

SUMMARY

Two novel concepts, *cycloenantiomerism* and *cyclodiastereomerism*, are introduced and exemplified by cyclic compounds containing equal numbers of enantiomeric chirality centers.

Organisch-chemisches Laboratorium
Eidg. Technische Hochschule
Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

[1] G. E. McCASLAND, R. HORVAT & M. R. ROTH, J. Amer. chem. Soc. *81*, 2399 (1959).

254. Cycloenantiomerie und Cyclodiastereomerie

2. Mitteilung [1]¹⁾

Über cycloenantiomere cyclo-Hexaalanyle und ein cycloenantiomeres cyclo-Diglycyl-tetraalanyl

von H. Gerlach, J. A. Owtschinnikow und V. Prelog

(15. X. 64)

In der vorhergehenden Mitteilung wurde die Cycloenantiomerie vom allgemeinen Standpunkt aus diskutiert. In der vorliegenden Abhandlung wollen wir über die Herstellung und Eigenschaften einiger cycloenantiomeren Verbindungen berichten.

Einfache und interessante Beispiele für Cycloenantiomere findet man bei Cyclopolypeptiden, bei welchen die Chiralitätszentren selbst Ringglieder sind (Ringtypus C nach [1]). Da die Cycloenantiomerie bei Cyclopolypeptiden, die aus gleichen Aminosäure-Resten aufgebaut sind, erst bei $2n = 6$ auftritt, haben wir uns als erste Aufgabe die Synthese von cycloenantiomeren cyclo-Hexaalanylen I und II, die den Anordnungen 6.2 und 6.3 in der 1. Mitteilung entsprechen, gestellt.

Wie die Formelübersicht A zeigt, lässt sich jedes von den beiden Cycloenantiomeren durch Cyclisierung geeigneter Derivate von einem der sechs diastereomeren linearen Pentaalanyl-alanine (III–VIII bzw. IX–XIV) herstellen. Wir haben zur Synthese von zwei enantiomeren cyclo-Hexaalanylen zwei diastereomere lineare Pentaalanyl-alanin-Derivate VIII und X verwendet, um zu zeigen, dass der absolute Wert des Drehungsvermögens von Cycloenantiomeren vom Syntheseweg unabhängig ist. Der von uns zur Synthese von VIII und X verwendete Weg ist in Formelübersicht B dargestellt.

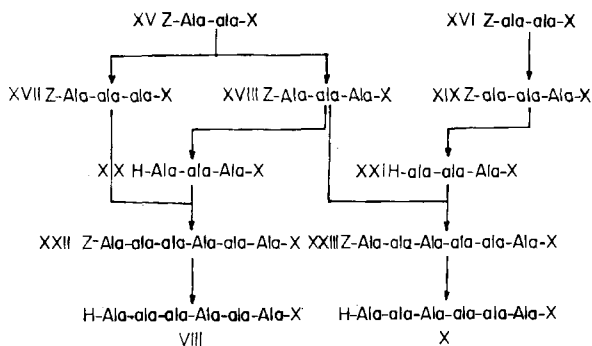
Zum Schutz der Amino-Gruppe wurde die Benzyloxycarbonyl-Gruppe (= Z) verwendet, zum Aufbau der Peptidketten wurde ausschliesslich die Azidmethode [3] angewandt, bei der bis jetzt keine Epimerisierung beobachtet wurde [4]. Als Ausgangsmaterial dienten die beiden diastereomeren Benzyloxycarbonyl-alanyl-alanylhydrazide XV und XVI ($X = \text{NHNH}_2$) [5], welche in die Azide übergeführt und mit den Alaninestern kondensiert wurden. Die so erhaltenen Benzyloxycarbonyl-

¹⁾ Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, Seite 2302.

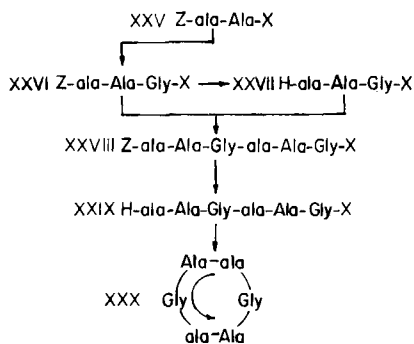
Formelübersicht A²⁾



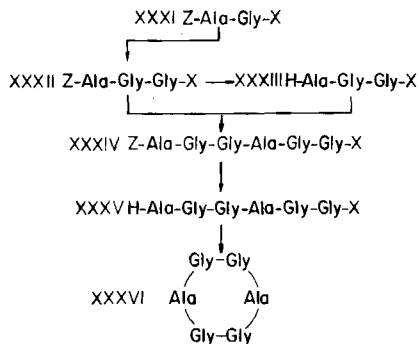
Formelübersicht B²⁾



Formelübersicht C²⁾



Formelübersicht D²⁾



²⁾ In den Formelübersichten A, B, C und D sowie im experimentellen Teil verwenden wir für das L-Alanin die Abkürzung Ala und für das D-Alanin die Abkürzung ala [2]; Z = C₆H₅CH₂OCO, X = OCH₃ bzw. OC₂H₅, NHNH₂ oder N₃.

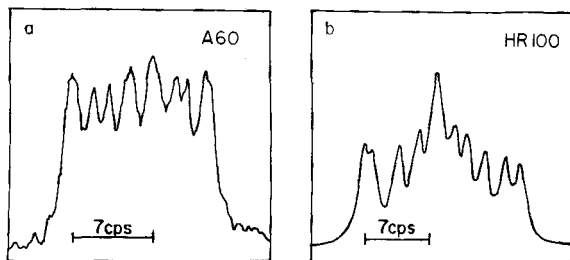
tripeptidester XVII, XVIII und XIX ($X = \text{OCH}_3$) wurden durch Umsetzung mit Hydrazinhydrat in die kristallinen Hydrazide XVII und XVIII ($X = \text{NHNH}_2$) übergeführt, andererseits wurden durch hydrogenolytische Entfernung der Schutzgruppe in XVIII und XIX die Tripeptidester XX und XXI ($X = \text{OCH}_3$) bereitet. Die Verknüpfung von XXVII mit XX und von XVIII mit XXI mittels der Azidmethode lieferte die beiden Benzyloxycarbonyl-hexapeptidester XXII und XXIII ($X = \text{OCH}_3$) mit der gewünschten Aminosäuresequenz. Die durch hydrogenolytische Entfernung der Schutzgruppe daraus hergestellten freien Hexapeptidester VIII und X ($X = \text{OCH}_3$) wurden durch Lösen in wasserfreiem Hydrazin in die Hydrazide übergeführt ($X = \text{NHNH}_2$). Der beträchtliche Basizitätsunterschied von mehr als 4,5 pK-Einheiten zwischen den freien Aminogruppen und der Säurehydrazidgruppe erlaubt es, die Hexapeptidhydrazide gelöst in der dreifachen molaren Menge 0,5N Salzsäure mit einem Mol Natriumnitrit selektiv zu den Hexapeptidazid-hydrochloriden ($X = \text{N}_3$) umzusetzen. Diese auf HOFMANN & MAGEE [6] zurückgehende Methode wurde schon in ähnlicher Weise von anderen Autoren [7] zur Synthese von Cyclohexapeptiden verwendet. Zur Cyclisierung wurde die mit kaltem Wasser verdünnte 10^{-3}M Lösung mit einem Überschuss von Kaliumhydrogencarbonat versetzt und 3 Tage bei 0° stehengelassen. Durch Eindampfen, Entsalzen mit Ionenaustauschern und Umkristallisation konnten so in guten Ausbeuten die analysenreinen Cycloenantiomeren I und II erhalten werden.

Die beiden cyclo-Hexaalanylle zeigen erwartungsgemäss entgegengesetzte, jedoch in ihrem absoluten Wert praktisch gleiche optische Drehungsvermögen und Rotationsdispersionskurven mit dem ersten Tal bzw. Gipfel bei ca. $230\text{ m}\mu$ ($[\Phi] = +9100^\circ$ bzw. -10500°). Von anderen Eigenschaften seien besonders die NMR.-Spektren erwähnt, die in einem Gemisch von schwerem Wasser und Methanol mit den VARIAN-Spektrometern A 60 und HR 100 aufgenommen wurden. Im 60-MHz-Spektrum (Fig. 1) erkennt man acht und im 100-MHz-Spektrum (Fig. 2) zehn Signale, deren Lage und Integrale zeigen, dass es sich um teilweise überlagerte sechs Dublette der sechs Methylgruppen mit Kupplungskonstanten $J = 7\text{ cps}$ handelt. Die verschiedenen chemischen Verschiebungen der einzelnen Dublette bestätigen, dass die Molekel des cyclo-Hexaalanyls asymmetrisch aufgebaut ist, so dass sich jede der Methylgruppen in einer verschiedenen Umgebung befindet.

Die cycloenantiomeren cyclo-Hexaalanylle I und II geben ein kristallines echtes Racemat, wie besonders aus dem Vergleich der in Nujol aufgenommenen IR.-Absorptionsspektren der Enantiomeren mit demjenigen des Racemates hervorgeht.

In 1. Mitteilung dieser Reihe [1] wurde nur die Cyclostereoisomerie von solchen Cyclopolypeptiden behandelt, die aus den gleichen Aminosäure-Resten aufgebaut sind. Dies ist eine willkürliche Einschränkung, die wir uns nur auferlegt haben, um die Diskussion nicht unnötig zu komplizieren. Die Zahl und die Mannigfaltigkeit der Stereoisomeren wird selbstverständlich grösser, wenn man die Cyclopolypeptide berücksichtigt, welche aus mehreren, konstitutionell verschiedenen Aminosäure-Resten aufgebaut sind, wobei die Cyclostereoisomerie wieder eine wichtige Rolle spielt. So lässt sich die Cycloenantiomere schon bei $2n = 4$ verwirklichen, wenn man bei der Anordnung der Chiralitätszentren 4.2 (vgl. Fig. 1 der 1. Mitt.) durch Einfügung von zwei Glycin-Resten die vierzählige Drehspiegelungsachse aufhebt.

Wir haben diesen Fall durch die Synthese des cyclo-Diglycyl-tetraalanlys XXX verwirklicht. Dieses konnte ausgehend vom Benzyloxycarbonyl-D-alanyl-L-alanylhydrazid XXV ($X = \text{NHNH}_2$) über die Zwischenprodukte XXVI bis XXIX nach dem gleichen Verfahren wie die cyclo-Hexaalanyle I und II erhalten werden (s. Formelübersicht C).



NMR.-Spektren der cyclo-Hexaalanyle

Fig. 1. 60-MHz-Spektrum

Fig. 2. 100-MHz-Spektrum

Für die Diskussion der Geometrie und der optischen Eigenschaften der Cyclo-enantiomeren, die später in einem grösseren Zusammenhang erfolgen soll, sind besonders folgende zwei Eigenschaften des Cyclohexapeptids XXX bemerkenswert. Die Rotationsdispersionskurve ($[\Phi]_{233} = +10300^\circ$) ist qualitativ und quantitativ sehr ähnlich derjenigen des analogen cyclo-Hexaalanyls II. Im NMR.-Spektrum sind dagegen nur zwei verschiedene Dublette vorhanden, die je 6 Protonen von je zwei Paaren verschiedener Methylgruppen zugeordnet werden können.

Die drei Cyclohexapeptide I, II und XXX wurden mit 6N Salzsäure bei 110° hydrolytisch gespalten, wodurch erwartungsgemäss ein optisch vollständig inaktives Aminosäure-Gemisch entstand.

Zum Vergleich wurde aus Benzyloxycarbonyl-D-alanyl-glycylhydrazid XXXI ($X = \text{NHNH}_2$) [4] über die Zwischenprodukte XXXII bis XXXV das cyclo-Tetraglycyl-di-L-alanyl XXXVI bereitet (s. Formelübersicht D). Das Tal des COTTON-Effektes dieses gewöhnlichen Enantiomeren ($[\Phi]_{233} = -2340^\circ$) ist nur etwa ein Viertel so tief, wie dasjenige des cyclo-Hexaalanyls I. Im NMR.-Spektrum ist nur ein, den 6 Protonen der beiden Methylgruppen entsprechendes Dublett vorhanden. Das optische Drehungsvermögen des durch Hydrolyse erhaltenen Aminosäure-Gemisches zeigte, dass das L-Alanin während der Synthese und der Hydrolyse überhaupt nicht racemisiert worden war.

Alle diese Versuche bestätigen, dass das beobachtete optische Drehungsvermögen der cycloenantiomeren Cyclohexapeptide nicht von Stereoisomeren stammen kann, die bei der Herstellung der linearen Zwischenprodukte und bei der Cyclisierung hätten entstehen können.

Die Massenspektren der Cyclohexapeptide I, II und XXX, welche wir Herrn Dr. J. SEIBL verdanken, bestätigen die auf Grund der Synthese erwarteten Molekulargewichte. Da die Ionen mit der Masse M-18 und analoge Ionen im Spektrum nicht vorkommen, lässt sich mit grosser Wahrscheinlichkeit ausschliessen, dass die erwähnten Cyclohexapeptide eine Cyclol-Struktur besitzen.

Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG danken wir für die Unterstützung. Einer von uns (J. A. O) dankt dem INSTITUT FÜR CHEMIE DER NATURSTOFFE DER USSR AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN für ein Stipendium, welches ihm die Beteiligung an dieser Arbeit ermöglichte.

Experimenteller Teil

«Übliche Aufarbeitung» bedeutet Ausschütteln mit Eiswasser, 2N Kaliumhydrogencarbonat-Lösung und Trocknen der organischen Phase mit Natriumsulfat bei 0°. Die freien Aminosäure-ester wurden kurz vor Gebrauch durch Schütteln einer Chloroformlösung ihrer Hydrochloride mit gesättigter Kaliumcarbonat-Lösung hergestellt. Zur Analyse wurden alle Verbindungen 48 Std. bei 100° im Hochvakuum getrocknet. Die optische Drehung wurde im 0,5-dm-Rohr mit dem lichtelektrischen ZEISS-Polarimeter bestimmt. Alle Smp. sind nicht korrigiert. Die IR.-Absorptionsspektren wurden mit einem PERKIN-ELMER Spektrometer Modell 21, die NMR.-Spektren mit dem VARIAN A-60 Spektrometer und die Massenspektren mit einem HITACHI-PERKIN-ELMER RMU 6A Spektrometer aufgenommen.

Z-Ala-ala-ala-OCH₃ (XVII, X = OCH₃). 10,5 g (34 mMol) *Z-Ala-ala-NHNH₂* (XV, X = NHNH₂) [5] löste man in 340 ml einer auf 0° gekühlten Mischung von 42 ml konz. Salzsäure, 200 ml Eisessig und 800 ml Wasser und gab 2,5 g (0,37 mMol) Natriumnitrit in wenig Wasser zu. Nach 10 Min. Rühren unter Eiskühlung wurde 3mal mit 300 ml Äther-Äthylacetat-(1:1) extrahiert und dann wie üblich aufgearbeitet. Die so bereitete Azidlösung gab man zu einer frisch bereiteten Lösung von 50 mMol *D*-Alanin-methylester in 100 ml Äther und rührte 48 Std. bei Raumtemperatur. Den Niederschlag kristallisierte man zweimal aus 500 ml Methylacetat-Cyclohexan-(1:1): feine Nadeln, 8,0 g, Smp. 157–158°, $[\alpha]_{578} = +18,2^\circ$ ($c = 1,65$, CHCl₃). NMR.-Spektrum (in CDCl₃): δ 1,36 (*d*, $J = 7, 9$ H), 3,70 (*s*, 3 H), 4,1–4,7 (*Sh*, 3 H), 5,10 (*s*, 2 H), 5,88 (*d*, $J = 8, 1$ H), 7,0–7,3 (*Sh*, 2 H), 7,33 (*s*, 5 H).

C₁₈H₂₅O₆N₃ Ber. C 56,98 H 6,64 N 11,08% Gef. C 56,64 H 6,72 N 11,33%

Z-Ala-ala-ala-OCH₃ (XVIII, X = OCH₃). Auf analoge Weise erhielt man aus 34 mMol *Z-Ala-ala-NHNH₂* (XV, X = NHNH₂) [5] und 50 mMol *L*-Alanin-methylester die diastereomere Verbindung. Feine Nadelchen, zweimal aus 500 ml Methylacetat-Cyclohexan-(1:1) umkristallisiert. Smp. 142,5–143°, $[\alpha]_{578} = -17,1$ ($c = 1,76$, CHCl₃). NMR.-Spektrum (in CDCl₃): δ 1,33 (*d*, $J = 7, 3$ H), 1,36 (*d*, $J = 7, 6$ H), 3,70 (*s*, 3 H), 4,1–4,7 (*Sh*, 3 H), 5,10 (*s*, 2 H), 5,88 (*d*, $J = 8, 1$ H), 7,0–7,3 (*Sh*, 2 H), 7,33 (*s*, 5 H).

C₁₈H₂₅O₆N₃ Ber. C 56,98 H 6,64 N 11,08% Gef. C 56,88 H 6,58 N 11,06%

Z-Ala-ala-ala-NHNH₂ (XVII, X = NHNH₂). Eine Lösung von 7,6 g (20 mMol) XVII (X = OCH₃) in 50 ml Methanol und 1,5 g Hydrazinhydrat kochte man 1 Std. unter Rückfluss und liess sie 20 Std. bei Raumtemperatur stehen. Der kristalline Niederschlag wurde 3mal aus der 20fachen Menge Äthylacetat-Äthanol-(2:1) umkristallisiert: farblose Kristalle, 2,8 g, Smp. 210–211°, $[\alpha]_{578} = +6,5^\circ$ ($c = 0,77$, Äthanol).

C₁₇H₂₅O₅N₃ Ber. C 53,81 H 6,46 N 18,64% Gef. C 53,63 H 6,79 N 18,63%

Die schlechte Ausbeute ist auf eine teilweise Epimerisierung während der Hydrazinolyse zurückzuführen. Die epimere Verbindung *Z-Ala-ala-Ala-NHNH₂* wurde früher aus *Z-Ala-ala-Ala-OC₂H₅* hergestellt [8] (vgl. auch S. 2209) und besitzt den Smp. 194°. Das isolierte Hydrazid ist demnach XVII (X = NHNH₂).

Z-Ala-ala-ala-Ala-ala-Ala-OCH₃ (XXII, X = OCH₃). Eine Lösung von 2,845 g (7,25 mMol) XVIII (X = OCH₃) in 150 ml Methanol wurde nach Zusatz von 1,5 g 10proz. Palladium-Kohle und 2 ml konz. Salzsäure unter Durchleiten von Wasserstoff hydriert. Zur Aufarbeitung filtrierte man ab, dampfte ein, nahm den Rückstand in Chloroform auf und führte das so erhaltene Hydrochlorid wie üblich in den freien Ester XX (X = OCH₃) über. Der Eindampfrückstand der Chloroformlösung (2,1 g) wurde ohne weitere Reinigung weiter verwendet. Zu einer eisgekühlten Lösung von 2,625 g (6,9 mMol) XVII (X = NHNH₂) in 75 ml einer Mischung von 42 ml konz. Salzsäure, 200 ml Eisessig und 800 ml Wasser gab man 600 mg (7,25 mMol) Natriumnitrit. Nach 10 Min.

Rühren bei 0° extrahierte man 3mal mit 150 ml Äthylacetat und arbeitete wie üblich auf. Die so gewonnene Azidlösung gab man zu 2,1 g XX ($X = \text{OCH}_3$) in 100 ml Äthylacetat und rührte 3 Tage bei Raumtemperatur. Das ausgefallene Produkt wurde aus Methanol-Dioxan umkristallisiert; Ausbeute 3,1 g, Smp. 269–271°, $[\alpha]_{578} = +13,4^\circ$ ($c = 0,97$, Eisessig). IR.-Absorptionsspektrum (in Nujol): ν_{\max} 1740 (*m*), 1695 (*m*), 1635 (*s*), 1545 (*s*) cm^{-1} . – NMR.-Spektrum (in CF_3COOH): δ 1,43 (*d*, $J = 7, 3$ H), 1,57 (*d*, $J = 15$ H), 3,94 (*s*, 3 H), 4,27 (*q*, $J = 7, 6$ H), 5,25 (*s*, 2 H), 7,38 (*s*, 5 H), 7,6–8,0 (*Sh*, 6 H).

$\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_9\text{N}_6$ Ber. C 54,72 H 6,81 N 14,18% Gef. C 54,48 H 7,05 N 14,20%

H-Ala-ala-ala-Ala-ala-Ala-NHNH₂ (VIII, $X = \text{NHNH}_2$). Eine Lösung von 2,65 g (4,5 mMol) XXII ($X = \text{OCH}_3$) in 250 ml Methanol wurde nach Zusatz von 1,5 g 10-proz. Palladium-Kohle und 1,5 ml konz. Salzsäure unter Durchleiten von Wasserstoff hydriert. Nach 2 Std. filtrierte man ab, dampfte ein und löst den Rückstand in 150 ml Methanol-Chloroform-(1:1). Durch Schütteln dieser Lösung mit ges. Kaliumcarbonat-Lösung, Abdekantieren der organischen Schicht und vorsichtiges Eindampfen bei niedriger Temperatur erhielt man einen kristallinen Rückstand, der in 25 ml wasserfreiem Hydrazin gelöst wurde. Nach 3 Std. Stehen bei Raumtemperatur entfernte man das überschüssige Hydrazin im Vakuum und kristallisierte den Rückstand 2mal aus 100 ml absolutem Äthanol; Ausbeute 1,6 g, Smp. 228–230°, absorbiert Kohlendioxid und Wasser, $[\alpha]_{578} = +25,8^\circ$ ($c = 1,3$, H_2O). – Elektrometrische Mikrotitration: pK_{MCS}^* 7,56 und Puffergebiet bei 3,1, Äqu.-Gew. Ber. 458,5, Gef. 480. – NMR.-Spektrum (in D_2O): δ 1,24 (*d*, $J = 7, 3$ H), 1,37 (*d*, $J = 7, 15$ H), 3,59 (*q*, $J = 7, 1$ H), 4,22 (*q*, $J = 7, 5$ H).

$\boxed{\text{Ala} \rightarrow \text{ala} \rightarrow \text{ala} \rightarrow \text{Ala} \rightarrow \text{ala} \rightarrow \text{Ala}}$ (I). Zu einer Lösung von 1380 mg (3 mMol) VIII ($X = \text{NHNH}_2$) in 18 ml 0,5 N Salzsäure gab man bei 0° 205 mg Natriumnitrit. Nach 15 Min. Rühren bei 0° verdünnte man mit Eiswasser auf 3 l und liess nach Zusatz von 8 g Kaliumhydrogencarbonat 3 Tage bei 0° stehen. Zur Aufarbeitung wurde mit 10 ml konz. Salzsäure versetzt und bei 40° im Vakuum auf ein Volumen von 50 ml eingeeengt. Das Konzentrat extrahierte man 5mal mit 100 ml des Gemisches *n*-Butanol-Äthylacetat-(1:1). Den Eindampfrückstand des Extraktes filtrierte man, in wenig Wasser gelöst, durch eine Säule von je 50 ml der Ionenaustauscher Nalcite HCR-8 in H^+ -Form und Nalcite SBR-7.5 in Hydrogencarbonat-Form. Die entionisierte Lösung wurde eingedampft und der Rückstand 2mal aus absolutem Äthanol umkristallisiert, Ausbeute 550 mg (43%), unter dem Mikroskop feine Nadelchen, Smp. > 330° (Zers.). $[\alpha]_{578} = -20,8^\circ$, $[\alpha]_{546} = -24,5^\circ$, $[\alpha]_{436} = -46,0^\circ$, $[\alpha]_{405} = -56,0^\circ$, $[\alpha]_{365} = -82,0^\circ$, ($c = 1,4$, 50% Äthanol); $[\alpha]_{578} = +16^\circ$, $[\alpha]_{546} = +18^\circ$, $[\alpha]_{436} = +35^\circ$ ($c = 0,5$, CF_3COOH). Optische Rotationsdispersion (in H_2O): $[\Phi]_{233} = -9100^\circ$.

$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{N}_6$ Ber. C 50,69 H 7,09 N 19,21% Gef. C 50,46 H 7,92 N 19,17%

Massenspektrometrische Molekulargewichtsbestimmung: Ber. 426,6; Gef. 426. IR.-Absorptionsspektrum (in Nujol): ν_{\max} 1640 (*s*), 1545 (*s*) cm^{-1} . NMR.-Spektrum (in D_2O): δ 1,25–1,50 (*Sh*, 18 H); 4,1–4,6 (*Sh*, 6 H); Papierchromatographie: $R_f = 0,80$ (*n*-Butanol-Eisessig-Wasser-(4:1:1), WHATMAN No 1).

Um zu prüfen, ob das Cyclohexapeptid aus einer gleichen Anzahl von L- und D-Alanin-Resten aufgebaut ist, erhitzte man 107 mg des Cyclopeptids, gelöst in 3 ml 6 N HCl, 48 Std. auf 110°. Das Hydrolysat, in dem durch Dünnschichtchromatographie nur Alanin nachzuweisen war, zeigte eine Drehung von $\alpha_{365} = 0^\circ \pm 0,002^\circ$. Für reines L-Alanin beträgt $[\alpha]_{365} = +58,3^\circ$ in 6 N Salzsäure.

Z-ala-ala-Ala-OCH₃ (XIX, $X = \text{OCH}_3$) wurde analog wie die diastereomeren Verbindungen XVII und XVIII ($X = \text{OCH}_3$) aus *Z*-ala-ala-NHNH₂ [5] (XVI, $X = \text{NHNH}_2$) und L-Alaninmethylester erhalten. Das Rohprodukt wurde aus Äthylacetat-Cyclohexan-(3:1) umkristallisiert: Smp. 172–173°, $[\alpha]_{578} = +44,5^\circ$ ($c = 1$, CHCl_3).

$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{N}_3$ Ber. C 56,98 H 6,64 N 11,08% Gef. C 56,94 H 6,66 N 10,96%

Z-Ala-ala-Ala-ala-ala-Ala-OCH₃ (XXIII, $X = \text{OCH}_3$). Die Darstellung aus XVIII ($X = \text{NHNH}_2$) [8] und XXI ($X = \text{OCH}_3$) erfolgte analog derjenigen der diastereoisomeren Verbindung XXII ($X = \text{OCH}_3$). Das Rohprodukt wurde aus Äthylacetat-Methanol-(2:1) und Dioxan-Methanol-(1:1) umkristallisiert: Smp. 225–226°, $[\alpha]_{578} = -1,6^\circ$ ($c = 1,2$, Dimethylformamid).

$\boxed{\text{Ala} \rightarrow \text{ala} \rightarrow \text{Ala} \rightarrow \text{ala} \rightarrow \text{ala} \rightarrow \text{Ala}}$ (II). Das Hydrazid X ($X = \text{NHNH}_2$) wurde wie bei der diastereoisomeren Verbindung beschrieben hergestellt, ins Azid übergeführt und dieses in verdünnter Lösung cyclisiert. Das durch Entionisierung erhaltene Rohprodukt wurde mehrmals aus absol. Alkoh. umkristallisiert: Smp. 330° , $[\alpha]_{578} = +22,9^\circ$ ($c = 1,4$, 50-proz. Äthanol). Optische Rotationsdispersion (in Methanol): $[\Phi]_{231} = +10500^\circ$.

$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{N}_6$ Ber. C 50,69 H 7,09 N 19,71% Gef. C 49,99 H 7,32 N 18,71%

Massenspektrometrische Molekulargewichtsbestimmung: Ber. 426,6; Gef. 426. Das IR.-Absorptionsspektrum (in Nujol) und das NMR.-Spektrum (in CF_3COOH) waren identisch mit denjenigen der enantiomeren Verbindung. Auch im papierchromatographischen Verhalten ergab sich kein Unterschied.

Racemat aus den Cycloenantiomeren I und II. Je 30 mg der beiden cyclo-Hexaalanyl I und II wurden zusammen in 6 ml Äthanol heiss gelöst. Beim Erkalten kristallisierte das Racemat in gut ausgebildeten Prismen, während die Enantiomeren feine Nadelchen bilden. Das IR.-Absorptionsspektrum des Racemats in Nujol unterscheidet sich besonders stark im Fingerprint-Gebiet von denjenigen der beiden Enantiomeren. Eine Lösung in 50-proz. Äthanol zeigte keine optische Aktivität.

Z-ala-Ala-Gly-OC₂H₅ (XXVI, $X = \text{OC}_2\text{H}_5$). In einem auf -5° gekühlten Gemisch von 400 ml Wasser, 100 ml Eisessig und 20 ml konz. Salzsäure wurden 14,5 g (47 mMol) XXV ($X = \text{NHNH}_2$) [5] gelöst und 3,65 g (52 mÄquiv.) Natriumnitrit in wenig Wasser zugegeben. Nach 10 Min. Rühren versetzte man mit 500 ml Äther-Äthylacetat-(1:1) und arbeitete wie üblich auf. Dann gab man die organische Phase zu einer Lösung von 75 mMol Glycin-äthylester in 100 ml Äther und rührte 20 Std. bei Raumtemperatur. Der Niederschlag (15,3 g) wurde aus 400 ml Äthylacetat umkristallisiert: weisse Nadeln, 14,5 g, Smp. $168\text{--}169^\circ$, $[\alpha]_{578} = -19,0^\circ$ ($c = 1,17$, CHCl_3).

$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{O}_6\text{N}_3$ Ber. C 57,00 H 6,63 N 11,06% Gef. C 56,89 H 6,63 N 11,11%

Z-ala-Ala-Gly-NHNH₂ (XXVI, $X = \text{NHNH}_2$). 7,3 g (19,2 mMol) XXVI ($X = \text{OC}_2\text{H}_5$) kochte man in 40 ml abs. Äthanol mit 1,5 g Hydrazinhydrat 1 Std. unter Rückfluss. Nach 15 Std. Stehen dampfte man ein und kristallisierte den Rückstand aus 50 ml Äthylacetat: Kristallpulver, 5,4 g, Smp. $169\text{--}171^\circ$, verwittert sehr rasch an der Luft.

$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{N}_5$ Ber. C 52,59 H 6,35 N 19,17% Gef. C 52,81 H 6,15 N 19,05%

Z-ala-Ala-Gly-ala-Ala-Gly-OC₂H₅ (XXVIII, $X = \text{OC}_2\text{H}_5$). 4,56 g (12 mMol) XXVI ($X = \text{OC}_2\text{H}_5$) und 2 ml konz. Salzsäure gelöst in 150 ml Äthanol wurden mit Zusatz von 2 g 10-proz. Palladium-Kohle unter Durchleiten von Wasserstoff hydriert. Nach 3 Std. filtrierte man vom Katalysator ab, dampfte ein, nahm den Rückstand in Chloroform auf und führte ihn wie üblich in den freien Ester über. Der Eindampfrückstand (3,3 g) der Chloroformlösung von XXVII ($X = \text{OC}_2\text{H}_5$) wurde direkt für die folgende Umsetzung verwendet. In 120 ml einer Mischung von 42 ml konzentrierter Salzsäure, 200 ml Essigsäure und 800 ml Wasser löste man 4,4 g (12 mMol) Z-ala-Ala-Gly-NHNH₂ (XXVI, $X = \text{NHNH}_2$) und gab bei -5° 840 mg (12 mÄquiv.) Natriumnitrit in wenig Wasser zu. Nach 10 Min. Rühren bei 0° versetzte man mit 250 ml eiskaltem Äthylacetat und arbeitete wie üblich auf. Die getrocknete Azidlösung gab man zu 12 mMol XXVII ($X = \text{OC}_2\text{H}_5$) in 250 ml Äthylacetat und rührte 48 Std. bei Raumtemperatur. Den erhaltenen Niederschlag kristallisierte man aus viel abs. Äthanol: Kristallpulver, 4,5 g, Smp. 228° (Zers.). IR.-Absorptionsspektrum (in Nujol): ν_{max} 1750, 1685 und 1640 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (in CF_3COOH): δ 1,40 (t, $J = 7,3\text{ H}$), 1,60 (d, $J = 7,12\text{ H}$), 4,23 (s, 2 H), 4,33 (s, 2 H), 4,40 (q, 2 H), 4,4–5,0 (Sh, 4 H), 5,26 (s, 2 H), 7,40 (s, 5 H), 7,6–8,1 (Sh, 6 H).

$\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{O}_9\text{N}_6$ Ber. C 53,97 H 6,62 N 14,53% Gef. C 53,73 H 6,39 N 14,45%

H-ala-Ala-Gly-ala-Ala-Gly-NHNH₂ (XXIX, $X = \text{NHNH}_2$). Eine Lösung von 3,15 g (5,9 mMol) XXVIII ($X = \text{OC}_2\text{H}_5$) in 150 ml abs. Äthanol wurde nach Zusatz von 2 ml konz. Salzsäure und 1 g Palladium-Kohle unter Durchleiten von Wasserstoff hydriert. Nach 3 Std. filtrierte man vom Katalysator ab, dampfte ein und löste den Rückstand in 100 ml frischem abs. Äthanol. Durch Schütteln der Lösung mit 20 ml gesättigter Kaliumcarbonat-Lösung wurde der Aminoester freigesetzt. Zur Überführung ins Hydrazid löste man den Eindampfrückstand der Alkoholschicht

in 10 ml wasserfreiem Hydrazin. Nach 3 Std. Stehen bei Raumtemperatur wurde das überschüssige Hydrazin im Vakuum entfernt und der Rückstand aus 100 ml Äthanol umkristallisiert: 2,4 g, Smp. 230–233° (Zers.), $[\alpha]_{578} = -22,2^\circ$ ($c = 1$, H_2O). Elektrometrische Mikrotitration: $pK_{MCS}^* 7,59$, Äqu.-Gew. Ber. 430,4, Gef. 468. IR.-Absorptionsspektrum (in Nujol): ν_{max} 1640 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (in D_2O): δ 1,32 (d , $J = 7$, 3 H), 1,48 (d , $J = 7$, 9 H), 3,60 (q , $J = 7$, 1 H), 3,69 (s , 2 H), 4,02 (s , 2 H), 4,38 (q , $J = 7$, 3 H).

$\boxed{-ala \rightarrow Ala \rightarrow Gly \rightarrow ala \rightarrow Ala \rightarrow Gly-}$ (XXX). Zu einer Lösung von 1,575 g (3,65 mMol) XXIX ($X = NHNH_2$) in 22 ml 0,5 N Salzsäure gab man bei 0° 250 mg (3,62 mMol) Natriumnitrit. Nach 15 Min. Rühren verdünnte man mit Eiswasser auf 3,5 l und liess nach Zusatz von 8 g Kaliumhydrogencarbonat 3 Tage bei 0° stehen. Zur Aufarbeitung wurde mit 10 ml konz. Salzsäure versetzt und bei 40° im Vakuum auf 50 ml eingeengt. Dieses Konzentrat extrahierte man 5mal mit 100 ml *n*-Butanol-Äthylacetat-(1:1). Den Eindampfrückstand des Extraktes filtrierte man, in wenig Wasser gelöst, durch eine Säule von je 50 ml der Ionenaustauscher Nalcite NCR-8 in H⁺-Form und Nalcite SBR-7,5 in Hydrogencarbonat-Form. Das Eluat dampfte man ein und kristallisierte den Rückstand 2mal aus Äthanol um; 395 mg (38%), feine Nadelchen, Smp. > 330° (Zers.). $[\alpha]_{578} = +45,6^\circ$, $[\alpha]_{546} = +52,1^\circ$, $[\alpha]_{365} = +191^\circ$ ($c = 1,3$, H_2O); $[\alpha]_{578} = +66,5^\circ$, $[\alpha]_{546} = +75^\circ$, $[\alpha]_{365} = +248^\circ$ ($c = 0,54$, CF_3COOH). Optische Rotationsdispersion (in H_2O): $[\Phi]_{283} = +10300^\circ$.

$C_{18}H_{26}O_6N_6$ Ber. C 48,23 H 6,58 N 21,10% Gef. C 48,40 H 6,66 N 21,02%

Massenspektrometrische Molekulargewichtsbestimmung: Ber. 398,6; Gef. 398. IR.-Absorptionsspektrum (in Nujol): ν_{max} 1690 (*m*), 1675 (*m*), 1665 (*m*), 1640 (*s*), 1550 (*s*) cm^{-1} . NMR.-Spektrum (in D_2O): δ 1,34 (d , $J = 7$, 6 H), 1,39 (d , $J = 7$, 6 H), 3,93 (*s*, 4 H), 4,45 (q , $J = 7$, 2 H), 4,49 (q , $J = 7$, 2 H). Papierchromatographie: Rf = 0,62 (*n*-Butanol-Eisessig-Wasser-(4:1:1), WHATMAN No 1).

Zur Hydrolyse erhitze man 75 mg des Cyclohexapeptids, gelöst in 2 ml 6 N Salzsäure, 48 Std. auf 110°. Das Hydrolysat, in dem durch Dünnschichtchromatographie nur Alanin und Glycin nachzuweisen waren, zeigte eine optische Drehung von $\alpha_{365} = 0^\circ \pm 0,002^\circ$. Für reines L-Alanin beträgt $[\alpha]_{365} = +58,3^\circ$ (6 N Salzsäure).

Z-Ala-Gly-Gly-OC₂H₅ (XXXII, X = OC₂H₅) wurde aus XXXI ($X = NHNH_2$) [5] und Glycin-äthylester hergestellt: umkristallisiert aus der 30fachen Menge Äthylacetat-Cyclohexan-(1:1): Smp. 132,5–133°, $[\alpha]_{578} = -3,0^\circ$ ($c = 1$, $CHCl_3$).

$C_{17}H_{23}O_6N_3$ Ber. C 55,88 H 6,35 N 11,50% Gef. C 55,86 H 6,23 N 11,75%

Z-Ala-Gly-Gly-NHNH₂ (XXXII, X = NHNH₂) wurde auf übliche Weise aus XXXII ($X = OC_2H_5$) erhalten. Aus der 60fachen Menge 90-proz. Äthanol umkristallisiert: Smp. 195–196°, $[\alpha]_{578} = -7^\circ$ ($c = 0,6$, Eisessig).

$C_{15}H_{21}O_5N_5$ Ber. C 51,27 H 6,02% Gef. C 51,24 H 6,23%

Z-Ala-Gly-Gly-Ala-Gly-Gly-OC₂H₅ (XXXIV, X = OC₂H₅) wurde aus XXXII ($X = NHNH_2$) und XXXIII ($X = OC_2H_5$) hergestellt; umkristallisiert aus der 200fachen Menge Äthanol: Doppel-Smp. 177–178° und 192–195°. IR.-Absorptionsspektrum (in Nujol): ν_{max} 1740 (*m*), 1690 (*m*), 1655 (*s*), 1535 (*s*) cm^{-1} . NMR.-Spektrum (in CF_3COOH): δ 1,37 (*t*, $J = 7$, 3 H), 1,56 (d , $J = 7$, 6 H), 4,23 (*s*, 2 H), 4,29 (*s*, 6 H), 4,40 (q , $J = 7$, 2 H), 4,5–5,0 (*Sh*, 2 H), 5,25 (*s*, 2 H), 7,40 (*s*, 5 H), 7,6–8,1 (*Sh*, 6 H).

$C_{23}H_{34}O_9N_4$ Ber. C 51,29 H 6,36 N 15,61% Gef. C 51,24 H 6,44 N 15,59%

H-Ala-Gly-Gly-Ala-Gly-Gly-NHNH₂ (XXXV, X = NHNH₂) wurde analog dargestellt wie XXIX ($X = NHNH_2$) und aus der 20fachen Menge 95-proz. Äthanol umkristallisiert; Smp. 182–184°, (Zers.); $[\alpha]_{578} = -25,2^\circ$ ($c = 1,3$, H_2O).

$C_{14}H_{26}O_6N_8 + H_2O$ Ber. C 40,00 H 6,71 N 26,63% Gef. C 39,78 H 7,40 N 26,14%

Elektrometrische Mikrotitration: $pK_{MCS}^* 7,48$, Puffergebiet bei 2,9. Äqu.-Gew. ber. 402,4, gef. 402. NMR.-Spektrum (in D_2O): δ 1,30 (d , $J = 7$, 3 H), 1,40 (d , $J = 7$, 3 H), 3,62 (q , $J = 7$, 1 H), 3,92 (*s*, 2 H), 3,98 (*s*, 6 H), 3,37 (q , $J = 7$, 1 H).

$\boxed{\text{Ala} \rightarrow \text{Gly} \rightarrow \text{Gly} \rightarrow \text{Ala} \rightarrow \text{Gly} \rightarrow \text{Gly}}$ (XXXVI). Ausgehend von 2,16 mMol XXXV ($X = \text{NHNH}_2$) erhielt man unter den genau gleichen Reaktionsbedingungen und bei analoger Aufarbeitung wie in den vorhergehenden Fällen nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äthanol 370 mg (58%) des cyclischen Hexapeptides; Smp. $> 350^\circ$, (Zers.), $[\alpha]_{578} = -6,3^\circ$, $[\alpha]_{546} = -7,2^\circ$, $[\alpha]_{436} = -12,8^\circ$, $[\alpha]_{405} = -16,4^\circ$, $[\alpha]_{365} = -25^\circ$. Optische Rotationsdispersion (in H_2O): $[\Phi]_{233} = -2340^\circ$. NMR.-Spektrum (in D_2O): δ 1,40 (*d*, $J = 7, 6$ H), 4,00 (*s*, 2 H), 4,08 (*s*, 2 H), 4,27 (*q*, $J = 7, 1$ H).

$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_6\text{N}_6$ Ber. C 45,40 H 5,99 N 22,69% Gef. C 44,96 H 6,08 N 22,48%

Papierchromatographie: Rf 0,34 (*n*-Butanol-Eisessig-Wasser-(4:1:1), WHATMAN No 1).

Zur Hydrolyse erhitze man 37 mg des Cyclohexapeptids mit 6N HCl 48 Std. auf 110° . Das Hydrolysat, in dem durch Dünnschichtchromatographie nur Glycin und Alanin nachzuweisen waren, zeigte eine spezifische Drehung von $[\alpha]_{578} = +13,8^\circ$ und $[\alpha]_{365} = +57^\circ$, bezogen auf die entstandenen 17,8 mg Alanin. Die Literaturwerte für reines L-Alanin sind $[\alpha]_{578} = +14,2^\circ$ und $[\alpha]_{365} = +58,3^\circ$. Unter den Hydrolysenbedingungen ist demnach keine nennenswerte Racemisierung erfolgt.

Die Optische-Rotationsdispersions-Messungen verdanken wir Professor W. KLYNE, London, das mit dem VARIAN HR 100 aufgenommene NMR.-Spektrum Dr. A. MELERA, VARIAN AG. Forschungslaboratorium, Zürich, die andern NMR.-Spektren sowie IR.-Absorptionsspektren und pK_{MCS}^* -Werte unserer Abteilung für Instrumentalanalyse (Leitung Dr. W. SIMON). Die Mikroanalysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

SUMMARY

The cyclo-hexaalanyl I, II and cyclo-diglycyl-tetraalanyl XXX have been prepared and investigated as examples of cycloenantiomeric compounds.

Organisch-chemisches Laboratorium
Eidg. Technische Hochschule
Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] I. Mitt.: Helv. 47, 2288 (1964).
- [2] E. BRAND & J. T. EDSALL, Annual Rev. Biochemistry 16, 223 (1947).
- [3] TH. CURTIUS, Ber. dtsh. chem. Ges. 35, 3226 (1902).
- [4] F. WEYGAND, A. PROX, L. SCHMIDHAMMER & W. KÖNIG, Angew. Chem. 75, 282 (1963).
- [5] B. F. ERLANGER & E. BRAND, J. Amer. chem. Soc. 73, 3508 (1951).
- [6] K. HOFMANN & M. Z. MAGEE, J. Amer. chem. Soc. 71, 1515 (1949).
- [7] 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); R. SCHWYZER & A. TUN-KYI, Helv. 45, 859 (1962).
- [8] E. BRAND, B. F. ERLANGER, H. SACHS & J. POLATNICK, J. Amer. chem. Soc. 73, 3510 (1951).