

nen, das Racemat oder die *meso*-Form in bevorzugter Weise gebildet wird, haben wir alle drei Isomere (II, III und IV) synthetisch hergestellt. Ein Vergleich der DEBYE-SCHERRER-Diagramme beweist die *meso*-Konfiguration (IV) des bevorzugten Produktes (Fig. 1).

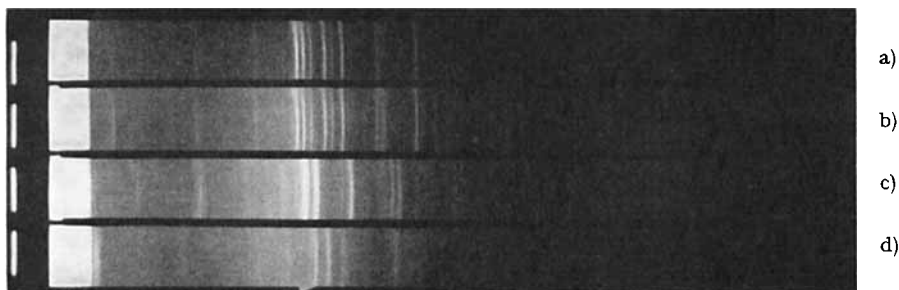


Fig. 1. DEBYE-SCHERRER-Diagramme von: a) II (L-L-Isomeres), b) III (D-D-Isomeres), c) IV (*meso*-Isomeres) und d) Racemat (äquimolare Mengen von II und III zusammen aus Eisessig umkristallisiert)

Das Diagramm des früher erhaltenen Cyclohexapeptides⁵⁾ stimmt in allen Einzelheiten mit demjenigen von c) überein, währenddem das Racemat ein völlig verschiedenes Diagramm liefert (d). Die optisch aktiven Isomere geben identische Diagramme (a und b). Die intensivsten Reflexe entsprechen folgenden Netzebenenabständen (Å):

- a) und b) 4,8; 4,7 (sst); 4,4; 4,15 (st); 3,4 (m)
 c) 16 (<m); 4,65 (sst); 4,50; 4,00 (st); 3,60; 3,55 (m)
 d) 16 (m); 4,5; 4,35 (st); 4,1; 3,58 (m)
 (sst = sehr stark, st = stark; m = mittel)

Aufnahmen mit GUINIER-Kamera, Ø 214 mm, Cu-K α -Strahlung

B. Syntheseweg. – 1) *Carboxylschutz mit der BOC-NHNH-Gruppe*. Im Gegensatz zu den früheren Versuchen haben wir in dieser Arbeit die Azid-Methode für den Cyclisierungsschritt⁶⁾ angewandt. Es geschah dies in der Absicht, die Eignung der *t*-Butoxycarbonyl-hydrazid-Gruppe (z. B. in Verbindung Nr. VII) für den Schutz der Carboxylgruppe während der Synthese und deren nachfolgende Überführung in das reaktionsfähige Carbonsäureazid⁷⁾ an weiteren Beispielen zu studieren. Die Methode hat sich hier ausgezeichnet bewährt und dürfte überall da zu empfehlen sein, wo die nachfolgende Azid-Kupplung erwünscht ist und ohne Nebenreaktionen (z. B. CURTIUS'sche Umlagerung⁸⁾) verläuft.

⁶⁾ J. C. SHEEHAN & W. L. RICHARDSON, J. Amer. chem. Soc. 76, 6329 (1954); J. C. SHEEHAN, M. GOODMAN & W. L. RICHARDSON, *ibid.* 77, 6391 (1955).

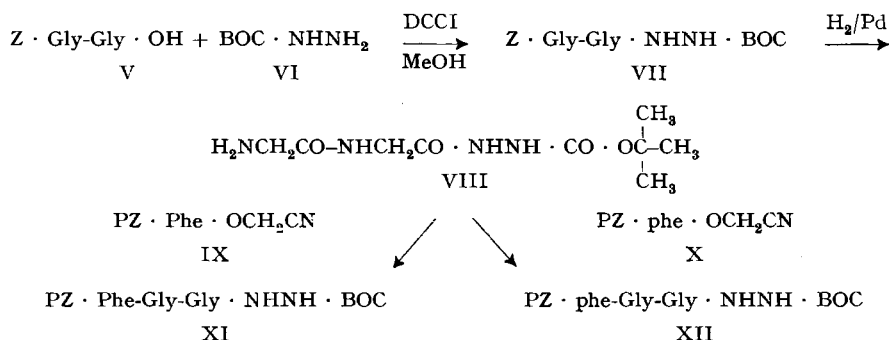
⁷⁾ R. SCHWYZER, Angew. Chem. 71, 742 (1959); R. SCHWYZER, E. SURBECK-Wegmann & H. DIETRICH, Chimia 14, 366 (1960). K. HOFMANN, A. LINDENMANN, M. Z. MAGEE & N. H. KHAN [J. Amer. chem. Soc. 74, 470 (1952)] hatten früher zum gleichen Zwecke die Carbo-benzoxo-hydrazid-Gruppe, F. WEYGAND & W. STEGLICH [Chem. Ber. 92, 313 (1959)], die Trityl-hydrazid-Gruppe verwendet. Inzwischen ist die BOC-Hydrazid-Methode auch von anderer Seite angewandt worden, vgl. Übersichtsreferat von E. BRICAS, Bull. Soc. chim. France 1967, 2001.

⁸⁾ Vgl. dazu R. SCHWYZER & H. KAPPELER, Helv. 44, 1991 (1961), wo die IR.-Absorption zur Prüfung der Reinheit des Azides herangezogen wird.

Aus Gründen der Selektivität wurden zum Schutze der α -Aminogruppen die Carbobenzoxy- und die bei höheren Peptiden besonders günstige, farbige *p*-Phenylazobenzoyloxycarbonyl-(PZ-)⁹⁾-Gruppe gewählt. Beide Gruppen, besonders leicht die farbige^{10) 11)}, können in neutralem Medium unter Erhaltung der *t*-Butoxycarbonylgruppe hydrogenolytisch entfernt werden.

2) *Synthese der enantiomeren Tripeptidderivate XI und XII.* Als Ausgangsmaterialien dienten Carbobenzoxy-glycyl-glycin (V)¹²⁾ und *t*-Butoxycarbonyl-hydrazin (VI)¹³⁾. Ihre Kondensation erfolgte mittels Dicyclohexyl-carbodiimid¹⁴⁾, wobei sich überraschenderweise *Methanol* als Lösungsmittel besonders gut bewährte. Hydrogenolyse des Produktes VII ergab das freie N¹-(Glycyl-glycyl)-N²-(*t*-butoxycarbonyl)-hydrazin (VIII). Dieses wurde nun einerseits mit *p*-Phenylazo-benzoyloxycarbonyl-L-phenylalanin-cyanmethylester (IX), andererseits mit dem D-Enantiomeren dieser Verbindung (X)¹⁵⁾ umgesetzt, wobei die vorzüglich kristallisierten Tripeptidderivate N¹-(*p*-Phenylazo-benzoyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-glycyl-glycyl)-N²-(*t*-butoxycarbonyl)-hydrazin (XI) und sein D-Isomeres (XII) entstanden (Schema 2).

Schema 2



3) *Synthese der stereoisomeren Cyclohexapeptide II, III und IV.* Aus diesen 2 Tripeptidderivaten (XI bzw. XII) wurden durch saure Spaltung der BOC-Gruppen die beiden enantiomeren PZ-Tripeptid-hydrazide, *p*-Phenylazo-benzoyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-glycyl-glycyl-hydrazid (XI a) und *p*-Phenylazo-benzoyloxycarbonyl-D-phenylalanyl-glycyl-glycyl-hydrazid (XII a), sowie durch neutrale Hydrierung N¹-(L-Phenylalanyl-glycyl-glycyl)-N²-(*t*-butoxycarbonyl)-hydrazin (XI b) bzw. sein D-

⁹⁾ R. SCHWYZER, P. SIEBER & K. ZATSKÓ, *Helv.* **41**, 491 (1958).

¹⁰⁾ a) R. SCHWYZER, *Angew. Chem.* **71**, 742 (1959); b) R. SCHWYZER, E. SURBECK-WEGMANN & H. DIETRICH, *Chimia* **14**, 366 (1960).

¹¹⁾ Arbeiten mit H. DIETRICH, noch unveröffentlicht.

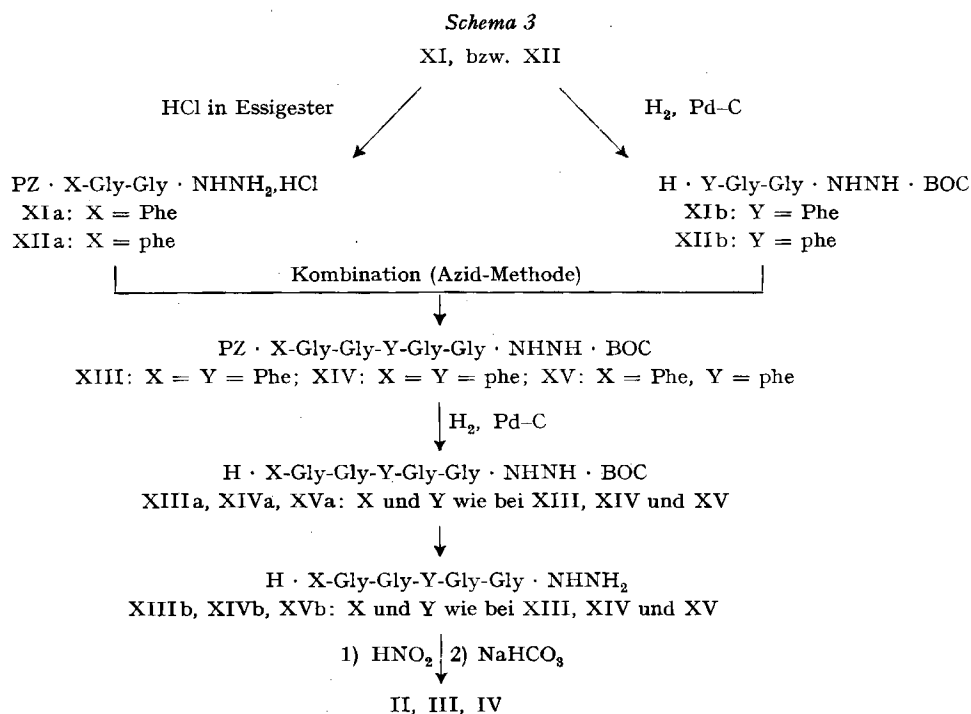
¹²⁾ M. BERGMANN & L. ZERVAS, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **65**, 1192 (1932).

¹³⁾ L. A. CARPINO, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 4427 (1957); L. A. CARPINO, CH. A. GIZA & BARBARA A. CARPINO, *ibid.* **81**, 955 (1959); L. A. CARPINO, *ibid.* **82**, 2725 (1960); W. KLEE & M. BRENNER, *Helv.* **44**, 2151 (1961).

¹⁴⁾ J. C. SHEEHAN & G. V. HESS, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 1067 (1955); H. G. KHORANA, *Chemistry & Ind.* **1955**, 1087.

¹⁵⁾ Aus PZ·phe·OH, welches analog PZ·Phe·OH⁹⁾ hergestellt worden war, nach der allgemeinen Vorschrift zur Herstellung von Cyanmethylestern: R. SCHWYZER, M. FEURER, B. ISELIN & H. KÄGI, *Helv.* **38**, 81 (1955).

Isomeres (XIIb) hergestellt (Schema 3). Geeignete Kombination dieser Bruchstücke mittels der Azid-Methode lieferte die drei isomeren Hexapeptidderivate, N¹-(*p*-Phenylazo-benzyloxycarbonyl-phenylalanyl-glycyl-glycyl-phenylalanyl-glycyl-glycyl)-N²-(*t*-butoxycarbonyl)-hydrazin (XIII: L-L; XIV: D-D; XV: L-D) in kristallisierter Form. Ausbeuteunterschiede wurden dabei keine beobachtet. Hydrierung lieferte die BOC-Hydrazide (XIIIa, XIVa und XVa) der drei freien Hexapeptide; Spaltung mit Säure deren ungeschützte Hydrazide (XIIIb, XIVb, XVb).



Die Überführung in die Säureazide gelang in üblicher Weise, die Cyclisierung wurde in viel Wasser unter Zugabe von Natriumhydrogencarbonat ausgeführt. Im Verlaufe von 48 Std. kristallisierten die Cyclohexapeptide (II, L-L; III, D-D; IV, L-D) aus und wurden darauf durch Kristallisation gereinigt. Die *meso*-Verbindung entstand dabei in etwas grösserer Ausbeute (23%) als die optisch aktiven Isomeren (13%; 17%; 10%; 11% in verschiedenen Ansätzen). Beim Aufarbeiten der Mutterlaugen konnten keine reine Cyclopeptide mehr isoliert werden, so dass auch diese Ausbeuten auf eine bevorzugte Entstehung der L-D-Form hinweisen. Dies dürfte eine Folge der speziellen innermolekularen sterischen Verhältnisse sein, die wahrscheinlich auch bei der Cyclisierung der Tripeptide⁵⁾ zur *meso*-Verbindung wirksam sind.

C. Das Konformationsproblem (tertiäre Strukturen). – 1) *Untersuchungen am Molekelmodell.* Währenddem die L-L- und D-D-Cyclohexapeptide (II und III) aus siedendem Wasser umkristallisiert werden können, braucht es einen Zusatz von Methanol, um das *meso*-Isomere in Lösung zu bringen. Die Löslichkeitsunterschiede

dürften auf die spezielle Lage der Phenylkerne in Bezug auf die hydrophilen Gruppen zurückzuführen sein. Währenddem das Modell (Fig. 2) mit *cis*-Peptidbindungen die beiden optisch aktiven Peptide ohne weiteres zu konstruieren erlaubt, passt die *meso*-Verbindung nicht in dieses Schema und müsste eine grundlegend andere

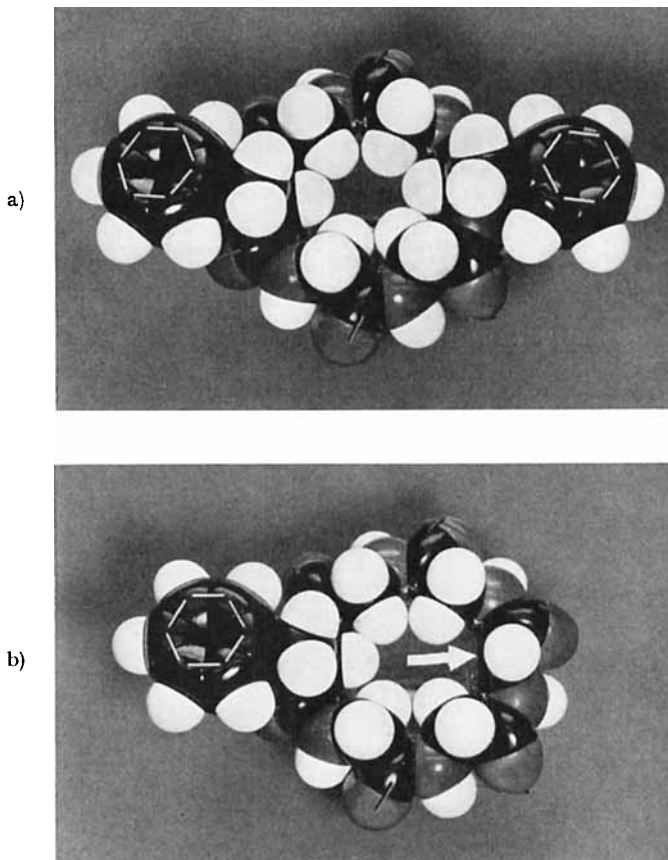


Fig. 2. Kalottenmodelle (nach STUART-BRIEGLEB) mit *cis*-Peptidbindungen¹⁶⁾

a): II (L-L-Isomeres). – b): IV (L-D-Isomeres) ohne die Benzylseitenkette des D-Phenylalaninrestes, die bei \rightarrow einzufügen wäre, was sterisch unmöglich erscheint.

Konfiguration besitzen. Ein Modell für Cyclohexapeptide, welches in Analogie zu der von HODGKIN und Mitarbeitern¹⁷⁾ für Gramacidin S vorgeschlagenen Konformation gebaut wurde¹⁸⁾, lässt sowohl *meso*- als auch optisch aktive Isomere auf dem

¹⁶⁾ Vgl. D. T. WARNER, *Nature* **190**, 120 (1961).

¹⁷⁾ G. M. J. SCHMIDT, D. C. HODGKIN & B. M. OUGHTON, *Biochem. J.* **65**, 752 (1957).

¹⁸⁾ R. SCHWYZER, *Chimia* **12**, 53 (1958); CIBA-Foundation Symposium on Amino Acids and Peptides with Antimetabolic Activity 1958, 171; *Rec. Chem. Progress* **20**, No. 3, 147 (1959) (Kresge-Hooker Science Library Associates); R. SCHWYZER & P. SIEBER, *Helv.* **41**, 2186 (1958).

gleichen Grundskelett als möglich erscheinen und würde auch eine Erklärung für die grössere Wasserlöslichkeit der optisch aktiven Isomeren bieten (vgl. Fig. 3). Die Entscheidung über die wirkliche Konformation im Kristall und in Lösung kann wohl erst mit andern, spezifischeren Methoden beantwortet werden.

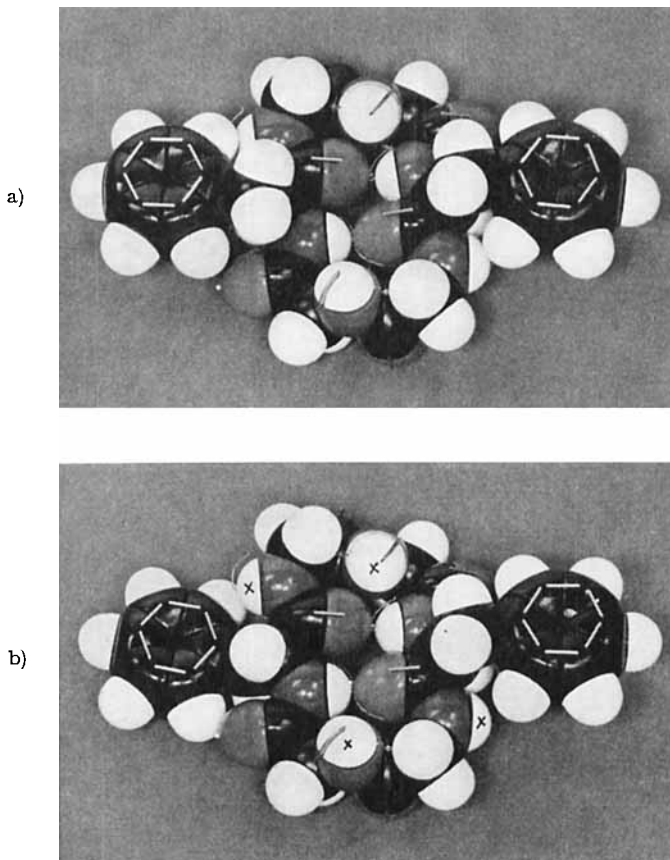


Fig. 3. Kalottenmodell (STUART-BRIEGLER) von II (a) und von IV (b) mit *trans*-Peptidbindungen¹⁸⁾ und 2 intramolekularen Wasserstoffbrücken

Die nicht an diesen Wasserstoffbrücken beteiligten 4 $>$ N-H-Protonen sind mit Kreuzchen bezeichnet (b). Die Seitenketten der Phenylalanyl-Reste sind in den Abbildungen nach aussen gerichtet; sie können auch gegeneinander gerichtet werden, wobei sie im Falle von II (a) über den Ring, im Falle von IV (b) über (L) und unter (D) den Ring zu liegen kommen.

2) *Ansätze zur Ermittlung der tertiären Struktur in festem Zustande und in Lösung.* Um eine röntgenanalytische Aufklärung der tertiären Struktur zu erleichtern, haben wir Versuche unternommen, die drei stereoisomeren Peptide II, III und IV mit *p*-Bromphenylalanin¹⁹⁾ anstelle von Phenylalanin herzustellen²⁰⁾.

¹⁸⁾ R. SCHWYZER & E. SURBECK-WEGMANN, *Helv.* 43, 1073 (1960).

²⁰⁾ Unveröff. Arbeiten zusammen mit A. TUN-KYI, die krankheitshalber vorläufig unterbrochen werden mussten, aber bald wieder aufgenommen werden sollen.

HUISGEN und Mitarbeiter²¹⁾ hatten durch Vergleich von Mol-Polarisation und IR.-Absorption zeigen können, dass bei cyclischen Lactamen der allgemeinen Formel $\text{NH}(\text{CH}_2)_n\text{CO}$ in gelöstem und in festem Zustande die *cis*-Konfiguration der Amid-gruppe durch das Fehlen der Amid-II-Absorption, die *trans*-Konfiguration dagegen durch ihr Auftreten indiziert ist. Eigenen Versuchen²²⁾ ²³⁾ können wir entnehmen, dass diese Regel wahrscheinlich auch bei cyclischen Peptiden gültig ist: Diketopiperazin, welches im Kristall in der *cis*-Peptid-Konfiguration vorliegt²⁴⁾, zeigte im IR.-Spektrum nur eine Andeutung einer Amid-II-Bande²²⁾, alle höheren cyclischen Peptide besitzen eine sehr starke Amid-II-Absorption (ca. 77% derjenigen der Amid-I-Bande). Innerhalb der Grenzen der Beweiskraft der Methode sprechen insbesondere die Spektren des Gramacidins S²³⁾ sowie diejenigen unserer hier beschriebenen *meso*-(IV)⁵⁾ und D-D-Verbindungen (III, Fig. 4) für das Vorhandensein von *trans*-Peptidbindungen im festen Zustande und gegen Konformationen mit *cis*-Bindungen, wie sie von WARNER¹⁶⁾ u. a. auch für Gramacidin S angegeben worden sind.

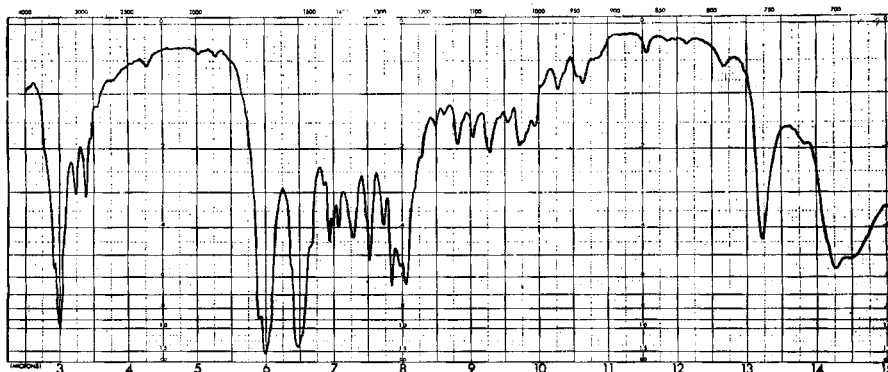


Fig. 4. IR.-Spektrum (Nr. 33275) von *cyclo*-(*phe*-Gly-Gly-*phe*-Gly-Gly) (III, D-D, aus Eisessig kristallisiert) in KBr

Amid I bei 1670 cm^{-1} , Amid II bei 1543 cm^{-1}

In speziellen Fällen dürfte sich auch die Protonenresonanz-Spektroskopie eignen, um Einblicke in die Konformation von Peptiden zu erhalten²⁰⁾.

Experimenteller Teil

Übliche Aufarbeitung bedeutet ausschütteln mit eiskalter, verdünnter Zitronensäurelösung, Wasser, verdünnter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und mehrmals mit Wasser, trocknen der organischen Phase und verdampfen in einem Rotationsverdampfer i. V. bei ca. 40° Badtemperatur. Zur Analyse wurden alle Verbindungen während 4 Std. bei 90–95° und 10⁻³ Torr über P₂O₅ getrocknet.

Z-Gly-Gly-NHNHBOC, $\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (VII): 1,170 g Z-Gly-Gly-OH¹³⁾ (V) und 0,528 g *t*-Butoxycarbonyl-hydrazin (VI)¹³⁾ wurden in 30 ml trockenem Methanol aufgeschlämmt und die Mischung bei 0° langsam mit einer Lösung von 0,906 g Dicyclohexyl-carbodiimid unter Rühren versetzt.

²¹⁾ R. HUISGEN, H. BRADE, H. WALZ & I. GLOGGER, Chem. Ber. 90, 1437 (1957).

²²⁾ R. SCHWYZER, B. ISELIN, W. RITTEL & P. SIEBER, Helv. 39, 872 (1956).

²³⁾ N. B. ABBOTT & E. J. AMBROSE, Proc. Roy. Soc. (London) A 219, 17 (1953); R. SCHWYZER & P. SIEBER, Helv. 40, 624 (1957).

²⁴⁾ R. B. COREY, J. Amer. chem. Soc. 60, 1598 (1938); cf. L. PAULING & R. B. COREY, Proc. nat. Acad. Sci. USA. 38, 86 (1952).

Nach 1 Std. bei 0° und 15 Std. bei Zimmertemperatur wurde das Gemisch wieder auf 0° gekühlt und mit 0,5 ml Eisessig versetzt. Nach 1 Std. wurde der Dicyclohexylharnstoff abfiltriert, das Filtrat zur Trockene verdampft. Der Rückstand wurde in sehr wenig Tetrahydrofuran gelöst und nach einiger Zeit bei 0° wieder vom ausgeschiedenen Harnstoff abgetrennt. Die Tetrahydrofuran-Lösung wurde darauf mit Essigester versetzt und in üblicher Weise aufgearbeitet. Das Produkt wurde aus MeOH/H₂O kristallisiert: 1,31 g (86%), Smp. 99–101°. Zur Analyse wurde eine Probe mit Chloroform als Lösungsmittel durch eine Säule von Silicagel (DAVISON, Nr. 922) filtriert und wieder aus MeOH/H₂O kristallisiert: Smp. 100–101°.

C₁₇H₂₄O₆N₄·½H₂O Ber. C 52,47 H 6,48 N 14,39% Gef. C 52,54 H 6,75 N 14,31%

H·Gly·Gly·NHNHBOC (VIII): 3,95 g *Z·Gly·Gly·NHNHBOC* (Smp. 99–101°) wurden in 160 ml trockenem Methanol mit 0,80 g 10-proz. Palladium-Kohle-Katalysator und Wasserstoff hydriert. Nach 4 Std. wurde vom Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel i. V. verdampft. Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst und von einer geringen Trübung abfiltriert. Das Filtrat wurde bei 60° i. V. verdampft und der Rückstand (VIII) ohne weitere Reinigung für die folgenden Umsetzungen verwendet.

PZ·phe·OCH₂CN (X): 4,03 g *PZ·phe·OH*²⁵⁾, 2,10 ml Triäthylamin und 4,02 ml Chloracetonitril wurden miteinander vermischt und 15 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Aufarbeitung erfolgte nach der früher gegebenen, allgemeinen Vorschrift²⁶⁾. Das Produkt wurde aus Essigester-Petroläther kristallisiert: 3,29 g (81%), Smp. 117–118°.

C₂₅H₂₂O₄N₄ Ber. C 67,86 H 5,01 N 12,67% Gef. C 67,95 H 5,38 N 12,84%

PZ·phe·Gly·Gly·NHNHBOC (XII): 0,884 g *PZ·phe·OCH₂CN (X)* und 0,540 g *H·Gly·Gly·NHNHBOC* wurden in 7 ml Acetonitril gelöst und 48 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Dann wurden eine kleine Menge Wasser und einige Tropfen Triäthylamin zugegeben und das Gemisch eine weitere Stunde aufbewahrt, um überschüssigen aktivierten Ester zu zerstören. Dann wurde viel Essigester zugegeben und in üblicher Weise aufgearbeitet. Kristallisation erfolgte aus Tetrahydrofuran-Petroläther: 1,042 g (82%), Smp. 183–184°.

C₃₂H₃₇O₇N₇ Ber. C 60,84 H 5,90 N 15,52% Gef. C 60,55 H 5,97 N 15,41%

H·phe·Gly·Gly·NHNHBOC (XIIb): 948 mg *PZ·phe·Gly·Gly·NHNHBOC (XII)* wurden in 15 ml absolutem Methanol gelöst und bei Zimmertemperatur und Atmosphärendruck 4 Std. in Gegenwart von 180 mg 10-proz. Pd-Kohle hydriert. Die farblose Lösung wurde unter Wasserstoff durch eine kleine Glasfilternutsche in ein mit Wasserstoff gespültes Gefäß hinübergedrückt, wo sie dann i. V. zur Trockene verdampft wurde. Der Rückstand wurde mit Äther-Petroläther (2:1) gut verrieben (um aromatische Amine zu entfernen) und dann abgenutscht und aus Essigester-Petroläther umkristallisiert: 0,560 g (96%), Smp. 181–182°.

C₁₈H₂₇O₅N₅ Ber. C 54,91 H 6,91 N 17,79% Gef. C 54,81 H 7,22 N 17,62%

PZ·phe·Gly·Gly·NHNH₂·HCl (XIIa): 948 mg *PZ·phe·Gly·Gly·NHNHBOC (XII)* wurden in 15 ml einer 2,5N-Lösung von HCl in Essigester²⁷⁾ gelöst und 2 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt, wobei ein Niederschlag ausgeschieden wurde. Nach Zugabe von 15 ml Äther wurden die Kristalle abgenutscht und aus Methanol-Äther umkristallisiert: 0,822 g (96%), Smp. 194–195°.

C₂₇H₃₀O₆N₇Cl Ber. C 57,07 H 5,32 N 17,28 Cl 6,24%

Gef. „ 57,06 „ 5,58 „ 17,30 „ 6,33%

PZ·phe·Gly·Gly·phe·Gly·Gly·NHNHBOC (XIV): 1,136 g *PZ·phe·Gly·Gly·NHNH₂·HCl (XIIa)* wurden in einer Mischung von 30 ml 2N wässriger HCl, 60 ml Essigester und 30 ml Eisessig gelöst²⁸⁾ und auf –10° gekühlt. Nun wurde die Lösung unter Rühren tropfenweise mit einer

²⁵⁾ Analog der Vorschrift für *PZ·Phe·OH*⁹⁾ dargestellt, Smp. 164–167°.

²⁶⁾ R. SCHWYZER, M. FEURER, B. ISELIN & H. KÄGI, *Helv.* 38, 81 (1955).

²⁷⁾ G. W. ANDERSON & A. C. MCGREGOR, *J. Amer. chem. Soc.* 79, 6183 (1957), benützten zur Abspaltung der BOC-Gruppe eine gesättigte Lösung von HBr in Diäthylphosphit, bzw. HBr in Eisessig; wir verwenden meistens Trifluoressigsäure (vgl. z. B. R. SCHWYZER, W. RITTEL, H. KAPPELER & B. ISELIN, *Angew. Chem.* 72, 915 (1960)).

²⁸⁾ Dieses homogene Gemisch löst auch relativ schwerlösliche Säurehydrazide gut (vgl. Dissertation E. SURBECK-WEGMANN, Universität Zürich, 1961; SCHWYZER, SURBECK-WEGMANN & DIETRICH^{10b)}, wo Trifluoressigsäure als Lösungsmittel dient); beim Entmischen mit Wasser (nach der Reaktion) bleibt das leichter lösliche Säureazid in der Essigesterphase.

Lösung von 0,140 g NaNO_2 in 2 ml H_2O versetzt. Nach etwa 10 Min. wurden je 40 ml kalter Essigester und kalte 2N HCl zugefügt, wobei eine Phasentrennung eintrat. Die organische Phase wurde abgetrennt und je zweimal mit kalten, gesättigten Lösungen von NaHCO_3 und NaCl gewaschen. Danach wurde sie bei -5° 1 Std. über MgSO_4 getrocknet, filtriert und mit einer Lösung von 0,786 g $\text{H}\cdot\text{phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{NHNHBOC}$ (XIIb) in 15 ml Essigester versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 3 Tage bei -5° aufbewahrt und darauf in der üblichen Weise aufgearbeitet. Der Rückstand wurde aus Tetrahydrofuran-Petroläther kristallisiert; 1,53 g (86%), Smp. 180–181°.

$\text{C}_{45}\text{H}_{52}\text{O}_{10}\text{N}_{10}$ Ber. C 60,53 H 5,87 N 15,69% Gef. C 60,46 H 6,43 N 15,45%

PZ·*Phe*·*Gly*·*Gly*·*Phe*·*Gly*·*Gly*·*NHNHBOC* (XIII): Wurde auf gleiche Weise wie das *D*-*D*-Enantiomere hergestellt, Smp. 180–181°.

PZ·*Phe*·*Gly*·*Gly*·*phe*·*Gly*·*Gly*·*NHNHBOC* (XV): Wurde aus 2,272 g *PZ*·*Phe*·*Gly*·*Gly*·*NHNH}_2, HCl (XIa), 0,280 g NaNO_2 und 1,576 g $\text{H}\cdot\text{phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{NHNHBOC}$ (XIIb) in einem Gemisch von 50 ml 2N HCl, 50 ml Eisessig und 100 ml Essigester, wie für das *D*-*D*-Diastereomere beschrieben, hergestellt. Die Verbindung erwies sich aber als schwerer löslich, weshalb sie aus Methanol-Wasser umkristallisiert werden musste; 3,0 g (85%), Smp. 194–195°.*

$\text{C}_{45}\text{H}_{52}\text{O}_{10}\text{N}_{10}$ Ber. C 60,53 H 5,87 N 15,69% Gef. C 60,32 H 5,99 N 15,85%

H·*Phe*·*Gly*·*Gly*·*phe*·*Gly*·*Gly*·*NHNHBOC* (XVa)²⁹⁾: 3,19 g *PZ*·*Phe*·*Gly*·*Gly*·*phe*·*Gly*·*Gly*·*NHNHBOC* (XV) wurden in 250 ml trockenem MeOH gelöst und mit 600 mg 10-proz. Pd-Kohle und Wasserstoff hydriert. Nach 4 Std. war die Lösung farblos. Sie wurde in H_2 -Atmosphäre filtriert und eingedampft. Der Rückstand ergab beim Verreiben mit einer Mischung von Äther-Petroläther (2:1) 2,27 g pulvriges, farbloses Rohprodukt, welches als solches weiterverarbeitet wurde. Eine Probe wurde aus Methanol-Äther umgefällt: Smp. 142–145°.

$\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{O}_8\text{N}_8$ Ber. C 56,82 H 6,47 N 17,10% Gef. C 56,56 H 7,01 N 17,01%

H·*Phe*·*Gly*·*Gly*·*phe*·*Gly*·*Gly*·*NHNH}_2, 2 HCl (XVb): 2,27 g $\text{H}\cdot\text{Phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{NHNHBOC}$ (XVa) wurden in 60 ml 2N methanolischer HCl gelöst und 2 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Das Lösungsmittel wurde darauf i. V. verdampft, mit Äther trituriert, filtriert, und der Rückstand im Hochvakuum bei 90° (4 Std.) getrocknet; 2,02 g Harz.*

$\text{[Phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}]$ (IV): 2,02 g $\text{H}\cdot\text{Phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{NHNH}_2$, 2HCl (XVb) wurden in 17,5 ml 0,2N Salzsäure gelöst und bei 0° mit der Lösung von 240 mg NaNO_2 in 2 ml H_2O versetzt. Nach 15 Min. wurde die Lösung in 2,5 l eiskaltes Wasser gegossen. Nach Zugabe von 12 g Natriumhydrogencarbonat wurde die Reaktionsmischung während 48 Std. bei 0° gerührt. Mit 2N HCl wurde sie darauf auf pH = 5 neutralisiert; nach 1 Std. bei 0° wurde der Niederschlag abfiltriert, mit Wasser und Aceton gewaschen und aus Eisessig kristallisiert; 412 mg (23%), Smp. $> 300^\circ$ (Zers.). Zur Analyse wurde einmal aus MeOH/ H_2O (2:1) und zweimal aus Eisessig umkristallisiert.

$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{N}_6$ Ber. C 59,76 H 5,79 N 16,08% Gef. C 59,70 H 6,14 N 15,75%

$\text{[Phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}]$ (II): 2,12 g $\text{H}\cdot\text{Phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{NHNH}_2$, 2HCl (XIIIb) wurden auf gleiche Weise cyclisiert; 0,240 g (13%), Krist. aus H_2O und Eisessig, Smp. $> 300^\circ$ (Zers.), $[\alpha]_D = -79,8^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1$, Dimethylformamid).

$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{N}_6$ Ber. C 59,76 H 5,79 N 16,08% Gef. C 59,74 H 6,15 N 15,84%

$\text{[phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}]$ (III): 0,970 g $\text{H}\cdot\text{phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{phe}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Gly}\cdot\text{NHNH}_2$, 2HCl (XIVb) ergab unter denselben Cyclisierungsbedingungen 0,150 g (17,5%) Cyclohexapeptid, Smp. $> 300^\circ$ (Zers.). Die Verbindung kristallisierte aus Eisessig wasserfrei, aus Wasser mit (ca. $\frac{1}{4}$ Mol) Wasser; $[\alpha]_D = +71,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,5$, Dimethylformamid).

$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{N}_6 \cdot \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$ Ber. C 59,25 H 5,83 N 15,94% Gef. C 59,10 H 6,15 N 15,75%

Weitere Versuche wurden mit 1,55 g und 230 mg des *D*-*D*-Hexapeptid-hydrazids unter genau gleichen Bedingungen ausgeführt; sie ergaben je 0,138 g (10%) und 0,022 g (11%) Cyclohexapeptid.

²⁹⁾ Die beiden Diastereomeren dieser Verbindung (*L*-*L* und *D*-*D*-Hexapeptide) wurden in dieser- und der nächsten Stufe genau gleich behandelt.

Die Mikroanalysen wurden in verdankenswerter Weise im analytischen Laboratorium des Zürcher Institutes unter der Leitung von Herrn H. FROHOFFER ausgeführt; die DEBYE-SCHERRER-Diagramme wurden von Herrn Dr. R. MÜLLER und die IR.-Spektren von Herrn Dr. E. GANZ in den Physik-Laboratorien der CIBA AG. aufgenommen, wofür wir auch an dieser Stelle bestens danken möchten.

SUMMARY

Cyclisation of active esters³⁾ of the racemic tripeptides glycyl-glycyl-DL-phenylalanine and glycyl-DL-phenylalanyl-glycine as well as of the hexapeptide glycyl-glycyl-DL-phenylalanyl-glycyl-glycyl-DL-phenylalanine (unidentified mixture of diastereoisomers) has yielded as main product the *meso*-cyclohexapeptide, cyclo-glycyl-L-phenylalanyl-glycyl-glycyl-D-phenylalanyl-glycyl (IV)⁵⁾. This is proven by comparison of the X-ray powder diagram of the said product with those of the corresponding *meso*, L-L, D-D, and racemic cyclohexapeptides (Fig. 1). The synthesis of these isomers by the azide procedure⁶⁾ is described. The hydrazide function was introduced in a protected form⁷⁾ early in the synthesis (as -NHNH·CO·OC(CH₃)₃) and the blocking group (*t*-butoxy-carbonyl) removed in one of the last steps (schemes 2 and 3).

The reported reactions constitute the first observation of stereospecific cyclisation in the peptide field. Obviously, in our case, a D-tripeptide reacts preferentially with an L-tripeptide, and *vice versa*.

Models for the conformation of cyclohexapeptides are discussed: that proposed by SCHWYZER (Fig. 3)¹⁸⁾ allows construction of the optically active as well as of the *meso*-cyclohexapeptides on the same basic ring structure, and is supported by IR. data.

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich,
und
Forschungslaboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel
Pharmazeutische Abteilung

102. Zur Struktur der Zuckerkomponente des Digitoxins

47. Mitteilung über Herzglykoside¹⁾

von H. Lichti, M. Kuhn und A. von Wartburg

(6. III. 62)

Im Zusammenhang mit der kürzlich beschriebenen Konstitutionsermittlung der Digilanidobiose¹⁾ und neuen Untersuchungen über die isomeren Acetyldigitoxine²⁾ interessierte uns die exakte Struktur der Zuckerkomponente des Digitoxins. Obschon das therapeutisch wichtige Digitoxin eines der ältesten Reinglykoside aus Digitalisarten darstellt³⁾, erschienen erst in den letzten Jahren experimentelle Arbeiten, die sich speziell mit dem Bau seines Zuckerteils befassten. Digitoxin zerfällt bekanntlich

¹⁾ 46. Mitt.: H. LICHTI & A. VON WARTBURG, *Helv.* **44**, 238 (1961).

²⁾ Vgl. folgende Mitteilung, *Helv.* **45**, 881 (1962).

³⁾ Ältere Literatur über Digitoxin siehe z. B. bei A. STOLL & J. RENZ, *Verh. naturforsch. Ges. Basel* **67**, 392 (1956).