Alkaloide aus Rhamnaceen, XVII¹⁾

Mauritin-C, -D, -E und -F; neue Peptidalkaloide aus Ziziphus mauritiana Lam.**)

Rudolf Tschesche*), Heinz Wilhelm, Ernst Ulrich Kaußmann und Gert Eckhardt

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität, D-5300 Bonn, Max-Planck-Straße 1

Eingegangen am 28. November 1973

Aus dem Rohbasengemisch von Ziziphus mauritiana Lam. wurden neben Mauritin-A und -B²⁾, Frangufolin³⁾ und den bereits bekannten Amphibinen-B, -D, -E⁴⁾ und -F⁵⁾ vier weitere Cyclopeptidalkaloide, die Mauritine-C, -D, -E und -F (3-6) isoliert und deren Struktur aufgeklärt. Alle Alkaloide zählen zum gleichen Strukturtyp mit 14gliedrigem Ringsystem aus trans-3-Hydroxyprolin, p-Hydroxystyrylamin und einer a-Aminosäure.

Alkaloids from Rhamnaceae, XVII¹). - Mauritine-C, -D, -E, and -F; New Peptide Alkaloids from Ziziphus mauritiana Lam.**)

In addition to mauritine-A and -B²⁾, frangufoline³⁾, and the previously known amphibines-B, -D, E^{4} and -F⁵, four new alkaloids, mauritine-C, -D, -E, and -F (3-6), were isolated from the mixture of bases from Ziziphus mauritiana Lam, and their structures elucidated. All these alkaloids belong to the same structural type with a 14-membered ring system containing trans-3-hydroxyproline, *p*-hydroxystyrylamine, and one α -amino acid.

Als Ausgangsmaterial zur Isolierung der Alkaloide diente getrocknete Rinde von Ziziphus mauritiana Lam., die kurz vor Beginn der Regenperiode im Mali geerntet worden war. Aus dem nach der üblichen Methode⁶⁾ gewonnenen Rohbasengemisch (0.26%, bezogen auf die trockene Droge) erhielt man durch mehrstufige Säulen- und Schichtchromatographie Frangufolin³⁾, Amphibin-B, -D, -E⁴⁾ und -F⁵⁾ sowie Mauritin-A und -B²⁾ (1 und 2), -C, -D, -E und -F (3-6).

Die Summenformeln der Produkte wurden durch hochauflösende Massenspektrometrie und Elementaranalyse zu C₂₈H₃₄N₄O₄ (für 3), C₃₃H₅₁N₅O₅ (für 4) und $C_{31}H_{39}N_5O_5$ (für 6) ermittelt. Mauritin-E lieferte kein Molekülion ausreichender Intensität.

1974

^{*)} Korrespondenz bitte an diesen Autor richten.

^{**)} Herrn Prof. Dr. M. Viscontini, Zürich, herzlich zum 60. Geburtstag gewidmet.

¹⁾ XVI. Mitteilung: R. Tschesche, E. U. Kaußmann und G. Eckhardt, Tetrahedron Lett. 1973, 2577.

²⁾ R. Tschesche, H. Wilhelm und H.-W. Fehlhaber, Tetrahedron Lett. 1972, 2609.

³⁾ R. Tschesche und H. Last, Tetrahedron Lett. 1968, 2993.

⁴⁾ R. Tschesche, E. U. Kaußmann und H.-W. Fehlhaber, Chem. Ber. 105, 3094 (1972).

⁵⁾ R. Tschesche, Ch. Spilles und G. Eckhardt, Chem. Ber. 107, 686 (1974).

⁶⁾ R. Tschesche, R. Welters und H.-W. Fehlhaber, Chem. Ber. 100, 323 (1967).



Absorptionsspektren

Die in Chloroform aufgenommenen IR-Spektren entsprechen in den wesentlichen Merkmalen den Spektren bisher untersuchter 14gliedriger Cyclopeptidalkaloide⁷⁻⁹. Man erkennt typische Banden für Amide, die N-Methylgruppe, eine konjugierte C=C-Bindung und Banden, die auf einen Phenoläther hinweisen. Das IR-Spektrum von Mauritin-E liefert zusätzlich eine sehr breite OH-Valenzschwingungsbande.

Die UV-Spektren von Mauritin-C, -D, -E und -F weisen neben einer starken Aromaten-Endabsorption wenig ausgeprägte Schultern um 250 und 280 nm auf, die dem Styrylchromophor (vgl. Diskussion in Lit. ^{7, 8}) oder einem Phenoläther zuzuschreiben sind.

In den ¹H-NMR-Spektren der Alkaloide zeigt ein Singulett bei $\delta = 2.3$ ppm eine *N*-Methylgruppe im Mauritin-C und -F oder eine *N*,*N*-Dimethylgruppe im Mauritin-D und -E an. Im Bereich der C-Methyl-Absorption liefern die Spektren von **5** und **6** ein Dublett bei $\delta = 0.85$ ppm, das der Isopropylgruppe des Valins, sowie ein Dublett bei $\delta = 1.25$ ppm, das der Methylgruppe des endständigen *N*-methylierten Alanins zuzuordnen ist. Der entsprechende Signalkomplex in den Spektren von **3** und **4** läßt auf zwei bzw. sechs *C*-Methylgruppen schließen. Das Dublett um $\delta = 4.2$ ppm (J = 4-6 Hz) wird dem Proton in 2-Stellung des in allen Alkaloiden als Baustein enthaltenen *trans*-3-Hydroxyprolins zugeordnet (vgl. Diskussion in Lit.⁴).

Das Dublett um $\delta = 6.3$ ppm (J = 8-9 Hz) rührt von dem Olefinproton der Styrylamingruppierung neben dem Benzolring her; das andere Olefinproton liefert durch weitere Kopplung mit dem benachbarten NH ein Quartett und nach Deuteriumaustausch ein Dublett um $\delta = 6.7$ ppm. Die Signale der Aromaten- und Amidprotonen erscheinen im Bereich von $\delta = 6.4-7.9$ ppm.

⁷⁾ M. Pais und F. X. Jarreau, Chemistry and Biochemistry of Aminoacids, Peptides and Proteins, 1. Aufl., Bd. 1, S. 127, Marcel Dekker, New York 1971.

⁸⁾ E. W. Warnhoff, Fortschr. Chem. Org. Naturst. 28, 162 (1971).

⁹⁾ R. Tschesche und E. U. Kaußmann in The Alkaloids (R. H. F. Manske), Academic Press, New York, im Druck.

Hydrolysen

Die Alkaloide wurden katalytisch hydriert und die so erhaltenen Dihydromauritin-C sowie Dihydromauritin-F anschließend nach *Bowman*¹⁰) reduzierend *N*-methyliert. In den sauren Hydrolysaten der so erhaltenen Derivate wurden Phenylalanin und *N*,*N*-Dimethylvalin (*N*-Methyldihydromauritin-C), Isoleucin, Leucin und *N*,*N*-Dimethylisoleucin (Dihydromauritin-D), *threo*-Phenylserin, Valin und *N*,*N*-Dimethylalanin (Dihydromauritin-E) sowie Phenylalanin, Valin und *N*,*N*-Dimethylalanin (*N*-Methyldihydromauritin-F) nachgewiesen.

Umsetzung der Alkaloide 3-6 mit Ozon und anschließende Hydrolyse¹¹⁾ erlaubten den chromatographischen Nachweis von *trans*-3-Hydroxyprolin⁴⁾.

Zur Klärung der Aminosäure-Sequenz im Mauritin-D, das die massenspektrometrisch nicht sicher unterscheidbaren Aminosäuren Leucin und Isoleucin enthält, wurde 4 einer schonenden Partialhydrolyse unterworfen. Diese lieferte unter Abspaltung der Seitenkette das cyclische Peptid 7, dessen Identität sich massenspektrometrisch sichern ließ.

Totalhydrolyse von 7 lieferte Isoleucin, das damit als ringständige Aminosäure im Mauritin-D (4) identifiziert wurde.



Basispeak in den Massenspektren der Mauritine-C, -D, -E und -F (3-6) ist das jeweilige "Aminfragment"¹²) a (Tabelle 1), das durch α -Spaltung der terminalen N-methylierten Aminosäure gebildet wird. Der metastabile Übergang bei m/e = 63.4 beweist das Vorliegen von N,N-Dimethylisoleucin im Mauritin-D. Die Aminfragmente 8 weisen bei 3 und 6 auf Phenylalanin (m/e = 120), bei 4 auf Leucin oder Isoleucin (m/e = 86) und bei 6 auf Valin (m/e = 72) hin. Allen Spektren gemeinsam sind die Peaks der Fragmente 9 (m/e = 96) und 10 (m/e = 68), die der Hydroxystyrylamin-Einheit zurückzuführen ist (s. Tabelle 1).



¹⁰⁾ R. E. Bowman, J. Chem. Soc. 1950, 1342.

¹¹⁾ E. Zbiral, E. L. Menard und J. M. Müller, Helv. Chim. Acta 48, 404 (1965).

¹²⁾ K. Heyns und H. F. Grützmacher, Tetrahedron Lett. 1963, 1761; K. Heyns und H. F. Grützmacher Liebigs Ann. Chem. 669, 189 (1963); F. Weygand, A. Prox, H. H. Fessel und K. K. Sun, Z. Naturforsch. 20b, 1196 (1965).

¹³⁾ R. Tschesche, J. Rheingans, H.-W. Fehlhaber und G. Legler, Chem. Ber. 100, 3924 (1967).

Tabelle 1. Charakteristische Fragmente in den Massenspektren der Mauritine C-F. In den Formeln steht X bei 3, 4 und 6 für das vollständige 14gliedrige Ringsystem, bei 5 für das Ringsystem abzüglich Benzaldehyd; bei 3 bedeutet $R = (CH_3)_2CH$, $R'' = C_6H_5CH_2$ und R''' = H, für 4-6 sind R-R'' bei der Strukturformel angegeben

| 3-6 | Fragment Struktur | 3 | 4 <i>m</i> | le 5 | 6 | |
|------------|---|-----|------------|---------|-----|--|
| (M+•) | | 490 | 597 | - | 561 | |
| а | R'''(CH ₃)N≂CH I R | 86 | 114 | 72 | 58 | |
| b | R'''(CH ₃)N≖CH−CO−NH−CH−CO−X ⁺ • R' | - | 540 | 470 | 546 | |
| bʻ | R'''(CH ₃) h =CH-CO-X | 447 | - | - | - | |
| c | $\begin{bmatrix} H-CO-NH-CH-CO-X \\ I \\ R' \end{bmatrix}^+$ | - | 484 | 414 | 504 | |
| d | $\begin{bmatrix} OCN-CH-CO-X \\ I \\ R' \end{bmatrix}^+$ | - | 482 | 412 | 502 | |
| e | [CH=C-X] ⁺ • [R' OH] | | 441 | 371 | 461 | |
| f | [OHC-X] ⁺ • | 405 | 371 | 315 | 405 | |
| g | ¢=c−x | 404 | 370 | 314 | 404 | |
| h | H_2X^+ | 378 | 344 | 288 | 378 | |
| i | [H-X] ⁺ • | 377 | 343 | 287 | 377 | |
| j | X + | 376 | 342 | 286 | 376 | |
| k | R'''(CH ₃)N-CH-CO-NH-CH-CO-N+ R R' | - | 324 | 268 | 254 | |
| k ' | $R'''(CH_3)N-CH-CO-N+$ | 183 | | - | | |
| 1 | R'''(CH ₃)N−CH−CO−NH−CH−C≡O+ R R' | - | 255 | 199 | 185 | |
| m | $\begin{array}{c} \mathbf{R}^{\prime\prime\prime}(\mathbf{CH}_3)\mathbf{N}\text{-}\mathbf{CH}\text{-}\mathbf{CO}\text{-}\mathbf{NH}\text{=}\mathbf{CH}\\ \mathbf{I}\\ \mathbf{R} \qquad \mathbf{R}^{\prime}\end{array}$ | | 227 | 171 | 157 | |
| n | H-CO-NH-CH-CO-N+ | | 209 | 195 | - | |
| 0 | OCN-CH-CO-N + O=C | - | 235 | 221 | 221 | |
| р | CO-NH-CH-C=O ⁺ | 243 | 209 | | 243 | |
| q | CO-NH=CH H H R'' | 215 | 181 | - | 215 | |
| r | CH=CH N H | 229 | 229 | 229 | 229 | |

| Fragment | m/e | | | | |
|-------------------------------------|-----|-----|-----|-----|--|
| <u>3-6</u> Struktur | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| s O-CH=CH NH2 | 203 | 203 | 203 | 203 | |
| t t N O−CH≡CH | 136 | 186 | 186 | 186 | |
| н́ u но-{O-CH=CH OCN-CH-CO-NH | 308 | 274 | _ | 308 | |

Der stufenweise Abbau der Peptidseitenkette sowie der Zerfall des Ringsystems der Mauritine-D (4) und -F (6) erfolgen ganz analog dem der Amphibine-B bis -E⁴) sowie der Mauritine-A und -B²) und liefern alle für diesen Alkaloidtyp charakteristischen Fragmente (s. Tabelle 1). Maurtin-C (3) fragmentiert entsprechend. Es fehlen wegen der verkürzten Seitenkette jedoch die Ionen $\mathbf{b} - \mathbf{e}$ und $\mathbf{k} - \mathbf{o}$; stattdessen treten die zu **b** und **k** analogen Fragmente **b'** und **k'** auf (Tabelle 1). Im Massenspektrum von Mauritin-E (5) wird wie bei anderen 14gliedrigen Peptidalkaloiden, die Phenylserin enthalten¹⁴), kein Molekülion beobachtet: Durch McLafferty-Umlagerung unter Beteiligung der OH-Gruppe des Phenylserins werden die Ionen C₇H₆O^{+•} (m/e = 106) und C₂₅H₂₅N₅O₅^{+•} (m/e = 485) gebildet. Das Benzaldehyd-Ion zerfällt weiter zu C₇H₅O⁺ (m/e = 105) und C₆H₅⁺ (m/e = 77), das Fragment m/e = 485 unter stufenweisem Abbau der Seitenkette zu **b**-j.

Aus den in Tabelle 1 angegebenen Fragmenten, deren Elementarzusammensetzungen mittels Hochauflösung gesichert wurden, läßt sich, wie in Lit.^{2,4)} beschrieben, die Verknüpfung der Bausteine ermitteln.

Die Hydrochloride der Mauritine-A bis -E (1-5) wurden in Blättchentests (0.5 mg/Blättchen) mit *Bacillus subtilis* und *Escherichia coli* auf bakterizide und mit *Pythium debaryanum* und *Trichoderma viride* auf fungizide Wirksamkeit untersucht. Dabei bewirkten lediglich Mauritin-A (Hemmstrecke 1 mm), -B (8 mm) und -D (13 mm) eine schwache Wachstumshemmung bei *Bacillus subtilis*.

Wir danken Herrn Professor Dr. F. Schönbeck, Universität Bonn, für die Durchführung der mikrobiologischen Untersuchungen und Herrn P. Garnier, Montpellier, für die Beschaffung der Droge. Unser Dank gilt ferner der Stiftung Volkswagenwerk und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Bereitstellung der Spektrometer und die Gewährung von Sachmitteln.

14) J. Marchand, M. Païs, X. Monseur und F. X. Jarreau, Tetrahedron 25, 937 (1969);
R. Tschesche, L. Behrendt und H.-W. Fehlhaber, Chem. Ber. 102, 50 (1969).

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Mikroskopheiztisch nach Weygand, die optischen Drehungen mit dem Perkin-Elmer-Polarimeter 141 bestimmt. — Die Elementaranalysen führte das Mikrochemische Laboratorium F. Pascher, Bonn, aus. — Zur Aufnahme der Spektren dienten folgende Gerät: Perkin-Elmer 221 (IR), Varian A-60 und Bruker-Spektrospin HX-90 (¹H-NMR) und Cary 14 (UV). Die Massenspektren wurden mit dem Gerät MS 9 (AEI) durch Einführen der Substanzen in die Ionenquelle (Temp. 200°C) bei einer Elektronenenergie von 70 eV aufgenommen. — Zur Dünnschichtchromatographie benutzte man Kieselgel HF₂₅₄ (Fa. Merck) oder Cellulose (Fa. Excorna), zur präparativen Schichtchromatographie Kieselgel PF₂₅₄ (Fa. Merck), zur Papierchromatographie die Sorten 2043b (Fa. Schleicher & Schüll) und Nr. 1 (Fa. Whatman) und zur Säulenchromatographie ungesiebtes Kieselgel (Fa. Gebr. Herrmann) und Kieselgel (Fa. Woelm; 0.05–0.2 mm).

Isolierung und Auftrennung der Peptidalkaloide: Die Isolierung des Rohalkaloidgemisches aus der Rinde von Ziziphus mauritiana erfolgte wie in Lit.⁶ beschrieben. Aus 14 kg Droge wurden 36.3 g (0.26%) Rohbasengemisch erhalten, die durch Säulenchromatographie an Kieselgel in 12 Fraktionen aufgetrennt wurden. Als Elutionsmittel diente Chloroform, dem in steigender Menge (bis zu 10%) Methanol zugesetzt wurde. Die weitere Aufarbeitung ist im Schema 1 zusammengefaßt (SC = Säulenchromatographie an Kieselgel; PSC = Schichtchromatographie an Kieselgel; Laufmittelsysteme: A, B, C = Chloroform/Methanol (50:1 bzw. 25:1 bzw. 20:1), D = Benzol/Aceton/Methanol (30:4:1), E = Methylendichlorid/ Aceton/Methanol (40:15:1), F, G = Cyclohexan/Aceton/Methanol (60:20:1 bzw. 30:20:1). Ferner bedeuten K = Kristallisation; (-) = Fraktion wurde nicht näher untersucht).

| Fraktion (Menge [g]) | Aufarbeitung | Alkaloid (Menge [g]) | | | |
|-------------------------|----------------------------|--|--|--|--|
| 1 (1.40) | K | Frangufolin (1.18) | | | |
| 2 (0.28) | () | _ | | | |
| 3 (1.20) | PSC(D) | Mauritin-D (0.92) | | | |
| 4 (1.60) | PSC(D) | Mauritin-B (0.76) und Amphibin-B (0.14) | | | |
| 5 (2.23) | (-) | | | | |
| 6 (7.74) | PSC(D) | Amphibin-D (5.3) | | | |
| 7 (1.47) | (-) | | | | |
| 8 (13.6) | K | Mauritin-A (13.0) | | | |
| 9 (0.36) | PSC(E) | Amphibin-F (0.25) | | | |
| 10 (0.68) | (-) | - | | | |
| | PSC(C) - SC(B) | Amphibin-E (0.69) | | | |
| 11 (1.71) | SC(F) $PSC(C) - SC(B)$ | Mauritin-E (0.30) | | | |
| | PSC(C)-SC(B) | Mauritin-C (0.25) | | | |
| 12 (0.55) | SC(A) - PSC(E) - SC(B) - K | Mauritin-F (0.14) | | | |

| | Schema | 1. / | Auftrennung | der | Pe | ptidalkaloi | de (| Erklärung | im | Text |) |
|--|--------|------|-------------|-----|----|-------------|------|-----------|----|------|---|
|--|--------|------|-------------|-----|----|-------------|------|-----------|----|------|---|

Mauritin-C (3). – Farbloses Harz oder Pulver; $[a]_{2^0}^{2^0} = -224^\circ$ (c = 0.11, Methanol). – IR (Chloroform): 3360 (NH), 2982–2850 (CH), 2774 (NCH₃), 1682 (Amide), 1616 (C=C), 1590, 1490 (Aromaten), 1228, 1022 cm⁻¹ (Phenoläther). – UV (Methanol): Starke Endabsorption

mit Schultern bei 252 und 280 nm. – ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 0.85$ [q; CH–(CH₃)₂], 2.35 (s; N–CH₃), 4.25 (d; J = 5.5 Hz; 2-H am Hyp), 6.28 (d, J = 8 Hz; 1 Olefinproton), 6.3 bis 7.4 ppm (m; Aromaten-, NH- und 1 Olefinproton).

C₂₈H₃₄N₄O₄ (490.6) Ber. C 68.55 H 6.99 N 11.42 Gef. C 67.52 H 6.96 N 11.58 Mol.-Masse Ber. 490.2580 Gef. 490.2575 (massenspektrometr.)

Mauritin-D (4). — Farbloses Harz, das sich nicht kristallisieren ließ; $[\alpha]_{20}^{20} = -259^{\circ} (c = 0.16, Methanol). — IR (Chloroform): 3400 (NH), 3010-2870 (CH), 2790 (NCH₃), 1690 (Amide), 1630 (C=C), 1600, 1500 (Aromaten), 1214, 1025 cm⁻¹ (Phenoläther). — UV (Methanol): Starke Endabsorption mit Schultern bei 250 und 280 nm. — ¹H-NMR (CDCl₃): <math>\delta = 0.6-1.0$ (m; 6C-CH₃), 2.3 [s; N(CH₃)₂], 4.24 (d, J = 5.8 Hz; 2-H am Hyp), 6.25 (d, J = 8 Hz; 1 Olefinproton), 6.3-7.3 ppm (m; Aromaten-, NH- und 1 Olefinproton).

C₃₃H₅₁N₅O₅ (597.8) Ber. C 66.30 H 8.60 N 11.72 Gef. C 66.96 H 8.59 N 11.09 Mol.-Masse Ber. 597.3890 Gef. 597.3876 (massenspektrometr.)

Mauritin-E (5). — Farblose, amorphe Substanz; $[a]_{D}^{20} = -243^{\circ}$ (c = 0.11, Methanol). — IR (Chloroform): 3400 (OH), 3369 (NH), 2991–2861 (CH), 2780 (NCH₃), 1690 (Amide), 1624 (C=C), 1600, 1496 (Aromaten), 1230, 1030 cm⁻¹ (Phenoläther). — UV (Methanol): Starke Endabsorption mit Schultern bei 250 und 280 nm. — ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 0.9$ [d, CH-(CH₃)₂], 1.25 (d; CH-CH₃), 2.3 [s; N(CH₃)₂], 3.98 (d, J = 6.5 Hz; 2-H am Hyp), 6.29 (d, J = 8 Hz; 1 Olefinproton), 6.4–7.8 ppm (m; Aromaten-, NH- und 1 Olefinproton).

C32H41N5O6 (591.7) Ber. C 64.95 H 6.98 N 11.84 Gef. C 65.07 H 7.16 N 11.44

Mauritin-F (6). — Kristallisierte aus Chloroform/Petroläther in farblosen Nadeln mit Schmp. 222–225°C, $[a]_{10}^{20} = -285^{\circ}$ (c = 0.15, Methanol). — IR (Chloroform): 3375 (NH), 2990 bis 2860 (CH), 2790 (NCH₃), 1683 (Amide), 1620 (C=C), 1595, 1491 (Aromaten), 1220, 1030 cm⁻¹ (Phenoläther). — UV (Methanol): Starke Endabsorption mit Schultern bei 250 und 280 nm. — ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 0.85$ [d; CH–(*CH*₃)₂], 1.35 (d; CH–*CH*₃), 2.46 (s; N–CH₃), 6.2–7.95 ppm (m; Aromaten-, NH- und 1 Olefinproton).

 $\begin{array}{rl} C_{31}H_{39}N_5O_5 \ (561.7) & \mbox{Ber. C } 66.29 \ H \ 7.00 \ N \ 12.47 \\ & \mbox{Gef. C } 65.86 \ H \ 6.93 \ N \ 12.31 \\ & \mbox{Mol.-Masse Ber. } 561.2951 \ \mbox{Gef. } 561.2943 \ (massenspektrometr.) \end{array}$

Hydrierung von Frangufolin, Mauritin oder Amphibin. – Allgemeine Vorschrift: 50 mg des jeweiligen Alkaloids in 50 ml Methanol wurden an 10 proz. Pd/C bei Raumtemp. unter Normaldruck hydriert. Nach 3-5 h wurde filtriert, die Lösung i. Vak. eingedampft und der Rückstand an 50 g Kieselgel chromatographiert (Laufmittel A oder B).

Dihydromauritin-D. – Farbloses Pulver; $[a]_{D}^{20} = -111^{\circ}$ (c = 0.41, Methanol). – IR (Chloroform): 3390 (NH), 3000–2855 (CH), 2770 (NCH₃), 1668 (Amide), 1500 (Aromat), 1225, 1040 cm⁻¹ (Phenoläther). – ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 0.6-1.1$ (m; 6C–CH₃), 2.25 [s; N(CH₃)₂], 3.9 (d, J = 7 Hz; 2-H am Hyp), 6.7–7.3 ppm (m; Aromaten- und NH-Protonen). – MS: m/e = 599 (M⁺·).

N-Methylierung von Dihydromauritin-C und Dihydromauritin-F: Je 30 mg Dihydromauritin-C oder -F, gelöst in 50 ml Methanol, wurden mit 0.5 ml 35proz. Formalin-Lösung und 0.1 g 10proz. Pd/C versetzt. Das Gemisch wurde unter Durchleiten von Wasserstoff 6 h gerührt¹⁰⁾. Nach Filtrieren und Eindampfen der Lösung i. Vak. chromatographierte man im System B auf Kieselgel.

N-Methyldihydromauritin-C. — MS: $m/e = 506 (M^{+})$.

N-Methyldihydromauritin-F. – Das Produkt erwies sich in allen spektroskopischen Eigenschaften mit Dihydromauritin-A¹⁵⁾ als identisch.

Totalhydrolyse von Dihydro- und N-Methyldihydromauritin: Jeweils 30 mg Dihydro- oder N-Methyldihydromauritin wurden mit 1 ml 6 N HCl im Einschmelzrohr bei 120°C hydrolysiert. Zum chromatographischen Vergleich der nach üblicher Aufarbeitung^{4,6)} erhaltenen Spaltprodukte mit authentischen Verbindungen wurden folgende Systeme benutzt:

a) für die Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel und Cellulose:

(1) \ddot{A} thanol/Wasser (7:3)¹⁶⁾

(2) Chloroform/Methanol/Ammoniak 17% (3:2:1)¹⁶⁾

(3) Butanon/Pyridin/Wasser/Eisessig (70:15:15:2)¹⁷⁾

(4) n-Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:1)¹⁶⁾,

b) zur Papierchromatographie:

(5) Benzylalkohol, wassergesättigt 18)

(6) tert. Butylalkohol/Boratpuffer pH 8.4 (85:15)¹⁹⁾

(7) n-Butanol/Wasser/Aceton/konz. Ammoniak (8:6:1:1)²⁰⁾.

Zur Unterscheidung zwischen Leucin und Isoleucin sowie der entsprechenden N,N-Dimethylderivate eignen sich besonders die Systeme (3) und (6); für das Durchlaufsystem (6) benutzte man mit Boratpuffer pH 8.4 imprägniertes Papier. System (7) erlaubt die Trennung von *threo*und *erythro*-Phenylserin. Die Sichtbarmachung der Aminosäuren erfolgte mit Ninhydrin, die der N,N-Dimethylaminosäuren mit Joddampf, die des Tyramins durch Kuppeln mit Diazosulfanilsäure.

Nachweis von trans-3-Hydroxyprolin in 3-6: Die Dihydroderivate von 3-6 wurden nach dem Verfahren von Zbiral und Mitarbeitern¹¹⁾ ozonolysiert und anschließend hydrolysiert. In allen Reaktionsgemischen ließ sich trans-3-Hydroxyprolin identifizieren; s. Lit.⁴⁾.

Partialhydrolyse von Dihydromauritin-D: 200 mg Dihydromauritin-D wurden 12 Tage mit 20 ml 6 N HCl bei Raumtemp. behandelt. Anschließend wurde die Lösung im Exsikkator über NaOH getrocknet und nach Extraktion des Ausgangsmaterials mit Methylendichlorid auf Kieselgel im Laufmittel B chromatographiert. Man erhielt vier Fraktionen, deren polarste das cyclische Peptid 7 enthielt. Die farblose, amorphe Substanz ist in Methanol gut löslich und in unpolaren Lösungsmitteln schwer löslich; $[\alpha]_{20}^{20} = +11.2^{\circ}$ (c = 0.5, Methanol). – MS: m/e = 68, 69, 86, 96, 120, 181, 205, 209, 231, 244, 272, 289, 345.

C19H27N3O3 Mol.-Masse Ber. 345.2052 Gef. 345.2039 (massenspektrometr.)

Nach saurer Hydrolyse von 7 ließen sich Isoleucin und *p*-Tyramin nachweisen; die Ozonolyse mit anschließender Hydrolyse führte zum Nachweis von *trans*-3-Hydroxyprolin.

- 16) K. Randerath, Dünnschicht-Chromatographie, Verlag Chemie, Weinheim 1965.
- 17) P. Wollenweber, J. Chromatogr. 9, 369 (1962).
- ¹⁸⁾ J. M. Hais und K. Macek, Handbuch der Papierchromatographie, 2. Aufl., Bd. 1, S. 523, VEB Fischer, Jena 1963.
- 19) A. R. Fahmy, A. Niederwieser, G. Pataki und M. Brenner, Helv. Chim. Acta 44, 2012 (1961).
- ²⁰⁾ K. N. F. Shaw und S. A. Fox, J. Amer. Chem. Soc. 75, 3421 (1953).

[253/73]

¹⁵⁾ H. Wilhelm, Diplomarbeit, Univ. Bonn 1971.