

enthält demnach ca. 32% (+)-Epigriseofulvin und ca. 68% (+)-Griseofulvin. Aktivität  $4,31 \cdot 10^5$  ipm/mM, entsprechend dem Austausch von 1,048 Äquivalenten Methoxyl.

Zur Lokalisierung der Aktivität werden 131 mg des obigen Gemisches in 0,65 ml Eisessig und 0,13 ml 2N Schwefelsäure bei ca. 98° während  $1\frac{1}{4}$  h stehengelassen. Darauf wird im Eisschrank abgekühlt, die ausgefallene Griseofulvinsäure abgenutscht und ausgiebig mit Methanol und Äther gewaschen. Das kristalline Produkt (73 mg) wird in Methanol gelöst und mit Diazomethan veräthert. Der feste Rückstand wird im Hochvakuum bei ca. 170° destilliert. Man erhält eine glasige Masse, die nach Dünnschichtchromatogramm aus (+)-Griseofulvin und (+)-Isogriseofulvin sowie deren Epimeren besteht.

$C_{17}H_{17}O_6Cl$  (352,5) Ber. C 57,90 H 4,85% Gef. C 58,03 H 5,06%

Die gemessene Aktivität beträgt  $2,79 \cdot 10^5$  ipm/mM, entsprechend 0,679 Äquivalent. Die Abspaltung des Methoxyls im Ring C hat somit zum Verlust von 0,369 Äquivalent geführt. Die restliche Aktivität ist wahrscheinlich auf die beiden Methoxygruppen im Ring A gleichmässig verteilt.

Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Leitung Dr. A. DIRSCHERL) ausgeführt. Die Kernresonanz- und IR.-Spektren wurden in unserer physikochemischen Abteilung (Leitung Dr. M. KOFLER) von Dr. C. v. PLANTA und Dr. L. CHOPARD aufgenommen und interpretiert. Die Präparate wurden in unserer Abteilung Chemotherapie II (Leitung Dr. J. R. FREY) von Herrn H. GELEICK getestet.

#### SUMMARY

(-)-Dehydrogriseofulvin (I) is converted to the diphenylether derivatives IV or VIII, respectively, by action of a base or an acid. The mechanism of the basic ring opening reaction has been established by use of  $^{14}C$  labelled methanol. In the case of the epimerisation of griseofulvin (II) under the influence of methylate, however, it is shown that a more complicated mechanism is involved.

Chemische Forschungsabteilung der  
F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel

## 97. Synthesen in der Polymyxin-Reihe

6. Mitteilung<sup>1)</sup>

### Versuch zur Synthese des cyclischen Decapeptides 7a über ein lineares Decapeptid

von R. O. Studer und K. Vogler

(3. III. 62)

Unter der grossen Mannigfaltigkeit von Peptiden und peptidartigen Stoffwechselprodukten der Mikroorganismen gehört eine ganze Reihe in die Gruppe der homodet cyclischen Peptide<sup>2)</sup>. Die bis jetzt in ihrer Struktur bekannten Vertreter dieser Art sind in der Tabelle zusammengefasst.

<sup>1)</sup> 5. Mitteilung: R. O. STUDER, K. VOGLER & W. LERGIER, *Helv.* **44**, 131 (1961). – Dab =  $\alpha, \gamma$ -Diaminobuttersäure, Ipel = Isopelargonsäure. Alle Aminosäuren haben L-Konfiguration, wenn sie nicht ausdrücklich mit dem Präfix D versehen sind.

<sup>2)</sup> a) R. SCHWYZER, B. ISELIN, W. RITTEL & P. SIEBER, *Helv.* **39**, 872 (1956); b) R. SCHWYZER, *Chimia* **12**, 53 (1958); c) R. SCHWYZER, Ciba Foundation Symposium on Amino Acids and Peptides with Antimetabolic Activity, J. & A. Churchill Ltd., London 1958, S. 171 ff.

*Homodet cyclische Peptid-Antibiotica**A. Unsubstituierte und ohne Seitenkette*

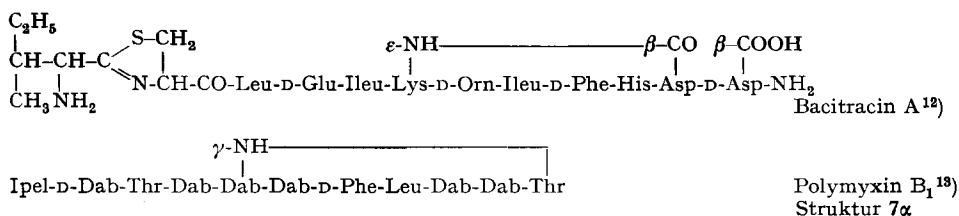
|   |   |
|---|---|
| Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro-Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro                                     | Gramicidin S <sup>3)</sup>              |
| Val-D-Orn-Pro-Phe-D-Leu-D-Phe-Orn   | Gramicidin J <sup>4)</sup>              |
| Val-D-Orn-Pro-D-Phe-D-Leu-Orn   | Gramicidin J <sub>2</sub> <sup>5)</sup> |
| Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro-Phe-D-Phe-Asp(NH <sub>2</sub> )-Glu(NH <sub>2</sub> )-Tyr | Tyrocidin A <sup>6)</sup>               |
| Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro-Try-D-Phe-Asp(NH <sub>2</sub> )-Glu(NH <sub>2</sub> )-Tyr | Tyrocidin B <sup>7)</sup>               |
| Val-D-Phe-Phe-D-Val-Val-D-Phe-Phe-D-Val   | Fungisporin <sup>8)</sup>               |
| Leu-Glu-Asp-Ala-Asp-Pro-Asp-Glu-Tyr-Asp-Tyr-Ser-Asp                             | Mycobacillin <sup>9)</sup>              |

*B. Mit einer Fettsäure substituiert*

|   |  |
|---|--|
| Dab-Thr-Dab-Dab-Dab-D-Leu-Dab-Leu<br>$\gamma\text{-NHCO}(\text{CH}_2)_4\text{CHCH}_2\text{CH}_3$<br>$\text{CH}_3$           | Colimycin <sup>10)</sup><br>(Colistin) |
| Dab-Dab-Thr-Dab-Thr-Dab-Dab-D-Leu-Ileu-Dab<br>$\gamma\text{-NHCO}(\text{CH}_2)_4\text{CHCH}_2\text{CH}_3$<br>$\text{CH}_3$  | Circulin A <sup>11)</sup>              |
| Dab-Dab-Thr-Dab-Thr-Dab-Dab-D-Leu-Ileu-Dab<br>$\gamma\text{-NHCO}(\text{CH}_2)_4\text{-CHCH}_2\text{CH}_3$<br>$\text{CH}_3$ | Circulin B <sup>11)</sup>              |

- <sup>3)</sup> R. CONSDEN, A. H. GORDON, A. J. P. MARTIN & R. L. M. SYNGE, *Biochem. J.* **41**, 596 (1947); A. R. BATTERSBY & L. C. CRAIG, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 1887 (1951); R. SCHWYZER & P. SIEBER, *Helv.* **40**, 624 (1957).
- <sup>4)</sup> Y. SAITO, *Osaka Shiritsu Daigaku Igaku Zasshi* **7**, 499, 503 (1958); *Chem. Abstr.* **53**, 1440 (1959); S. OTANI, H. NAGANO & Y. SAITO, *ibid.* **7**, 640 (1958); *Chem. Abstr.* **53**, 12403 (1959).
- <sup>5)</sup> Y. NODA, *Nippon Kagaku Zasshi* **80**, 411 (1959); *Chem. Abstr.* **55**, 4374 (1961).
- <sup>6)</sup> A. PALADINI & L. C. CRAIG, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 688 (1954).
- <sup>7)</sup> T. P. KING & L. C. CRAIG, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 6627 (1955).
- <sup>8)</sup> Y. SUMIKI & K. MIYAO, *J. agr. chem. Soc. Japan* **26**, 27 (1952); K. MIYAO, *Bull. agr. chem. Soc. Japan* **19**, 86 (1955); **24**, 23 (1960); *Chem. Abstr.* **54**, 18379 (1960).
- <sup>9)</sup> S. K. MAJUMDAR & S. K. BOSE, *Nature* **181**, 134 (1958); *idem.* *Biochem. J.* **74**, 596 (1960).
- <sup>10)</sup> T. KURIHARA & K. SUZUKI, *Annu. Rep. Tohoku Coll. Pharm.* **2**, 1 (1955); Y. KOYAMA, *Giorn. ital. Chemioterap.* **4**, 279 (1957). Nach G. BIZERTE & M. DAUTREVAUX [*Bull. Soc. chim. biol.* **43**, 495 (1961)] hat Colimycin eine andere Struktur.
- <sup>11)</sup> H. KOFFLER, *Science* **130**, 1419 (1959).

## C. Mit einer Peptid-Seitenkette



In der Gruppe A sind die Peptide aufgezählt, welche nur aus Aminosäuren in  $\alpha$ -Peptidverknüpfung aufgebaut sind. Die  $\delta$ -Aminogruppen des Ornithins in den Gramicidinen und den beiden Tyrocidinen liegen in freier Form vor, während die  $\beta$ -Carboxylgruppe der Asparaginsäure und die  $\gamma$ -Carboxylgruppe der Glutaminsäure entweder als Amide geschützt sind oder in freier Form vorliegen.

Im Unterschied dazu ist bei den Peptiden der Gruppe B jeweils die  $\gamma$ -Aminogruppe einer Diaminobuttersäure durch eine Fettsäure substituiert, während die weiteren in freier Form vorliegen. Man kann sich vorstellen, dass diese Peptide ähnlich wie die Peptide tierischen Ursprungs *in vivo* vorerst als offene Ketten synthetisiert werden<sup>14)</sup>; erst nachträglich würde dann eine Cyclisierung durch Kondensation der freien  $\alpha$ -Aminogruppe der N-endständigen Aminosäure mit der freien  $\alpha$ -Carboxylgruppe der C-endständigen Aminosäure stattfinden; die Einführung der Fettsäure bei den Cyclopeptiden der Gruppe B könnte entweder vor oder nach der Ringbildung erfolgen.

Eine weitere Gruppe bilden die homodet cyclischen Peptide, welche neben dem Peptidring noch eine Seitenkette von peptidartiger Natur besitzen und die unter C aufgeführt sind. Während die Struktur des Bacitracins A genau bekannt ist, besteht beim Polymyxin B<sub>1</sub> noch eine Unsicherheit über die Stellung der Seitenkette.

Falls die Annahme zutrifft, dass solche homodet cyclische Peptide durch Cyclisierung von entsprechenden linearen  $\alpha$ -verknüpften Peptiden entstehen, kann man für das Bacitracin A die offenkettige Form des Schemas 1 als Vorstufe betrachten. Die Ringbildung kann nachträglich durch Kondensation der  $\beta$ -Carboxylgruppe der Asparaginsäure mit der  $\varepsilon$ -Aminogruppe des Lysins erfolgen (gestrichelte Linie), wobei die Struktur des Naturproduktes resultiert.

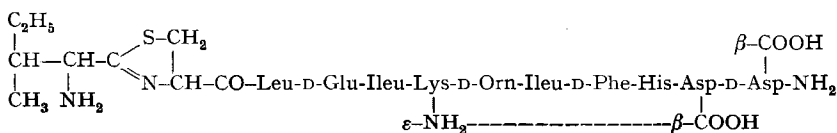
Entsprechend lässt sich als mögliches Zwischenprodukt für das Polymyxin B<sub>1</sub> (Struktur 7 $\alpha$ )<sup>15)</sup> das in Schema 2 dargestellte lineare  $\alpha$ -verknüpfte Peptid aufzeichnen.

<sup>12)</sup> J. R. WEISIGER, W. HAUSMANN & L. C. CRAIG, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 3123 (1955); W. HAUSMANN, J. R. WEISIGER & L. C. CRAIG, *ibid.* 77, 723 (1955); L. C. CRAIG, WM. KONIGSBERG & R. J. HILL, Ciba Foundation Symposium on Amino Acids and Peptides with Antimetabolic Activity, J. & A. Churchill Ltd., London 1958, S. 226; WM. KONIGSBERG & L. C. CRAIG, *J. Amer. chem. Soc.* 81, 3452 (1959); W. STOFFEL & L. C. CRAIG, *ibid.* 83, 145 (1961); E. P. ABRAHAM & G. G. F. NEWTON, Ciba Foundation Symposium on Amino Acids and Peptides with Antimetabolic Activity, J. & A. Churchill Ltd., London 1958, S. 205; I. M. LOCKHART & E. P. ABRAHAM, *Biochem. J.* 62, 645 (1956); D. L. SWALLOW & E. P. ABRAHAM, *ibid.* 72, 326 (1959).

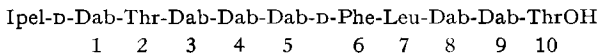
<sup>13)</sup> W. HAUSMANN, *J. Amer. chem. Soc.* 78, 3663 (1956); G. BIZERTE & M. DAUTREVAUX, *Bull. Soc. chim. biol.* 39, 795 (1957).

<sup>14)</sup> Vgl. auch R. SCHWYZER<sup>2c)</sup>.

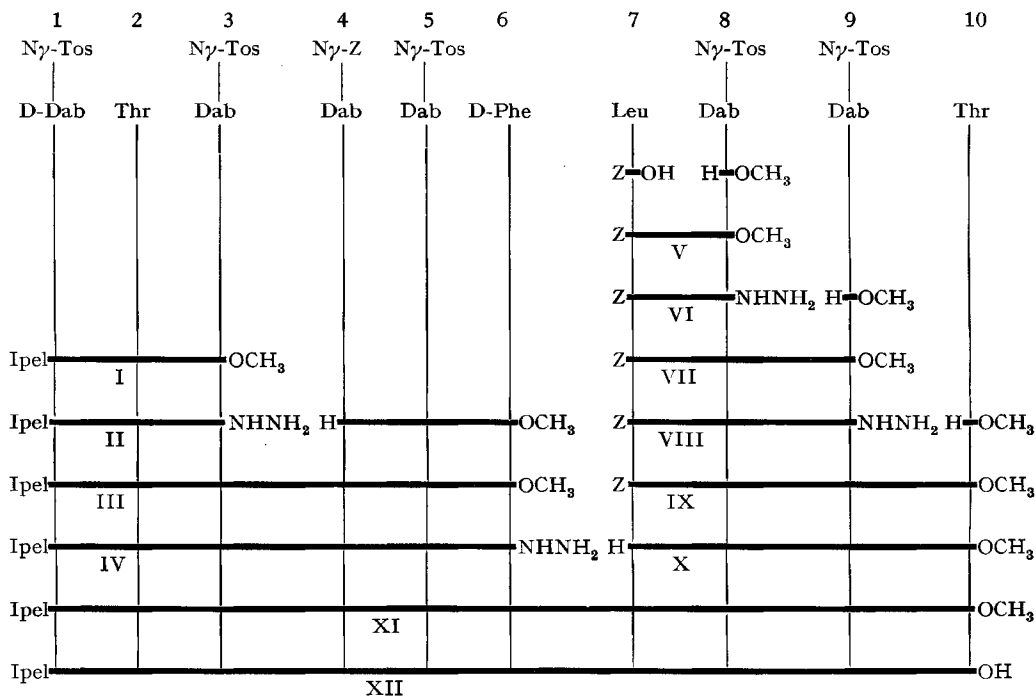
<sup>15)</sup> Über die abgekürzte Bezeichnung der 4 Isomeren des Polymyxins B<sub>1</sub> vgl. K. VOGLER, R. O. STUDER, W. LERGIER & P. LANZ, *Helv.* 43, 1751 (1960).



Schema 1



Schema 2

Schema 3. Aufbauschema des linearen Decapeptids von 7 $\alpha$ 

Tos = Tosyl; Z = Benzyloxycarbonyl

Alle Aminosäuren, wenn nicht ausdrücklich D- als Präfix steht, wurden in der «natürlichen» L-Form verwendet.

Durch Kondensation der freien Carboxylgruppe des L-Threonins mit der freien  $\gamma$ -Aminogruppe der L-Diaminobuttersäure in 3-Stellung entsteht die Struktur 8 $\alpha$ , durch Kondensation mit derjenigen der Diaminobuttersäure in 4-Stellung die Struktur 7 $\alpha$ . Beide Strukturen sind schon über entsprechende verzweigte Decapeptide synthetisiert worden<sup>1)</sup><sup>16)</sup><sup>17)</sup>. Während das Isomere 8 $\alpha$  infolge seiner geringen mikrobiologischen Aktivität nicht mit dem natürlichen Polymyxin B<sub>1</sub> identisch sein kann, ist 7 $\alpha$  ein hochaktiver antimikrobieller Wirkstoff mit der Wirkungsqualität des

<sup>16)</sup> R. O. STUDER, K. VOGLER & W. LERGIER, *Chimia* 14, 422 (1960).

<sup>17)</sup> K. VOGLER, R. O. STUDER, P. LANZ, W. LERGIER & E. BÖHNI, *Experientia* 17, 223 (1961).

Polymyxins B<sub>1</sub><sup>17)</sup>. Wir haben im Zusammenhang mit der vorstehenden Betrachtung versucht, 7 $\alpha$  durch Cyclisierung des linearen Decapeptides (Schema 2) zu erhalten.

Das lineare geschützte Decapeptid XI (siehe Schema 3) wurde durch Azidkuppelung aus dem Hexapeptid-hydrazid IV und dem Tetrapeptid X erhalten. Das geschützte Tetrapeptid IX wurde durch stufenweisen Aufbau vom Aminoende her vorwiegend nach der Azidmethode synthetisiert. Für den Aufbau des Hexapeptides wurde N $\alpha$ -Isopelargonyl-N $\gamma$ -Tos-D- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonin-hydrazid<sup>1)</sup> mit N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobuttersäure-methylester<sup>18)</sup> zum Tripeptidester I gekuppelt, welcher anschliessend mit Hydrazin ins Hydrazid II übergeführt wurde. Dieses konnte darauf durch Azidkuppelung mit dem schon beschriebenen N $\gamma$ -Z-L- $\alpha$ , $\gamma$ -Diaminobutyryl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-D-phenylalanin-methylester<sup>1)</sup> zum Hexapeptidester III verlängert werden. Umsetzung mit Hydrazin lieferte anschliessend das Hexapeptid-hydrazid IV.

Das geschützte lineare Decapeptid XI wurde darauf durch Verseifen in die Decapeptidsäure XII übergeführt, worauf die zur Cyclisierung notwendige  $\gamma$ -Aminogruppe der L- $\alpha$ , $\gamma$ -Diaminobuttersäure in 4-Stellung durch Hydrogenolyse der Benzyloxycarbonyl-Gruppe freigesetzt wurde. Die nachfolgenden Cyclisierungsversuche mit Dicyclohexyl-carbodiimid erfolgten unter den gleichen Bedingungen, welche bei der Cyclisierung der beiden schon beschriebenen verzweigten Isomeren 8 $\alpha$ <sup>1)</sup> und 8  $\gamma$ <sup>15)</sup> zum Erfolg geführt hatten. Unerwarteterweise ist es uns bislang nicht gelungen, im vorliegenden Falle ein cyclisches Produkt zu fassen. Dieser Misserfolg wird wohl darin zu suchen sein, dass die der freien  $\gamma$ -Aminogruppe der Diaminobuttersäure in 4-Stellung benachbarten N $\gamma$ -Tosylaminogruppen diese derart abschirmen, dass eine Kondensation verhindert wird.

### Experimenteller Teil<sup>19)</sup>

1. *N $\alpha$ -Isopelargonyl-N $\gamma$ -Tos-D- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonyl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobuttersäure-methylester (I)*. 5,27 g (0,01 Mol) N $\alpha$ -Isopelargonyl-N $\gamma$ -Tos-D- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonin-hydrazid<sup>1)</sup> werden in 100 ml 60-proz. Essigsäure und 7 ml (0,021 Mol) 3 N HCl gelöst und mit 200 ml Äther überschichtet. Die auf  $-10^\circ$  gekühlte Lösung wird portionenweise mit 0,76 g (0,011 Mol) Natriumnitrit in 5 ml Wasser versetzt und 5 Min. bei  $-10^\circ$  gerührt. Nach Abtrennung der ätherischen Azidlösung wird diese mit kalter 5-proz. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und kaltem Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und zu einer vorgekühlten Lösung von 3,7 g (0,013 Mol) N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobuttersäure-methylester<sup>18)</sup> in 100 ml Chloroform filtriert. Die Reaktionsmischung wird über Nacht im Eiskasten aufbewahrt und der entstandene Niederschlag mit Äther vervollständigt. Nach dem Filtrieren wird mit Äther gewaschen und getrocknet. Das Tripeptid wird darauf aus Methanol-Wasser umkristallisiert. Ausbeute 5,25 g (67%). Smp. 173–173,5°.  $[\alpha]_D^{23} = +2,7^\circ$ .

C<sub>36</sub>H<sub>35</sub>O<sub>10</sub>N<sub>5</sub>S<sub>2</sub> (781,9) Ber. C 55,29 H 7,08 N 8,95% Gef. C 55,16 H 6,77 N 8,68%

2. *N $\alpha$ -Isopelargonyl-N $\gamma$ -Tos-D- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonyl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobuttersäure-hydrazid (II)*. 0,7 g Tripeptidester I wird in 8 ml Methanol gelöst und mit 0,5 ml Hydrazinhydrat versetzt. Die Lösung wird über Nacht bei Raumtemperatur aufbewahrt, darauf das

<sup>18)</sup> K. VOGLER, P. LANZ, W. LERGIER & R. O. STUDER, *Helv.* 43, 574 (1960).

<sup>19)</sup> Die Smp. wurden auf einem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Die Drehungen wurden, wenn nichts anderes angegeben, in Dimethylformamid bei  $c = 2$  bestimmt; Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ . Die Analysenmuster wurden 18 Std. über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bei 0,01 Torr und, sofern nichts besonders vermerkt, bei 100° getrocknet. – Die Mikroanalysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung Dr. A. DIRSCHERL) ausgeführt.

Hydrazid mit Eiswasser gefällt, filtriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Nach Umfällen aus Wasser beträgt die Ausbeute 0,6 g (85%). Smp. 190°.  $[\alpha]_D^{24} = +3,5^\circ$ .

$C_{35}H_{55}O_9N_7S_2$  (781,96) Ber. C 53,75 H 7,09 N 12,53% Gef. C 53,98 H 7,01 N 12,50%

3. *N<sup>α</sup>-Isopelargonyl-N<sup>γ</sup>-Tos-D-α, γ-diaminobutyryl-L-threonyl-N<sup>γ</sup>-Tos-L-α, γ-diaminobutyryl-N<sup>γ</sup>-Z-L-α, γ-diaminobutyryl-N<sup>γ</sup>-Tos-L-α, γ-diaminobutyryl-D-phenylalanin-methylester (III)*. 3,1 g (0,004 Mol) des Hydrazides II werden in 60 ml 60-proz. Essigsäure, 2,8 ml (0,0084 Mol) 3N HCl und 100 ml Essigester gelöst. Die auf  $-10^\circ$  gekühlte Lösung wird portionenweise mit 276 mg (0,004 Mol) Natriumnitrit in 5 ml Wasser versetzt und 5 Min. bei  $-10^\circ$  gerührt. Nach Versetzen mit Eiswasser wird die Essigesterlösung abgetrennt, mit kalter 5-proz. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und kaltem Wasser gewaschen. Die über  $Na_2SO_4$  getrocknete Essigesterlösung wird mit einer Lösung von 2,7 g (0,004 Mol) *N<sup>γ</sup>-Z-L-α, γ-diaminobutyryl-N<sup>γ</sup>-Tos-L-α, γ-diaminobutyryl-D-phenylalanin-methylester<sup>1)</sup>* in 20 ml Essigester und 3 ml Eisessig vereinigt und über Nacht im Eiskasten aufbewahrt. Der entstandene gelartige Niederschlag wird filtriert, mit Essigester und Äther gewaschen und getrocknet. Das Produkt wird in heissem Methanol gelöst; beim Abkühlen entsteht eine gelartige Masse, welche filtriert, mit Methanol gewaschen und getrocknet wird. Ausbeute 2,7 g (51%). Smp. 208–209°.  $[\alpha]_D^{23} = 0^\circ$ .  $\epsilon$  bei 257  $\mu$  = 1756 (50,35 mg%, Feinsprit),  $\epsilon$  ber. = 1730.

$C_{68}H_{92}O_{17}N_{10}S_3$  (1417,67) Ber. C 57,61 H 6,54 N 9,88% Gef. C 57,63 H 6,78 N 9,96%

4. *N<sup>α</sup>-Isopelargonyl-N<sup>γ</sup>-Tos-D-α, γ-diaminobutyryl-L-threonyl-N<sup>γ</sup>-Tos-L-α, γ-diaminobutyryl-N<sup>γ</sup>-Z-L-α, γ-diaminobutyryl-N<sup>γ</sup>-Tos-L-α, γ-diaminobutyryl-D-phenylalanin-hydrazid (IV)*. 4,2 g (0,003 Mol) Hexapeptidester III werden in 100 ml Methanol gelöst und mit 1,5 ml Hydrazinhydrat versetzt. Die Lösung wird über Nacht bei Raumtemperatur aufbewahrt, wobei sich eine feste Masse bildet. Sie wird mit etwas Methanol verrieben, filtriert, mit Methanol und Äther gewaschen und getrocknet. Das Hydrazid wird aus Dimethylformamid/Äther umgefällt. Ausbeute 3,6 g (86%). Smp. 204–206°.

$C_{67}H_{92}O_{16}N_{12}S_3$  (1417,68) Ber. C 56,76 H 6,54 S 6,79% Gef. C 56,81 H 6,51 S 6,72%

5. *Z-L-Leucyl-N<sup>γ</sup>-Tos-L-α, γ-diaminobuttersäure-methylester (V)*. 11,5 g (0,04 Mol) *N<sup>γ</sup>-Tos-L-α, γ-diaminobuttersäure-methylester<sup>15)</sup>* werden zusammen mit 10,6 g (0,04 Mol) *Z-L-Leucin<sup>20)</sup>* in 50 ml Dimethylformamid gelöst, auf  $0^\circ$  gekühlt und mit 8,3 g (0,04 Mol) Dicyclohexyl-carbodiimid versetzt. Nach 20 stdg. Stehen bei  $0^\circ$  wird 1 ml Eisessig zugegeben, 1 Std. bei Raumtemperatur belassen, vom ausgefallenen Dicyclohexylharnstoff abfiltriert und das Filtrat zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird in Essigester gelöst, mit 5-proz. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, verdünnter HCl und Wasser neutral gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und eingedampft. Das anfallende Dipeptid wird aus Methanol/Wasser kristallisiert. Ausbeute 14 g (66%). Smp. 129°.  $[\alpha]_D^{15} = -21,4^\circ$ .

$C_{26}H_{35}O_7N_3S$  (533,6) Ber. C 58,51 H 6,61 N 6,01% Gef. C 58,80 H 6,64 N 6,12%

6. *Z-L-Leucyl-N<sup>γ</sup>-Tos-L-α, γ-diaminobuttersäure-hydrazid (VI)*. 10 g Dipeptidester V werden in 50 ml Methanol gelöst, mit 9 ml Hydrazinhydrat versetzt und 20 Std. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Darauf wird in Eis gekühlt, mit Eiswasser gefällt, wobei eine milchige Trübung entsteht, welche allmählich erstarrt. Die feste Masse wird abgenutscht, mit Eiswasser gewaschen und aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausbeute 8,6 g (86%). Smp. 143–144°.  $[\alpha]_D^{15} = -26,3^\circ$ .

$C_{25}H_{36}O_6N_5S$  (533,6) Ber. C 56,26 H 6,61 S 6,02% Gef. C 56,36 H 6,73 S 5,97%

7. *Z-L-Leucyl-N<sup>γ</sup>-Tos-L-α, γ-diaminobutyryl-N<sup>γ</sup>-Tos-L-α, γ-diaminobuttersäure-methylester (VII)*. 69,3 g (0,13 Mol) Dipeptidhydrazid VI werden in 165 ml Eisessig, 85 ml Wasser, 91 ml 3N HCl und 300 ml Essigester gelöst, auf  $-10^\circ$  gekühlt und langsam mit einer Lösung von 9,4 g (0,135 Mol)  $NaNO_2$  in 30 ml Wasser versetzt. Nach vollständiger Zugabe wird noch 5 Min. bei  $-10^\circ$  gerührt, die Essigesterlösung mit Eiswasser, kalter 5-proz. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Eiswasser gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und mit einer Lösung von 37 g (0,13 Mol) *N<sup>γ</sup>-Tos-L-α, γ-diaminobuttersäure-methylester<sup>1)</sup>* in 100 ml Essigester und 70 ml Eisessig<sup>21)</sup> vereinigt. Die Lösung wird zwei Tage im Eiskasten aufbewahrt und darauf mit 5-proz.  $NaHCO_3$ -

<sup>20)</sup> M. BERGMANN, L. ZERVAS & J. S. FRUTON, J. biol. Chemistry 115, 593 (1936).

Lösung, verdünnter HCl und Wasser neutral gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird aus Äthanol kristallisiert. Ausbeute 68 g (66%). Smp. 159°.  $[\alpha]_D^{25} = -27,35^\circ$ .

$\text{C}_{37}\text{H}_{49}\text{O}_{10}\text{N}_5\text{S}_2$  (787,9) Ber. C 56,40 H 6,27 N 8,13% Gef. C 56,39 H 6,18 N 8,22%

8. *Z-L-Leucyl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobuttersäure-hydrazid (VIII)*. 10 g Tripeptid VII werden in 100 ml Methanol gelöst, mit 10 ml Hydrazinhydrat versetzt und 18 Std. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Darauf wird in Eis gekühlt, mit Eiswasser gefällt, wobei eine allmählich erstarrende, milchige Trübung entsteht. Die feste Masse wird filtriert, mit viel Wasser gewaschen und getrocknet. Das Hydrazid wird aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausbeute 8 g (80%). Smp. 151–153°.  $[\alpha]_D^{25} = -29,3^\circ$ .

$\text{C}_{36}\text{H}_{49}\text{O}_9\text{N}_7\text{S}_2$  (777,9) Ber. C 54,85 H 6,26 S 8,13% Gef. C 54,55 H 6,20 S 7,92%

9. *Z-L-Leucyl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonin-methylester (IX)*. 5,45 g (0,007 Mol) Tripeptidhydrazid VIII werden in 20 ml Eisessig, 30 ml Wasser, 4,9 ml 3 N HCl und 150 ml Essigester gelöst, auf  $-10^\circ$  gekühlt und unter Rühren mit 510 mg  $\text{NaNO}_2$  in 5 ml Wasser versetzt. Nach 10 Min. Rühren bei  $-10^\circ$  wird die Essigesterlösung mit Eiswasser, kalter 5-proz.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und Eiswasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und mit einer Lösung von 1,02 g L-Threonin-methylester<sup>22)</sup> in 10 ml Essigester und 4 ml Eisessig vereinigt. Nach 20stdg. Stehen im Eiskasten wird die Lösung mit Wasser, 5-proz.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, Wasser, 1 N HCl und Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Das Tetrapeptid wird aus Methanol/Äther kristallisiert. Ausbeute 3,9 g (63%). Smp. 186–188°.  $[\alpha]_D^{25} = -25,6^\circ$ .

$\text{C}_{41}\text{H}_{56}\text{O}_{12}\text{N}_6\text{S}_2$  (891,0) Ber. C 55,49 H 6,33 N 9,43% Gef. C 55,77 H 6,53 N 9,48%

10. *L-Leucyl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonin-methylester-hydrochlorid (X)*. 8,91 g (0,01 Mol) Tetrapeptid IX werden in 200 ml Methanol und 1 ml konz. HCl gelöst und über Palladiumkohle hydriert. Nach der Hydrierung wird vom Katalysator abfiltriert und zur Trockne verdampft. Das Hydrochlorid wird 3mal aus Methanol/Aceton/Äther gefällt. Ausbeute 7,1 g (90%). Smp. 163–164°.

$\text{C}_{39}\text{H}_{51}\text{O}_{10}\text{N}_6\text{S}_2\text{Cl}$  (791,36) Ber. C 50,08 H 6,49 N 10,62% Gef. C 49,78 H 6,73 N 10,32%

11. *N $\alpha$ -Isopelargonyl-N $\gamma$ -Tos-D- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonyl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-N $\gamma$ -Z-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-D-phenylalanyl-L-leucyl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonin-methylester (XI)*. 5,2 g (0,0037 Mol) Hexapeptidhydrazid IV werden unter leichtem Erwärmen in 100 ml Eisessig, 2,6 ml 3 N HCl und 30 ml Wasser gelöst und bei  $-10^\circ$  mit 260 mg  $\text{NaNO}_2$  in 5 ml Wasser versetzt. Nach 10 Min. Rühren bei  $-10^\circ$  wird das Azid durch Zusatz von Eiswasser ausgefällt, filtriert, mit kaltem Wasser, kalter 5-proz.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und Eiswasser gewaschen und scharf abgepresst. Es wird darauf in eine kalte Lösung von 3 g (0,0038 Mol) Tetrapeptid-hydrochlorid X in 50 ml Dimethylformamid und 0,52 ml (0,0038 Mol) Triäthylamin eingetragen. Nach 20stdg. Stehen bei  $0^\circ$  wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in Chloroform gelöst, neutral gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Das Decapeptid wird aus Chloroform/Äther umgefällt. Ausbeute 4,7 g (59%). Smp. 173–175°.  $[\alpha]_D^{25} = -9,8^\circ$ .

$\text{C}_{100}\text{H}_{138}\text{O}_{26}\text{N}_{16}\text{S}_6$  (2140,5) Ber. C 56,10 H 6,40 N 10,45% Gef. C 56,11 H 6,39 N 10,08%

12. *N $\alpha$ -Isopelargonyl-N $\gamma$ -Tos-D- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonyl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-N $\gamma$ -Z-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-D-phenylalanyl-L-leucyl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonin (XII)*. 6,6 g (0,003 Mol) Decapeptid XI werden in 200 ml Aceton gelöst, mit 2,25 ml 2 N NaOH (0,0045 Mol) versetzt und 18 Std. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Darauf wird mit Eisessig auf pH 6 gestellt, das Aceton im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Äther gefällt. Die Decapeptidsäure wird aus Methanol/Äther gefällt. Ausbeute 5,7 g (85%). Aus der Mikrotitration werden 1,1 COOH-Gruppen errechnet.  $\epsilon$  bei 257  $m\mu = 2620$  (39,8 mg%, Feinsprit),  $\epsilon$  ber. = 2654<sup>23)</sup>.

<sup>21)</sup> K. PODUŠKA & J. RUDINGER, Collect. czechoslov. chem. Commun. 24, 3449 (1959).

<sup>22)</sup> K. VOGLER & P. LANZ, Helv. 43, 270 (1960).

<sup>23)</sup> K. VOGLER, J. WÜRSCH, R. O. STUDER & P. LANZ, Chimia 14, 379 (1960).

13. *N $\alpha$ -Isopelargonyl-N $\gamma$ -Tos-D- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonyl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-D-phenylalanyl-L-leucyl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-N $\gamma$ -Tos-L- $\alpha$ , $\gamma$ -diaminobutyryl-L-threonin (XIII) (durch Hydrierung von XII). 5,1 g (0,0024 Mol) XII werden in 100 ml Methanol und 0,4 ml 6N HCl gelöst und über Palladiumkohle hydriert. Nach der Hydrierung wird vom Katalysator abfiltriert, zur Trockne verdampft und aus Methanol/Äther gefällt. Ausbeute 3,5 g (73%). Smp. 147–149°, Sintern ab 135°. Der Ninhydrinwert<sup>24)</sup> entspricht 1,03 NH<sub>2</sub>-Gruppen.  $\epsilon$  bei 257  $m\mu$  = 2320 (41,15 mg%, Feinsprit),  $\epsilon$  ber. = 2447<sup>23)</sup>.*

14. *Behandlung mit Dicyclohexyl-carbodiimid. Entfernung der Schutzgruppen und Versuche zur Isolierung eines cyclischen Produktes.* Die Versuche zur Cyclisierung des linearen Decapeptides XIII mittels Dicyclohexyl-carbodiimid erfolgten unter den gleichen Bedingungen wie die Cyclisierung der beiden verzweigten Decapeptide 8 $\alpha$ <sup>1)</sup> und 8 $\gamma$ <sup>15)</sup>. Nach Aufarbeitung der Cyclisierungs-lösungen wurden die Schutzgruppen mit Na/NH<sub>3</sub><sup>25)</sup> entfernt und das Endprodukt einer Gegenstromverteilung im System *n*-Butanol/Pyridin/Eisessig/Wasser (40:10:5:45) unterworfen. Es konnte dabei kein cyclisches Peptid isoliert werden.

#### SUMMARY

The open linear decapeptide corresponding to one of the four proposed structures (7 $\alpha$ ) for polymyxin B<sub>1</sub>, having throughout  $\alpha$ -amino peptide bonds, has been synthesized. Attempts to cyclise it to the polymyxin B<sub>1</sub> 7 $\alpha$  isomer by the carbodiimide procedure have not yet been successful.

Chemische Forschungsabteilung der  
F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO. AG., Basel

<sup>24)</sup> R. A. BOISSONNAS, *Helv.* 33, 1975 (1950).

<sup>25)</sup> V. DU VIGNEAUD & O. K. BEHRENS, *J. biol. Chemistry* 117, 27 (1937).

## 98. Über das elektromotorische Verhalten von Elektrodengläsern III Messungen an Elektrodengläsern in Essigsäure

von Dorothee Wegmann<sup>1)</sup>, J. P. Escarfail und W. Simon

(5. III. 62)

**1. Einleitung.** – Glaselektroden werden in zunehmendem Masse bei potentiometrischen Titrations in Essigsäure eingesetzt<sup>2)</sup>. Über das quantitative elektromotorische Verhalten von verschiedenen Elektrodengläsern in Essigsäure ist jedoch nur wenig bekannt<sup>3)</sup>. In der vorliegenden Arbeit wird einerseits über die zeitliche Potentialkonstanz von Glaselektroden in Essigsäure berichtet, und andererseits wer-

<sup>1)</sup> Vgl. auch DOROTHÉE WEGMANN, *Diss. ETH*, Zürich 1962.

<sup>2)</sup> a) Zur Vermeidung zahlreicher Literaturzitate sei auf die regelmässig in *Analyt. Chemistry* erscheinenden zusammenfassenden Artikel von J. A. RIDDICK über Säure-Basen-Titrations in nichtwässrigen Medien verwiesen. Vgl. *Analyt. Chemistry* 32, 172R (1960); b) J. T. STOCK & W. C. PURDY, *Chem. Reviews* 57, 1159 (1957).

<sup>3)</sup> N. A. IZMAILOV & A. M. ALEKSANDROWA, *Ž. obšč. Chim.* 20, 2127 (1950).

<sup>4)</sup> J. A. CRANSTON & H. F. BROWN, *J. Roy. Techn. College (Glasgow)* 4, 32 (1937); D. A. MAC INNES & D. BELCHER, *J. Amer. chem. Soc.* 53, 3315 (1931); P. S. TUTUNDŽIĆ & P. PUTANOV, *Bull. Soc. chim. Belgrade* 20, 157 (1955); O. TOMÍČEK & A. HEYROVSKÝ, *Collect. czechoslov. chem. Commun.* 15, 984 (1950); K. SCHWABE, *Chemie-Ing. Techn.* 37, 109 (1959).