

Ringschlüsse von Pyruvoylpeptiden und Dehydropeptiden

Über Aminosäuren und Peptide, XXIV¹;
Über Dehydroaminosäuren, 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*

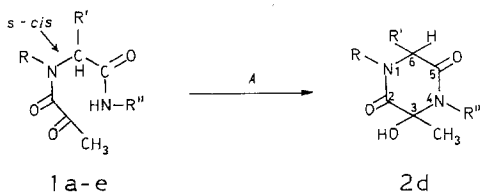
Further studies were made of the influence of structure on the ring closure reactions *A* and *B* of pyruvoyl peptides and dehydropeptides. Pyruvoyl peptides can undergo aldol condensation (**3 a–c**) as an alternative to cyclization. Pyruvoyl tetrapeptide amides and dehydroalanyl tetrapeptide amides 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 Dehydroaminosäuren 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:

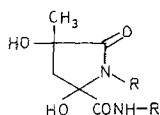
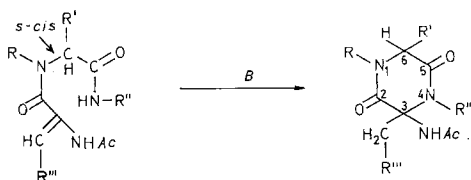
1. In beiden Fällen verläuft der Ringschluß kinetisch kontrolliert mit hoher optischer Induktion meist zum instabilen Isomeren, das sich zum thermodynamisch stabilen Isomeren umlagern läßt. Das Produkt der Reaktion *A* wird in saurer Lösung über einen kationischen Mechanismus an C-3 umgelagert. Das cyclische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



	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



	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 Glycerverbindung **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 Imidazolionringschluß⁶ eintreten. Diese Ausweich-

Tabelle I

	Schmp., °C	Ausb., %	[α] _D ²⁰	Formel (Mol.-Masse)	% C		% H		% N	
					Ber.	Gef.	Ber.	Gef.	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	6,14	15,05	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	5,35	18,59	5,35	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	6,13	17,76	6,13	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	6,61	27,01	6,61	27,01	27,23
Z-(L ala) ₂ -NHCH ₃	209 (75% MeOH)	82	— 44,2° (c = 1,08 in AcOH)	C ₁₃ H ₂₁ N ₃ O ₄ (307,3)	58,61	6,89	13,67	6,89	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	8,73	24,26	8,73	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	6,95	15,58	6,95	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	7,99	22,21	7,99	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	6,27	13,76	6,27	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	8,16	22,69	8,16	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 Pyruvoylpeptiden 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 (Pyruvoyl-ala-NHCH₃) und dem Dipeptid (Pyruvoyl-ala-ala-NHCH₃) beobachtet.

Nachdem als wichtigste Voraussetzung zur Bildung sechsgliedriger Ringe aus Pyruvoylpeptiden 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 Pyruvoylpeptiden. Dehydropeptide wurden in den letzten Jahren nämlich in steigendem Maße als Pilzmetaboliten aufgefunden.

Alle bisher bekannten Cyclotripeptide enthalten ausschließlich Prolin oder Sarkosin, denn nur deren Amidbindung kann leicht *s-cis*-Konformation einnehmen. Es erschien deshalb naheliegend, Pyruvoyl-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 Pyruvoyltetrapeptid-amiden Pyruvoyl-(gly)₄-NHCH₃ (**6**) und Pyruvoyl-(ala)₄-NHCH₃ (**7**) könnte deshalb die Reaktion des Pyruvoylcarbonyls mit der Methylamidgruppe oder dem Stickstoff der Peptidgruppe der entfernteren Aminosäure zum Cyclotetrapeptid bzw. Cyclopentapeptid mit ausschließlich *s-trans*-Konformation der Amidbindung führen. Die Pyruvoyltetrapeptide ließen sich zwar ohne Schwierigkeiten aufbauen, ein Ringschluß konnte jedoch nicht registriert werden. Einschränkend muß jedoch die außerordentliche Schwerlöslichkeit schon der Pyruvoyltetrapeptide erwähnt werden, so daß chromatographische Techniken zur Abtrennung von gegebenenfalls gebildeten Ringschlußprodukten versagten. Der bei einfachen Pyruvoylaminosäure-methylamiden untrügliche Hinweis auf einen Ringschluß war das Verschwinden des Dubletts 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 Pyruvoyltetrapeptide 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 Pyruvoylpeptide (Reaktion *A*) wurde auch das den obigen Pyruvoyltetrapeptidamiden 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 Pyruvoyl-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 Benzoyloxy-carbonyl-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 1N-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).

C₁₁H₁₉N₃O₂. Ber. C 58,65, H 8,50, N 18,65.
Gef. C 58,20, H 8,58, N 18,82.

Herstellung der Pyruvoylpeptide (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

eingengt. 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-d*₆): 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/*Et*₂O liefert 1,09 g (64%) farblose Kristalle, Schmp. 116—119 °C. [α]_D²⁰ = —71,6° (*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. [α]₂₁^D = —61,9° (*c* = 0,48 in *MeOH*).

¹H-NMR (*DMSO-d*₆): 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-prolyl-L-alanin-methylamid (1 e)

Zur Reinigung wurde aus CHCl₃/*Et*₂O umkristallisiert. 1,46 g (54%), Schmp. 175—178 °C. [α]₂₁^D = —136,6° (*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-(8a*S*)-pyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-2-yl-essigsäure-methylamid (cis—trans-Isomerengemisch) (2 d, C₁₁H₁₇N₃O₄)

Ein Gemenge aus 0,92 g (5 mMol) L-Prolyl-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. eingengt, 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-Pyruvoyl-L-prolyl-glycin-methylamids (charakteristische Resonanz $\tau = 7,58$, $\text{CH}_3\text{CO}-$) erkennen.

$^1\text{H-NMR}$: kinetisch kontrolliertes Isomeres: τ 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: τ 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-pyrrolidincarboxamide 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 Lösungsmitelein-schlusses nicht analysenrein gewonnen werden konnten.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$): Isomeres mit dem $R_f = 0,30$: τ 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 $R_f = 0,50$: τ 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 Säulenchromatographie (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. τ 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 Umkristallisieren aus Aceton/Äther gelingt eine fast vollständige Anreicherung eines Isomeren.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O): τ 5,76 (q, $J =$ 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-Pyruvoyl-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 stengelassen. 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 $\text{CHCl}_3/\text{Äther}$ umkristallisiert. Ausb. 800 mg (55%) an plättchenartigen Kristallen, Schmp. 93—95 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -145,8^\circ$ ($c = 1,20$ in CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$: 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).

$\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4$. 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 3*N*- H_2SO_4 kongosauer und extrahiert gründlich mit CHCl_3 . Die org. Phase wird 2mal mit gesätt. KHCO_3 -Lösung ausgeschüttelt, welche selbst wieder mit CHCl_3 rückextrahiert wird. Nach Trocknen der org. Phase mit Natriumsulfat wird im Vak. eingeeengt. 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, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -65,20^\circ$ ($c = 0,95$ in CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$: 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).

$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_5$. 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.

$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_6$. 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. Rühren wird vom Austauschermaterial abgetrennt und das Wasser im Vak. entfernt. Man wäscht das Dehydropeptid mit MeOH und Äther; Ausb. 385 mg (52%).

$^1\text{H-NMR}$ (*DMSO-d*₆): 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