ester- und Amidbindung zugeordnet.



In enger Beziehung zum Amidomycin steht das von BROCKMANN und GEEREN³³ in der Struktur aufgeklärte Valinomycin. Durch Totalhydrolyse konnten 2 Mol L-Valin, 2 Mol D-Valin, 2 Mol L-Milchsäure und 2 Mol D- α -Hydroxyisovaleriansäure als Bausteine gefunden werden. Die beiden Hydroxysäuren wurden durch Ätherextraktion des sauren Totalhydrolysates isoliert und durch Chromatographie an Kieselsäure getrennt. Milchsäure wurde durch Bleitetraacetatoxydation zum

²⁵ H. BROCKMANN und G. SCHMIDT-KASTNER, Chem. Ber. 88, 57 (1955).

²⁶ R. BROWN, J. BRENNAN und CH. KELLEY, Antibiotics Chemistry and Therapy 12, 482 (1962).

²⁷ W. A. TABER und L. C. VINING, Canad. J. Microbiol. 3, 953 (1957).

²⁸ J. C. PERCIVAL und R. M. THORNTON, Nature (London) 182, 1095 (1958).

²⁹ R. L. M. SYNGE und E. P. WHITE, Chem. and Ind. 1959, 1546.

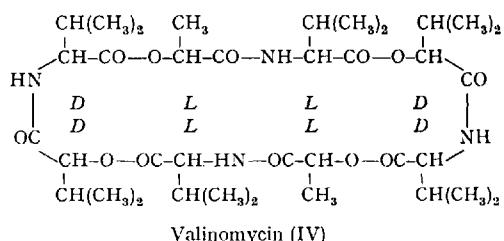
³⁰ L. C. VINING und W. A. TABER, Canad. J. Chem. 40, 1579 (1962).

³¹ H. H. WASSERMAN, J. J. KEGGI und J. E. McKEON, J. Amer. chem. Soc. 83, 4107 (1961).

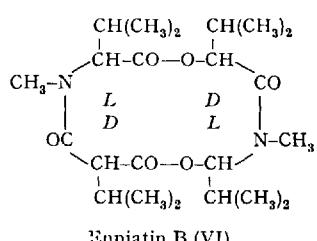
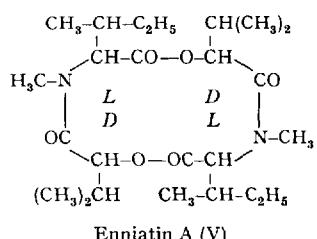
³² L. C. VINING und W. A. TABER, Canad. J. Chem. 35, 1109 (1957).

³³ H. BROCKMANN und H. GEEREN, Liebigs Ann. Chem. 603, 216 (1957).

Acetaldehyd umgewandelt. Alkalische Partialhydrolyse führte zu den Spaltprodukten *L*-Lactyl-*L*-valin und *D*- α -Hydroxyisovaleryl-*D*-valin, die durch Chromatographie an mit Ammoniak vorbehandelten Kiesel säuresäulen getrennt und nach Sublimation als Lactone identifiziert werden konnten. Da es sich bei dem Valinomycin aufgrund von kryoskopischen und ebullioskopischen Molekulargewichtsbestimmungen um ein Okta-Peptolid handelt, das Molekül ferner keine freien Amino-, Hydroxy- und Carboxylgruppen enthält, stehen zur Zeit zwei Strukturformeln zur Diskussion. Während in IV die beiden Teilesequenzen Lactyl-Valin und Hydroxyisovaleryl-Valin abwechselnd angeordnet sind, enthält die andere Formel jeweils zwei gleiche Teilesequenzen hintereinander. Nach der bisherigen Auswertung saurer Partialhydrolysate und chromatographischen Vergleiches der Abbauprodukte scheint Formel IV die wahrscheinlichere zu sein.



Für die Enniatine werden von PLATTNER und NAGER^{21,23} die Strukturen 12gliedriger Cyclo-tetrapeptolide angegeben, die alternierend *D*-Hydroxyisovaleriansäure und *L*-N-Methyl-isoleucin bzw. *L*-N-Methyl-valin enthalten:



Die Komponenten werden nach mehrstündiger Hydrolyse mit 20%iger Salzsäure isoliert. *D*-Hydroxyisovaleriansäure wird als ρ -Phenylphenacylester und durch Bleitetraacetatoxydation zum Isobutyraldehyd identifiziert. Die optische Konfiguration wird eindeutig durch Vergleich mit einem durch Diazotierung von

D-Valin erhaltenen Produkt ermittelt. *L*-N-Methyl-isoleucin wurde durch Abbau mit Hypochlorit zu Methyamin und (+)-Methyläthylacetaldehyd charakterisiert. Die Konfiguration konnte aufgrund der Änderung der optischen Drehung beim Übergang von wässriger zu salzsaurer Lösung festgestellt werden (vgl. LUTZ und JIRGENSONS³⁴). Bei der milden alkalischen Hydrolyse von Enniatin A (V) werden 2 Mol Alkali unter Bildung von *D*- α -Hydroxyisovaleryl-*L*-N-Methyl-isoleucin verbraucht. Die Identifizierung erfolgte sowohl nach Reaktion mit Diazomethan als Methylester als auch nach Hochvakuumsublimation als Lacton. Enniatin B (VI) liefert bei alkalischer Hydrolyse *D*- α -Hydroxyisovaleryl-*L*-N-methyl-valin, das als Methylester, Hydrazid und Lacton charakterisiert werden konnte.

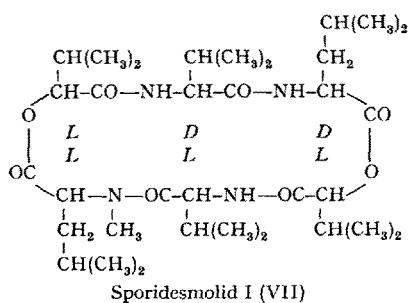
Die bisher genannten Enniatin A bzw. B produzierenden Fusarienstämme bilden neben der Hauptkomponente jeweils die andere Enniatinkomponente in geringerem Masse mit. Bei anderen untersuchten Stämmen liegen die Verhältnisse ungünstiger. Vermutlich wird noch eine dritte Verbindung Enniatin C gebildet, die N-Methyl-leucin als Aminosäurekomponente enthält. Das Vorkommen von Enniatinen, die zwei verschiedene N-Methyl-aminoäuren enthalten, ist ebenfalls nicht auszuschließen²⁴.

Von den von COOK, COX und FARMER^{19b} beschriebenen Antibiotika ist das Lateritiin I näher untersucht worden. Als Bausteine konnten wie beim Enniatin B *D*- α -Hydroxyisovaleriansäure und *L*-N-Methyl-valin gefunden werden. Analog wurden durch alkalischen Abbau *D*- α -Hydroxyisovaleryl-*L*-N-Methyl-valin und das entsprechende Lacton erhalten, das auch durch Synthese in seiner Struktur bestätigt werden konnte. Der für Lateritiin I angegebene Schmelzpunkt von 121–122°C stimmt jedoch mit dem von Enniatin A (122–122,5°C) überein. Für Enniatin B wird 174–176°C angegeben. Die Summenformel $C_{26}H_{40}N_2O_6$ ist weder mit Enniatin A ($C_{24}H_{42}N_2O_6$) noch mit Enniatin B ($C_{22}H_{38}N_2O_6$) identisch. Die anderen Antibiotika Late-ritiin II, Avenacein, Sambucinin und Fructigenin enthalten alle *D*- α -Hydroxyisovaleriansäure und *L*-N-Methyl-valin. Angaben über eine eventuelle Struktur wurden bisher nicht publiziert. Diese Unstimmigkeiten hinsichtlich der Strukturen werden noch vergrößert durch die Ergebnisse, die von der Arbeitsgruppe SCHEMJAKIN et al. über die Synthese dieser Verbindungen publiziert wurden (vgl. Seite 66).

(β) Peptolide mit nicht alternierenden Hydroxyäuren: Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Peptoliden liegt bei dem Sporidesmolid I (VII) ein neues Bauprinzip vor. Wie aus den Untersuchungen von RUSSEL^{1,17} hervorgeht, werden durch saure Total-

³⁴ O. LUTZ und B. JIRGENSONS, Ber. dtsch. Chem. Ges. 63, 448 (1930); 64, 1221 (1931).

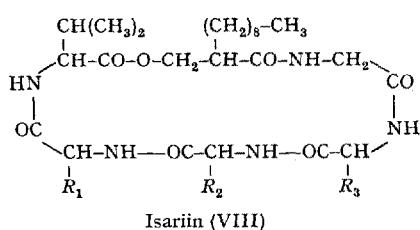
hydrolyse *L*-Hydroxyisovaleriansäure, *D*-Valin, *D*-Leucin, *L*-Valin, *L*-N-Methyl-leucin im Verhältnis 2:1:1:1 erhalten. In diesem Cyclopeptolid folgen auf eine Hydroxysäure jeweils zwei Aminosäuren:



Abweichend ist auch das Vorliegen der Hydroxyisovaleriansäure in der *L*-Konfiguration. Dies könnte Ursache für das Fehlen einer antibiotischen Wirkung sein. Durch alkalische Partialhydrolyse lässt sich das Sporidesmolid I unter Verbrauch von 2 Mol Alkali in Sporidesmolsäure A, *L*-α-Hydroxyisovaleryl-*D*-valyl-*D*-leucin und Sporidesmolsäure B, *L*-α-Hydroxyisovaleryl-*L*-valyl-*L*-N-Methyl-leucin aufspalten. Beide Verbindungen werden als Methylester und Cyclohexylammoniumsalz bzw. S-Benzylthiouroniumsalz charakterisiert³⁵. Behandlung von Sporidesmolid I mit einem Mol Alkali führt zu einer Verbindung, bei der es sich vermutlich um das durch Spaltung der *L*-N-Methyl-leucin-Esterbindung entstandene geradkettige Hexapeptolid handelt³⁵.

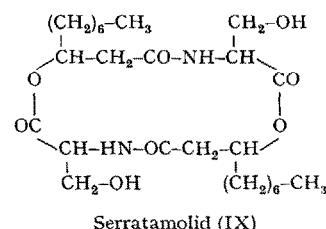
Neben Sporidesmolid I konnten aus *P. chartarum* zwei weitere Peptolide isoliert werden: Sporidesmolid III, das bei der sauren Hydrolyse Valin, Leucin und Hydroxyisovaleriansäure liefert, sowie eine weitere Substanz, die vermutlich anstelle von *D*-Valin *D*-Isoleucin enthält. Ähnlich wie beim Enniatin C liegen noch keine genaueren Strukturangaben vor.

(b) *β*-Hydroxysäuren als Heterobestandteil. Das von VINING und TABER³⁰ isolierte Isariin ist in seiner Struktur noch nicht vollständig aufgeklärt. Durch Totalhydrolyse werden 1 Mol *D*-β-Hydroxydodecansäure, je 1 Mol Glycin, *L*-Alanin und *D*-Leucin sowie 2 Mol *L*-Valin isoliert. Die alkalische Partialhydrolyse liefert eine als Isariinsäure bezeichnete Verbindung. In dieser Verbindung wurde als C-terminale Aminosäure durch Hydrazinolyse und durch Abbau mit Carboxypeptidase *L*-Valin festgestellt. Die Ergebnisse der sauren Partialhydrolyse von Isariin machen die direkte Verbindung von Glycin und der Hydroxysäure wahrscheinlich. Aus diesen Tatsachen ergibt sich für Isariin die Struktur (VIII):



*R*₁, *R*₂, *R*₃ bedeuten die in ihrer Reihenfolge noch nicht festgelegten Seitenketten der Aminosäuren *L*-Alanin, *D*-Leucin und *L*-Valin.

Ebenfalls eine *β*-Hydroxysäure als Heterobestandteil enthält das von WASSERMAN, KEGGI und McKEON³¹ isolierte Serratamolid. Die Verbindung liefert bei Totalhydrolyse *L*-Serin und *D*-β-Hydroxydecansäure. Alkalische Partialhydrolyse führt zur bereits bekannten Serrataminsäure³⁶ (*D*-β-Hydroxydecanoil-*L*-serin). Aufgrund weiterer Untersuchungen sind im Serratamolid 2 Moleküle Serrataminsäure durch 2 Esterbindungen ringförmig verknüpft. Nach dem Austausch der freien Hydroxylgruppen gegen Wasserstoff wird bei Totalhydrolyse neben der unveränderten *β*-Hydroxydecansäure anstelle von Serin Alanin gefunden. Folglich wird für Serratamolid die folgende Struktur angegeben (IX):



3. Spektren. Die UV-Spektren der Peptolide (Sporidesmolid I³⁵ und Valinomycin³³) zeigen nur eine allgemeine Absorption unter 270 mμ. Charakteristischer sind dagegen die IR-Spektren, die eine Zuordnung der Ester- und Amidfunktion sowie der Isopropyl- und N-Methylgruppen ermöglichen. Die Tabelle erlaubt einen Vergleich der bei den einzelnen untersuchten Peptoliden bzw. deren Spaltprodukten gefundenen Maxima. Zum Vergleich wurden auch die Spektren der freien Aminosäuren und der α-Hydroxyisovaleriansäure mit aufgenommen.

IV. Die Synthese von Peptoliden

Nach der Entdeckung der ersten natürlichen Peptolide hat es Jahre gedauert, bis die ersten Syntheseversuche auf diesem Gebiet bekannt geworden sind. Definitionsgemäß sind Peptolide heteromere Peptide, mit Hydroxysäuren als Heterobestandteil, die sowohl Peptid- als auch Esterbindungen enthalten. Will man ihre Synthese beschreiben, so müssen notwendigerweise auch die Verbindungen berücksichtigt werden, die zwar aus Hydroxysäure und Aminosäure bestehen, aber entweder nur Ester- oder nur Peptidbindung enthalten, also Verbindungen vom Typ Aminoacyl-hydroxysäure und Hydroxyacyl-aminoäure. Diese Verbindungen werden als Spaltprodukte natürlicher Pep-

³⁵ D. W. RUSSEL, J. chem. Soc. (London), im Druck.

³⁶ N. J. CARTWRIGHT, Biochem. J. 60, 238 (1955); 67, 633 (1957).

IR-Spektrum, Lage der charakteristischen Maxima in cm^{-1}

| | N-H Valenz- Schw. | O-H | C-O (Ester) | C-O freie Säure | C-O Valenz- Schw. = Amid I | N-H Deforma- tion = Amid II | N-CH ₃ | Iso- propyl |
|--|-------------------------|------|----------------|-----------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------|----------------------|
| Sporidesmolid I ³⁵ | | 3350 | | 1753 | | 1646 1670 | 1529 | 1410 1363 1381 |
| Sporidesmolsäure A ³⁵ | | | 3228 | | 1712 | 1637 1655 | 1540 | 1372 1388 |
| Sporidesmolsäure A ^{37a} synth. | | | 3230 | | 1710 | 1635 1653 | 1555 | 1370 1387 |
| Sporidesmolsäure A-methylester ³⁵ | | | 3230* | 1759 | | 1645* | 1538* | 1370 1325 |
| Sporidesmolsäure-A-tert.-butylester ^{37a} , synth. | | | 3250 | 1740 | | 1640 | 1535 | 1370 1390 |
| Sporidesmolsäure B ³⁵ | | | 3375 | | 1725 | 1602 1637 | 1536 | 1360 1388 |
| Sporidesmolsäure-B-methylester ³⁵ | | | | | 1744 | | | |
| Valinomycin ³³ | 8,06 μ 3260 | | | 5,70 μ 1755 | | 6,02 μ 1680 | 6,53 μ 1530 | |
| Amidomycin ³² | 3300 | | | 1740 | | 1650 | 1540 | 1375 1395 |
| Isariin ³⁰ | 3300 | | | 1735 | | 1650 | 1533 | 1380 |
| Isariinsäure ³⁰ | | | | | 1727 | | | |
| D- α -Hydroxyisovaleryl-D-valin- methylester ³² | 3400 | | 1740 | | | 1660 | 1525 | 1375 1395 |
| D- α -Hydroxyisovaleriansäure ^a | 3420 | | | | 1710 | | | 1375 1392 |
| D-Valin ^a | 3130 | | | | 1585 ^b | | 1510 | 1355 1400 |
| N-Methyl-L-Leucin ^a | 3020 | | | | 1582 ^b | | 1400 | sec. Butyl 1402 |
| MZ-Glycyl-glycolyl-glycin- <i>p</i> -nitro- benzylester ³⁸ | | | | 1690 1755 | | 1660 | 1500 1520 | |

* Für die Aufnahme der IR-Spektren und Diskussion danken wir Herrn Dr. W. NEUDERT, Physikalisch-chemische Abteilung.

^b Vermutlich Verschiebung in längeren Wellenbereich durch innere Salzbildung.

tolide erhalten und sind in fast allen Fällen die Ausgangsstoffe zur eigentlichen Peptolisynthese.

1. Die Verknüpfung von Amino- und Hydroxysäuren. Die Verknüpfung von Aminosäuren mit Hydroxysäuren kann auf zwei Weisen erfolgen: einmal durch Veresterung der Aminosäure-Carboxylfunktion mit der Hydroxylgruppe der Hydroxysäure unter Bildung von Aminoacyl-hydroxysäuren und zweitens durch Acylierung der Aminogruppe der Aminosäure durch die Hydroxysäure-Carboxylfunktion unter Bildung von Hydroxyacyl-aminoäuren.

(a) Synthese von Aminoacyl-hydroxysäuren. (α) Synthesen mit vorgegebener Hydroxysäure: Zur Esterbildung zwischen Amino- und Hydroxysäuren sind in erster Linie die Methoden herangezogen worden, die auch in der reinen Peptidchemie zur Veresterung N-geschützter Aminosäuren bekannt sind. Hierbei zeigte

sich, dass nur die Verfahren erfolgreich waren, die zu einer sehr starken Aktivierung der acylierenden Carboxylgruppe führten. Säurechloride und gemischte Anhydride als aktivierte Derivate stehen somit bisher für die Acylierung der Hydroxysäure im Vordergrund.

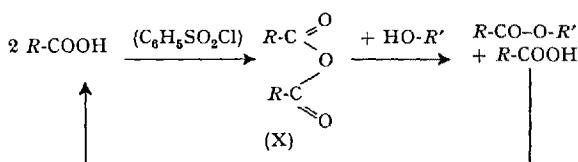
Die Benzolsulfochloridmethode. SCHEMJAKIN^{3,39} gelang als erstem mit Benzolsulfochlorid in einem Überschuss von Pyridin bei 0°C die Synthese von racemischen und optisch aktiven N-geschützten Valyl- α -hydroxyisovaleriansäureestern sowie von Phthalyl-valyl-milchsäurebenzylester, die er mit Erfolg als Aus-

³⁷ K. LÜBKE und E. SCHRÖDER, Z. Naturforsch. **10**, 847 (1961).

³⁸ R. SCHWYZER und P. CARRION, Helv. chim. Acta **43**, 2101 (1960).

³⁹ M. M. SCHEMJAKIN, E. I. WINOGRADOWA, M. Ju. FEIGINA, N. A. ALDANOWA, W. A. OLADLINA und L. A. SCHUKINA, Doklady Akad. nauk, **140**, 387 (1961).

gangsstoff zur weiteren Peptolidsynthese einsetzen konnte. Auch die Synthese von Carbobenzoxy-valyl- α -hydroxyisovaleriansäure unter Verwendung der freien α -Hydroxsäure konnte nach dieser Methode durchgeführt werden. Bei Verwendung der Phthalylgruppe führt die Benzolsulfochlorid-Methode bei optisch aktiven Derivaten zur Racemisierung³⁹. In neuerer Zeit konnte die Benzolsulfochloridmethode zur Synthese einer Reihe von weiteren N-geschützten Aminoacyl- und Peptidyl- α -hydroxyisovaleriansäurederivaten benutzt werden⁴⁰. Dabei hat sich die von PLESS⁴¹ ausgearbeitete modifizierte Sulfochloridmethode besonders gut bewährt. Nach BREWSTER und CIOTTI⁴² verläuft diese Reaktion über das symmetrische Anhydrid (X):

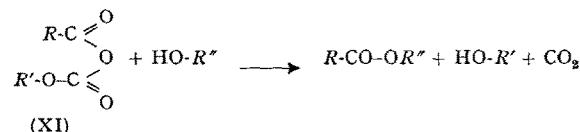


Die bei der Esterbildung frei werdende Carboxylkomponente setzt sich mit noch vorhandenem Sulfochlorid erneut zum Anhydrid um. Der von PLESS verwendete grosse Überschuss an Carboxylkomponente lässt vermuten, dass diese Regenerierung des symmetrischen Anhydriids nicht in jedem Falle ohne weiteres vor sich geht.

Gemischte Säureanhydride mit anorganischen Säuren. BRENNER et al.⁴⁸ haben zur Synthese von N-geschützten Aminoacyl-Salicylsäureamiden, die sie als Ausgangsstoffe für ihre Aminoacyleinlagerungsreaktion⁴⁴⁻⁴⁷ verwenden, die Phosgenmethode ausgearbeitet, die über das gemischte Anhydrid aus N-geschützter Aminosäure und Chlorameisensäure verläuft. Auch eine Reihe von N-geschützten O-(Aminoacyl)hydroxyalkansäuren und -hydroxyaminosäuren konnten so hergestellt werden^{48,49}. Die präparative Durchführung wird allerdings durch die einzuhaltende tiefe Temperatur von -70°C erschwert. Anstelle von Phosgen können auch Phosphoryoxychlorid⁵⁰ oder Thionylchlorid⁵¹ verwendet werden. Geeignet zur Darstellung von Acylaminoacyl- α -hydroxysäureestern ist auch die Umsetzung von Acylaminoäurechloriden mit α -Hydroxysäureestern in absolutem Benzol oder Äther in Gegenwart äquimolarer Mengen Pyridin bei 0°C ³⁹.

Gemischte Äthylkohlenäsäureanhydride. BOTWINIK⁵² und ihrem Arbeitskreis gelang die Synthese von N-geschütztem Aminoacyl- und Dipeptidyl-glycolsäuren über das gemischte Äthylkohlenäsäureanhydrid. Allerdings lagen dabei die Ausbeuten zum Teil unter 50 %. Eine Erklärung für diese geringen Ausbeuten geben die Versuche von BRENNER et al.⁴³, die gezeigt haben, dass sich gemischte Alkylkohlenäsäureanhydride (XI) nur dann zur Esterkupplung eignen, wenn die zu veresternende Hydroxylkomponente ($\text{HO}-R''$) identisch ist.

mit dem Alkohol, der den Kohlensäureester bildet ($\text{HO}-R'$):



Im anderen Fall wird dieser aus dem Kohlensäureester frei werdende Alkohol neben der zu acylierenden Hydroxylkomponente ebenfalls verestert und es entstehen Gemische, die in günstigen Fällen durch Kristallisation getrennt werden können.

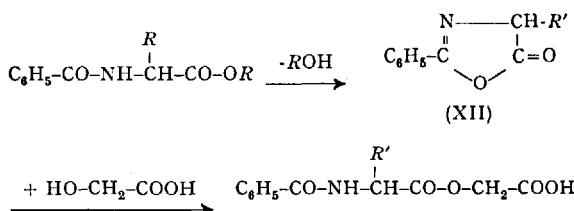
Carbodiimid- und Bisimidazolylcarbonyl-Methode. Erstaunlicherweise sind Carbodiimide bisher noch nicht mit gutem Erfolg zur Synthese der Aminosäure-Hydroxysäureesterbindung verwendet worden. So erhielt SCHEMJAKIN³ bei der Umsetzung von Carbobenzoxy-valin mit α -Hydroxyisovaleriansäurebenzylester in Gegenwart von N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid nur den entsprechenden Carbobenzoxy-aminoacylharnstoff. Mit Phthalyl-valin konnte das symmetrische Anhydrid isoliert werden, das beim Erwärmen mit α -Hydroxyisovaleriansäurebenzylester in 50 %iger Ausbeute Phthalyl-valyl-hydroxyisovaleriansäurebenzylester lieferte.

Dagegen konnte das Imidazolidverfahren⁵³ zur Synthese von N-geschützten Glycyl- α -hydroxyisovaleriansäurederivaten mit gutem Erfolg angewendet werden⁴⁰. Dieses Verfahren beschreibt auch BROCKMANN⁵⁴ zur O-Aminoacylierung des Threonins im Rahmen der Totalsynthese von Actinomycin C₃.

Das Oxazolidonverfahren. Dieses Verfahren, das zur Peptidsynthese bereits bekannt ist, konnte von Bot-

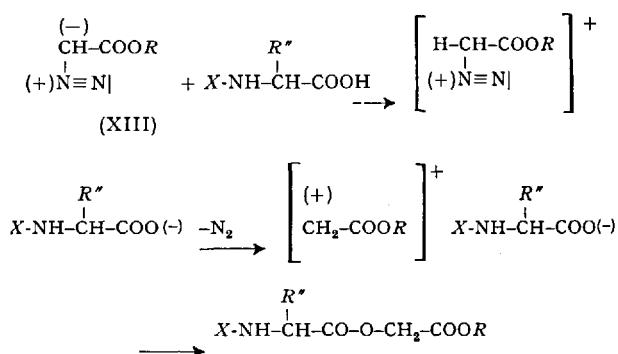
- ⁴⁰ E. SCHRÖDER und K. LÜBKE, Vortrag auf dem 5. Europäischen Peptidsymposium, Oxford, September (1962).
⁴¹ I. PLESS, Dissertation, Univ. Basel (1961), p. 43.
⁴² I. H. BREWSTER und C. I. CIOTTI JR., J. Amer. chem. Soc. **77**, 6214 (1955).
⁴³ M. BRENNER, I. P. ZIMMERMANN, P. QUITT, W. SCHNEIDER und A. HARTMANN, Helv. chim. Acta **40**, 604 (1957).
⁴⁴ M. BRENNER, I. P. ZIMMERMANN, I. WEHRMÜLLER, P. QUITT, A. HARTMANN, W. SCHNEIDER und U. BEGLINGER, Helv. chim. Acta **40**, 1497 (1957).
⁴⁵ M. BRENNER und I. P. ZIMMERMANN, Helv. chim. Acta **40**, 1933 (1957).
⁴⁶ M. BRENNER und I. WEHRMÜLLER, Helv. chim. Acta **40**, 2374 (1957).
⁴⁷ M. BRENNER und I. P. ZIMMERMANN, Helv. chim. Acta **41**, 467 (1958).
⁴⁸ D. DAHN, R. MANASSE, I. ROSENTHALER und M. BRENNER, Helv. chim. Acta **42**, 2249 (1959).
⁴⁹ U. BEGLINGER, Dissertation Basel (1959).
⁵⁰ TH. WIELAND und B. HEINKE, Liebigs Ann. Chem. **615**, 184 (1958).
⁵¹ K. LÜBKE, Dissertation, F. U. Berlin (1961).
⁵² M. M. BOTWINIK, S. M. AWAJEWA, L. M. KOKSCHAROWA und W. A. OLADKINA, Zhurn. Obsc. Khim. **30**, 8887 (1960).
⁵³ H. A. STAAB, W. ROHR und A. MANNSCHECK, Angew. Chemie **73**, 143 (1961).
⁵⁴ H. BROCKMANN und H. LACKNER, Naturwissenschaften **47**, 230 (1960).

WINIK, OTOSLAWSKAJA und IWANOW⁵⁵ auch zur Synthese von N-geschützten Aminoacyl-glycolsäuren verwendet werden. Sie stellten aus N-Benzoylaminosäuren die 5-Phenyl-4-alkyl-5-oxazolidone (XII) her und setzten diese mit Glycolsäure um:



Durch die mögliche Tautomerie des Oxazolidons (Az-lactons) racemisiert dabei die Aminosäurekomponente⁵⁶. Somit kommt diese Methode nur zur Synthese von Glycyl-Hydroxysäurederivaten in Frage. Alle bisher erwähnten Synthesewege haben gemeinsam, dass die Hydroxysäure als solche bzw. als Derivate (Ester oder Amid) zur Synthese verwendet wurde.

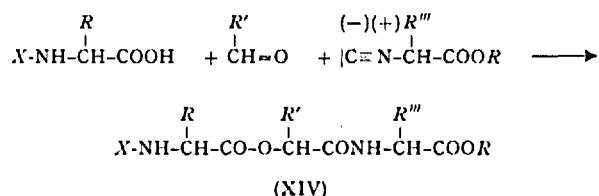
(b) Synthesen unter gleichzeitiger Bildung der Hydroxysäuren: Synthesen, bei denen die Hydroxysäure erst während der Reaktion gebildet wird, führen meist über gut ausgearbeitete Methoden relativ leicht zu Aminoacyl-hydroxysäurederivaten. Eine dieser Methoden ist die seit 50 Jahren bekannte Umsetzung von Carbonsäuren mit Derivaten der Diazoessigsäure XIII^{57,58}. Verwendet man als Carboxylkomponente N-geschützte Aminosäuren, so erhält man direkt N-geschützte Aminoacyl-glycolsäurederivate.



Diese Verbindungen haben infolge ihrer leichten Zugänglichkeit gute Dienste bei der Klärung prinzipieller Fragen geleistet⁵⁹. Verwendet man als Diazokomponente ein Diazoacetyl-aminoäurederivat, so erhält man direkt Aminoacyl-glycolyl-aminoäurederivate, also Verbindungen, die bereits echte Peptolide sind. Daneben konnten Verbindungen vom Typ Acyl-aminoacyl-aminoacyl-glycolsäureester und Acyl-aminoacyl-aminoacyl-glycolyl-aminoäureester synthetisiert werden. Bei diesen Versuchen ergaben sich bestimmte Regelmäßigkeiten⁵¹. Äthylester reagieren bes-

ser als Benzylester, die Reaktion ist außerdem stark von der N-Schutzgruppe abhängig. Auch die Natur der Aminosäure spielt eine Rolle. Schlecht reagieren allgemein N-geschützte Dipeptide. Ein Einfluss der N-Schutzgruppe sowie der Aminosäuren bleibt erkennbar. Auch SCHWYZER und CARRION⁵⁸ haben die Reaktion über Diazoacetyldeivate mit Erfolg für die Darstellung von *p*-Phenylazo- bzw. *p*-(*p*-Methoxy-phenylazo)-benzyloxycarbonyl-glycyl-glycolyl-glycin-*p*-nitrobenzylester verwendet.

Wie UGI und FETZER⁶⁰ beschrieben haben, erhält man auch über die Passerini-Reaktion⁶¹ direkt echte Peptolide (XIV) aus N-geschützten Aminosäuren, Carbonylverbindungen und α -Isocyancarbonsäureestern. Dabei wird nicht nur die Hydroxysäure, sondern auch eine Aminosäure erst während der Reaktion gebildet:



So bequem diese Methoden an sich auch sein mögen, so haben sie doch einen grossen Nachteil: Im Falle der Reaktion über Diazoderivate erfolgt eine Substitution am Asymmetriezentrum. Es ist also eine mehr oder weniger vollständige Racemisierung zu erwarten. Auch dürfte die geringe Stabilität von α -Diazoalkancarbonsäurederivaten – mit Ausnahme der Essigsäure – auch von dieser Seite aus zunächst eine praktische Verwendung dieser Reaktion für andere Hydroxysäuren als die Glycolsäure erschweren. Bei der Passerini-Reaktion wird ein Asymmetriezentrum neu gebildet. Dadurch erhält man in jedem Falle nur die Racemate.

(b) *Synthese von Hydroxylacyl-aminoäuren.* (α) Synthesen mit vorgegebener Hydroxysäure: Zur Verknüpfung der Amidbindung ist bisher als Aktivierung der Hydroxysäure die Verwendung von aktivierten Estern bekannt geworden. Der α -Hydroxyisovaleriansäurecyanmethylester ist leicht zugänglich und ermöglichte die Synthese einer Reihe von Hydroxyisovaleryl-aminoäurederivaten und -peptidderivaten⁶². Mittels dieser

⁵⁵ M. M. BOTWINIK, B. I. OTOSLAWSKAJA und L. L. IWANOW, Zhurn. Obshch. Khim. 31, 42 (1951).

⁵⁶ V. DU VIGNEAUD und C. E. MEYER, J. biol. Chem. 99, 143 (1932-33).

⁵⁷ TH. CURTIUS und N. SCHWAN, J. pr. Chemie 51, 353 (1895).

⁵⁸ TH. CURTIUS und A. DARAPSKY, Ber. dtsch. Chem. Ges. 39, 1373 (1906).

⁵⁹ H. GIBIAN und K. LÜBKE, Liebigs Ann. Chem. 644, 130 (1961).

⁶⁰ I. UGI und U. FETZER, Angew. Chemie 73, 621 (1961).

⁶¹ M. M. PASSERINI, Gazz. chim. ital. 61, 964 (1931).

⁶² E. SCHRÖDER und K. LÜBKE, Liebigs Ann. Chem. 655, 211 (1962).

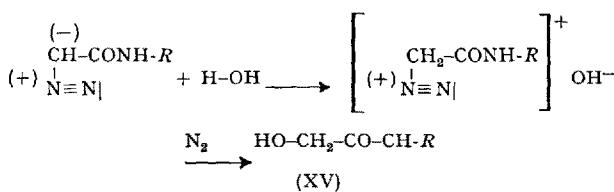
Reaktion gelang auch die Synthese der Sporidesmol-säure A⁶⁷, eines Spaltproduktes des natürlichen Peptolids Sporidesmolid I. Auch das Azidverfahren konnte zur Synthese dieser Verbindungen verwendet werden⁶³.

Als Möglichkeit zur Aktivierung der Aminogruppe wurde die Phosphorazomethode untersucht⁶². Doch waren die Ergebnisse nicht befriedigend. Über ähnliche Schwierigkeiten berichtete bereits WÜNSCH⁶⁴ bei der Anwendung dieser Methode auf Hydroxyaminosäuren.

Bemerkenswert ist, dass bisher fast ausschliesslich Synthesen mit nicht geschützter Hydroxylfunktion beschrieben sind. Nur von SCHEMJAKIN, OWTSCHINNIKOW, KIRJUSCHKIN und IWANOW⁶⁵ wurde ohne experimentelle Angaben O-Carbobenzoxy-D- α -Hydroxyisovaleriansäure beschrieben, die mit L-N-Methyl-valinmethylester nach der Säurechloridmethode gekuppelt werden konnte. Katalytische Hydrierung lieferte ein Produkt, das mit aus Enniatin B erhaltenem D- α -Hydroxyisovaleryl-L-N-methyl-valinmethylester identisch war.

(β) Die Hydroxsäure wird erst nachträglich gebildet: Die Methoden beruhen darauf, dass die Kupplung mit einem leichter zugänglichen und auch leichter zu handhabenden Carbonsäurederivat durchgeführt werden, und dass erst nach der Kupplung die α -ständige funktionelle Gruppe gegen die Hydroxylgruppe ausgetauscht wird.

Austausch der Aminogruppe gegen Hydroxyl. Diese Reaktion verläuft über die Bildung von Diazoderivaten, die in Analogie zur Reaktion mit Carboxylkomponenten mit Wasser umgesetzt werden (XV):

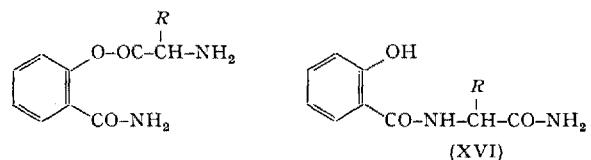


So wurden von CURTIUS^{57,58} aus Diazoacetyl-aminosäurederivaten und -peptidderivaten die entsprechenden Glycolylderivate erhalten. Allerdings dürfte sich diese Methode wieder nur für Glycolsäurederivate eignen. Versuche von WIELAND und KÖPPE⁶⁶, aus dem Alaninthiophenylester den entsprechenden Milchsäureester herzustellen, verliefen nicht befriedigend. Dass eine Diazotierung von Aminoderivaten eine Reihe von Nebenreaktionen mit sich bringt, ist an einfachen Beispielen in der Literatur beschrieben. So fand z.B. AUSTIN⁶⁷ bei der Umsetzung von Methylamin mit salpetriger Säure nicht weniger als sechs verschiedene Verbindungen.

Austausch von Halogen gegen Hydroxyl. Diesen Weg haben COOK, COX und FARMER^{19b} bei der Synthese von Spaltprodukten natürlicher Peptolide eingeschlagen.

In Analogie zu der Fischerschen Peptidsynthese über die α -Halogen-Carbonsäurechloride haben sie α -Brom-Isovalerylchlorid mit N-Methylvalin umgesetzt und durch HBr-Abspaltung das Lacton hergestellt. Nach Verseifung erhielten sie α -Hydroxyisovaleryl-methylvalin, das sie in den Methylester überführten, der identisch war mit dem aus dem Naturprodukt hergestellten Ester.

Synthese von Hydroxylacyl-aminosäuren durch die Aminoacyleinlagerung. Durch die Aminoacyleinlagerungsreaktion von BRENNER et al.⁴⁴ werden Aminoacyl-hydroxysäureamide zu Hydroxylacyl-aminosäureamiden (XVI) umgelagert. Diese Reaktion ist besonders gut mit Salicylsäure untersucht:



Aber auch aliphatische Hydroxsäuren⁴⁸ und Hydroxyaminosäuren⁴⁹ geben diese Umlagerung. Während jedoch die Umlagerung an Salicylsäurederivaten unter schonenden Bedingungen relativ schnell verläuft und somit durchaus präparative Möglichkeiten bietet, haben die Umlagerungen mit den aliphatischen Hydroxsäuren zur Zeit nur theoretisches Interesse, da sie nur durch starke Basen wie Kalium-tert.-Butylat katalysiert werden können und somit fast immer mit Racemisierung zu rechnen ist.

2. Der Aufbau höherer Peptolide. Im vorhergehenden Abschnitt wurde die Synthese der Verbindungen beschrieben, die als Ausgangsstoffe zur eigentlichen Peptoldsynthese dienen können. Da es sich dabei um zwei verschiedene Typen handelt, kann auch der Aufbau von Peptoliden auf zwei Weisen erfolgen.

(a) *Die Synthese von Peptoliden mit Aminoacyl-hydroxysäuren als Ausgangsprodukt.* Es ist verständlich, dass die ersten Peptoldsynthesen vom Typ Aminoacyl-hydroxysäure ausgehen, da zu erwarten war, dass sich dieser Typ in präparativer Hinsicht ähnlich wie ein reines Peptid behandeln lässt. Dabei mussten selbstverständlich die Methoden ausscheiden, bei denen die Gefahr einer Spaltung der Esterbindung besteht (z.B. alkalische Verseifung). Peptolide können dann nach folgendem Reaktionsschema aufgebaut werden:

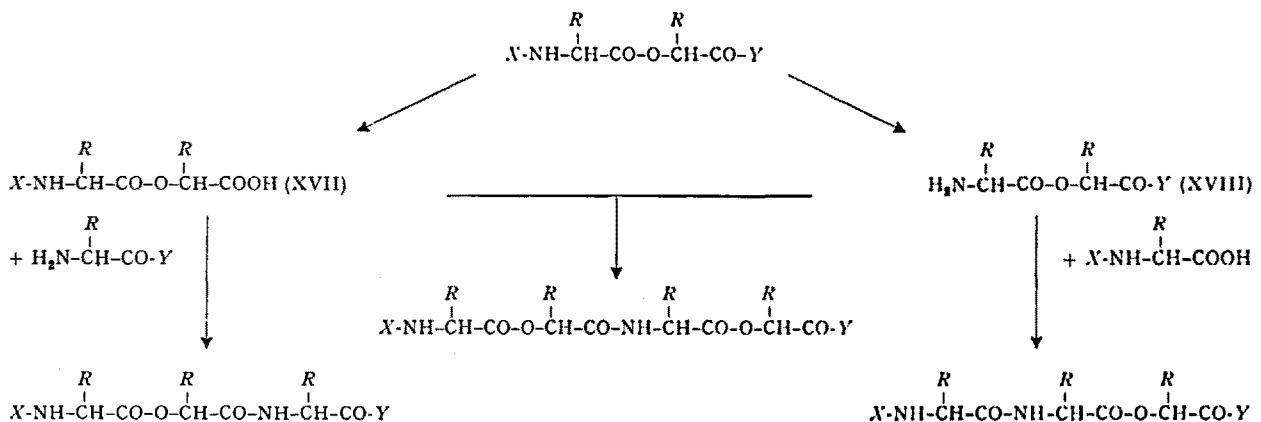
⁶³ K. LÜBKE und E. SCHRÖDER, Liebigs Ann. Chem., im Druck.

⁶⁴ E. WÜNSCH, Dissertation, Univ. München (1955), p. 128.

⁶⁵ M. M. SCHEMJAKIN, J. A. OWTSCHINNIKOW, A. A. KIRJUSCHKIN und W. T. IWANOW, Tetrahedron Letters 7, 301 (1962).

⁶⁶ TH. WIELAND und H. KÖPPE, Liebigs Ann. Chem. 581, 1 (1953).

⁶⁷ A. T. AUSTIN, Nature (London) 188, 1086 (1960).



Jede dieser Verbindungen kann wieder Ausgangsstoff zu weiteren Synthesen sein. Die Syntheseschritte zu XVII und XVIII setzen eine bestimmte Schutzgruppenkombination voraus, die die selektive Spaltung der Aminoschutzgruppe (X -) oder der Carboxylschutzgruppe (-Y) ermöglicht, ohne die Esterbindung zwischen der Aminosäure und der Hydroxysäure zu spalten. Folgende Kombinationen sind bisher bekannt:

Zur Synthese von N-geschützten Aminoacyl-hydroxysäuren (XVII) ist die Verwendung des hydrolytisch spaltbaren Benzylesters (-Y) bei hydrolytisch nicht spaltbarer Aminoschutzgruppe (X-) wie tert.-Butyloxycarbonyl⁵⁹, Phthalyl^{39,59} und Formyl⁵⁹ oder Verwendung des sauer hydrolyzierbaren tert.-Butylesters (-Y) in Kombination mit der *p*-Nitrocarbobenzoxygruppe⁶⁵ beschrieben. Ferner kann diese Verbindung auch direkt durch Veresterung N-geschützter Aminosäuren mit freien Hydroxysäuren hergestellt werden³⁹.

Zur Synthese von Aminoacyl-hydroxysäureestern (XVIII) wurden Aminoschutzgruppen (X-), die sich durch saure Hydrolyse spalten lassen, wie *t*-Butyloxycarbonyl⁵⁹, Formyl⁵⁹, Carbobenzoxy^{39,59} oder Trityl⁶⁰, und die durch Hydrazinolyse spaltbare Phthalylgruppe³⁹, jeweils in Kombination mit dem Benzylester verwendet. Auch gefärbte Schutzgruppen wie *p*-(*p*-Methoxy-phenylazo)-Carbobenzoxy- und *p*-Phenylazo-Carbobenzoxy- in Kombination mit dem gegen Bromwasserstoff besonders stabilen *p*-Nitrobenzylester sind beschrieben³⁹. Allerdings ist hier bisher nur die Synthese der vollgeschützten Derivate publiziert. Jedoch lässt die Verwendung des *p*-Nitrobenzylesters eine vorteilhafte Abspaltung der Aminoschutzgruppen erwarten. Auch die katalytisch hydrierbare *p*-Nitrocarbobenzoxygruppe in Kombination mit dem tert.-Butylester konnte erfolgreich eingesetzt werden⁶⁵.

Bei den dann folgenden Kupplungsreaktionen können praktisch die meisten der in der Peptidchemie bekannten Kupplungsmethoden verwendet werden. Beschrieben sind: gemischte Anhydride^{39,59}, Säurechlorid³⁹, Carbodiimid⁵⁹ und aktivierte Ester⁵⁰.

Eine weitere günstige Schutzgruppenkombination ergibt sich durch die Verwendung N'-geschützter Hydrazide. So konnten z. B. mit der Carbobenzoxygruppe als Aminoschutz und tert.-Butyloxycarbonyl-hydrazin als Carboxylschutz durch die selektive Spaltung der einen oder anderen Schutzgruppe kupplungsfähige Derivate erhalten werden. Im Falle der Spaltung von tert.-Butyloxycarbonyl ist ohne Gefahr einer Hydrazinolyse der Peptolid-Esterbindung eine Anwendung des Azidverfahrens möglich⁴⁰.

Diese Reaktionen zeigen, dass die Annahme, dass sich der Verbindungstyp Aminoacyl-Hydroxysäure wie ein Dipeptid verhält, durchaus berechtigt ist. Jedoch lassen sich auch einige Unterschiede feststellen, die durch das Vorhandensein von einer oder mehreren Esterbindungen bedingt sind. So ist z. B. Glycyl-Glycolsäure ein Öl, das sich nur als Hydrochlorid aus Alkohol/Aether kristallisieren lässt. Die Verbindung ist also weit mehr ein «Aminosäureester» als ein Dipeptid. Trityl-glycyl-glycolsäure lässt sich aus organischen Lösungen nur schwer durch wässriges Alkali ausschütteln. Es verhält sich demnach wie ein N-geschützter Dipeptidester und nicht wie eine Tripeptidsäure.

(b) *Die Synthese von Peptoliden mit Hydroxyacyl-aminoäuren als Ausgangsprodukt.* Für den Aufbau von Peptoliden aus Hydroxyacyl-aminoäurederivaten liegt zur Zeit nur wenig Material vor. Der Hauptgrund dürfte in dem Fehlen geeigneter O-Schutzgruppen zu suchen sein. Wohl sind eine Reihe von Hydroxylschutzgruppen in der Peptidchemie bekannt. Sie haben aber bisher mit Ausnahme der bereits erwähnten Carbobenzoxygruppe⁶⁵ noch keinen Eingang in die Peptolidchemie gefunden.

Ohne Verwendung einer O-Schutzgruppe ist es nur möglich, Hydroxyacyl-aminoäurederivate mit N-geschützten Aminosäuren zu verestern. Als Methoden können – wie bei der Veresterung von Hydroxysäurederivaten – wieder die Benzolsulfotrichloridmethode und das Imidazolidverfahren Anwendung finden. Auf diesem Wege erhält man Verbindungen, die auf anderem Wege auch aus Aminoacyl-hydroxysäurederivaten er-

halten werden können. Bei diesem Syntheseweg ist es jedoch nicht immer möglich, zu reinen, eindeutigen Verbindungen zu kommen, da die Abtrennung des nicht umgesetzten Anteils an Hydroxylkomponente aus dem Reaktionsgemisch Schwierigkeiten bereitet. Sie gelingt nur bei gut kristallisierbaren Verbindungen⁴⁰.

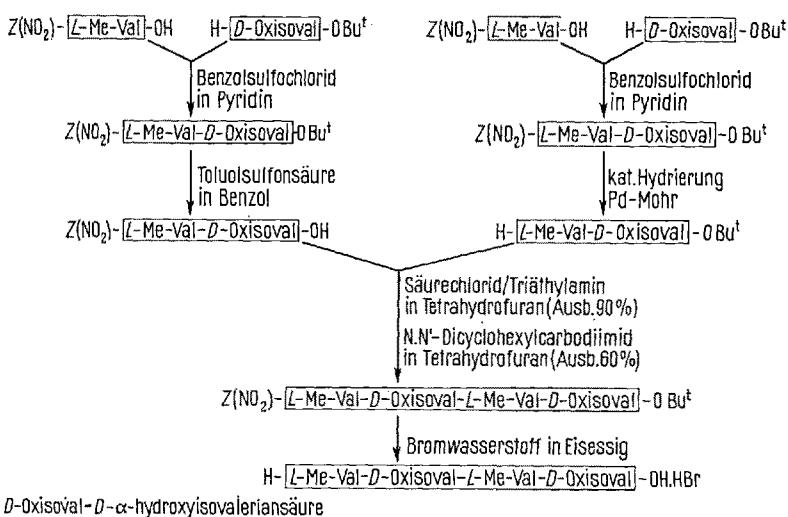
Als Beispiel für derartige Synthesen sollen nun zwei Reaktionsschemata folgen. Das erste, nach SCHEMJAKIN, OWTCHINNIKOW, KIRJUSCHIN und IWANOW⁶⁵ ist die Synthese der linearen Tetrapeptolidsequenz mit der von PLATTNER und NAGER für das Enniatin B angegebenen Struktur. Zur Ermittlung der optischen Einheitlichkeit der synthetisierten Verbindung wurde das freie Peptolid einer sauren Hydrolyse unterworfen, die Aminosäure und α -Hydroxysäure isoliert und zusätzlich der Einwirkung von D-Aminosäureoxydase und Dehydrogenase unterworfen. Als Beweis für die Struktur diente die alkalische Partialhydrolyse und Umwandlung der erhaltenen Bruchstücke vom Typ Hydroxy-acylaminosäure in die entsprechenden bekannten Lactone.

Das zweite Reaktionsschema ist die Synthese eines Hexapeptolids mit zwei nicht alternierenden Hydroxysäuren, bei der die wesentlichsten Reaktionsschritte unter Verwendung geschützter Hydrazide als Carboxylschutz und der Azidmethode als Kupplungsreaktion durchgeführt wurden⁴⁰.

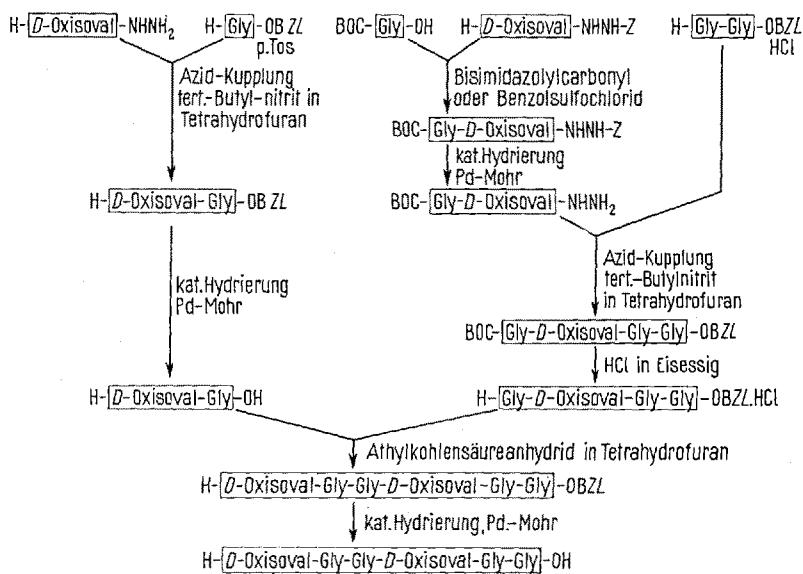
3. Die Synthese cyclischer Peptolide. Der in der Peptidchemie übliche Weg zur Synthese cyclischer Peptide, Synthese der linearen Sequenz und Cyclisierung durch Knüpfung einer Peptidbindung, kann auch in der Peptolidchemie Anwendung finden.

Kürzlich hat SCHEMJAKIN³⁹ die Synthese eines cyclischen Peptolids beschrieben. Er konnte die Tetrapeptolidsequenz H-D-Val-D-Oxisoval-D-Val-D-Oxisoval-OH in das Säurechlorid überführen und dieses bei 0°C in absol. Benzol nach dem Verdünnungsprinzip (1 mMol/l) durch Zugabe von Triäthylamin cyclisieren. Die Ausbeute beträgt 15%, jedoch werden keine Angaben über die präparative Trennung des Endproduktes von der Ausgangskomponente und möglichen polycyclischen Verbindungen gemacht.

Schema I



Schema II



Ebenso gelang auch die Synthese des vermutlichen Enniatin B und Enniatin A^{65,68}. Im Falle des Enniatin B wird bei der Cyclisierung der linearen Sequenz (vgl. Schema 1) nach der Säurechloridmethode 60% und über das gemischte Äthylkohlensäureanhydrid 20% an Ausbeute erhalten. Diese synthetischen Verbindungen stimmen weder in ihren physikalischen Konstanten noch in ihrem biologischen Verhalten mit den Enniatinen überein. Sie liefern jedoch sowohl bei der sauren als auch bei der alkalischen Hydrolyse die gleichen Spaltprodukte wie die Enniatine.

⁶⁵ J. A. OWTCHINNIKOW, W. T. IWANOW, A. A. KIRJUSCHIN und M. M. SCHEMJAKIN, Izvest. Akad. Nauk. 1962, 1497.

Zur Klärung dieser Diskrepanz wurde von OWTSCHEINNIKOW⁶⁹ auf dem 5. Europäischen Peptidsymposium über die Synthese verschiedener Enniatin-Analoga berichtet. Diese enthalten anstelle der beiden Aminosäurereste N-Methyl-isoleucin im Enniatin A bzw. N-Methyl-valin im Enniatin B sowohl N-Methyl-leucin als auch zwei verschiedene Reste: N-Methyl isoleucin und N-Methyl-valin oder N-Methyl-isoleucin und N-Methyl-leucin sowie N-Methyl-leucin und N-Methyl-valin. Alle diese Verbindungen differieren in Schmelzpunkt und spezifischer Drehung mit den von PLATTNER und NAGER für die Enniatine und mit den für die von COOK, COX und FARMER beschriebenen Antibiotika angegebenen Werten. Auch das von OWTSCHEINNIKOW beschriebene synthetische Amidomycin und ein in der wahrscheinlicheren symmetrischen Form synthetisiertes Valinomycin (IV, Seite 5) differieren mit den Naturprodukten in den analytischen Daten.

Demgegenüber stimmen die Werte des synthetischen Sporidesmoids I (Fp. 255–257°C, $[\alpha]_D = -210^\circ\text{C}$) sehr gut mit denen des Naturstoffes (Fp. 261–263°C, $[\alpha]_D = -217^\circ\text{C}$) überein. Die Synthese erfolgte unter Verwendung der Carbobenzoxy- und der ϕ -Nitrocarbo-benzoxygruppe als Aminoschutz, die Carboxylgruppe der Hydroxysäure lag als tert.-Butylester vor. Die Esterbindungen wurden nach der Benzolsulfochloridmethode, die Amidbindungen über das gemischte Äthylkohlensäureanhydrid bzw. über das Säurechlorid geknüpft. Die Cyclisierung erfolgte wieder über das Säurechlorid.

Diese Ergebnisse sind erneut ein Beweis dafür, dass eine postulierte Struktur eines Naturstoffes erst durch die Synthese endgültig bewiesen werden kann.

In erstaunlich kurzer Zeit seit dem Beginn der präparativen Bemühungen auf diesem Gebiet ist durch die Synthesen der vermuteten Naturstoffsequenzen ein erster Höhepunkt erreicht worden. Er bietet Anreiz zu

weiteren Bemühungen, in deren Mittelpunkt neben methodischen Fragen die Bestätigung bzw. die Korrektur der bisher publizierten Formeln von Naturstoffen stehen dürfte.

Summary. A summary is given on the occurrence, isolation, biological activity and structural details of peptolides, a special group of the heteromeric peptides. The structure is generally evaluated by identification of the amino- and hydroxyacids, isolated after total acid hydrolysis, and by isolation of the hydroxyacyl-aminoacids to be found after partial alkaline hydrolysis.

In addition, the methods known for the synthesis of these compounds are described. For the building up of the ester bond between amino- and hydroxyacid, the methods via benzenesulfonyl chloride, mixed anhydrides, and carbonyldiimidazole are well to the fore. Activated esters, the azide method or, in the case of O-protected hydroxyacid, the acid chloride method are described for the building up of the amide bond between hydroxy- and aminoacid. The further synthesis of peptolides is chiefly ensued originating from the aminoacyl-hydroxyacid type according to the usual methods of the peptide synthesis. The possible combination of protecting groups for the blocking of the amino and carboxyl function is discussed. The synthesis of higher compounds is explained with the assistance of two reaction schemes. A cyclization and hence the synthesis of the natural material can be done according to the acid chloride or mixed anhydride method.

⁶⁹ Herrn Dr. J. A. OWTSCHEINNIKOW danken wir sehr für die Übertragung seines Vortragsmanuskriptes.

Brèves communications – Kurze Mitteilungen – Brevi comunicazioni – Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. — Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. — Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. — The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Steroids and Related Natural Products. *14α*-Methyl Testosterone^{1–3}

Oxidative removal of the *14α*-methyl group from lanosterol is one of the important transformations required for eventual *in vivo* production of steroid hormones⁴. In order to assess the biological importance of *14α*-methyl steroids which might arise from a defect in normal biosynthesis we have been concerned initially with preparation of *14α*-

¹ Part XIV. Part XIII, G. P. MUELLER and G. R. PETTIT, *Exper.* **18**, 404 (1962).

² A preliminary report of this study was presented (August 27, 1962) at The Second International Symposium on the Chemistry of Natural Products, Prague (Czechoslovakia).

³ This investigation was supported by PHS Research Grants CA-4074(C3) and CA 04074-05 from the National Cancer Institute, Public Health Service.

⁴ For an interesting review pertinent to this subject refer to A. WEITZSTEIN, *Exper.* **17**, 320 (1961).