

Elisabeth Öhler, Hans Poisel, Frieda Tataruch und Ulrich Schmidt

Syntheseversuche in der Reihe der 3.6-Epidithio-2.5-dioxo-piperazin-Antibiotika Gliotoxin, Sporidesmin, Aranotin und Chaetocin, IV¹⁾

Synthese des Epidithio-L-prolyl-L-prolinanhydrids

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 2. August 1971)



Erneute Untersuchung der elektrophilen Einführung von Schwefelfunktionen in den Dioxo-piperazinkern führte zur Synthese eines amorphen Epioligothio-L-prolyl-L-prolinanhydrids (7). Aus diesem wurde durch Reduktion und folgende Dehydrierung Epidithio-L-prolyl-L-prolinanhydrid (8) gebildet, das in der Konformation und Konfiguration den natürlichen antiviralen Antibiotika entspricht.

Studies in the Synthesis of the Antibiotics Gliotoxin, Sporidesmin, Aranotin, and Chaetocin, IV¹⁾

Preparation of Epidithio-L-prolyl-L-proline Anhydride

Repeated research of the electrophilic introduction of sulfur functions into the 3- and 6-positions of 2.5-dioxopiperazines leads to the preparation of the amorphous epioligothio-L-prolyl-L-proline anhydride (7). The latter could be reduced and consequently dehydrogenated forming epidithio-L-prolyl-L-proline anhydride (8) which corresponds in conformation and configuration to the naturally occurring antiviral antibiotics.



Syntheseversuche in der Reihe der antiviralen Epidithio-dioxo-piperazin-Antibiotika haben weiterhin an Bedeutung und Reiz gewonnen, seitdem bekannt ist, daß Gliotoxin die Polymerase der RNS-abhängigen DNS-Synthese in solchen Tumoren hemmt, die durch Virusinfektion entstanden sind²⁾.

Im Anschluß an die Synthese des Epidithio-sarkosyl-sarkosinanhydrids^{3,4)} — des einfachsten Epidithio-dioxo-piperazins — haben wir uns mit dem Aufbau mehrkerniger Epidithio-dioxo-piperazine befaßt. Unser Ziel war zunächst, eine Disulfidbrücke am L-Prolyl-L-prolinanhydrid (1) auszubilden. Epidithio-L-prolyl-L-prolinanhydrid (8) entspricht nämlich hinsichtlich der Konformation (gewellte Bootform) und auch der absoluten Konfiguration des Dioxopiperazinsrings (LL) den meisten natürlichen Verbindungen.

¹⁾ III. Mitteil.: *H. Poisel und U. Schmidt*, Chem. Ber. **105**, 625 (1972), vorstehend.

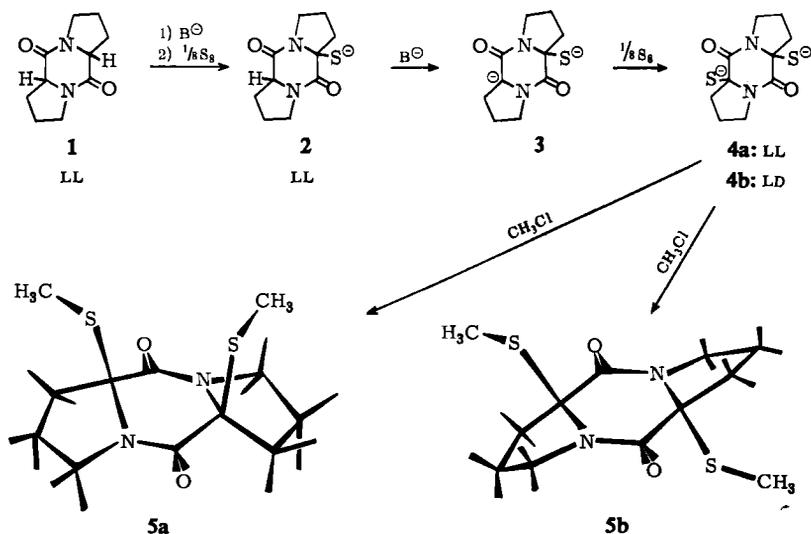
²⁾ Chem. & Eng. News **5**, 29 (1971).

³⁾ *H. Poisel und U. Schmidt*, Angew. Chem. **83**, 114 (1971); Angew. Chem. internat. Edit. **10**, 130 (1971).

⁴⁾ *H. Poisel und U. Schmidt*, Chem. Ber. **104**, 1714 (1971).

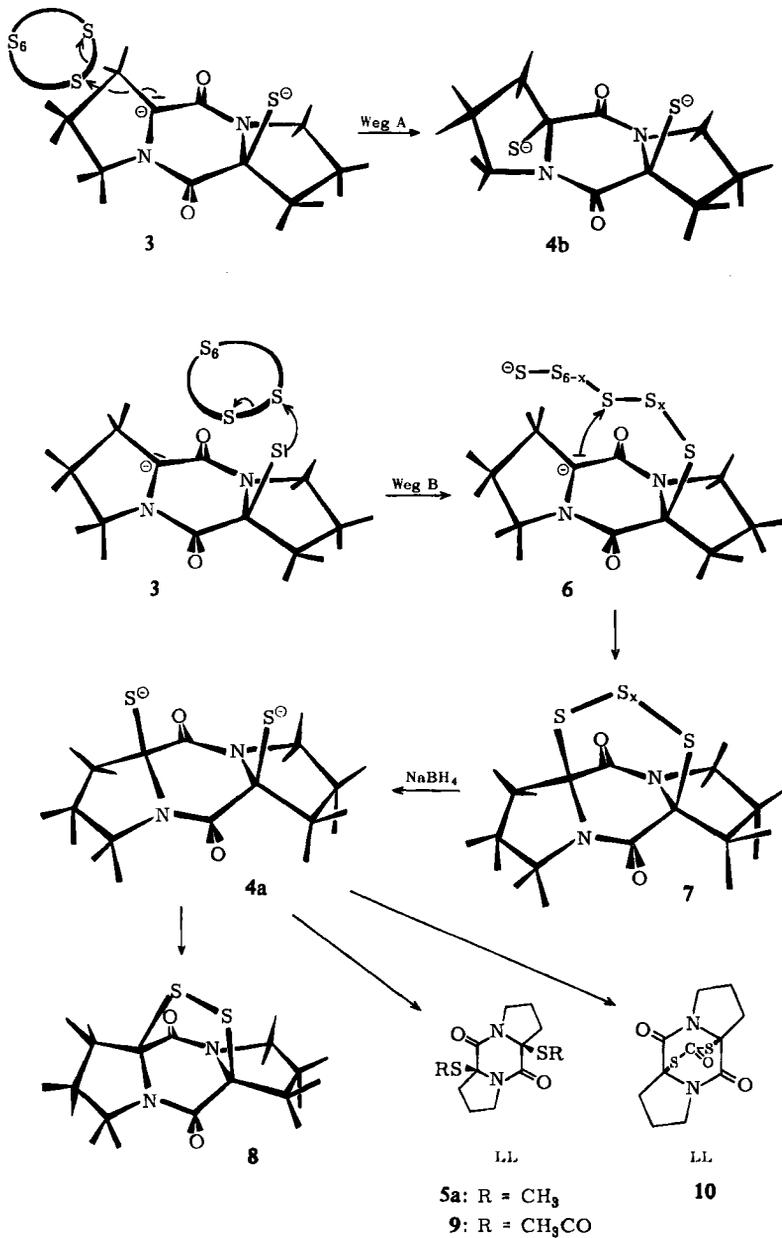
Dabei erwies es sich¹⁾ als nicht möglich, an 3,6-Dialkyl-dioxo-piperazinen die tertiären Wasserstoffe an C-3 und C-6 auf dem Wege der Bromsubstitution, gefolgt von nucleophiler Umsetzung, durch Schwefelfunktionen zu ersetzen, da stets unübersichtliche Eliminierungen eintraten. Die Einführung von Schwefel gelang dann aber durch Carbanionbildung und Reaktion mit Schwefel¹⁾. Erneute Metallierung des Mercaptids **2** und Umsetzung des Mercaptid-Carbanions **3** mit Schwefel ergab das Dimercaptid **4** und dessen Äthylisierung eine Bis-äthylmercapto-Verbindung, deren optische Inaktivität die Zugehörigkeit zur *meso*-Reihe nahelegte¹⁾.

Nach der analog durchgeführten Methylierung isolierten wir jedoch in 20proz. Ausbeute ein Produkt, das sich als *cis-trans*-Gemisch (ca. 3 : 4) (**5a** + **5b**) erwies. Eine chromatographische Auftrennung des Isomerengemisches gelang nicht, hingegen ließ sich die höher schmelzende (Schmp. 220–223°) und schwerer lösliche Verbindung **5b** durch wiederholtes Digerieren des Rohproduktes mit Aceton und Umkristallisieren aus Methanol ohne nennenswerte Verluste in reiner Form gewinnen. Im NMR-Spektrum von **5b** liegt das Signal der Methylmercaptogruppen bei τ 7.96 (Singulett). Im Spektrum des Rohproduktes wurde zusätzlich ein Methylgruppensignal bei τ 7.75 registriert, das dem Isomeren zugeordnet werden muß.



Die entsprechenden Signale der beiden *cis-trans*-isomeren Bis-methylmercapto-sarkosyl-sarcosinanhidride liegen bei τ 7.62 (*cis*) und τ 7.94 (*trans*). Diese Werte lassen sich jedoch zur Konfigurationszuordnung der beiden isomeren Bis-methylmercapto-prolyl-prolinanhidride nicht ohne weiteres heranziehen, denn die Konformation 3,6-disubstituierter Prolyl-prolinanhidride (bei *cis*-Verbindungen die einer gewellten Bootform, wobei sich die *cis*-Substituenten sehr nahe kommen) ist ganz verschieden von der der 3,6-disubstituierten Sarkosyl-sarcosinanhidride (nicht-

fixierte Bootform; *cis*-Substituenten in 3- und 6-Stellung in pseudoäquatorialer Lage weit voneinander entfernt). Eine sichere Konfigurationszuordnung der beiden Bis-methylmercapto-prolyl-prolinanhydride gelang erst später durch Korrelation des einen – und damit des *cis*-Isomeren – mittels Brückenbildungsreaktionen.



Nach zweimaliger Einführung von Schwefel in L-Prolyl-L-prolinanhydrid und anschließender Äthylierung hatte man also in ca. 10proz. Ausbeute reines *trans*-Bis-äthylmercapto-L-prolyl-L-prolinanhydrid isoliert. Nach analoger Schwefeileinführung, jedoch gefolgt von Methylierung, wurde dagegen ein Gemisch der *cis*- und *trans*-Isomeren isoliert. Der Unterschied in der Zusammensetzung der Reaktionsprodukte nach Äthylierung und Methylierung kann nicht auf einen verschiedenen Reaktionsablauf bei der Schwefeileinführung zurückgeführt werden, sondern nur auf starke sterische Behinderung bei der Bildung der *cis*-Bis-äthylmercapto-Verbindung.

Eine präzise Untersuchung der Umsetzung des Mercaptid-Carbanions **3** mit Schwefel führte schließlich zur sterischen Aufklärung des Reaktionsverlaufes und damit zur Synthese des *cis*-Dimercaptids **4a** und des gesuchten Epidisulfids **8**.

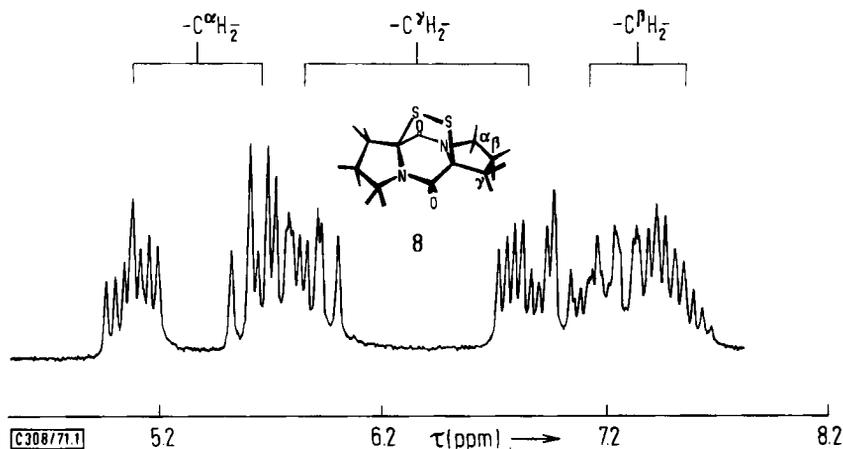
Während bei nucleophilen Reaktionen Mercaptid-Ionen um Größenordnungen schneller als Carbanionen reagieren, werden S—S-Bindungen von Mercaptid-Ionen und Carbanionen mit vergleichbaren Geschwindigkeiten geöffnet (Thiophilie)⁵⁾. Es ist also zu erwarten, daß sich bei der thiophilen Reaktion des wohl annähernd planaren C-3 im Mercaptid-Carbanion **3** das S₈-Molekül aus sterischen Gründen von der dem Mercaptid-Schwefel entgegengesetzten Seite nähert und die Reaktion zum *trans*-Dimercaptid **4b** führt (Weg A). Auch 3-Äthyl-L-prolyl-L-prolinanhydrid reagiert ja über Carbanionbildung und Äthylierung zur *trans*-Verbindung¹⁾ (3,6-Diäthyl-L-prolyl-D-prolinanhydrid). Hingegen führt der thiophile Angriff des Mercaptid-Schwefels im Mercaptid-Carbanion **3** (Weg B) zunächst zu einem Polysulfid-Anion **6**, dessen Schwefelkette anschließend intramolekular vom Carbanion-C-3 unter Bildung eines cyclischen Oligosulfids **7** angegriffen wird. Dadurch geraten die beiden Schwefelfunktionen an C-3 und C-6 in *cis*-Position. Beim Ansäuern des Reaktionsgemisches wird nun offenbar die als Dimercaptan vorliegende *trans*-Verbindung (entsprechend **4b**) als säureempfindliches Mercapto-Aminal schnell zerstört. Der Anteil mit *cis*-Anordnung der Schwefelfunktionen, der hauptsächlich als (amorphes) cyclisches Oligosulfid **7** vorliegen dürfte, ist jedoch im sauren Bereich stabiler und läßt sich anschließend mit Boranat zum Dimercaptid **4a** reduzieren, dessen *cis*-Konfiguration aus dem Ringschluß mit Phosgen zum Dithiocarbonat **10** folgt.

Das **4a** entsprechende Dimercaptan nahm man durch schnelles Ansäuern nach der Boranatreduktion und Ausschütteln in Chloroform auf und dehydrierte in dieser Lösung nach Abpumpen restlichen Schwefelwasserstoffs mit wäßriger Jod-Jodkalium-Lösung zum Epidisulfid **8**, das sich durch vorsichtiges Umkristallisieren, wobei man Erwärmen vermied, reinigen ließ. Die Ausbeute an rohem Epidithio-L-prolyl-L-prolinanhydrid betrug 40% d. Th., bezogen auf L-Prolyl-L-prolinanhydrid.

cis-Dithioacetat **9**, Dithiocarbonat **10** und Epidisulfid **8** zeigten optische Aktivität bei der D-Linie.

Das tiefer schmelzende (178°) der beiden isomeren Bis-methylmercapto-prolyl-prolinanhydride ist die *cis*-Verbindung, denn es kann aus der Lösung von **4a** durch Methylierung gebildet werden, wobei keine Inversion zu erwarten ist. Die optische Aktivität dieses Isomeren bei der D-Linie ist nur sehr schwach.

⁵⁾ W. A. Pryor, Mechanisms of Sulfur Reactions, S. 60ff., Mc Graw Hill Book Company, Inc., New York 1962.



NMR-Spektrum von **8** bei 100 MHz in CDCl_3 + $\text{Eu}(\text{DPM})_3$ mit TMS als innerem Standard, aufgenommen bei 50° .

Das ursprünglich sehr komplexe NMR-Spektrum von **8** läßt sich durch Zusatz von $\text{Eu}(\text{DPM})_3$ weitgehend auflösen.

Für die Aufnahme und Diskussion dieses Spektrums danken wir Herrn Dr. G. Schulz, Sandoz-Forschungsinstitut Wien.

Wir danken dem *Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* für die Mittel zur Anschaffung eines CH-7-Massenspektrometers und eines XL100-NMR-Spektrometers.

Beschreibung der Versuche

3.6-Bis-methylmercapto-prolyl-prolinanhydrid, cis-trans-Isomerengemisch (5a + 5b): In eine Suspension von *Natriumamid* (aus 0.25 g (10.9 mg-Atom) Natrium) in 50 ccm trockenem flüssigem Ammoniak trägt man unter Rühren portionsweise 1.94 g (10.0 mmol) *L-Prolyl-L-prolinanhydrid* (**1**) und nach 10 Min. 0.35 g (11 mg-Atom) *Schwefel* ein. Die nach 1 Stde. entstandene, dunkel gefärbte Lösung des Natriummercaptids läßt man vorsichtig zu einer Suspension von *Natriumamid* (aus 0.25 g (10.9 mg-Atom) Natrium) in 50 ccm flüssigem Ammoniak einfließen. Nach 15 Min. werden der entstandenen Suspension 0.35 g (11 mg-Atom) *Schwefel* zugefügt. Nach 60 Min. Reaktionszeit leitet man etwa 30 Min. lang trockenes *Methylchlorid* ein, läßt das Ammoniak abdampfen und nimmt in Wasser/Methylenchlorid auf. Aus dem nach Abdampfen des Methylenchlorids verbleibenden Rückstand erhält man durch Verreiben mit Essigester/Äther 0.55 g (19.2%) *Isomerengemisch 5a + 5b*.

$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ (286.3) Ber. C 50.34 H 6.34 S 22.35 Gef. C 50.26 H 5.99 S 22.28

NMR (CDCl_3): *cis* τ 7.75 (s, $-\text{SCH}_3$); *trans* τ 7.96 (s, $-\text{SCH}_3$). Intensitätsverhältnis etwa 3 : 4.

trans-3.6-Bis-methylmercapto-prolyl-prolinanhydrid (5b): Man kocht 1.00 g des oben erhaltenen *Isomerengemisches (5a + 5b)* 15 Min. in 20 ccm Aceton. Nach Absaugen des Rückstandes und Umkristallisieren desselben aus Methanol erhält man 0.53 g **5b**. Farblose Kristalle vom Schmp. $220-223^\circ$.

NMR (CDCl_3): τ 5.68–6.56 (m, 4 H); 7.27–8.19 (m, 8 H); 7.96 (s, 6 H).

MS: M^+ 286 (nachweisbar), 239 ($\text{M}^+ - \text{SCH}_3$, 39%), 192 ($\text{M}^+ - 2 \text{SCH}_3$, 100%), 164 ($\text{M}^+ - 2 \text{SCH}_3 - \text{CO}$, 21%), 136 ($\text{M}^+ - 2 \text{SCH}_3 - 2 \text{CO}$, 7%).

Methanolische Lösung des cis-Dimercaptids (4a): Man setzt 1.94 g (10 mMol) **1** ($[\alpha]_D^{25}$: -115° , $c = 2.25$, CHCl_3), wie bei der Darstellung des Isomeren Gemisches **5a** + **5b** beschrieben, mit Natriumamid und Schwefel um. Nach der zweiten Schwefelzugabe läßt man das Ammoniak über einen Zeitraum von etwa 2 Stdn. abdampfen. Der Rückstand wird mit 10proz. Schwefelsäure angesäuert und sofort mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Man trocknet die organische Phase, entfernt das Methylenchlorid i. Vak., nimmt in 40 ccm absol. Methanol auf, versetzt unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluß portionsweise mit 1.0 g (26.3 mMol) Natriumborant und rührt 30 Min. nach.

3.6-Epicarbonyldithio-prolyl-prolinanhydrid (10): Man entfernt aus der oben erhaltenen Lösung von **4a** unter Sauerstoffausschluß i. Vak. das Methanol und nimmt unter Stickstoff mit 10 ccm entgastem Wasser auf. Nun wird unter Rühren und Kühlen mit Eis eine Lösung von 1.4 g (14.1 mMol) Phosgen in 20 g Toluol zugetropft. Man läßt auf Raumtemp. erwärmen, trennt die Toluolphase ab, wäscht mit Wasser nach und erhält nach Einengen und Verreiben des Rückstandes mit Essigester 0.60 g farblose Kristalle. Aus den vereinigten wäßrigen Phasen lassen sich durch Ausschütteln mit Methylenchlorid weitere 0.1 g **10** gewinnen. Ausb. 24.6%, aus Eisessig farblose Kristalle, Schmp. $169-170^\circ$ (Zers.), $[\alpha]_D^{25}$: -115.1° ($c = 1.46$, CHCl_3).

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$ (284.2) Ber. C 46.48 H 4.26 N 9.86 S 22.52

Gef. C 46.25 H 4.27 N 9.67 S 22.38

Mol.-Gew. 292 (osmometr. in Chloroform)

IR (CH_2Cl_2): CO-Banden bei 1620 und 1690/cm.

3.6-Epidithio-L-prolyl-L-prolinanhydrid (8): Die entsprechend **4a** aus 1.94 g **1** erhaltene methanolische Lösung wird unter Sauerstoffausschluß zur Trockene eingengt, mit 30 ccm entgastem Wasser und 30 ccm Chloroform versetzt und mit 10proz. Schwefelsäure rasch angesäuert. Die Chloroformphase wird abgetrennt und entstandener Schwefelwasserstoff i. Vak. abgepumpt. Nun wird im Scheidetrichter die mit 25 ccm Wasser überschichtete Chloroformphase unter kräftigem Schütteln mit 10proz. KJ_3 -Lösung bis zur bleibenden Rosafärbung versetzt. Überschüssiges Jod wird mit einigen Tropfen verdünnter, wäßriger Thiosulfatlösung entfernt. Aus der organischen Phase erhält man nach Abziehen des Chloroforms durch Verreiben mit wenig eiskaltem Wasser 1.15 g (44.9%) rohes **8**. $[\alpha]_D^{25}$: -54.5° ($c = 0.56$, CHCl_3). Die Substanz kann durch Lösen in Acetonitril bei Raumtemp. und Tiefkühlen (-40°) gereinigt werden. Zers.-P. 135° .

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ (256.2) Ber. C 46.88 H 4.72 N 10.93 S 24.98

Gef. C 46.75 H 4.68 N 10.72 S 24.40

Mol.-Gew. 256 (massenspektrometr.),
275 (osmometr. in CHCl_3)

MS: M^+ 256 (0.01%), 192 ($\text{M}^+ - \text{S}_2$, 100%).

cis-3.6-Bis-acetylmercapto-prolyl-prolinanhydrid (9): Zu der aus 1.94 g **1** erhaltenen methanolischen Lösung von **4a** tropft man bei -5° unter Luftausschluß 10 ccm Acetanhydrid, läßt auf Raumtemp. erwärmen und rührt 1 Stde. nach. Nach Entfernung des Lösungsmittels wird in Methylenchlorid aufgenommen, die organische Phase mit Wasser gewaschen und anschließend i. Vak. eingedampft. Der Rückstand kristallisiert bei Verreiben mit Essigester. 1.1 g (32.2%) farblose Kristalle aus Essigester, Schmp. $156-161^\circ$, $[\alpha]_D^{25}$: -13.7° ($c = 1.67$, CHCl_3).

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$ (342.3) Ber. C 49.12 H 5.30 N 8.18 S 18.69

Gef. C 49.31 H 5.23 N 8.23 S 18.89

NMR (CDCl_3): τ 6.06–6.44 (m, 4 H); 6.63–7.10 (m, 2 H); 7.18–8.22 (m, 6 H); 7.68 (s, 6 H).

cis-3.6-Bis-methylmercapto-prolyl-prolinanhydrid (**5a**): In die methanolische Lösung von **4a** (aus 1.94 g (10.0 mMol) **1**) wird bis zur Sättigung trockenes *Methylchlorid* eingeleitet. Man dampft zur Trockene und nimmt in Wasser/Methylenchlorid auf. Aus dem nach Entfernen des Methylenchlorids verbleibenden öligen Rückstand werden durch Verreiben mit wenig kaltem Essigester 0.70 g (24.5%) **5a** vom Schmp. 178–180° (aus Methanol) erhalten. $[\alpha]_D^{25}$: -2.48° ($c = 2.27$, CHCl_3).

$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ (286.3) Ber. C 50.34 H 6.34 N 9.79 S 22.35

Gef. C 50.41 H 6.24 N 9.80 S 22.52

NMR (CDCl_3): τ 6.08–6.50 (m, 4 H), 7.24–8.37 (m, 8 H), 7.75 (s, 6 H).

MS: M^+ 286 (0.01%), 239 ($\text{M}^+ - \text{SCH}_3$, 58%), 211 ($\text{M}^+ - \text{SCH}_3 - \text{CO}$, 14%), 192 ($\text{M}^+ - 2 \text{SCH}_3$, 100%), 164 ($\text{M}^+ - 2 \text{SCH}_3 - \text{CO}$, 19%).

[308/71]