

Ringschlüsse von Pyruvoylpeptiden und Dehydropeptiden

Über Aminosäuren und Peptide, XXIV¹;
Über Dehydroaminoäuren, XI²

Von

Johannes Häusler und Ulrich Schmidt

Organisch-Chemisches Institut, Universität Wien, Österreich

(Eingegangen am 28. April 1977)

*Amino Acids and Peptides, XXIV; Dehydro Amino Acids, XI:
Cyclization of Pyruvoyl Peptides and Dehydropeptides*

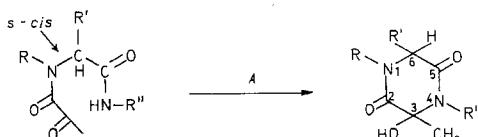
Further studies were made of the influence of structure on the ring closure reactions *A* and *B* of pyruvoyl peptides and dehydropeptides. Pyruvoyl peptides can undergo aldol condensation (**3 a-c**) as an alternative to cyclization. Pyruvoyl tetrapeptide amides and dehydroalanyl tetrapeptide amides were synthesized. Formation of larger rings by insertion of an amide-NH into pyruvoyl carbonyl or the double bond of the dehydro amino acid respectively could not be detected.

Im Rahmen unserer Untersuchungen über α -Hydroxy-, α -Mercapto- und Dehydroaminoäuren hatten wir die Ringschlußreaktion von Pyruvoylpeptiden^{3, 4} und Dehydropeptiden^{5, 6} (Reaktion *A* und *B*) näher untersucht. Beide Ringschlußreaktionen erwiesen sich dabei hinsichtlich des räumlichen Ablaufes und des Anspruchs an die Struktur der Ausgangskomponente als sehr verwandt:

1. In beiden Fällen verläuft der Ringschluß kinetisch kontrolliert mit hoher optischer Induktion meist zum instabilen Isomeren, das sich zum thermodynamisch stabilen Isomeren umlagern läßt. Das Produkt der Reaktion *A* wird in saurer Lösung über einen kationischen Mechanismus an C-3 umgelagert. Das cyclische Dipeptid aus Reaktion *B* isomerisiert sich dagegen über ein Carbanion an C-6.

2. Beide Reaktionen verlangen eine leicht mögliche Einstellung der für den Ringschluß erforderlichen *s-cis*-Konformation der Peptidbindung im Ausgangsstoff. R darf deshalb nicht Wasserstoff, sondern muß ein Alkyl oder eine Methylengruppe eines Ringes sein.

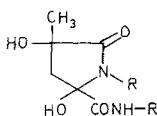
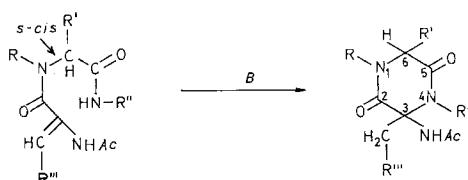
3. Der Substituent R" kann Wasserstoff sein. Die Reaktion B ist hinsichtlich der Größe von R" offenbar unempfindlich, denn der Ringschluß läßt sich auch noch mit einem Dehydropeptid durchführen, in dem R" eine L-Alanyl-L-alanyl-methylamid-Funktion darstellt. Wie



1 a - e

2 d

	R	R'	R''
a	H	H	CH ₃
b	H	CH ₃	CH ₃
c	H	CH ₃	CH(CH ₃)CONHCH ₃
d	-{CH ₂ } ₃ -	-	CH ₂ CONHCH ₃
e	-{CH ₂ } ₃ -	-	CH(CH ₃)CONHCH ₃



3a - c

	R
a	CH ₂ CONHCH ₃
b	CH(CH ₃)CONHCH ₃
c	CH(CH ₃)CONHCH(CH ₃)CONHCH ₃

wir unlängst fanden, ist die im Unterschied zur Reaktion B reversible Umsetzung A hinsichtlich der Struktur von R" wesentlich anspruchsvoller. Die Glycinverbindung **1 d** ließ sich nämlich ohne weiteres cyclisieren, die Alaninverbindung **1 e** dagegen nicht mehr.

Ist die Bedingung 2) für den Ablauf der Reaktion B nicht erfüllt, so kann — falls Ac einen Acylaminoacrylrest darstellt — mit dessen Amidfunktion ein Imidazolonringschluß⁶ eintreten. Diese Ausweich-

Tabelle I

	Schmp., °C	Ausb., %	$[\alpha]_{D}^{20}$	Formel (Mol-Masse)	% C Ber. Gef.	% H Ber. Gef.	% N Ber. Gef.
Z-(gly) ₂ -NHCH ₃	184—185 (MeOH/H ₂ O)	86		C ₁₃ H ₁₇ N ₃ O ₄ (279,3)	55,90 55,47	6,14 6,14	15,05 15,70
H-(gly) ₂ -NHCH ₃ · HBr *	217—218 (EtOH)	85		C ₅ H ₁₂ BrN ₃ O ₂ (226,1)	26,56 26,20	5,35 5,37	18,59 18,54
Z-(gly) ₄ -NHCH ₃	270 (Zers.) (MeOH)	90		C ₁₇ H ₂₄ N ₅ O ₆ (394,4)	51,77 51,88	6,13 5,99	17,76 17,69
H-(gly) ₄ -NHCH ₃	235 (Zers.) (DMF)	80		C ₉ H ₁₇ N ₅ O ₄ (259,3)	41,69 41,47	6,61 6,52	27,01 27,23
Z-(L ala) ₂ -NHCH ₃	209 (75% MeOH)	82	— 44,2° (c = 1,08 in AcOH)	C ₁₅ H ₂₂ N ₃ O ₄ (307,3)	58,61 58,70	6,89 6,61	13,67 13,85
H-(L ala) ₂ -NHCH ₃	129—130 (Dioxan)	95	— 105,5° (c = 0,82 in CHCl ₃)	C ₇ H ₁₅ N ₃ O ₂ (173,2)	48,53 48,80	8,73 8,88	24,26 24,21
Z-(L ala) ₄ -NHCH ₃	290 (Zers.) (MeOH)	82	— 22,0° (c = 0,56 in DMSO)	C ₂₁ H ₃₁ N ₅ O ₆ (449,5)	56,11 56,28	6,95 6,83	15,58 15,72
H-(L ala) ₄ -NHCH ₃	265 (Zers.) (DMF)	81	— 126,3° (c = 1,1 in H ₂ O)	C ₁₃ H ₂₅ N ₅ O ₄ (315,4)	49,51 49,25	7,99 8,05	22,21 21,97
Z-L pro-gly-NHCH ₃	107—109 (Et ₂ O)	90	— 35,4° (c = 0,96 in CHCl ₃)	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₄ (305,3)	59,00 59,21	6,27 6,10	13,76 14,00
H-L pro-gly-NHCH ₃	114—116 (AcOEt)	81	— 76,4° (c = 0,90 in CHCl ₃)	C ₈ H ₁₅ N ₃ O ₂ (185,2)	51,87 51,88	8,16 8,10	22,69 23,09

* Als Hydrobromid weiterverwendet. Eine Hydrogenolyse von Z-(gly)₂-NHCH₃ war unbefriedigend.

reaktion ist nicht so streng an die Bedingung einer leichten Einstellung der *s-cis*-Konformation der NH—Ac-Bindung gebunden. — Ist in Pyruvylpeptiden die Einstellung der *s-cis*-Konformation erschwert, so ergibt sich bei basischer Katalyse als Ausweichreaktion nur die Aldolkondensation (z. B. zu 3 a). Dieser Reaktionsablauf wurde auch bei der entsprechenden Alaninverbindung (Pyruvyl-ala-NHCH₃) und dem Dipeptid (Pyruvyl-ala-ala-NHCH₃) beobachtet.

Nachdem als wichtigste Voraussetzung zur Bildung sechsgliedriger Ringe aus Pyruvylpeptiden und Dehydropeptiden deren Fähigkeit zur Einstellung der *s-cis*-Konformation erkannt war, haben wir die Ausbildung analoger, aber größerer Ringe geprüft. Diese Untersuchungen haben biologische Bedeutung hinsichtlich des Metabolismus von Dehydropeptiden und deren Hydrolyseprodukten, den Pyruvylpeptiden. Dehydropeptide wurden in den letzten Jahren nämlich in steigendem Maße als Pilzmetaboliten aufgefunden.

Alle bisher bekannten Cyclotriopeptide enthalten ausschließlich Prolin oder Sarkosin, denn nur deren Amidbindung kann leicht *s-cis*-Konformation einnehmen. Es erschien deshalb naheliegend, Pyruvyl-pro-pro-NHCH₃ (4) und Z-Dehydroalanyl-pro-pro-NHCH₃ (5) aufzubauen, deren Cyclisierung zum neungliedrigen Ring jedoch nicht erreicht wurde.

Schon für Cyclotetrapeptide sind Konformationen mit ausschließlich *s-trans*-Konformation der Amidbindung möglich⁷. In den Pyruvyltetrapeptid-amiden Pyruvyl-(gly)₄-NHCH₃ (6) und Pyruvyl-(ala)₄-NHCH₃ (7) könnte deshalb die Reaktion des Pyruvoylcarbonyls mit der Methylamidgruppe oder dem Stickstoff der Peptidgruppe der entfernten Aminosäure zum Cyclotetrapeptid bzw. Cyclopentapeptid mit ausschließlich *s-trans*-Konformation der Amidbindung führen. Die Pyruvyltetrapeptide ließen sich zwar ohne Schwierigkeiten aufbauen, ein Ringschluß konnte jedoch nicht registriert werden. Einschränkend muß jedoch die außerordentliche Schwerlöslichkeit schon der Pyruvyltetrapeptide erwähnt werden, so daß chromatographische Techniken zur Abtrennung von gegebenenfalls gebildeten Ringschlußprodukten versagten. Der bei einfachen Pyruvylaminosäure-methylamiden untrügliche Hinweis auf einen Ringschluß war das Verschwinden des Doublets der —NH—CH₃-Gruppe auf Kosten eines entstehenden Singulets der N-Methylgruppe im NMR-Spektrum. Dieses Kriterium ließ sich aber bei den komplizierten NMR-Spektren der Pyruvyltetrapeptide nicht für den Nachweis eines Ringschlusses heranziehen.

Da die Bildung des sechsgliedrigen Ringes aus dem Dehydropeptid (Reaktion B) sterisch weniger beeinflußt wird als die entsprechende Reaktion der Pyruvylpeptide (Reaktion A) wurde auch das den obigen Pyruvyltetrapeptidamiden entsprechende Acetyl-dehydroalanyl-

(gly)₄-NHCH₃ (**8**) synthetisiert. Aber auch bei diesem ließen sich keine Anzeichen für die Ausbildung eines Cyclotetra- oder Cyclopentapeptides erkennen.

Dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung danken wir für die Mittel zur Anschaffung eines Massenspektrometers, eines XL-100-NMR-Spektrometers und einer Fourier-Transform-Puls-Spektroskopie-Einrichtung.

Experimenteller Teil

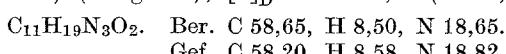
Schmelzpunkte: Heizmikroskop nach *Kofler*, nicht korrigiert. — Optische Aktivitäten: Polarimeter 141 der Fa. Perkin-Elmer. — NMR-Spektren: Varian XL-100. Wenn nicht anders angeführt, wurde CDCl₃ als Lösungsmittel und TMS als innerer Standard verwendet.

Das doppelte Auftreten mancher NMR-Peaks bei Pyruvyl-Verbindungen infolge der Behinderung der freien Drehbarkeit um die Amidbindung wird mit einem +-Zeichen zwischen den zusammengehörigen Resonanzen gekennzeichnet.

Die in der tabellarischen Übersicht angeführten, zum Aufbau von Di- bzw. Tetrapeptid-methylamiden verwendeten Aminosäurederivate wurden nach Standardmethoden (N-Hydroxysuccinimidester-Verfahren⁸⁾ hergestellt. Als Lösungsmittel zur Kupplung zweier Dipeptideinheiten eignete sich vorteilhaft Methanol. Die Benzoyloxycarbonyl-Schutzgruppe (Z) wurde auf der Dipeptidstufe hydrogenolytisch (10—20 Mol% MeOH/PdO), auf der sehr schwer löslichen Tetrapeptidstufe mittels 40proz. HBr-Eisessig abgespalten, die anfallenden Hydrobromide wurden mit einem stark basischen Anionenaustauscher in die freien Amine übergeführt.

L-Prolyl-L-prolin-methylamid

Eine Lösung von 2,49 g (0,01 Mol) Z-Prolin und von N,N'-Carbonyldiimidazol in 30 ml wasserfr. THF wird 45 Min. auf 40 °C gehalten und nach Zugabe von 1,28 g (0,01 Mol) L-Prolin-methylamid über Nacht bei Raumtemp. stehengelassen. Nach Eindampfen im Vak. nimmt man in wenig Wasser auf, stellt mit 1*N*-HCl kongosauer und extrahiert gründlich mit CHCl₃. Dieses wird im Vak. entfernt, das zurückbleibende Öl in halbkonz. KHCO₃-Lösung gelöst und erneut mit CHCl₃ extrahiert. Nach Trocknung über Na₂SO₄ dampft man im Vak. ab und vertreibt das restliche CHCl₃ durch 2—3maliges Abdestillieren von MeOH. Hydrogenolyse des Öls in MeOH/PdO (10—20 Mol%) liefert 1,49 g (67%) Peptid; Schmp. 123—134 °C (Zers.) (Essigester); $[\alpha]_D^{20} = -149,9^\circ$ (*c* = 1,21 in MeOH).



Herstellung der Pyruvylpeptide (**1 a**) bis (**1 c**) und (**1 e**); allgemeine Vorschrift:

Lösungen von 10 mMol Aminosäuremethylamid bzw. Peptidmethylamid und 2,09 g (10 mMol) Brenztraubensäure-p-nitrophenylester in je 20 ml CHCl₃ werden vereinigt und im Vak. auf rund das halbe Volumen

eingeengt. Man versetzt mit 20—50 ml wasserfr. Äther und saugt nach 12stdg. Stehen im Eisschrank ab. Gereinigt wird durch Umkristallisieren.

N-Pyruvoyl-glycin-methylamid (1 a)

Das Rohprodukt (90%) wird im Hochvak. destilliert (Kugelrohr, Badtemp. 130 °C) und aus Essigester/Äther umkristallisiert. Ausb. etwa 400 mg (25%); Schmp. 108—109 °C.

¹H-NMR (DMSO-d₆): τ 1,25—1,73 (1 H), 2,05—2,55 (1 H), 6,23 (d, 2 H), 7,45 (3 H), 7,61 (3 H).

C₆H₁₀N₂O₃. Ber. C 45,56, H 6,37, N 17,72.
Gef. C 45,54, H 6,25, N 17,74.

N-Pyruvoyl-L-alanin-methylamid (1 b)

Umkristallisieren aus CHCl₃/Et₂O liefert 1,09 g (64%) farblose Kristalle, Schmp. 116—119 °C. $[\alpha]_D^{20} = -71,6^\circ$ ($c = 1,07$ in CHCl₃).

¹H-NMR: τ 1,93—2,16 (m, 1 H), 2,75—3,24 (m, 1 H), 5,14—5,77 (m, 1 H), 7,16 (d, 3 H), 7,53 (s, 3 H), 8,52 (d, 3 H).

C₇H₁₂N₂O₃. Ber. C 48,83, H 7,03, N 16,27.
Gef. C 49,20, H 6,93, N 16,05.

N-Pyruvoyl-L-alanyl-L-alanin-methylamid (1 c)

Das Rohprodukt wurde durch Umkristallisieren aus Dioxan/Äther gereinigt. 1,98 g (82%) farbloser Kristalle, Schmp. 212—216 °C. $[\alpha]_D^{21} = -61,9^\circ$ ($c = 0,48$ in MeOH).

¹H-NMR (DMSO-d₆): τ 1,32—2,39 (m, 3 H), 5,35—4,02 (m, 2 H), 7,36 (d, 3 H), 8,65 (d, 3 H), 8,78 (d, 3 H).

C₁₀H₁₇N₃O₄. Ber. C 49,37, H 7,05, N 17,27.
Gef. C 49,11, H 7,25, N 17,10.

N-Pyruvoyl-L-proyl-L-alanin-methylamid (1 e)

Zur Reinigung wurde aus CHCl₃/Et₂O umkristallisiert. 1,46 g (54%), Schmp. 175—178 °C. $[\alpha]_D^{21} = -136,6^\circ$ ($c = 0,96$ in CHCl₃).

¹H-NMR: τ 2,50—3,18 (m, 2 H), 5,03—5,66 (m, 2 H), 5,97—6,50 (m, 2 H), 7,19 (d, 3 H), 7,37—8,28 (m, 4 H), 7,53 + 7,57 (s + s, 3 H), 8,62 (d, 3 H).

C₁₂H₁₉N₃O₄. Ber. C 53,51, H 7,11, N 15,61.
Gef. C 53,80, H 7,07, N 15,71.

3-Hydroxy-3-methyl-1,4-dioxo-perhydro-(8aS)-pyrrololo[1,2-a]pyrazin-2-yl-essigsäure-methylamid (cis-trans-Isomerengemisch) (2 d, C₁₁H₁₇N₃O₄)

Ein Gemenge aus 0,92 g (5 mMol) L-Proyl-glycin-methylamid und 1,05 g (5 mMol) Brenztraubensäure-p-nitrophenylester wird mit 10 ml Essigester versetzt, wobei unter Reaktion Lösung eintritt. Nach mehrstdg. Stehenlassen wird im Vak. eingedampft, das zurückbleibende Öl in 10 ml Wasser aufgenommen und das Nitrophenol durch gründliches Extrahieren mit Äther entfernt. Die wässr. Lösung wird im Vak. eingeengt, 2mal mit EtOH abgedampft und durch etwa 10 g Kieselgel (Laufmittel: Essigester/EtOH 4 : 1) filtriert. Eindampfen des Eluates gibt 0,93 g Öl

(72%). Das NMR-Spektrum dieses Rohproduktes lässt neben einem Isomergemisch der Hydroxycyclodipeptide noch 15% des „offenen“ N-Pyruvyl-L-prolyl-glycin-methylamids (charakteristische Resonanz $\tau = 7,58$, $\text{CH}_3\text{CO}-$) erkennen.

$^1\text{H-NMR}$: kinetisch kontrolliertes Isomeres: $\tau = 2,76-3,00$ (1 H), 3,58 (s, 1 H), 5,28, 6,17 (ABq , 2 H, $J = 17$ Hz), 6,16—6,58 (m, 2 H), 7,16 (d, $J = 5$ Hz, 3 H), 7,34—8,40 (m, 4 H), 8,28 (s, 3 H).

$^1\text{H-NMR}$: thermodynamisch kontrolliertes Isomeres: $\tau = 5,68$, 6,04 (ABq , $J = 16$ Hz, 2 H), 7,22 (d, $J = 5$ Hz, 3 H), 8,43 (s, 3 H).

Darstellung der Dihydroxy-pyrrolidoncarboxamide der Struktur **3 a** bis **3 c**:

3 a: Man löst 400 mg (25 mMol) **1 a** in 20 ml Wasser, setzt 1 Tropfen Et_3N zu und lässt über Nacht stehen. Man entfernt das Lösungsmittel im Vak., dampft 2mal mit wasserfr. EtOH ab und trennt säulenchromatographisch (Kieselgel 0,06—0,2, Laufmittel: Aceton/ MeOH 95 : 5) von geringen Mengen Ausgangsverbindungen ab. Dabei gelang eine teilweise Trennung der beiden Isomeren, die nach Behandlung mit Aceton/Äther kristallisierten, jedoch infolge Lösungsmittelleinschlusses nicht analysenrein gewonnen werden konnten.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$): Isomeres mit dem $R_f = 0,30$: $\tau = 1,58-1,82$ (1 H), 2,08—2,42 (2 H), 2,83 (s, 1 H), 4,58 (s, 1 H), 6,12, 6,51 (ABq , $J = 16$ Hz, 2 H), 6,00—6,50 (m, 2 H), 7,42 (d, 3 H), 7,54, 7,88 (ABq , $J = 14$ Hz, 2 H), 8,69 (s, 3 H).

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$): Isomeres mit dem $R_f = 0,50$: $\tau = 1,31-1,58$ (1 H), 1,70—1,96 (1 H), 2,10—2,40 (1 H), 2,76 (s, 1 H), 5,96, 6,34 (ABq , $J = 16$ Hz, 2 H), 6,00—6,50 (m, 2 H), 7,38 (d, 3 H), 7,60, 7,91 (ABq , $J = 14$ Hz, 2 H), 8,66 (s, 3 H).

3 b: 0,60 g (3,5 mMol) **1 b** werden wie bei **3 a** umgesetzt. Nach Säulen chromatographie (Laufmittel: Essigsäureäthylester/ EtOH 4 : 1) und Anreiben mit Aceton/Äther kristallisieren 0,54 g (97%).

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O): Daten des Isomeren, das durch Kristallisieren angereichert wurde. $\tau = 5,69$ (q, $J = 7$ Hz, 1 H), 5,96 (q, $J = 7$ Hz, 1 H), 7,27 (s, 6 H), 7,26, 7,66 (ABq , $J = 14$ Hz, 2 H), 8,52 (d, $J = 7$ Hz, 3 H), 8,58 (d, $J = 7$ Hz, 3 H), 8,56 (s, 3 H).

$\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_6$. Ber. C 48,83, H 7,03, N 16,27.
Gef. C 48,90, H 6,92, N 16,19.

3 c: 1,00 g (4,1 mMol) **1 c** werden wie bei **3 a** umgesetzt. Durch mehrmaliges Umlaufkristallisieren aus Aceton/Äther gelingt eine fast vollständige Anreicherung eines Isomeren.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O): $\tau = 5,76$ (q, $J = \text{durchwegs } 7$ Hz, 1 H), 5,89 (q, 1 H), 5,93 (q, 1 H), 6,11 (q, 1 H), 7,40 (s, 6 H), 7,38, 7,79 (ABq , $J = 14$ Hz, 2 H), 8,67 (d, 3 H), 8,71 (d, 3 H), 8,71 (s, 3 H), 8,79 (d, 3 H), 8,84 (d, 3 H).

$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_8$. Ber. C 49,37, H 7,05, N 17,27.
Gef. C 48,86, H 7,13, N 17,36.

N-Pyruvyl-L-prolyl-L-prolin-methylamid (4)

Eine Lösung von 1,12 g (5 mMol) Di-L-prolin-methylamid in 20 ml CHCl_3 wird mit 1,05 g (5 mMol) Brenztraubensäure-p-nitrophenylester über Nacht stehengelassen. Das p-Nitrophenol wird säulenchromatographisch (Kieselgel 0,06—0,2 mm, Laufmittel: Essigsäureäthylester/ EtOH

4 : 1) abgetrennt. Das erhaltene Öl kristallisiert beim Behandeln mit Petroläther und wird aus CHCl₃/Äther umkristallisiert. Ausb. 800 mg (55%) an plätzchenartigen Kristallen, Schmp. 93—95 °C; [α]_D²⁰ = — 145,8° (c = 1,20 in CHCl₃).

¹H-NMR: τ 2,18—2,44 + 2,86—3,16 (1 H), 4,92—5,16 + 5,22—5,42 (m, 1 H), 5,42—5,80 (1 H), 6,05—6,78 (m, 4 H), 7,08 + 7,18 + 7,27 + 7,29 (d, 3 H), 7,56 + 7,62 (s, 3 H), 7,42—8,42 (m, 8 H).

C₁₄H₂₁N₃O₄. Ber. C 56,93, H 7,17, N 14,23.
Gef. C 56,50, H 7,02, N 14,34.

Benzoyloxycarbonyl-dehydroalanyl-L-prolyl-L-prolin-methylamid (5)

3,79 g (14 mMol) Cbz-S-methyl-cystein und 2,27 g (14 mMol) N,N'-Carbonyldiimidazol werden, in 50 ml wasserfr. THF gelöst, 2 Stdn. auf 40 °C gehalten, mit 2,25 g (10 mMol) Di-L-prolin-methylamid versetzt und über Nacht stehengelassen. Nach Abdampfen des Lösungsmittels im Vak. nimmt man in wenig Wasser auf, stellt mit 3N-H₂SO₄ kongosauer und extrahiert gründlich mit CHCl₃. Die org. Phase wird 2mal mit gesätt. KHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, welche selbst wieder mit CHCl₃ rückextrahiert wird. Nach Trocknen der org. Phase mit Natriumsulfat wird im Vak. eingeengt. Das zurückbleibende Öl wird in 30 ml wasserfr. Ameisensäure gelöst und mit 10 ml Methylbromid 24 Stdn. im Bombenrohr auf 40 °C gehalten. Man engt im Vak. weitgehend ein, nimmt in 60 ml Wasser auf, filtriert von unlöslichen Anteilen ab und setzt solange den stark basischen Ionenaustauscher Dowex I (OH-Form) zu, bis ein pH-Wert von 10 bestehen bleibt. Nach 6 Stdn. Röhren filtriert man, engt im Vak. ein und dampft noch 2mal mit wasserfr. EtOH ab. Das zurückbleibende Öl enthält noch einige Prozente Pyruvoyl-prolyl-prolin-methylamid und wird davon säulenchromatographisch abgetrennt (Kieselgel, 0,06—0,2 mm, Laufmittel: Essigsäureäthylester/EtOH 4 : 1, R_f = 0,39, R_f der Verunreinigung: 0,25). 1,92 g (45%) Öl kristallisieren nach 3 Wochen und werden mit EtOH/Äther angerieben. Schmp. 145—147 °C, [α]_D²⁰ = — 65,20° (c = 0,95 in CHCl₃).

¹H-NMR: τ 2,10—2,42 + 2,92—3,34 (1 H), 2,48—2,84 (5 H + 1 H), 4,04 (s, 1 H), 4,88 (s, 2 H), 4,92 (s, 1 H), 5,20—5,86 (m, 2 H), 5,98—6,66 (m, 4 H), 7,20 + 7,26 (d, 3 H), 7,40—8,52 (m, 8 H).

C₂₂H₂₈N₄O₅. Ber. C 61,67, H 6,59, N 13,08.
Gef. C 61,51, H 6,42, N 13,23.

N-Pyruvoyl-glycyl-glycyl-glycyl-glycin-methylamid (6)

Die Acylierung wurde wie beim entsprechenden Alaninderivat durchgeführt. Zers. ab etwa 260 °C.

C₁₂H₁₉N₅O₆. Ber. C 43,76, H 5,82, N 21,27.
Gef. C 43,54, H 5,81, N 21,91.

N-Pyruvoyl-L-alanyl-L-alanyl-L-alanyl-L-alanin-methylamid (7)

In einer Phiole werden in 4 ml DMSO 200 mg Tetraalanin-methylamid (etwa 0,6 mMol) in der Hitze (bis 100 °C) gelöst und rasch mit 350 mg Brenztraubensäure-p-nitrophenylester verrührt. Es tritt sofort Reaktion ein. Man gibt 2 ml Wasser, 3 ml MeOH zu und läßt 1 Stde. stehen. 7 schei-

det sich als feines Pulver praktisch quantit. ab und wird mit *MeOH* und Äther gewaschen. Zur Analyse wurde eine kleine Probe in möglichst wenig Trifluoressigsäure warm gelöst und mit wenig Wasser wieder ausgefällt.

$[\alpha]_D^{21} = -126^\circ$ ($c = 0,94$ in CF_3COOH).

$\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_6$. Ber. C 49,86, H 7,06, N 24,91.
Gef. C 49,53, H 7,06, N 24,74.

N-Acetyl-dehydroalanyl-glycyl-glycyl-glycyl-glycin-methylamid (8)

Zu einer Lösung von 359 mg (2,2 mMol) *N*-Acetyl-S-methyl-cystein und von 254 mg (2,2 mMol) *N*-Hydroxysuccinimid in 8 ml Dioxan gibt man 455 mg (2,2 mMol) *DCC* und lässt über Nacht stehen. Nach Abtrennen des Harnstoffes und Einengen im Vak. wird das zurückbleibende Öl in 4 ml *DMSO* aufgenommen und mit einer heißen Lösung von 520 mg (2 mMol) Tetraglycin-methylamid in 6 ml *DMSO* vermischt. Man setzt nach 3 Min. die gleiche Menge Wasser zu und gewinnt nach Stehenlassen im Kühlschrank 720 mg (86%) Cysteinyltetrapeptid. Dieses wird in 10 ml wasserfr. *HCOOH* gelöst und mit 7 ml Methylbromid in einem Bombenrohr 24 Stdn. auf 40°C gehalten. Man dampft das Lösungsmittel im Vak. weitgehend ab, nimmt in 50 ml Wasser auf, filtriert von unlöslichen Bestandteilen ab, setzt 3 Tropfen Et_3N und anschließend soviel vom stark basischen Ionenaustauscher Dowex I (OH-Form) zu, bis ein pH-Wert von etwa 10 bestehen bleibt. Nach 7 Stdn. Röhren wird vom Austauscherharz abgetrennt und das Wasser im Vak. entfernt. Man wäscht das Dehydropeptid mit *MeOH* und Äther; Ausb. 385 mg (52%).

¹H-NMR (*DMSO-d₆*): τ 0,82—0,98 (1 H), 1,26—1,58 (1 H), 1,76—2,12 (2 H), 2,20—2,56 (1 H), 4,05 (s, 1 H), 4,56 (s, 1 H), 6,10—6,46 (m, 8 H), 7,40 (d, 3 H), 2,03 (s, 3 H).

$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_6$. Ber. C 45,40, H 5,99, N 22,69.
Gef. C 44,92, H 5,71, N 22,03.

Literatur

- ¹ XXIII. Mitt.: *E. Prantz* und *U. Schmidt*, Angew. Chem. **89**, 345 (1977).
- ² X. Mitt.: l. c.¹.
- ³ *J. Häusler* und *U. Schmidt*, Chem. Ber. **107**, 2804 (1974).
- ⁴ *E. Öhler* und *U. Schmidt*, Chem. Ber. **108**, 2907 (1975).
- ⁵ *U. Schmidt*, *A. Perco* und *E. Öhler*, Chem. Ber. **107**, 2816 (1974).
- ⁶ *E. Öhler* und *U. Schmidt*, Chem. Ber. **110**, 921 (1977).
- ⁷ *C. Ramakrishnan* und *K. P. Sarathy*, Biochim. Biophys. Acta **168**, 402 (1968).
- ⁸ *G. W. Anderson*, *J. E. Zimmerman* und *F. M. Callahan*, J. Amer. Chem. Soc. **86**, 1839 (1964).

Korrespondenz und Sonderdrucke:

Prof. Dr. U. Schmidt
Organisch-Chemisches Institut
Universität Wien
Währinger Straße 38
A-1090 Wien
Österreich