

Über Aminosäuren und Peptide, XVI¹⁾

Über Dehydroaminosäuren, III²⁾. Additionen an α -Iminocarbonsäuren

Hans Poisel und Ulrich Schmidt*

Organisch-Chemisches Institut der Universität Wien,
Währinger Straße 38, A-1090 Wien IX

Eingegangen am 24. Februar 1975

Als Beispiele für Anlagerungsreaktionen an α -Iminocarbonsäurederivate werden Additionsreaktionen an Dehydroprolin-methylester (1) und Dehydroprolin-methylamid (2) beschrieben. Synthetisch wertvoll sind die Anlagerungsprodukte von Carbonsäurechloriden (z. B. 6 und 7), von denen Wege zu α -Alkoxy- α -acylaminocarbonsäuren (10), α -Acetylthio- α -acylaminocarbonsäuren (11) und α -Acylamino- α,β -dehydrocarbonsäuren (12 und 13) führen. Die Additionsprodukte α -substituierter Carbonsäurechloride wie α -Brompropionylchlorid und Pyruvoylchlorid an die Dehydroprolinverbindungen (z. B. 14 und 17) führen zu Cyclodipeptiden mit α -Alkoxy- und α -Mercaptofunktionen (15, 16, 18, 19).

On Amino Acids and Peptides, XVI¹⁾

On Dehydroamino Acids, III²⁾. Addition Reactions to α -Iminocarboxylic Acids

Addition reactions to dehydroproline methyl ester (1) and dehydroproline methylamide (2) are described as examples for additions to α -iminocarboxylic acid derivatives. The addition products of carbonyl chlorides (e. g. 6 and 7) are synthetically important as they allow to synthesize α -alkoxy- α -acylaminocarboxylic acids (10), α -acetylthio- α -acylaminocarboxylic acids (11), and α -acylamino- α,β -dehydrocarboxylic acids (12 and 13). The addition products of α -substituted carbonyl chlorides such as α -bromopropionyl chloride and pyruvoyl chloride to dehydroproline compounds (e. g. 14 and 17) lead to cyclodipeptides with α -alkoxy and α -mercapto functions (15, 16, 18, 19).

In der letzten Mitteilung über Dehydroaminosäuren²⁾ hatten wir die Herstellung von α -Imino- und α -Alkyliminocarbonsäurederivaten sowie α -Acylamino- α,β -dehydrocarbonsäurederivaten durch Chlorierung – Dehydrochlorierung beschrieben. Dabei war schon die Addition von Alkohol an die Iminoverbindungen aufgefallen. Wir teilen im folgenden weitere Additionen an α -Iminocarbonsäureverbindungen mit.

Diese Untersuchungen – die das Ziel verfolgen, die auch biologisch engen Beziehungen und Umwandlungen zwischen α -Hydroxy-, α -Mercapto- und α,β -Dehydro- α -aminosäuren aufzuzeigen³⁾ – werden an den besonders stabilen 1,2-Dehydroprolin-Verbindungen 1 und 2 durchgeführt. Im Unterschied zu den α -Iminoverbindungen nichtcyclischer Car-

¹⁾ XV. Mittel.: E. Öhler und U. Schmidt, Chem. Ber. 108, 2907 (1975), vorstehend.

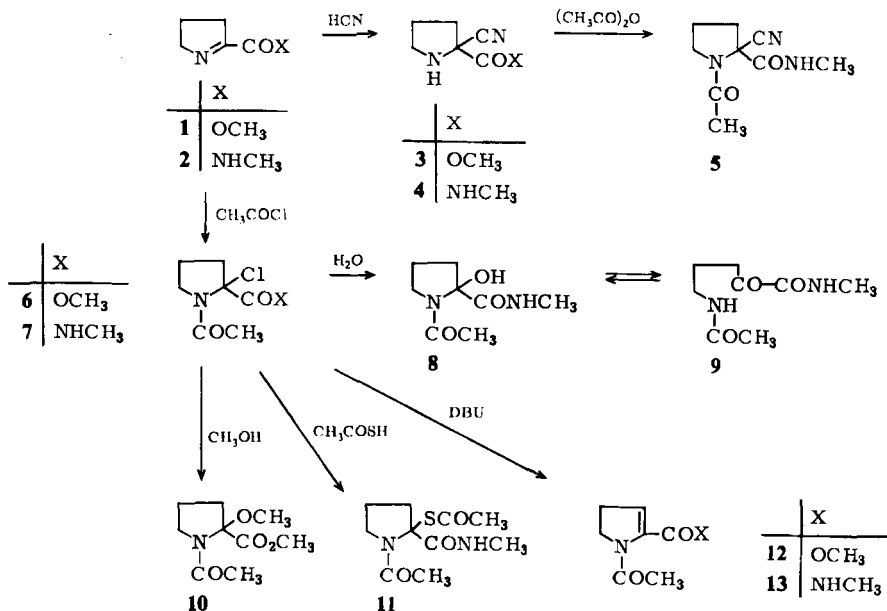
²⁾ II. Mittel.: H. Poisel und U. Schmidt, Chem. Ber. 108, 2547 (1975).

³⁾ In I. c.²⁾ war auf die Beziehungen von α -Alkoxy- α -aminosäuren, α,β -Dehydro- α -aminosäuren und α -Mercapto- α -aminosäuren untereinander und ihr Vorkommen als Metaboliten von Mikroorganismen hingewiesen worden.

bonsäuren, die rasch dimerisieren und deshalb unmittelbar nach ihrer Bildung umgesetzt werden müssen, sind die entsprechenden Prolinverbindungen **1** und **2** im Eisschrank monatelang haltbar. Gegenüber Alkoholen und Thiolen — die sich an α -Iminverbindungen nichtcyclischer Carbonsäuren schnell addieren — sind **1** und **2** indifferent. Thioessigsäure reagiert nur unter Salzbildung. Cyanwasserstoff addiert sich an **1** und **2** glatt zu den labilen α -Cyan- α -aminocarbonsäurederivaten **3** und **4**, die beim Versuch der Destillation wieder in die Ausgangskomponenten zerfallen. Acetylierung von **4** ergibt das stabile Amid **5**.

Leicht und quantitativ addieren sich Carbonsäurechloride zu den empfindlichen α -Chloraminen des Typs **6** und **7**, die in Äther schwerlöslich ausfallen und *in situ* mit Nucleophilen zu einer Vielzahl α -substituierter α -Aminosäurederivate umgesetzt werden können:

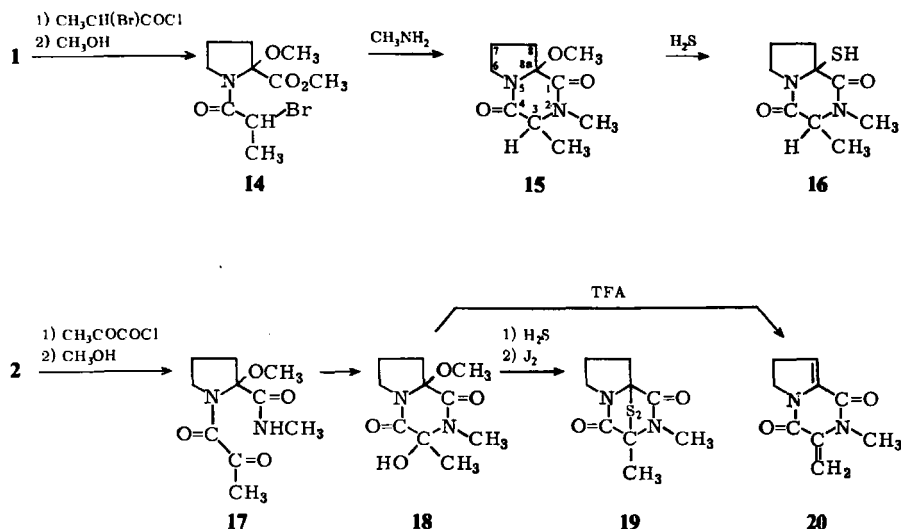
Das Acetylchloridaddukt **7** bildet mit Wasser die Hydroxyverbindung **8**, die mit ihrem Kettentautomerem **9** im Gleichgewicht steht. Die Lage des Gleichgewichts ist lösungsmittelabhängig: das Konzentrationsverhältnis **8** : **9** beträgt in Wasser etwa 60 : 40, in Chloroform ca. 50 : 50. In Pyridin ist praktisch nur die nichtcyclische Verbindung zu erkennen. — Mit Alkohol und Thioessigsäure entstehen aus den Verbindungen **6** und **7** die α -Methoxy- und die α -Acetylthioerivate **10** und **11** des *N*-Acetylprolins, starke Basen wie Diazabicyclo- undecen führen zum *N*-Acyl- α,β -dehydroprolinderivat (**12** und **13**).



Die Addition α -substituierter Carbonsäurechloride bietet einen praktischen Weg zum Aufbau von mercapto- und hydroxysubstituierten cyclischen Dipeptiden. Die Reaktionsfolge **1** \rightarrow **14** \rightarrow **15** \rightarrow **16** illustriert die Synthese monomercapto-substituierter Cyclodipeptide. Die Addition des α -Brompropionylchlorids, die Umsetzung mit Alkohol und der Ringschluß mit Methylamin werden ohne Isolierung der Zwischenstufe **14** durchgeführt und ergeben mit 68% Ausbeute das Alkyoxydipeptid **15**, aus dem mit Schwefelwasserstoff

mit 71 % Ausbeute die Mercaptoverbindung **16** entsteht⁴⁾. Man erhält dabei jeweils nur eines der beiden möglichen Diastereomeren. Durch Vergleich mit den NMR-Spektren von *cis*- und *trans*⁵⁾-Prolyl-*N*-methylalanin-anhydrid wird für **15** und **16** die *cis*-Konfiguration wahrscheinlich.

Zu disubstituierten Cyclodipeptiden führt die Addition des leicht zugänglichen Brenztraubensäurechlorids⁶⁾ an 1,2-Dehydroprolin-methylamid. Säurechlorid-Addition und Umsetzung mit Alkohol führt zu einer Mischung aus Pyruvoylverbindung **17** mit den beiden *cis*-*trans*-isomeren Cyclodipeptiden **18**, die durch Behandlung mit sehr verdünnter Salzsäure vollkommen in das Gemisch der *cis*-*trans*-isomeren Cyclodipeptide **18** übergeht. Aus dieser Mischung kann zur Feststellung der Struktur mit Trifluoressigsäure Wasser und Alkohol abgespalten werden zum bekannten Diolefin **20**¹⁾. Mit Schwefelwasserstoff unter Mercaptalisierungsbedingungen bildet das *cis*-*trans*-Isomerengemisch **18** die thermodynamisch stabilere *cis*-Dimercaptoverbindung, die – mit Jod dehydriert – in das Disulfid **19** übergeht⁷⁾.



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-Einheit.

⁴⁾ Zum Austausch von α -Alkoxygruppen in cyclischen Dipeptiden gegen Mercaptogruppen vgl. E. Öhler, F. Tataruch und U. Schmidt, Chem. Ber. **106**, 165 (1973).

⁵⁾ l. c.⁷⁾, Fußnote¹¹⁾.

⁶⁾ J. Häusler und U. Schmidt, Chem. Ber. **107**, 145 (1974).

⁷⁾ Zum Ringschluß von Pyruvoylaminosäureamiden zu hydroxylsubstituierten Cyclopeptiden vgl. J. Häusler und U. Schmidt, Chem. Ber. **107**, 2804 (1974) und l. c.¹⁾.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte: Heizmikroskop nach Kofler, nicht korrigiert. — NMR-Spektren: Varian A 60-A und XL-100. Wenn nicht anders angeführt, wurde CDCl_3 als Lösungsmittel und TMS als innerer Standard verwendet.

2-Cyanprolin-methylester (3): Eine Lösung von 1.0 g 1,2-Dehydroprolin-methylester (**1**)²⁾ in 20 ml Äther wird mit 3 ml wasserfreier Blausäure über Nacht stehengelassen. Nach Abpumpen des Lösungsmittels und der überschüss. Blausäure bleibt ein Öl zurück, welches nicht weiter gereinigt wurde. — ¹H-NMR: $\tau = 6.10$ (s, 3 H), 6.80 (t, 2 H), 6.57–7.30 (breites s, 1 H), 7.30–8.33 (m, 4 H).

2-Cyanprolin-methylamid (4): Eine Lösung von 1.30 g 1,2-Dehydroprolin-methylamid (**2**)²⁾ in 35 ml Äther wird mit 3 ml wasserfreier Blausäure versetzt. Man läßt über Nacht stehen, zieht das Lösungsmittel an der Ölpumpe ab, verreibt mit Äther/Petroläther und isoliert 1.45 g (92%) farblose Kristalle vom Schmp. 55–58°C. — ¹H-NMR: $\tau = 2.56$ (s, 1 H), 6.80 (t, 2 H), 7.08–8.36 (m, 5 H), 7.16 (d, 3 H).

$\text{C}_7\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}$ (153.2) Ber. C 54.88 H 7.24 N 27.43 Gef. C 54.95 H 7.36 N 27.30

1-Acetyl-2-cyanprolin-methylamid (5): 0.70 g **4** werden mit 5 ml Acetanhydrid über Nacht stehengelassen. Man versetzt mit Äther und saugt vom gebildeten kristallinen Niederschlag ab. Ausb. 0.65 g (73%), Schmp. 169–170°C. — ¹H-NMR: $\tau = 3.16$ (s, 1 H), 6.32 (t, 2 H), 7.10 (d, 3 H), 7.20 bis 8.14 (m, 4 H), 7.86 (s, 3 H).

$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2$ (195.2) Ber. C 55.37 H 6.71 N 21.53 Gef. C 55.30 H 6.55 N 21.70

5-Acetamido-2-oxovalerian-methylamid (9): Man versetzt das Additionsprodukt von 0.78 g (10.0 mmol) Acetylchlorid und 1.26 g (10.0 mmol) **2**²⁾ in 35 ml Methylenchlorid mit 3 ml Wasser in 10 ml Dioxan. Die entstandene Lösung wird nach 30 min zur Trockene eingeeengt und der feste Rückstand 3 mal mit 30 ml Äthylacetat ausgekocht. Nach Trocknen und Abdampfen der Extrakte Ausb. 0.75 g (40%). Zur Reinigung kann i. Hochvak. sublimiert werden (140°C). Schmp. 128 bis 130°C (Lit.¹⁾ 129–133°C). Die Spektren sind in l. c.¹⁾ wiedergegeben.

1-Acetyl-2-methoxyprolin-methylester (10): Zu einer Lösung von 1.0 g (7.9 mmol) **1**²⁾ in 5 ml trockenem Methylenchlorid tropft man unter Kühlung mit kaltem Wasser eine Lösung von 0.62 g (7.9 mmol) Acetylchlorid in 5 ml absol. Methylenchlorid. Nach 10 min werden 4 ml Methanol zugefügt. Man läßt 30 min stehen, wäscht das Reaktionsgemisch mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung, trocknet mit Na_2SO_4 und entfernt das Lösungsmittel i. Vak. Das zurückbleibende Öl wird im Kugelrohr (0.01 Torr, Badtemp. 80–90°C) destilliert. Man erhält 0.9 g (ca. 63%) farbloses Öl, welches meist wenige Prozent **12** enthält. — ¹H-NMR: $\tau = 5.88$ –6.56 (m, 2 H), 6.24 (s, 3 H), 6.60 (s, 3 H), 7.48–8.40 (m, 4 H), 7.88 (s, 3 H). — Weitere Singulets wurden bei $\tau = 6.18$, 6.66 und 8.02 beobachtet. Die Signale, deren Intensität etwa 10% der Methylgruppen beträgt, sind durch die an der Amidbindung auftretende *cis-trans*-Isomerie erklärbar, was durch Hochtemperaturaufnahmen in Perchlorbutadien belegt wurde (Koaleszenztemp. $\approx 40^\circ\text{C}$).

1-Acetyl-2-(acetylthio)prolin-methylamid (11): Man löst 0.63 g (5.0 mmol) **2**²⁾ in 10 ml absol. Methylenchlorid. Unter Außenkühlung mit kaltem Wasser werden 0.39 g (5.0 mmol) Acetylchlorid in 5 ml CH_2Cl_2 eingetroppt. Das Additionsprodukt fällt dabei teilweise aus. Nach 30 min gibt man 0.38 g (5.0 mmol) Thioessigsäure in 5 ml CH_2Cl_2 dazu. Man läßt die entstandene klare Lösung 1 h stehen, schüttelt mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung durch, trocknet und entfernt das Lösungsmittel. Die zurückbleibende kristalline Substanz wird mit Äther verrieben. Ausb. 0.71 g (58%) farblose Kristalle vom Schmp. 172–173°C. — ¹H-NMR: $\tau = 2.54$ (s, 1 H), 6.13–6.48 (m, 2 H), 6.82–8.26 (m, 4 H), 7.21 (d, 3 H), 7.70 (s, 3 H), 7.90 (s, 3 H).

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ (244.2) Ber. C 49.17 H 6.60 N 11.47 Gef. C 49.39 H 6.54 N 11.20

1-Acetyl-2,3-dehydroprolin-methylester (12): Wie bei der Herstellung von 10 beschrieben, werden 0.62 g (7.9 mmol) Acetylchlorid mit 1.0 g (7.9 mmol) 1²⁾ umgesetzt. Nach 5 min wird eine Lösung von 1.2 g (7.9 mmol) 1,7-Diazabicyclo[5.4.0]undec-5-en in 5 ml CH₂Cl₂ zuge tropft, wobei sich das Diazabicycloundecen-hydrochlorid ölig abscheidet. Man rührt 1 h nach, schüttelt mit verd. Salzsäure und gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung durch, trocknet und engt ein. Das zurückbleibende Öl erstarrt nach Kugelrohrdestillation. Ausb. 0.95 g (71 %), Schmp. 62–64°C (Äther). – ¹H-NMR: τ = 4.08 (t, 1H), 5.98 (t, 2H), 6.18 (s, 3H), 7.18–7.42 (m, 2H), 7.9 (s, 3H).

C₈H₁₁NO₃ (169.2) Ber. C 56.79 H 6.55 N 8.28 Gef. C 56.50 H 6.60 N 8.14

1-Acetyl-2,3-dehydroprolin-methylamid (13): Wie bei der Herstellung von 11 beschrieben, werden 0.63 g (5.0 mmol) 2²⁾ in absol. Methylenchlorid mit 0.39 g (5.0 mmol) Acetylchlorid umgesetzt. Nach 30 min werden 0.76 g (5.0 mmol) 1,7-Diazabicyclo[5.4.0]undec-5-en in 5 ml Methylenchlorid zuge tropft. Man läßt die entstandene klare Lösung 30 min stehen, schüttelt einmal mit gesätt. Kochsalzlösung durch, trocknet und entfernt das Lösungsmittel i. Vak. Man erhält 0.53 g (63 %) eines farblosen Öls. Durch Destillation i. Hochvak. kann das Produkt weiter gereinigt werden. Beim Verreiben mit Äther erhält man farblose Kristalle vom Schmp. 95–100°C. – ¹H-NMR: τ = 2.32 (breites s, 1H), 3.96 (breites s, 1H), 5.98 (t, 2H), 7.12 (d, 3H), 7.24–7.52 (m, 2H), 7.86 (s, 3H).

C₈H₁₂N₂O₂ (168.2) Ber. C 57.13 H 7.19 N 16.66 Gef. C 56.88 H 7.06 N 16.92

8a-Methoxy-2,3-dimethylperhydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-1,4-dion („6-Methoxy-prolyl-N-methylalanin-anhydrid“) (15): Zu einer Lösung von 7.1 g (55.9 mmol) 1²⁾ in 120 ml absol. Äther tropft man unter Rühren und Kühlen mit Eis eine Lösung von 11.0 g (59.4 mmol) 2-Brompropionylchlorid. Es bildet sich ein gelber Niederschlag. Man rührt 10 min, tropft anschließend eine Lösung von 4.69 g (59.4 mmol) Pyridin in 90 ml Methanol zu, läßt die gebildete klare Lösung auf Raumtemp. erwärmen, zieht das Lösungsmittel i. Vak. ab, nimmt in Chloroform auf und schüttelt mit gesätt. Kochsalzlösung durch. Das nach Trocknen und Abdampfen des Chloroforms zurückbleibende Öl wird mit einer Lösung von 18 ml Methylamin in 180 ml Methanol versetzt und einige Tage bei Raumtemp. stehengelassen. Man dampft das Lösungsmittel i. Vak. ab und nimmt den Rückstand in Chloroform auf. Nach Waschen mit sehr verd. Salzsäure und gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung wird getrocknet und eingengt. Der ölige Rückstand wird im Kugelrohr bei einer Badtemp. von 100–110°C (0.01 Torr) destilliert. Man erhält 8.1 g (68 %, bezogen auf 1) farbloses Öl, welches beim Verreiben mit Äther kristallisiert. Schmp. 83–84°C. – ¹H-NMR: τ = 6.12 (q, 1H), 6.24 bis 66.50 (m, 2H), 6.70 (s, 3H), 7.00 (s, 3H), 7.22–8.22 (m, 4H), 8.40 (d, 3H).

C₁₀H₁₆N₂O₃ (212.2) Ber. C 56.59 H 7.60 N 13.20 Gef. C 56.60 H 7.51 N 13.44

8a-Mercapto-2,3-dimethylperhydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-1,4-dion („6-Mercaptoprolyl-N-methylalanin-anhydrid“) (16): In eine Lösung von 2.5 g 15 in 100 ml trockenem Chloroform wird 15 min H₂S eingeleitet. Unter kräftigem Rühren wird eine Spatelspitze wasserfreies Zinkchlorid zugegeben. Man läßt 7 h reagieren, wobei ein schwacher H₂S-Strom durch die Lösung geblasen wird. Etwa alle 60 min wird eine weitere Spatelspitze ZnCl₂ zugegeben. Zur Aufarbeitung wird zunächst die Hauptmenge des gelösten H₂S durch Abpumpen entfernt. Man versetzt nun mit 50 ml Wasser und schüttelt bis zur Lösung der Salze. Die wasserfreie Phase wird noch zweimal mit Chloroform ausgeschüttelt, und die vereinigten Extrakte werden mit wenig Wasser gewaschen. Nach Trocknen und Entfernen des Lösungsmittels bleibt ein farbloses Öl zurück, welches beim Verreiben mit Äther kristallisiert. Ausb. 1.9 g (71 %), Schmp. 116–117°C. – ¹H-NMR: τ = 6.06 (q, 1H), 6.21–6.48 (m, 2H), 6.98 (s, 3H), 7.09 (s, 1H), 7.42–8.13 (m, 4H), 8.34 (d, 3H).

C₉H₁₄N₂O₂S (214.2) Ber. C 50.46 H 6.59 N 13.08 Gef. C 50.60 H 6.62 N 13.20

3-Hydroxy-8a-methoxy-2,3-dimethylperhydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-1,4-dion (cis-trans-Isomeren-gemisch) (18): Zu einer Lösung von 1.5 g (11.9 mmol) 2²⁾ in 40 ml absol. Äther tropft man unter Eiskühlung und kräftigem Rühren eine Lösung von 1.5 g (14.2 mmol) Brenztraubensäurechlorid⁶⁾

in 5 ml Äther. Das Additionsprodukt fällt dabei als käsiger Niederschlag aus. Nach 10 min tropft man 1.12 g (14.2 mmol) Pyridin in 20 ml Methanol zu, wobei sich der Niederschlag langsam löst. Man läßt 2 h bei Raumtemp. stehen und dampft anschließend das Lösungsmittel i. Vak. vorsichtig ab. Der ölige Rückstand wird in Chloroform aufgenommen und die Lösung 2 mal mit gesätt. Kochsalzlösung durchgeschüttelt. Nach Trocknen und Entfernen des Lösungsmittels verbleiben 2.1 g (77%) eines farblosen Öls. In dem sehr komplexen $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erkennt man neben einer 1:1-Mischung der beiden *cis-trans*-isomeren Dioxopiperazine noch etwa 30% 2-Methoxy-1-pyruvoylprolin-methylamid (17). Zur vollständigen Cyclisierung wird das Substanzgemisch in 100 ml 0.001 N HCl gelöst und 24 h stehengelassen. Man gibt eine Spatelspitze Natriumhydrogencarbonat zu, engt fast bis zur Trockene ein und schüttelt 2 mal mit Chloroform aus. Nach Trocknen und Abziehen des Chloroforms erhält man 2.0 g Öl zurück. Im DC und im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum wird kein nichtcyclisches Produkt mehr gefunden. Zur weiteren Charakterisierung wird 1.0 g des Öls in 2 ml Trifluoressigsäure 45 min auf 40°C erwärmt. Nach Einengen i. Vak. wird der Rückstand in Chloroform aufgenommen, mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung ausgeschüttelt und getrocknet. Nach Abdampfen erhält man 0.35 g (45%) des bekannten ^{11}C -2,3-Dehydroprolyl-*N*-methyl-1,2-dehydroalanin-anhydrids (20).

2,3-Dimethyl-perhydro-3,8a-epidithiopyrrolo[1,2-a]pyrazin-1,4-dion („3,6-Epidithioprolyl-*N*-methylalanin-anhydrid“) (19)¹⁾: Man löst 2.0 g (8.8 mmol) des öligen Rohproduktes 18 in 100 ml absol. Chloroform und leitet unter Rühren H_2S ein. Nach 15 min wird eine Spatelspitze ZnCl_2 zugegeben. Man setzt das Einleiten von H_2S 7 h fort und fügt stündlich wenig frisches ZnCl_2 zu. Anschließend versetzt man mit Wasser, schüttelt, bis die Salze gelöst sind, trennt ab und extrahiert die wäbr. Phase noch 2 mal mit Chloroform. Die vereinigten Chloroformphasen werden zur Entfernung von H_2S i. Vak. teilweise eingengt. Anschließend wird mit 20 ml Wasser überschichtet und unter kräftigem Schütteln mit 10proz. KJ_3 -Lösung bis zur bleibenden Rosafärbung versetzt. Man entfernt das überschüss. Jod mit einigen Tropfen wäbr. Thiosulfatlösung. Die organ. Phase wird abgetrennt, getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. abgedampft. Der ölige Rückstand kristallisiert nach Versetzen mit wenig Methanol/Wasser und Abpumpen an der Ölpumpe. Ausb. 0.8 g (ca. 37%). Schmp., DC-Verhalten und NMR-Spektrum sind identisch mit den in der vorstehenden Arbeit beschriebenen Daten ¹⁾.

[68/75]