

Über Aminosäuren und Peptide, XXVII<sup>1)</sup>

Über Dehydroaminosäuren, XIV<sup>2)</sup>

## Biomimetische Versuche zur Cysteinbildung<sup>3,4)</sup>.

### Addition von SH-Verbindungen an Dehydroaminosäuren

Elisabeth Öhler, Erhard Prantz und Ulrich Schmidt<sup>\*,\*\*)</sup>

Organisch-Chemisches Institut der Universität Wien,  
Währingerstr. 38, A-1090 Wien IX

Eingegangen am 6. Juni 1977

1. Die Stereoselektivität der Thioladdition an Dehydrodipeptide in Abhängigkeit von Struktur und Reaktionsbedingungen wurde untersucht. Bei thiolat-katalysierter Addition von Thiolen an die Dehydroalanyl-prolinamide (**7–10**) wird mit hoher optischer Induktion das D-Cysteinylpeptid gebildet; nahezu keine Induktion wird bei den analogen Dipeptiden mit einer Ester- oder einer Alkoholfunktion (**11** bzw. **12**), bei umgekehrter Anordnung von Prolin- und Dehydroalanin-Einheit (**14**) und bei Ersatz der Prolinhälfte durch Alanin (**16**) oder Valin (**17**) beobachtet.

2. Als Modell für Additionsreaktionen an Aminoacrylsäuren im Aminosäuremetabolismus wurde die Thioladdition an verschiedene Dehydrovalinverbindungen **21–26** untersucht. Dabei addierten Salicyliden-, *p*-Nitrosalicyliden- und Pyridoxyliden-dehydrovalinester (**22**, **23**, **26**) Thiole 10- bis 30mal schneller als Dehydrovalin-, *N*-Acetyldehydrovalin- und *N*-Benzylidendehydrovalinester (**24**, **25**, **21**).

**On Amino Acids and Peptides, XXVII<sup>1)</sup>**

**On Dehydroamino Acids, XIV<sup>2)</sup>**

**Biomimetic Experiments on Cysteine Synthesis<sup>3,4)</sup>**

**Addition of SH-Compounds to Dehydroamino Acids**

1. The stereoselectivity of thiol addition to dehydrodipeptides was examined under various conditions. Thiolate-catalyzed addition of thiols to dehydroalanyl-prolineamides (**7–10**) results in formation of D-cysteinyl-peptides with high optical yields. Almost no stereoselectivity is found during addition to the analogous dehydroalanyl-peptides, containing L-proline ester (**11**) or L-prolinol (**12**), to the prolyl-dehydroalanine peptide **14**, and to dehydroalanylpeptides containing valine (**17**) or alanine (**16**) instead of proline.

2. The thiol addition to several dehydrovaline compounds **21** to **26** was investigated as a model for the metabolic addition reactions to aminoacrylic acids. Especially to salicylidene-, *p*-nitrosali-

<sup>\*\*)</sup> Neue Anschrift: D-7000 Stuttgart, Pfaffenwaldring 55.

<sup>1)</sup> XXV. Mitteil.: J. Häusler und U. Schmidt, Monatsh. Chem. im Druck; als XXVI. Mitteil. gilt U. Schmidt, Pure Appl. Chem. **49**, 163 (1977).

<sup>2)</sup> XII. Mitteil.: Lit.<sup>1)</sup>; als XIII. Mitteil. gilt U. Schmidt, Pure Appl. Chem. **49**, 163 (1977).

<sup>3)</sup> Bereits kurz mitgeteilt: U. Schmidt und E. Öhler, Angew. Chem. **88**, 54 (1976); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **15**, 42 (1976).

<sup>4)</sup> Bereits kurz mitgeteilt: U. Schmidt und E. Prantz, Angew. Chem. **89**, 345 (1977); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **16**, 328 (1977).

cylidene-, and the pyridoxylidene dehydrovaline esters (**22**, **23**, and **26**) thiols were added 10 to 30 times faster than to dehydrovaline-, *N*-acetyldehydrovaline-, and benzylidenedehydrovaline ester (**24**, **25**, and **21**).

Für die Bildung von Cysteinderivaten aus Serin im Stoffwechsel sind hauptsächlich drei Wege zu diskutieren:

1. Die Wasserabspaltung aus Serin innerhalb des Peptids zum Dehydropeptid und anschließend die Anlagerung von SH-Verbindungen. Ein markantes Beispiel für diesen Ablauf bildet die Biosynthese der Antibiotika Nisin und Subtilin<sup>5)</sup>, die beide Dehydroalanin- und Dehydroaminobuttersäure-Einheiten enthalten. Ihre heterodetischen Ringe tragen *meso*-Lanthionin-Einheiten (bzw. deren  $\beta$ -Methylhomologe), die durch Addition einer Cystein-SH-Gruppe an ein Dehydroalanin oder eine Dehydroaminobuttersäure innerhalb des Peptids entstanden sein müssen. Aus der Dehydroaminosäure entsteht dabei eine D-Aminosäurespezies.

Ähnlich verläuft die Lanthioninbildung bei der Alkalibehandlung von Wolle. Durch Eliminierung gebildete Dehydroaminosäure-Einheiten in der Kette addieren Cystein-SH-Gruppen.

2. Der normale enzymatische Weg vom Serin zum Cystein läuft an Pyridoxalkomplexen ab. In vielen Fällen ist bei pyridoxal-katalysierter Reaktion wahrscheinlich eine Pyridoxylidenaminoacrylsäure Zwischenstufe. Diese kann für die Umsetzung an den „ $\beta$ -eliminating lyases“ wie z. B. L-Threonin-Dehydratase (EC 4.2.1.16)<sup>6)</sup> sowie Cystathionin- $\gamma$ -Lyase (EC 4.4.1.1)<sup>7,8)</sup>, die desaminierend wirken, und an den  $\beta$ -aufbauenden Enzymen Cystathionin- $\gamma$ -Synthase (EC 4.2.99.9)<sup>9-12)</sup> und Tryptophan-Synthase (EC 4.2.1.20)<sup>13,14)</sup> als ziemlich sicher angenommen werden. An einigen solcher Enzyme läuft der  $\alpha$ -H-Isotopenaustausch viel schneller ab als die Gesamtreaktion.

Eine Absorptionsbande zwischen 450 und 500 nm, die beim Inkubieren pyridoxalhaltiger Enzyme (z. B. L-Threonin-Dehydratase mit L-Threonin<sup>6)</sup>, Cystathionin- $\gamma$ -Synthase mit *O*-Succinyl-L-homoserin<sup>9)</sup>, Tryptophan-Synthase mit Serin und Mercaptoethanol<sup>13)</sup> oder Cystein-Synthase mit *O*-Acetylserin<sup>16)</sup>) mehrfach beobachtet worden ist, wird dem Auftreten von Pyridoxylidenaminoacrylsäuren zugeordnet. Eine entsprechende Absorptionsbande wurde auch bei nichtenzymatischen Versuchen<sup>17)</sup> dieser Konstitution zugeschrieben. Andere Autoren deuten dagegen diese Absorptionsbande mit einer chinoiden Zwischenstufe (Carbanion)<sup>18-21)</sup> oder mit beiden<sup>6)</sup>, besonders die bei nichtenzymatischen Modellversuchen auftretende Bande zwischen 450 und 500 nm<sup>21-25)</sup>.

<sup>5)</sup> E. Gross, H. H. Kiltz und E. Nebelin, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **354**, 799 (1973); E. Gross, Intra-Sci. Chem. Rep. **5**, 405 (1971).

<sup>6)</sup> M. Tokushige und A. Nakazawa, J. Biochem. **72**, 713 (1972).

<sup>7)</sup> M. Flavin und A. Segal, J. Biol. Chem. **239**, 2220 (1964).

<sup>8)</sup> Y. Matsuo und D. M. Greenberg, J. Biol. Chem. **234**, 507, 516 (1959).

<sup>9)</sup> S. Guggenheim und M. Flavin, J. Biol. Chem. **246**, 3562 (1972).

<sup>10)</sup> M. Flavin und R. A. Slotter, Biochim. Biophys. Acta **132**, 400 (1967).

<sup>11)</sup> M. M. Kaplan und M. Flavin, J. Biol. Chem. **241**, 4463 (1966).

<sup>12)</sup> S. Guggenheim und M. Flavin, J. Biol. Chem. **244**, 6217 (1969).

<sup>13)</sup> M. E. Goldberg und R. I. Baldwin, Biochemistry **6**, 2113 (1967).

<sup>14)</sup> C. Yanowsky und J. P. Crawford in Lit.<sup>15)</sup>, S. 1 ff.

<sup>15)</sup> The Enzymes, Vol. VII, 3<sup>rd</sup> ed., Ed. P. D. Bayer, Academic Press, New York 1972.

<sup>16)</sup> M. A. Becker, N. M. Kredich und G. M. Tomkins, J. Biol. Chem. **244**, 2418 (1969).

<sup>17)</sup> Y. Karube und Y. Matsushima, J. Am. Chem. Soc. **98**, 3725 (1976).

<sup>18)</sup> L. Schirch, M. Mason und W. T. Jenkins, Fed. Proc., Am. Soc. Exp. Biol. **22**, 534 (1963).

<sup>19)</sup> W. T. Jenkins, J. Biol. Chem. **239**, 1742 (1964).

<sup>20)</sup> Y. Morino und E. E. Snell, J. Biol. Chem. **242**, 2800 (1967).

<sup>21)</sup> L. Davis und D. E. Metzler, Lit.<sup>15)</sup>, S. 30 ff.

<sup>22)</sup> S. Matsumoto und Y. Matsushima, J. Am. Chem. Soc. **96**, 5228 (1974).

<sup>23)</sup> E. A. Abbot und M. A. Bobrik, Biochemistry **12**, 846 (1973).

<sup>24)</sup> S. Matsumoto und Y. Matsushima, J. Am. Chem. Soc. **94**, 7211 (1972).

<sup>25)</sup> L. V. Schirch und R. A. Slotter, Biochemistry **5**, 3175 (1966).

3. Neben dem Eliminierungs-Additionsmechanismus am pyridoxalhaltigen Enzym muß man aber auch einen direkten  $\beta$ -Substitutionsprozeß annehmen. Dies gilt z. B. bei den Reaktionen der „ $\beta$ -replacing lyases“ wie Serin-Sulphydrase (EC 4.2.1.22) und Cystein-Lyase (EC 4.4.1.10)<sup>26, 27)</sup> als gesichert. An diesen Enzymen verläuft der  $\alpha$ -H-Isotopenaustausch wesentlich langsamer und entspricht der Umsetzungsgeschwindigkeit.

Obleich zur Synthese von  $\beta$ -substituierten Aminosäuren (Tryptophan, Cystein, Cystathionin) aus Serin eine große Zahl von Publikationen existiert, ist eine klare Entscheidung für den Mechanismus 2. oder 3. zur Zeit nicht möglich. Anscheinend spielen beide Mechanismen, möglicherweise sogar ein „Mischmechanismus“ eine Rolle.

Für die Mechanismen 1. und 2. wurden in dieser Arbeit Modellreaktionen angestellt:

## 1. Versuche zur Cysteinbildung durch SH-Addition an Dehydroalaninpeptide

Die nucleophile Addition von Mercaptanen an Acetylaminoacrylsäuren<sup>28)</sup> ist seit längerer Zeit bekannt und zur Synthese von racemischen Cysteinderivaten oft herangezogen worden. Optische Induktion ist dabei nicht beobachtet worden. Die *meso*-Konfiguration der Lanthionin-Einheiten in den heterodetischen Ringen der Antibiotika Nisin und Subtilin<sup>5)</sup>, die sich bei der Biosynthese offenbar durch stereoselektive intramolekulare Addition einer Cystein-SH-Gruppe an eine Dehydroalanin-Spezies ausbilden, regte uns an, den sterischen Ablauf der Mercaptan-Addition an Dehydropeptide zu untersuchen.

Da Prolin vielfach eine eindrucksvolle optische Induktion verursacht<sup>29)</sup>, und in mehreren Peptidhormonen entweder Cystein oder das mit dieser Aminosäure in engem biogene-

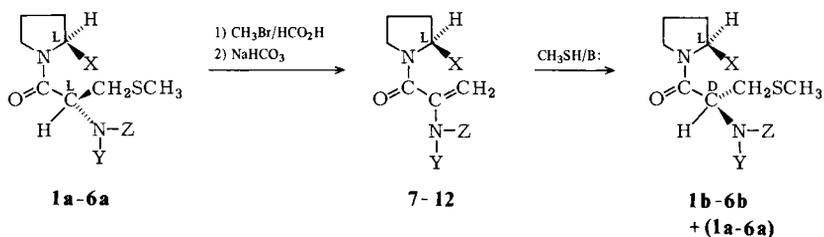
<sup>26)</sup> E. A. Tolosa, R. N. Maslova, E. V. Goryachenkova, I. H. Willhardt und A. E. Braunstein, Eur. J. Biochem. **53**, 429 (1975).

<sup>27)</sup> A. E. Braunstein, E. V. Goryachenkova, E. A. Tolosa, I. H. Willhardt und L. L. Yefremova, Biochim. Biophys. Acta **242**, 247 (1971).

<sup>28)</sup> Methoden der org. Chemie (Houben-Weyl-Müller), Bd. 11/2, S. 432, Thieme Verlag, Stuttgart 1958.

<sup>29)</sup> Die ausgeprägte Induktionswirkung von Prolin bzw. Derivaten des Prolins ist in den letzten Jahren an vielen Beispielen überzeugend demonstriert worden: z. B. bei der Alkylierung oder Bromierung von Enaminen aus Prolinderivaten und bei der Synthese 4,4-disubstituierter 2-Cyclohexenone nach dem gleichen Prinzip (K. Hiroi und S. Yamada, Chem. Pharm. Bull. **23**, 1103 (1975), und ebenda Lit.<sup>4)</sup>; T. Sone, S. Terashima und S. Yamada, ebenda **24**, 1288 (1976)); bei der asymmetrischen Cyclisierung der Enamine von Terpenaldehyden (M. Shibasaki, S. Terashima und S. Yamada, ebenda **23**, 279 (1975)). Über die Synthese optisch aktiver Steroid-Teilstücke aus prochiralen Triketonen mit Hilfe von Prolin oder Prolinderivaten berichten U. Eder, G. Sauer und R. Wiechert, Angew. Chem. **83**, 492 (1971); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **10**, 496 (1971); Hoffmann-La Roche (Erf. Z. G. Hajos und D. R. Parrish), Ger. Offen. 2102632 (29. Juli 1971) [Chem. Abstr. **75**, 129414r (1971)]; J. Org. Chem. **39**, 1615 (1974); R. A. Micheli, Z. G. Hajos, N. Cohen, D. R. Parrish, L. A. Portland, W. Sciamanna, M. A. Scott und P. A. Wehrli, ebenda **40**, 675 (1975); K. Nagasawa, K. Hiroi und S. Yamada, Yakugaku Zasshi **95**, 46 (1975), und K. Hiroi und S. Yamada, Chem. Pharm. Bull. **23**, 1103 (1975). N-Aminoderivate des Prolins wurden zur Synthese von L-Prolyl-D-Aminosäuren (K. Achiwa und S. Yamada, Tetrahedron Lett. **1974**, 1799) und bei der asymmetrischen Alkylierung von Hydrazonen (D. Enders und H. Eichenauer, Angew. Chem. **88**, 579 (1976); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **15**, 549 (1976), und Tetrahedron Lett. **1977**, 191) verwendet. Hohe asymmetrische Induktion wurde bei der katalytischen Hydrierung ungesättigter Diketopiperazine mit einer L-Prolin-Hälfte (H. Poisel und U. Schmidt, Chem. Ber. **106**, 3408 (1973); B. Bycroft und G. Lee, J. Chem. Soc., Chem. Commun. **1975**, 988), bei der Hydrierung von Acetylaminoacrylsäurederivaten mit Hilfe chiraler Bisphosphino-pyrrolidin-Rh-Komplexe (K. Achiwa, J. Am. Chem. Soc. **98**, 8265 (1976)), beim Ringschluß von Pyruvoylprolinamiden (Lit.<sup>32)</sup>), sowie bei der Cyclisierung von Dehydroaminosäureprolinamiden (U. Schmidt, A. Perco und E. Öhler, Chem. Ber. **107**, 2816 (1974), und Lit.<sup>33)</sup>) beobachtet.

tischem Zusammenhang stehende Serin mit Prolin verknüpft ist<sup>30)</sup>, wählten wir als Substrat *N*-Benzyloxycarbonyl-dehydroalanyl-L-prolinmethyramid (7). Die Addition von Methanthiol brachte ein überraschendes Ergebnis, denn unter Na-Thiolat-Katalyse entstand fast ausschließlich die D-Cysteinylverbindung **1b**<sup>31)</sup>. Die beiden diastereomeren Verbindungen **1a** und **1b** lassen sich deutlich durch die Lage der SCH<sub>3</sub>- und der NHCH<sub>3</sub>-Signale in den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren unterscheiden, so daß die Zusammensetzung einer Reaktionsmischung aus dem Additionsversuch mit Hilfe des NMR-Spektrums bestimmt werden kann.



	X	Y
<b>1, 7</b>	CONHCH <sub>3</sub>	H
<b>2, 8</b>	CONHCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>3, 9</b>	CONH <sub>2</sub>	H
<b>4, 10</b>	CON(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
<b>5, 11</b>	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H
<b>6, 12</b>	CH <sub>2</sub> OH	H

Z-Cys(Bzl)-Pro-NHCH<sub>3</sub>  
**13**

Z = Benzyloxycarbonyl

**a**-Reihe: L-Cys-L-Pro

**b**-Reihe: D-Cys-L-Pro

**c**-Reihe: L-Cys-D-Pro

Um die Konfiguration von **1b** sicher festlegen zu können, haben wir das leichter zugängliche enantiomere L-Cysteinyl-D-prolin-peptid **1c** aufgebaut. Es stimmte – bis auf den entgegengesetzten Drehwert – mit **1b** überein. Die diastereomere und bei der Addition nur in max. 15% entstehende L-Cysteinylverbindung **1a** war bekannt, da wir über sie ja das Dehydroalanylpeptid **7** hergestellt hatten<sup>33)</sup>. Unter den Reaktionsbedingungen (Lösungsmittel Ethanol, CH<sub>3</sub>S<sup>−</sup>/CH<sub>3</sub>SH, 20°C) lagerte sich das LL-Dipeptid **1a** nicht in das Diastereomere **1b** um, so daß schon durch diesen Befund ein kinetisch gelenkter Prozeß als Ursache für die ausgeprägte asymmetrische Induktion bewiesen ist.

Um weitere Hinweise auf den Ablauf dieser Reaktion und die Ursache für die Stereoselektivität zu erhalten, wurden die Reaktionsbedingungen, der Addend und das Substrat variiert. Tab. 1 zeigt die Abhängigkeit der Stereoselektivität von Lösungsmittel und Katalyse.

<sup>30)</sup> So enthalten die Peptidhormone Kallidin, Eledoisin und β-Melanotropin L-Serin-L-prolin-Segmente, und in den Hormonen β-Corticotropin-Releasing-Faktor, Oxytocin, Isotocin, Vasopressin und Vasotocin befinden sich L-Cysteinyl-L-prolin-Einheiten.

<sup>31)</sup> M. Sokolovsky, T. Sadeh und A. Patchornik, J. Am. Chem. Soc. **86**, 1212 (1964).

<sup>32)</sup> J. Häusler und U. Schmidt, Chem. Ber. **107**, 2804 (1974).

<sup>33)</sup> E. Öhler und U. Schmidt, Chem. Ber. **110**, 921 (1977).

lyikator: Weder die Konzentration des stark basischen Katalysators noch das Alkaliion ändern das Ausmaß der bevorzugten Bildung von **1b** bei der Addition. Mit Piperidin als Katalysator ist – bei auch wesentlich geringerer Reaktionsgeschwindigkeit – fast keine Stereoselektivität zu erkennen. Bei radikalischem Ablauf der Reaktion (Bestrahen einer Lösung von **7** in überschüssigem Methanthiol) findet man überhaupt keine sterische Bevorzugung mehr.

Die Addition von Phenylmethanthiol an **7** verläuft ganz ähnlich. Auch hier wird in stark alkalischer Lösung fast ausschließlich die D-Cysteinyl-L-prolinverbindung **13b** gebildet.

Tab. 1. Asymmetrische Induktion bei der Addition von CH<sub>3</sub>SH an **7**

Lösungs- mittel	Katalysator	Mol- äquiv.	Zeit (h)	Ausb. (%)	<b>1b</b> (DL): <b>1a</b> (LL)
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	CH <sub>3</sub> SNa	0.1	2	95	90:10
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	CH <sub>3</sub> SNa	1.0	2	95	85:15
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	CH <sub>3</sub> SLi	1.0	2	95	85:15
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	CH <sub>3</sub> SK	1.0	2	95	85:15
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	CH <sub>3</sub> SCs	1.0	2	95	85:15
DMSO	CH <sub>3</sub> SNa	1.0	2	95	80:20
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	Piperidin	1.0	20	85	55:45
CH <sub>3</sub> SH	<i>hν</i>		1	100	50:50

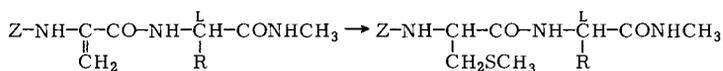
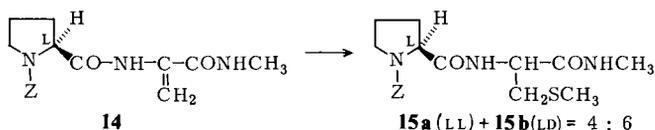
Zur Untersuchung der Substrat-Abhängigkeit der Stereoselektivität bei der Methanthiol-Addition stellten wir eine Reihe von S-Methyl-L-cysteinyl-L-prolin-dipeptiden (**1a**–**6a**, **15a**, **18a**, **19a**) her, die wir nach der Methode von Patchornik<sup>31)</sup> (Umsetzung mit Methylbromid/Ameisensäure zum Sulfoniumsalz und β-Eliminierung in wäbr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung) in die entsprechenden Dehydropeptide (**7**–**12**, **14**, **16**, **17**) überführten. An diese wurde dann wieder Methanthiol addiert. Die Reaktionsprodukte wurden zur Feststellung des Diastereomerenverhältnisses NMR-spektroskopisch mit den LL-Dipeptiden verglichen. Das Ausmaß der durch die einzelnen Prolinderivate bewirkten optischen Induktion ist in Tab. 2 zusammengefaßt.

Tab. 2. Diastereomerenverteilung bei der durch NaSCH<sub>3</sub> katalysierten Addition von CH<sub>3</sub>SH an Z-N-C-CO-L-Pro-X (**7**–**12**); Lösungsmittel Ethanol

X	Y	Dehydro- peptid	Z(Y)Cys(Me)-Pro-X (%)	<b>b</b> (DL)	<b>a</b> (LL)
CONHCH <sub>3</sub>	H	<b>7</b>	<b>1</b> (98)	85	15
CONHCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	<b>8</b>	<b>2</b> (79)	85	15
CONH <sub>2</sub>	H	<b>9</b>	<b>3</b> (85)	80	20
CON(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	<b>10</b>	<b>4</b> (89)	70	30
CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	<b>11</b>	<b>5</b> (76)	55	45
CH <sub>2</sub> OH	H	<b>12</b>	<b>6</b> (87)	50	50

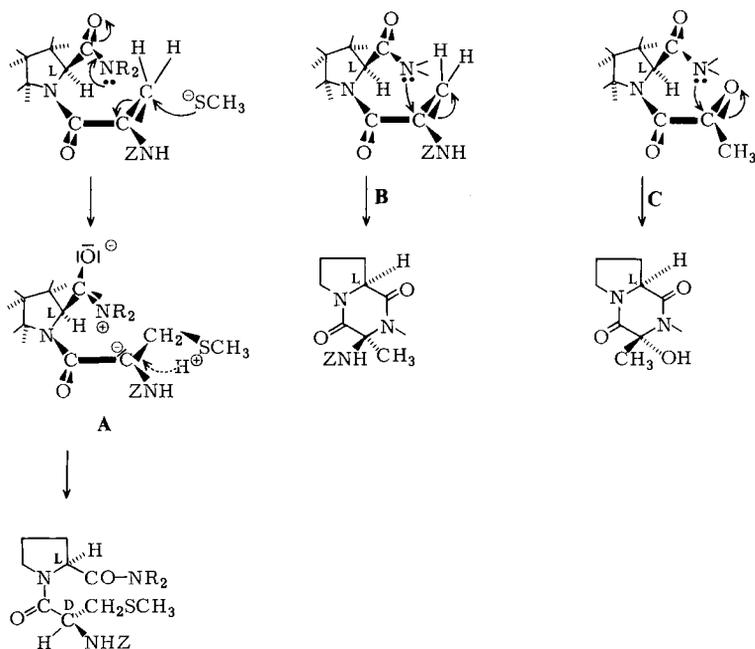
Schon der Ersatz der Amidfunktion in **7** durch eine Ester- bzw. Alkoholgruppe (**11** bzw. **12**) führt zu starkem Rückgang (**11** → **5a** + **5b**) bzw. völligem Verlust (**12** → **6a** + **6b**) der Stereoselektivität.

Eine streng stereospezifische Reaktion konnte nur bei Dehydroalanyl-prolinamiden beobachtet werden. Weder bei der Addition von Thiolen an ein Prolyl-dehydroalanyl-System (**14**) noch bei Verwendung von *N*-Benzyloxycarbonyl-dehydroalanyl-L-alanin-methylamid (**16**) bzw. dem entsprechenden L-Valinderivat **17** wurde eine erwähnenswerte optische Induktion registriert.



	R	
<b>16</b>	CH <sub>3</sub>	<b>18 a + 18 b</b>
<b>17</b>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	<b>19 a + 19 b</b>

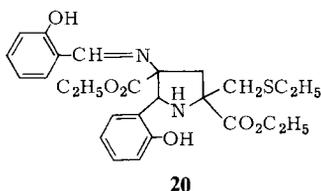
Die Abhängigkeit der optischen Induktion von der Verwendung eines stark basischen Katalysators legt es nahe, einen Ablauf der nucleophilen Addition über die Ausbildung eines stabilisierten Carbanions anzunehmen, das nur aus einer Richtung protoniert werden kann. Dieses Carbanion muß intramolekular stabilisiert sein, da die hohe Stereoselektivität der Reaktion auch im Lösungsmittel Dimethylsulfoxid bewahrt bleibt, das im allgemeinen bei Carbanionreaktionen infolge symmetrischer Solvatisierung zur Racemisierung



führt. Es ist naheliegend, eine für den sterisch einheitlichen Ablauf der Reaktion notwendige Konfigurationsfixierung durch Ausbildung von Wasserstoffbrücken anzunehmen. Es zeigte sich aber, daß sukzessiver Ersatz aller Amid-Wasserstoffe durch Methylgruppen (Dehydropeptide **8** und **10**) die Stereoselektivität nicht beeinflusst. Wir bevorzugen deshalb die Annahme einer Fixierung des Carbanions innerhalb eines Immonium-Carbanion-Ionenpaares **A**, das nur unter Bildung der D-Cysteinylverbindung protoniert werden kann. Die Konformation des fixierten Carbanions (**A**) entspricht also ganz der Konformation der Übergangszustände bei den Ringschlußreaktionen von Pyruvoyl-prolinamiden (Weg **C**)<sup>32)</sup> und Dehydroalanyl-prolinamiden (Weg **B**)<sup>33)</sup>.

## 2. Biomimetische Versuche zur pyridoxal-katalysierten Cysteinsynthese

Um biomimetische Versuche zur Cysteinbildung via Pyridoxylidenaminoacrylsäure anzustellen, haben wir uns längere Zeit vergeblich bemüht, Arylidenaminoacrylester aufzubauen. Alle Versuche, dieses Ziel durch  $\beta$ -Eliminierung aus Arylidencystein-, Arylidenselenocystein- und Arylidenserin-Verbindungen zu erreichen, waren bisher erfolglos und sind offenbar an der außerordentlichen Empfindlichkeit und Reaktionsfähigkeit der Arylidenaminoacrylsäureester gescheitert. So ergab die basisch katalysierte Mercaptan-Abspaltung aus Salicyliden-(S-ethyl)cystein-ethyl-ester ein Additionsprodukt aus Salicyliden-aminoacrylester und Substrat mit der vermutlichen Konstitution **20**<sup>34)</sup>.



Als nun Dehydrovalinester (**24**), Dehydroleucinester und Dehydroisoleucinester durch einfache Synthesen zugänglich waren<sup>35-37)</sup>, konnten wir mit Erfolg diese – recht stabilen – Dehydroaminosäureester direkt mit aromatischen Aldehyden zu den Schiffsbasen (**21** – **23**, **26**) kondensieren und diese als Substrat für die Mercaptan-Addition einsetzen.

Die Dehydroaminosäureester lassen sich – wie wir schon kurz mitteilten<sup>37)</sup> – am einfachsten durch säurekatalysierte Umlagerung aus den entsprechenden  $\alpha$ -Iminosäureestern bilden, die ihrerseits aus  $\alpha$ -Aminosäureestern durch *N*-Chlorierung/Dehydrochlorierung zugänglich sind. Beide Prozesse – *N*-Chlorierung/Dehydrochlorierung und Umlagerung – können ohne Isolierung von Zwischenprodukten vorgenommen werden.

$\alpha,\beta$ -Dehydrovalin-methylester (**24**),  $\alpha,\beta$ -Dehydroisoleucin-methylester und  $\alpha,\beta$ -Dehydroleucin-methylester sind auf diesem Wege zugänglich. Letzterer enthält geringe Mengen an isomerer

<sup>34)</sup> Die von K. Körte und U. Schmidt, Monatsh. Chem. **102**, 207 (1971), vorgeschlagene Struktur ist nicht gesichert. Nach den Ergebnissen von R. J. Stoodley, Chem. Ind. **1977**, 377, und in guter Übereinstimmung mit den spektroskopischen Daten der Verbindung erscheint der Strukturvorschlag **20** plausibler.

<sup>35)</sup> H. Poisel und U. Schmidt, Angew. Chem. **88**, 295 (1976); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **15**, 294 (1976).

<sup>36)</sup> H. Poisel, Chem. Ber. **110**, 942 (1977).

<sup>37)</sup> U. Schmidt und E. Öhler, Angew. Chem. **89**, 334 (1977); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **16**, 327 (1977).

Iminoverbindung. Die Einstellung eines Gleichgewichts zwischen Enamino- und Iminoester haben wir nie beobachtet. Lediglich beim Dehydrophenylalaninester ist nur die Enaminoform bekannt, in die sich die durch *N*-Chlorierung/Dehydrochlorierung aus Phenylalaninester gebildete Imino-Verbindung spontan umlagert<sup>36)</sup>.

Zur Untersuchung der Additions-geschwindigkeit von Thiolen an Dehydrovalinderivate wurden vom Dehydrovalin-methylester (**24**) die Benzylidenverbindung **21**, die Salicylidenverbindung **22** und die *p*-Nitrosalicylidenverbindung **23** hergestellt. Die Schiffsche Base **22** ist das einfachste Modell des Pyridoxylidenaminoacrylesters mit dem Strukturmerkmal einer *o*-Hydroxy-Gruppe. Die Nitroverbindung **23** enthält daneben noch einen starken Elektronenacceptor im aromatischen Kern. Beide Strukturelemente – phenolische *o*-Hydroxy-Gruppe mit der Möglichkeit der Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zum Azomethin-Stickstoff und Aldehydsegment mit starker Elektronenacceptorgruppe (Pyridinaldehyd) – sind bei Erörterungen über den Mechanismus pyridoxal-katalysierter Reaktionen für die Stabilität der Zwischenstufen als entscheidend angenommen worden.

Auch der Pyridoxyliden-dehydrovalinester (**26**) konnte hergestellt, aber in die Versuchsreihe unter Standardbedingungen wegen seiner Schwerlöslichkeit nicht einbezogen werden. In seinem UV-Spektrum ( $\lambda_{\max}$  218, 295 nm) tritt nach Zugabe von  $\text{Al}^{3+}$  nach einiger Zeit eine schwache Bande bei 485 nm auf, wie sie auch in pyridoxalhaltigen Enzym-lösungen<sup>6, 9, 10, 14, 17, 18)</sup> und bei in-vitro-Versuchen beobachtet worden ist<sup>22-25)</sup>.

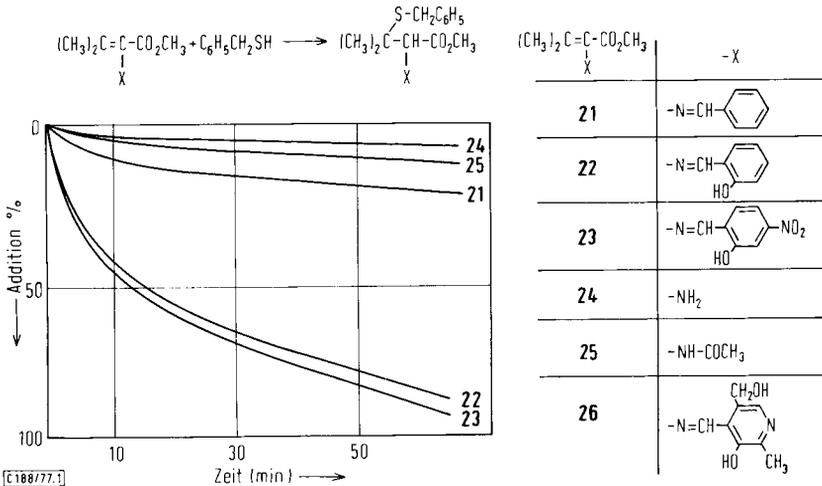


Abb. 1. Addition von Phenylmethanthiol an Dehydrovalinderivate (0,2 M alkoholische Lösung, molare Mengen Phenylmethanthiol und Dehydrovalinderivat, Katalysator 1 Moläquiv. DBU)

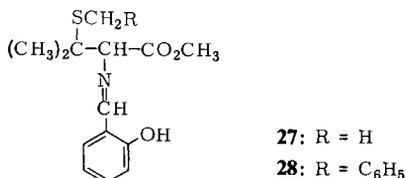
Die Addition von Phenylmethanthiol an die Schiffschen Basen **21**, **22** und **23**, sowie an den freien Dehydrovalinester **24** und den *N*-Acetyl-dehydrovalinester **25** wurde in 0,2 M alkoholischer Lösung in Gegenwart von 1 Moläquiv. Diazabicycloundecen (DBU)<sup>38)</sup>

<sup>38)</sup> Unter Triethylamin-Katalyse verlief die Reaktion zu langsam. Bei Verwendung von Na-Ethylat trat insbesondere mit *N*-Acetyl-dehydrovalinester eine Konzentrationsabnahme des Katalysators (*N*-Acetyl-Abspaltung) ein.

verfolgt, indem man das nicht umgesetzte Thiol iodometrisch bestimmte. Die Ergebnisse sind aus Abb. 1 zu erkennen:

Die Schiffsche Base mit *o*-Hydroxylgruppe **22** addiert mit wesentlich größerer Geschwindigkeit als die Benzylidenverbindung **21**, die ihrerseits nur wenig schneller als das Enamin **24** und die *N*-Acetyl-enaminoverbindung **25** reagiert. Der Übergang zur *o*-Hydroxy-*p*-nitroverbindung **23** führt zu einer unwesentlichen weiteren Steigerung der Reaktionsfähigkeit. Der Pyridoxyliden-dehydroalinerester **26** konnte nur in 0.02 M Lösung umgesetzt werden, addierte aber auch unter diesen Bedingungen noch eindeutig schneller als die Salicylidenverbindung **22**, die nach 20 min zu 30% umgesetzt ist, während die Pyridoxylidenverbindung **26** schon zu 50% reagiert hat.

Diese Fakten zeigen die außerordentliche Steigerung der Additionsfähigkeit im Aminoacrylsystem bei Schiffchen Basen mit einer *o*-Hydroxygruppe. Die zusätzliche Einführung von Elektronenakzeptoren (*p*-Nitrogruppe) in das Azomethin und der Übergang zum elektronenärmeren Pyridinsystem (Pyridoxylidenverbindung) bewirken zwar eine weitere, aber nicht signifikante Steigerung der Reaktionsfähigkeit.



Dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung danken wir für die Mittel zur Anschaffung eines CH-7-Massenspektrometers, eines XL-100-NMR-Spektrometers und einer Fourier-Transform-Puls-Spektroskopie-Einheit.

## Experimenteller Teil

Schmelzpunkte: Heizmikroskop nach Kofler, unkorrigiert. — Optische Aktivitäten: Polarimeter 141 der Fa. Perkin-Elmer. — NMR-Spektren: Varian A 60-A und XL-100. UV-Spektren: Cary-15.

Abkürzungen: DBU = 1,5-Diazabicyclo[5.4.0]undec-5-en    Bzl = Benzyl  
 Z = Benzyloxycarbonyl    Me = Methyl  
 OSu = Hydroxysuccinimidester    DH =  $\alpha,\beta$ -Didehydro  
 DCC = Dicyclohexylcarbodiimid

**1b + 1a** (Addition von Methanthiol an *N*-Benzyloxycarbonyl-dehydroalanyl-*L*-prolinmethylamid, 7)

1. Katalysator MSCH<sub>3</sub> (M = Na, K, Li, Cs); Lösungsmittel Ethanol

a) Katalysator 1 Moläquiv. NaSCH<sub>3</sub>: Eine Lösung von 330 mg (1 mmol) <sup>7,33</sup> in 4 ml wasserfreiem Ethanol wurde bei Raumtemp. mit einer Lösung von 1 mmol NaOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> und 500 mg Methanthiol in 4 ml wasserfreiem Ethanol versetzt und 2 h gerührt. Danach wurde das Ethanol i. Vak. entfernt, der Rückstand in 20 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> aufgenommen und zweimal mit je 3 ml Wasser gewaschen. Die über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Lösung wurde i. Vak. eingedampft und der ölige Rückstand durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 9:1) gereinigt. Im NMR-Spektrum des derart erhaltenen Öls (370 mg, 98%) in CDCl<sub>3</sub> erscheinen neben den Signalen

von **1b** noch die von **1a**<sup>33)</sup> (**1b:1a** = 85:15). Beim Verreiben mit Essigester/Ether kristallisierten 290 mg (77%) **1b**. Schmp. 105–110°C (aus Essigester/Ether);  $[\alpha]_D^{20} = -55^\circ$  ( $c = 0.985$  in  $\text{CHCl}_3$ ).

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\text{SCH}_3$  s bei  $\delta = 2.14$  (**1b**) und 2.18 (**1a**),  $\text{NHCH}_3$  d bei  $\delta = 2.69$  (**1b**) und 2.74 (**1a**).

b) Katalysator 0.1 Moläquiv.  $\text{NaSCH}_3$ ; Reaktionsbedingungen wie bei a): **1b:1a** = 9:1.

c) Katalysator Li-, K- oder  $\text{CsSCH}_3$ ; Reaktionsbedingungen wie bei a): **1b:1a** = 85:15.

2. Katalysator 1 Moläquiv.  $\text{NaSCH}_3$ ; Lösungsmittel DMSO: Eine Lösung von 330 mg (1 mmol) **7** in 4 ml wasserfreiem DMSO wurde bei Raumtemp. mit einer Lösung von 1 mmol  $\text{NaSCH}_3$  und 2.0 g Methanthiol in 4 ml DMSO versetzt. Nach 2 h wurde in 40 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  aufgenommen und wie bei 1a) aufgearbeitet. **1b:1a** = 8:2.

3. Katalysator 1 Moläquiv. Piperidin: Eine Lösung von 660 mg (2 mmol) **7** und 2 ml Methanthiol in 8 ml wasserfreiem Ethanol wurde nach Zugabe von 170 mg (2 mmol) wasserfreiem Piperidin 20 h bei Raumtemp. gerührt. Danach war dünnschichtchromatographisch kein Dehydropeptid nachweisbar. Nach Verdampfen i. Vak. wurde der Rückstand in 10 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  aufgenommen, die Lösung mit 1 N HCl sowie Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und danach i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Das verbleibende Öl wurde ohne weitere Reinigung NMR-spektroskopisch untersucht; **1b:1a** = 55:45; Ausb. (**1a** + **1b**) 85%.

4. Radikalische Reaktionsbedingungen: Eine Lösung von 100 mg (0.3 mmol) **7** in 2 ml Methanthiol wurde in einem Quarzrohr bei  $-10^\circ\text{C}$  1 h mit einer 125 W-Hg-Hochdruck-UV-Lampe (Abstand 2 cm) bestrahlt. Nach Abdampfen des Thiols verblieb ein 1:1-Gemisch von **1a** und **1b** in quantitativer Ausbeute.

#### *N-Benzoyloxycarbonyl-S-methyl-L-cysteinyl-D-prolinmethylamid (1c)*

a) *D-Prolinmethylamid*: Zu einer Lösung von 3.73 g (15 mmol) Z-D-Pro-OH und 1.52 g (15 mmol) Triethylamin in 25 ml wasserfreiem Chloroform wurden bei  $-5^\circ\text{C}$  2.04 g (15 mmol) Chlorameisensäure-isobutylester getropft. Nach 30 min wurde bei gleicher Temp. eine Lösung von 1.50 g (50 mmol) Methylamin in 10 ml Chloroform zugetropft, dann 30 min bei  $-5^\circ\text{C}$  und 12 h bei Raumtemp. weitergerührt. Danach wurde die Lösung i. Vak. eingeeengt, wieder mit Chloroform verdünnt, nacheinander mit 1 N HCl, gesätt. wäbr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und zuletzt i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Durch eine Lösung des rohen Z-D-Pro-NHCH<sub>3</sub> in 30 ml Methanol p. a. wurde nach Zugabe von 100 mg Pd-Oxid 2 h Wasserstoff geleitet. Nach Entfernen von Katalysator und Lösungsmittel wurde i. Vak. der Ölpumpe destilliert. Sdp.  $85^\circ\text{C}/0.01$  Torr. Ausb. 1.37 g (71%);  $[\alpha]_D^{20} = +104^\circ$  ( $c = 1.196$  in  $\text{CHCl}_3$ ).

b) **1c**: Eine Lösung von 1.60 g (7.8 mmol) DCC in 5 ml wasserfreiem Chloroform wurde bei  $0^\circ\text{C}$  zu einer Lösung von 1.00 g (7.8 mmol) H-D-Pro-NHCH<sub>3</sub> und 2.20 g (7.8 mmol) Z-L-Cys(Me)-OH<sup>33)</sup> in 30 ml Chloroform getropft. Nach 15 h wurde vom Dicyclohexylharnstoff abgesaugt. Das Filtrat wurde nacheinander mit 1 N HCl, gesätt.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung sowie Wasser gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels und Verreiben mit Ether kristallisierten 1.90 g (64%) rohes **1c**, das durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 9:1) und Umkristallisieren aus Essigester/Ether gereinigt wurde. Schmp. 112–113°C;  $[\alpha]_D^{20} = +54^\circ$  ( $c = 1.094$  in  $\text{CHCl}_3$ ).

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.14$  (s, 3H); 1.78–2.38 (m, 4H); 2.69 (d, 3H); 2.84 (dd, 2H); 3.48–4.00 (m, 2H); 4.44–4.46 (m, 2H); 5.09 (s, 2H); 5.90 (d, 1H, mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar); 6.92 (m, 1H, mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar); 7.32 (s, 5H).

$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$  (379.4) Ber. C 56.98 H 6.64 N 11.08 S 8.43

Gef. C 56.60 H 6.52 N 11.10 S 8.12

Stabilität von **1a** unter den Bedingungen der Thioladdition: Eine Lösung von 380 mg (1 mmol) **1a**<sup>33)</sup> ( $[\alpha]_D^{20} = -84^\circ$ ,  $c = 1.096$  in  $\text{CHCl}_3$ ) in 4 ml wasserfreiem Ethanol wurde bei Raumtemp.

mit einer Lösung von 1 mmol  $\text{NaOC}_2\text{H}_5$  und 500 mg Methanthiol in 4 ml Ethanol versetzt. Nach 3 h wurde aufgearbeitet, wie bei **1b** beschrieben. Durch Verreiben des Rohproduktes mit Ether wurden 340 mg (90%) **1a** ( $[\alpha]_D^{20} = -81^\circ$  ( $c = 1.121$  in  $\text{CHCl}_3$ )) zurückgewonnen.

*N-Benzoyloxycarbonyl-N,S-dimethyl-L-cysteinyl-L-prolin-methylamid (2a)*

a) *Me-L-Cys(Me)-OH* wurde in Analogie zu *S-Benzyl-N-methyl-L-cystein*<sup>39)</sup> aus *L*-Thiazolidin-4-carbonsäure durch Ringöffnung mit Na in flüssigem Ammoniak und Alkylierung mit  $\text{CH}_3\text{Br}$  hergestellt. Ausb. 54%, Schmp. 225 °C (Zers.).

b) *Z(Me)-L-Cys(Me)-OH*: Zu einer Lösung von 7.45 g (50 mmol) *Me-L-Cys(Me)-OH* in 50 ml 1 N NaOH wurden bei 0 °C gleichzeitig 25 ml 2 N NaOH und 9.40 g (55 mmol) Chlorameisensäure-benzylester getropft. Nach 30 min Rühren bei 0 °C und 2 h bei Raumtemp. wurde die Lösung nacheinander mit Ether und Petrolether gewaschen, mit 1 N HCl auf pH 1 gebracht und mehrmals mit Essigester ausgeschüttelt. So wurden 10.0 g (71%) *Z*-Verbindung als farbloses Öl erhalten, das ohne Reinigung weiter umgesetzt wurde.

c) **2a**: Zu einer Lösung von 2.83 g (10 mmol) rohem *Z(Me)-L-Cys(Me)-OH* und 1.30 g (10 mmol) *H-L-Pro-NHCH<sub>3</sub>*<sup>32)</sup> in 30 ml wasserfreiem Chloroform wurde bei 0 °C eine Lösung von 2.06 g (10 mmol) DCC in 5 ml Chloroform getropft. Nach 15 h bei Raumtemp. wurde der Dicyclohexylharnstoff abfiltriert, das Filtrat nacheinander mit 1 N HCl, gesätt. wäbr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung sowie Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 9:1) wurden insgesamt 1.90 g (48%) eines farblosen Öls erhalten, das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.56 - 2.34$  (m, 4H); 2.14 (s, 3H); 2.74 (d, 3H); 2.91 (s, 3H); ca. 3.00 (m, 2H); 3.52 - 3.84 (m, 2H); 4.34 - 4.60 (m, 1H); ca. 5.00 (m, 1H); 5.16 (s, 2H); 7.04 (q, 1H, mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar); 7.34 (s, 5H).

**2b + 2a** (Addition von Methanthiol an **8**): Eine Lösung von 345 mg (1 mmol) **8** in 5 ml wasserfreiem Ethanol wurde, wie bei **1b** angegeben, mit einer Lösung von 1 mmol  $\text{NaOC}_2\text{H}_5$  und 900 mg Methanthiol in 5 ml Ethanol versetzt und nach 2 h aufgearbeitet. Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 95:5) lieferte 310 mg (79%) eines farblosen Öls. **2b**: **2a** = 85:15.

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\text{SCH}_3$ : s bei  $\delta = 2.14$  (**2a**) und 2.12 (**2b**);  $\text{NHCH}_3$ : d bei  $\delta = 2.74$  (**2a**) und 2.72 (**2b**);  $\text{NCH}_3$ : s bei  $\delta = 2.91$  (**2a**) und 2.89 (**2b**).

*N-Benzoyloxycarbonyl-S-methyl-L-cysteinyl-L-prolinamid (3a)*: Eine Lösung von 2.70 g (10 mmol) *Z-L-Cys(Me)-OH*<sup>33)</sup> und 1.15 g (10 mmol) *N-Hydroxysuccinimid* in 30 ml wasserfreiem Dioxan wurde unter Rühren und Kühlen mit Eis/Wasser portionsweise mit 2.06 g (10 mmol) DCC versetzt. Nach 6 h wurde der Dicyclohexylharnstoff abgesaugt. Die Dioxanlösung des rohen *Z-L-Cys(Me)-OSu* wurde bei Raumtemp. mit 1.14 g (10 mmol) *H-L-Pro-NH<sub>2</sub>* in 5 ml wasserfreiem Dioxan versetzt. Nach 15 h wurde das Dioxan i. Vak. entfernt, der Rückstand in Methylchlorid aufgenommen, die Lösung wurde mehrmals mit Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das nach Entfernen des Lösungsmittels verbleibende Dipeptid mit Essigester zur Kristallisation gebracht. Ausb. 3.0 g (82%), Schmp. 137 - 140 °C<sup>33)</sup>,  $[\alpha]_D^{20} = -79.3^\circ$  ( $c = 1.163$  in  $\text{CHCl}_3$ ).

**3b + 3a** (Addition von Methanthiol an **9**<sup>33)</sup>): Eine Lösung von 320 mg (1 mmol) **9**<sup>33)</sup> in 4 ml wasserfreiem Ethanol wurde bei Raumtemp. mit einer Lösung von 1 mmol  $\text{NaOC}_2\text{H}_5$  und 2.0 g Methanthiol in 4 ml Ethanol vereinigt und nach 1 h aufgearbeitet, wie bei **1b** angegeben. Das so

<sup>39)</sup> D. Yamashiro, H. L. Aanning, L. A. Branda, W. D. Cash, V. V. S. Murti und V. du Vigneaud, J. Am. Chem. Soc. **90**, 4141 (1968).

gewonnene rohe Öl (310 mg, 85%) wurde ohne weitere Reinigung zur Feststellung des Diastereomerenverhältnisses NMR-spektroskopisch mit **3a** verglichen.

NMR (CDCl<sub>3</sub>): SCH<sub>3</sub> s bei  $\delta = 2.15$  (**3a**) und 2.12 (**3b**); **3a**:**3b** = 2:8.

*N-Benzoyloxycarbonyl-S-methyl-L-cysteinyl-L-prolindimethylamid (4a)*

1. *H-L-Pro-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>*: Zu einer Lösung von 7.46 g (30 mmol) Z-L-Pro-OH und 3.45 g (30 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid in 30 ml wasserfreiem Dioxan wurden unter Rühren und Kühlen mit Eis/Wasser 6.18 g (30 mmol) DCC portionsweise zugesetzt. Nach 5 h wurde der Dicyclohexylharnstoff abgesaugt und das Filtrat unter Kühlen mit einer Lösung von 6 g Dimethylamin in 10 ml wasserfreiem Dioxan vereinigt. Nach 15 h wurde das Dioxan i. Vak. entfernt, der Rückstand in 100 ml Methylenchlorid aufgenommen, die Lösung mehrmals mit wenig Wasser gewaschen und nach Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> abgedampft. Das rohe, kristalline Z-L-Pro-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (Schmp. 73–76 °C) wurde ohne weitere Reinigung in 100 ml Methanol p. a. gelöst und durch die Lösung wurde nach Zugabe von 300 mg Pd-Oxid 2 h Wasserstoff geleitet. Nach Entfernen von Katalysator und Methanol wurde das verbleibende Öl in einem Kugelrohr bei 100 °C Badtemp. an der Ölpumpe destilliert<sup>40</sup>. Ausb. 3.40 g (80%).

2. **4a**: Eine Lösung von 2.70 g (10 mmol) Z-L-Cys(Me)-OH<sup>33</sup>) und 1.15 g (10 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid in 30 ml wasserfreiem Dioxan wurde, wie bei **3a** beschrieben, mit DCC umgesetzt und aufgearbeitet. Nach Abtrennen des Dicyclohexylharnstoffs wurde das Filtrat mit 1.42 g (10 mmol) H-L-Pro-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> versetzt und 15 h bei Raumtemp. gerührt. Dann wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen, mehrmals mit wenig Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Das zurückbleibende Öl wurde durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 9:1) gereinigt. Ausb. 2.75 g (70%).

NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.67$ –2.36 (m, 4H); 2.14 (s, 3H); 2.55–ca. 2.88 (m, 2H); 2.88 (s, 3H); 3.04 (s, 3H); 3.51–3.96 (m, 2H); 4.46–4.96 (m, 2H); 5.09 (s, 2H); 6.14 (d, 1H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar); 7.26 (s, 5H).

**4b** + **4a** (*Addition von Methanthiol an 10*): Eine Lösung von 345 mg (1.0 mmol) frisch bereitetem **10** in 5 ml wasserfreiem Ethanol wurde bei Raumtemp. mit einer Lösung von 0.9 mmol NaOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> und 1.0 g Methanthiol in 5 ml Ethanol versetzt. Nach 2 h wurde aufgearbeitet, wie bei **1b** beschrieben. Das Rohprodukt (350 mg, 89%) wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 9:1) gereinigt.

NMR (CDCl<sub>3</sub>): SCH<sub>3</sub> s bei  $\delta = 2.14$  (**4a**) und 2.16 (**4b**), NCH<sub>3</sub> s bei  $\delta = 2.88$  und 3.04 (**4a**) und 2.90 und 3.05 (**4b**). **4b**:**4a** = 7:3.

*N-Benzoyloxycarbonyl-S-methyl-L-cysteinyl-L-prolinethylester (5a)*: 2.70 g (10 mmol) Z-L-Cys-(CH<sub>3</sub>)-OH<sup>33</sup>), 1.15 g (10 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid und 2.06 g (10 mmol) DCC wurden umgesetzt, wie bei **3a** beschrieben. Die Dioxanlösung des rohen Z-L-Cys(Me)-OSu wurde unter Kühlen mit Eis/Wasser mit einer Lösung von 1.43 g (10 mmol) H-L-Pro-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> in 5 ml Dioxan versetzt und 15 h bei Raumtemp. aufbewahrt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde in 100 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> aufgenommen, die Lösung mehrmals mit Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und i. Vak. eingeeengt. Das rohe **5a** (3.80 g, 95%) wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 97:3) gereinigt.

NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.28$  (t, 3H); 1.72–2.38 (m, 4H); 2.16 (s, 3H); 2.61–3.06 (m, 2H); 3.51 bis 3.86 (m, 2H); 4.16 (q, 2H); 4.34–4.88 (m, 2H); 5.10 (s, 2H); 5.74 (m, 1H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar); 7.30 (m, 5H).

**5a** + **5b** (*Addition von Methanthiol an 11*): Eine Lösung von 695 mg (2 mmol) rohem, frisch bereitetem **11** in 10 ml absol. Ethanol wurde bei Raumtemp. mit einer Lösung von 1.5 mmol

<sup>40</sup> J. Saito, Y. Kikugawa und S. Yamada, Chem. Pharm. Bull. **18**, 1731 (1970).

$\text{NaOC}_2\text{H}_5$  und 2.0 g Methanthiol in 10 ml Ethanol versetzt. Nach 2 h wurde aufgearbeitet, wie bei **1b** beschrieben. Das rohe Additionsprodukt (600 mg, 76%) wurde durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 97:3) gereinigt.

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\text{CH}_3\text{CH}_2$  t bei  $\delta = 1.28$  (**5a**) und 1.26 (**5b**);  $\text{SCH}_3$  s bei  $\delta = 2.16$  (**5a**) und 2.13 (**5b**). **5b:5a** = 55:45.

*N*-Benzyloxycarbonyl-*S*-methyl-*L*-cystein-*L*-2-(hydroxymethyl)pyrrolidid (**6a**): 2.70 g (10 mmol) *Z*-*L*-Cys(Me)-OH<sup>33)</sup>, 1.15 g (10 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid und 2.06 g (10 mmol) DCC wurden in wasserfreiem Dioxan zum Hydroxysuccinimidester umgesetzt, wie bei **3a** beschrieben. Die nach Abtrennen des Dicyclohexylharnstoffis verbleibende Dioxanlösung wurde bei Raumtemp. mit einer Lösung von 1.00 g (10 mmol) *L*-Prolinol<sup>41)</sup> in 5 ml Dioxan versetzt. Nach 15 h wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, das verbleibende Öl in Chloroform aufgenommen, die Lösung 4 mal mit je 5 ml Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und i. Vak. eingedampft. Im Rohprodukt war **6a** von beträchtlichen Mengen einer nicht näher untersuchten Verunreinigung begleitet, die durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 9:1) abgetrennt wurde. Ausb. 1.60 g (45%).

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.56 - 2.30$  (m, 4H); 2.14 (s, 3H); 2.82 (dd, 2H); 2.38 - 4.40 (m, 6H); 4.59 bis 4.82 (m, 1H); 5.09 (s, 2H); 5.98 (d, 1H); 7.29 (s, 5H).

**6b** + **6a** (*Methanthioladdition an 12*): Zu einer Lösung von 640 mg (2.1 mmol) **12** in 8 ml wasserfreiem Ethanol wurde bei Raumtemp. unter Rühren eine Lösung von 4.0 mmol  $\text{NaOC}_2\text{H}_5$  und 2.50 g Methanthiol in 8 ml Ethanol getropft. Nach 2.5 h wurde analog zu **1b** aufgearbeitet und das ölige Reaktionsprodukt (640 mg, 87%) durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 9:1) gereinigt.

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\text{SCH}_3$  bei  $\delta = 2.12$  (**6b**) und 2.14 (**6a**); **6a:6b** = 1:1.

*N*-Benzyloxycarbonyl-*N*-methyl-dehydroalanyl-*L*-prolinmethylamid (**8**): Eine Lösung von 1.96 g (5 mmol) **2a** und 5 ml Methylbromid in 10 ml 98proz. Ameisensäure wurde im Bombenrohr 24 h auf 40°C erwärmt. Nach Abdampfen von Methylbromid und Ameisensäure i. Vak. wurde das rohe Sulfoniumsalz in 50 ml gesätt. wäbr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung aufgenommen, die Lösung durch rasches Ausschütteln mit Essigester von Verunreinigungen befreit, danach mit Essigester überschichtet und 10 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Abtrennen der organ. Phase und weiterem Ausschütteln mit Essigester wurde aus den vereinigten, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten organ. Lösungen insgesamt 1.35 g (78%) eines farblosen Öls erhalten, das durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 95:5) gereinigt wurde.

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.54 - 2.48$  (m, 4H); 2.75 (d, 3H); 3.26 (s, 3H); 3.48 (t, 2H); 4.36 - 4.64 (m, 1H); 4.99 (s, 2H); 5.15 (s, 2H); ca. 7.20 (m, 1H, mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar); 7.32 (s, 5H).

*N*-Benzyloxycarbonyl-dehydroalanyl-*L*-prolinmethylamid (**10**): Eine Lösung von 1.97 g (5 mmol) **4a** und 20 ml Methylbromid in 20 ml 98proz. Ameisensäure wurde im Bombenrohr 18 h auf 45°C erwärmt. Nach Abdampfen von überschüssigem Methylbromid und Ameisensäure i. Vak. wurde das rohe Sulfoniumsalz in 40 ml gesätt. wäbr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung aufgenommen, die Lösung rasch 2 mal mit je 10 ml Essigester gewaschen, danach wurde mit 20 ml Essigester überschichtet und 20 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Abtrennen der Essigester-Phase wurde die wäbr. Lösung noch mehrmals mit Essigester ausgeschüttelt. Aus den vereinigten organ. Lösungen wurden nach Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Abdampfen i. Vak. 1.43 g (83%) **10** erhalten, das durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 9:1) gereinigt wurde.

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.61 - 2.36$  (m, 4H); 2.93 (s, 3H); 3.11 (s, 3H); 3.62 - 3.89 (m, 2H); 4.76 - 4.95 (m, 1H); 5.07 (s, 2H + 1H); 5.93 (s, 1H); 7.26 (s, 5H); 7.40 (s, 1H, mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar).

*N*-Benzyloxycarbonyl-dehydroalanyl-*L*-prolinethylester (**11**): Eine Lösung von 1.97 g (5 mmol) **5a** und 20 ml Methylbromid in 20 ml 98proz. Ameisensäure wurde 17 h auf 45°C erwärmt. Nach

<sup>41)</sup> P. Karrer, P. Portmann und M. Suter, Helv. Chim. Acta **31**, 1617 (1948).

Abdampfen von überschüssigem Methylbromid und Ameisensäure wurde das rohe Sulfoniumsalz in 30 ml gesätt. wäbr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung aufgenommen und wie bei **8** weiterbehandelt. Auf diese Weise wurden 1.55 g (90%) **11** erhalten, das ohne weitere Reinigung zur Thioladdition verwendet wurde.

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.29$  (t, 3H); 1.70–2.77 (m, 4H); 3.64–3.87 (m, 2H); 4.18 (q, 2H); 4.44–4.64 (m, 1H); 5.09 (br. s, 1H); 5.16 (s, 2H); 6.03 (br. s, 1H); 7.22 (br. s, 1H, mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar); 7.33 (s, 5H).

*N-Benzoyloxycarbonyl-dehydroalanin-L-2-(hydroxymethyl)-pyrrolidid (12)*: Eine Lösung von 1.20 g (3.4 mmol) **6a** und 10 ml Methylbromid in 10 ml 98proz. Ameisensäure wurde im Bombenrohr 20 h auf 40°C erwärmt. Nach Abdampfen von  $\text{CH}_3\text{Br}$  und Ameisensäure wurde das rohe Sulfoniumsalz in 50 ml gesätt. wäbr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung aufgenommen und die Lösung rasch zweimal mit je 10 ml Essigester gewaschen. Die Waschlösungen wurden verworfen, die  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung wurde mit 30 ml Essigester überschichtet und 48 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Abtrennen der organ. Phase und mehrfachem Ausschütteln der wäbr. Lösung mit Essigester, Trocknen der Essigesterlösungen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen i. Vak. wurden 700 mg (68%) **12** als farbloses Öl erhalten.

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.52$ –2.10 (m, 4H); 3.18–4.40 (m, 6H); 4.80 (s, 1H); 5.05 (s, 2H); 5.48 (s, 1H); 7.26 (s, 5H); 7.86 (br. s, 1H).

*N-Benzoyloxycarbonyl-S-benzyl-L-cysteinyl-L-prolinmethylamid (13a)*: Die Lösungen von 1.28 g (10 mmol) H-L-Pro-NHCH<sub>3</sub><sup>32</sup> und 3.45 g (10 mmol) Z-L-Cys(Bzl)-OH<sup>42</sup> in 20 ml und 2.06 g (10 mmol) DCC in 10 ml wasserfreiem Chloroform wurden wie bei **1c** vereinigt und nach 6 h aufgearbeitet. Beim Verreiben mit Ether kristallisierten 4.10 g (91%) **13a**. Eine Analysenprobe wurde durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 9:1) gereinigt. Schmp. 72–74°C;  $[\alpha]_D^{20} = -69^\circ$  ( $c = 0.839$  in  $\text{CHCl}_3$ ).

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.72$ –2.43 (m, 4H); 2.71 (d, 3H); 2.76 (m, 2H); 3.29–3.68 (m, 2H); 3.78 (s, 2H); 4.48–4.82 (m, 2H); 5.12 (s, 2H); 5.86 (d, 1H, mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar); 6.80 (m, 1H, mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar); 7.32 (m, 10H).

$\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$  (455.5) Ber. C 63.28 H 6.42 N 9.23 S 7.02

Gef. C 62.97 H 6.35 N 9.02 S 6.80

*N-Benzoyloxycarbonyl-S-benzyl-L-cysteinyl-D-prolinmethylamid (13c)*: Die Lösungen von 128 mg (1 mmol) H-D-Pro-NHCH<sub>3</sub> (vgl. bei **1c**) und 345 mg (1 mmol) Z-L-Cys(Bzl)-OH<sup>42</sup> in 3 ml und 206 mg (1 mmol) DCC in 2 ml wasserfreiem Chloroform wurden wie bei **13a** umgesetzt und aufgearbeitet. Das Peptid konnte auch nach Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 9:1) nicht zur Kristallisation gebracht werden. Ausb. 350 mg (78%).  $[\alpha]_D^{20} = +27.4^\circ$  ( $c = 1.419$  in  $\text{CHCl}_3$ ).

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.69$ –2.44 (m, 4H); 2.68 (d, 3H); 2.75 (dd, 2H); 3.19–3.61 (m, 2H); 3.74 (s, 2H); 4.29–4.64 (m, 2H); 5.09 (s, 2H); 5.99 (d, 1H, mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar); 6.93 (m, 1H, mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar); 7.31 (m, 10H).

**13b** + **13a** (*Addition von Phenylmethanthiol an 7*): Eine Lösung von 330 mg (1 mmol) **7**<sup>33</sup> in 5 ml wasserfreiem Ethanol wurde bei Raumtemp. mit einer Lösung von 1 mmol  $\text{NaOC}_2\text{H}_5$  und 500 mg Phenylmethanthiol in 5 ml Ethanol versetzt. Nach 45 min war **7** dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachzuweisen. Nach Aufarbeiten wie bei **1b** wurde das durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel Chloroform/Methanol 95:5) gereinigte Reaktionsprodukt (400 mg, 88%) NMR-spektroskopisch untersucht.

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): NHCH<sub>3</sub> d bei  $\delta = 2.71$  (**13a**) und 2.68 (**13b**); SCH<sub>2</sub> s bei  $\delta = 3.78$  (**13a**) und 3.74 (**13b**). **13b**: **13a** = 8:2.

<sup>42</sup>) C. R. Harington und T. H. Mead, Biochem. J. **30**, 1598 (1936).

*N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-prolyl-dehydroalaninmethylamid (**14**): Eine Lösung von 1.58 g (4.2 mmol) **15a** und 15 ml Methylbromid in 15 ml 98proz. Ameisensäure wurde im Bombenrohr 14 h auf 45°C erwärmt. Nach Abdampfen von Methylbromid und Ameisensäure i. Vak. wurde der Rückstand in 50 ml gesätt. wäbr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung aufgenommen und die Lösung rasch mit 15 ml Essigester gewaschen. Die Waschlösung wurde verworfen. Die mit 30 ml Essigester überschichtete wäbr. Lösung wurde 8 h bei Raumtemp. gerührt und nach Abtrennen der organ. Phase mehrmals mit Essigester ausgeschüttelt. Aus den vereinigten organ. Lösungen wurden insgesamt 1.10 g (79%) öfliges **14** erhalten, das wegen seiner Instabilität sofort weiter umgesetzt wurde.

NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.73–2.32 (m, 4H); 2.84 (d, 3H); 3.38–3.74 (m, 2H); 4.23–4.43 (m, 1H); 5.13 (s, 2H); 5.28 (d, 1H); 6.29 (d, 1H); 6.76 (m, 1H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar); 7.25 (s, 5H); 8.73 (m, 1H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar).

*N*-Benzyloxycarbonyl-*L*-prolyl-*S*-methyl-*L*-cysteinmethylamid (**15a**)

1. *H*-*L*-Cys(*Me*)-NHCH<sub>3</sub>: Zu einer Lösung von 1.86 g (10 mmol) *H*-*L*-Cys(*Me*)-OCH<sub>3</sub> · HCl<sup>43)</sup> in 30 ml wasserfreiem Methanol wurde bei 0°C unter Rühren eine Lösung von 230 mg Na in 5 ml wasserfreiem Methanol getropft. Nach 15 min wurde unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluß filtriert und das gekühlte Filtrat mit einer Lösung von 3.10 g (0.1 mol) Methylamin in 20 ml Methanol vereinigt. Nach fünftägigem Stehenlassen bei Raumtemp. wurden überschüssiges Methylamin und Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Methylamid ohne Reinigung weiter umgesetzt.

NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.88 (m, 2H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar); 2.20 (s, 3H), 2.93 (d, 3H + m, 2H); 3.61 (m, 2H); 7.60 (m, 3H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar).

2. **15a**: Zu einer Lösung von 1.48 g (10 mmol) *H*-*L*-Cys(*Me*)-NHCH<sub>3</sub> und 2.49 g (10 mmol) *Z*-*L*-Pro-OH in 30 ml wasserfreiem Chloroform wurde bei 0°C eine Lösung von 2.06 g (10 mmol) DCC in 10 ml Chloroform getropft. Nach 15 h bei Raumtemp. wurde der gebildete Dicyclohexylharnstoff abgetrennt, das Filtrat nacheinander mit 1 N HCl, gesätt. wäbr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung sowie Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und i. Vak. eingedampft. Auf diese Weise wurden 3.10 g (82%) **15a** in farblosen Kristallen isoliert. Schmp. 158–161°C (aus Methanol); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = –76.1° (c = 1.162 in CHCl<sub>3</sub>).

NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.10 (s, 3H); 1.79–2.38 (m, 4H); 2.75 (d, 3H); 2.89 (m, 2H); 3.60 (t, 2H); 4.38 (t, 1H); 4.58 (m, 1H); 5.21 (d, 2H); 6.98 (m, 2H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar); 7.37 (s, 5H).

C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S (379.4) Ber. C 56.98 H 6.64 N 11.08 S 8.43

Gef. C 57.34 H 6.52 N 11.10 S 8.43

**15b** + **15a** (*Methanthiol-Addition an 14*): Die Lösungen von 500 mg (1.5 mmol) frisch bereitetem **14**, 1.3 mmol NaOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> und 2.0 g Methanthiol in je 5 ml wasserfreiem Ethanol wurden bei Raumtemp. vereinigt. Nach 30 min wurde das Ethanol i. Vak. der Ölpumpe bei 0°C entfernt. (Bei längerer Reaktionszeit trat teilweise Umesterung am Benzylester ein). Der Rückstand wurde in Methylchlorid aufgenommen, die Lösung mit wenig Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und i. Vak. eingedampft. Der kristalline Rückstand (550 mg, 97%) wurde zur Feststellung des Diastereomerenverhältnisses NMR-spektroskopisch mit **15a** verglichen.

NMR (CDCl<sub>3</sub>): SCH<sub>3</sub> s bei δ = 2.10 (**15a**) und 2.14 (**15b**); SCH<sub>2</sub>–CH– m bei δ = 4.58 (**15a**) und 4.23 (**15b**); O–CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> s bei δ = 5.21 (**15a**) und 5.17 (**15b**). **15b**:**15a** = 6:4.

*N*-Benzyloxycarbonyl-dehydroalanyl-*L*-valinmethylamid (**17**): Eine Lösung von 1.14 g (3 mmol) **19a** und 20 ml Methylbromid in 20 ml 98proz. Ameisensäure wurde im Bombenrohr 15 h auf 45°C erwärmt. Danach wurden Methylbromid und Ameisensäure i. Vak. entfernt und der Rückstand in 30 ml gesätt. wäbr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung bei Raumtemp. gerührt. Nach 8 h wurde das kristalline **17** abgesaugt, mit wenig kaltem Wasser gewaschen und i. Vak. getrocknet. Schmp. 140 bis 142°C (aus Wasser); Ausb. 900 mg (90%).

<sup>43)</sup> L. Benoiton, R. Hanson und H. Rydon, J. Chem. Soc. 1964, 836.

NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.01 (d, 6H); 2.13 (m, 1H); 2.80 (d, 3H); 4.26 (t, 1H); 5.14 (s, 2H); 5.30 (d, 1H); 6.04 (d, 1H); 6.58 (m, 1H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar); 7.16 (m, 1H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar); 7.32 (s, 5H); 7.50 (s, 1H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar).

C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (333.4) Ber. C 61.24 H 6.95 N 12.61 Gef. C 61.56 H 7.08 N 12.90

**18a + 18b** (Addition von Methanthiol an **16**): Eine Lösung von 250 mg (0.8 mmol) **16**<sup>33)</sup> in 4 ml wasserfreiem Ethanol wurde mit einer Lösung von 0.8 mmol NaOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> und 1.00 g Methanthiol in 4 ml Ethanol versetzt. Nach 2 h wurde mit Eis/Wasser gekühlt und abgesaugt. Ausb. 270 mg (95%). Durch NMR-spektroskopischen Vergleich mit **18a**<sup>33)</sup> und aus der Integration der Z-NH-Dubletts ( $\delta$  = 8.14 (**18a**) und 8.28 (**18b**)) wurde ein Diastereomerenverhältnis von **18a** : **18b** = 1:1 ermittelt.

*N*-Benzyloxycarbonyl-*S*-methyl-*L*-cysteinyl-*L*-valinmethylamid (**19a**): Eine Lösung von 2.70 g (10 mmol) Z-L-Cys(Me)-OH<sup>33)</sup> und 1.15 g (10 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid in 30 ml wasserfreiem Dioxan wurde analog zu **3a** mit DCC umgesetzt und aufgearbeitet. Das Filtrat wurde mit 1.30 g (10 mmol) H-L-Val-NHCH<sub>3</sub> versetzt. Nach 6 h wurde die Suspension i. Vak. vom Lösungsmittel befreit, der kristalline Rückstand mehrfach mit Wasser gewaschen und i. Vak. getrocknet. Ausb. 3.30 g (87%); Schmp. 208–210°C (aus Acetonitril);  $[\alpha]_D^{20}$  = -14° (*c* = 1.099 in DMF).

NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO):  $\delta$  = 0.84 (d, 6H); 2.00 (m, 1H); 2.11 (s, 3H); 2.61 (d, 3H); ca. 2.76 (m, 2H); 3.95–4.46 (m, 2H); 5.06 (s, 2H); 7.30 (s, 5H); 7.52 (m, 1H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar); 7.83 (m, 2H, mit D<sub>2</sub>O austauschbar).

C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S (381.4) Ber. C 56.68 H 7.14 N 11.02 S 8.33

Gef. C 56.50 H 7.02 N 10.81 S 7.99

**19b + 19a** (Addition von Methanthiol an **17**): Eine Lösung von 333 mg (1 mmol) **17** in 4 ml wasserfreiem Ethanol wurde bei Raumtemp. unter Rühren mit einer Lösung von 1 mmol NaOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> und 500 mg Methanthiol in 4 ml Ethanol versetzt, wobei augenblicklich ein farbloser Niederschlag gebildet wurde. Nach 1 h wurde das Ethanol i. Vak. entfernt, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen und die Lösung mit wenig Wasser gewaschen. Die über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete organ. Phase wurde i. Vak. eingedampft und der kristalline Rückstand ohne weitere Reinigung NMR-spektroskopisch untersucht. Ausb. 280 mg (74%); Schmelzintervall 180–212°C;  $[\alpha]_D^{20}$  = +5.1° (*c* = 1.272 in DMF). Die NMR-Spektren von Additionsprodukt (**19a + 19b**) und LL-Dipeptid (**19a**) unterschieden sich lediglich im Bereich der NH-Protonen (zusätzliches Dublett bei  $\delta$  = 8.10). Aus dem Integrationsverhältnis dieser Signale wurde auf eine sehr geringe Bevorzugung von **19b** (**19b**:**19a** = ca. 55:45) geschlossen.

#### *N*-Salicyliden-dehydrovalin-methylester (**22**)

a) *Cl-DL-Val-OCH*<sub>3</sub>: Zu einer Lösung von 3.93 g (30 mmol) H-DL-Val-OCH<sub>3</sub> in 100 ml absol. Ether tropfte man unter Eiskühlung langsam 3.25 ml einer 8.3 M (27 mmol) *tert*-Butylhypochloritlösung; nach 2 min wurde i. Vak. bei 10°C der Ether abgedampft, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und je einmal mit sehr verdünnter Salzsäure (0.01 M) und mit Wasser ausgeschüttelt. Dünnschichtchromatographisch (Kieselgel, Chloroform, Anfärben im Iodtopf) läßt sich die Reinheit der *N*-Chlorverbindung überprüfen. Die *N*-Dichlorverbindung kann durch den größeren *R*<sub>F</sub>-Wert (*N*-Chlorverbindung 0.5; *N*-Dichlorverbindung 0.65) und durch die primäre Bildung eines weißen Flecks im Iodtopf erkannt werden. Nach Abdampfen des Chloroforms i. Vak. ließ sich die *N*-Chlorverbindung bei 0.5 Torr und 80°C Badtemp. im Kugelrohr destillieren<sup>44)</sup>.

b) **24** · HCl: Eine Lösung von 4.50 g (27 mmol) *N*-Chlorverbindung (nur durch einmaliges Ausschütteln mit Säure sowie Wasser gereinigt) in 80 ml absol. Ether wurde bei 0°C mit 4.10 g (27 mmol) DBU versetzt. Nach 10 min wurde das DBU-Hydrochlorid abfiltriert, das Filtrat auf -80°C

<sup>44)</sup> H. Poisel und U. Schmidt, Chem. Ber. **108**, 2547 (1975).

gekühlt und mit 6.75 ml einer 4 M Lösung von HCl in Ether unter kräftigem Rühren versetzt. Man ließ 10 h bei  $-8^{\circ}\text{C}$  stehen, dekantierte und wusch den Rückstand mit absol. Ether. Ausb. 4.0 g (90%) **24** · HCl.

c) **24**: Durch Einleiten von trockenem Ammoniak in die Lösung des Hydrochlorids in Chloroform bis zu Sättigung bei  $0^{\circ}\text{C}$  wurde **24** freigesetzt und nach Abfiltrieren des Ammoniumchlorids und Abdestillieren des Chloroforms i. Vak. bei  $80^{\circ}\text{C}$  Badtemp. im Kugelrohr destilliert<sup>36)</sup>. Ausb. 3.0 g (86%).

d) **22**: Zu einer Lösung von 4.5 g (27 mmol) **24** · HCl in 80 ml absol. Methanol tropfte man eine Lösung von 0.62 g (27 mmol) Na in 5 ml Methanol und anschließend 3.66 g (3 mmol) Salicylaldehyd. Man dampfte das Lösungsmittel ab, nahm in Benzol auf, filtrierte vom NaCl und kochte am Wasserabscheider solange, bis dünnschichtchromatographisch (Kieselgel, Chloroform,  $R_F$  der Schiffschens Base 0.7) kein Ausgangsprodukt mehr zu erkennen war. **22** wurde nach Abdestillieren des Benzols i. Hochvak. bei  $140^{\circ}\text{C}$  Badtemp. im Kugelrohr destilliert. Ausb. 4.2 g (75%); gelbes Öl, das im Kühlschrank kristallisierte. Schmp.  $20 - 25^{\circ}\text{C}$ .

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.00$  (s mit Dublettcharakter, 6H); 3.82 (s, 3H); 6.78 – 7.44 (m, 4H); 8.06 (s, 1H); 13.08 (br. s, 1H).

$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_3$  (233.2) Ber. C 66.95 H 6.44 N 6.01 Gef. C 66.58 H 6.67 N 6.00

*N*-Benzyliden-dehydrovalin-methylester (**21**): Aus 1.29 g (10 mmol) **24** und 1.17 g (11 mmol) Benzaldehyd in 50 ml absol. Benzol erhielt man analog zu **22** 1.56 g (72%) **21**.

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.98$  (s, 3H); 2.08 (s, 3H); 3.81 (s, 3H); 7.20 – 7.94 (m, 5H); 8.12 (s, 1H).

*N*-(*p*-Nitrosalicyliden)-dehydrovalin-methylester (**23**): Eine Lösung von 1.12 g (8.6 mmol) **24** und 1.4 g (8.3 mmol) *p*-Nitrosalicylaldehyd in 20 ml Benzol wurde 30 min am Wasserabscheider gekocht. Wenn dünnschichtchromatographisch noch *p*-Nitrosalicylaldehyd (Kieselgel,  $\text{CHCl}_3/\text{Methanol} = 9:1$ ;  $R_F = 0.73$ ) nachzuweisen war, wurde mit weiteren 0.25 g **24** versetzt und nochmals 15 min gekocht. Nach Abziehen des Benzols wurde das Produkt aus Benzol/Petrolether (etwa 1:1) umkristallisiert. Man erhielt 1.96 g (82%) **23**; rote Blättchen mit Schmp.  $156^{\circ}\text{C}$ .

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.08$  (s, 6H); 3.88 (s, 3H); 7.20 – 7.76 (m, 3H); 8.36 (s, 1H); 13.50 (s, 1H).

$\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5$  (278.2) Ber. C 56.12 H 5.04 N 10.07 Gef. C 56.20 H 5.26 N 9.95

*N*-Pyridoxytiden-dehydrovalin-methylester (**26**)

a) **26** · HCl: Eine Lösung von 1.29 g (10 mmol) **24** und 2.04 g (10 mmol) Pyridoxal-hydrochlorid in 150 ml absol. Methanol wurde 2 h bei  $50^{\circ}\text{C}$  gerührt, wobei schon nach 15 min ein dichter gelber Niederschlag ausfiel. Man engte auf etwa ein Drittel des Volumens ein, filtrierte, wusch mit absol. Ether und trocknete i. Vak. Dabei erhielt man 1.0 g (32%) **26** · HCl. Schmp.  $120^{\circ}\text{C}$  (Zers.); in Alkohol, Benzol und Chloroform unlöslich.

$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_4$  (314.7) Ber. C 53.50 H 6.05 Cl 11.15 N 8.92  
Gef. C 53.00 H 5.83 Cl 11.00 N 8.90

b) Das Hydrochlorid wurde in Methylenchlorid suspendiert, 2 mal mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung und 2 mal mit Wasser geschüttelt, die Lösung über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Der Rückstand, aus Benzol umkristallisiert, lieferte 0.87 g (98%) gelbe Kristalle vom Schmp.  $148^{\circ}\text{C}$  (Zers.).

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.06$  (s, 3H); 2.10 (s, 3H); 2.52 (s, 4H); 3.84 (s, 3H); 4.76 (s, 2H); 7.87 (s, 1H); 8.80 (s, 1H); 13.66 (br. s, 1H).

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$  (278.2) Ber. C 60.40 H 6.47 N 10.04 Gef. C 60.65 H 6.22 N 9.68

UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 218 (4.21), 295 nm (4.04). Nach Zugabe einer äquivalenten Menge  $\text{Al}^{\text{III}}$ -Ionen zeigte sich bei 485 nm eine Absorptionsbande, deren Intensität während 1 h zu-, dann

jedoch wieder abnahm und nach 4 h nicht mehr beobachtbar war. (Zeitangabe bei  $5 \times 10^{-5}$  M Lösung).

*S-Methyl-N-salicyliden-DL-penicillamin-methylester (27)*: Eine Lösung von 466 mg (2 mmol) **22** in 10 ml Methanol wurde mit einer Lösung von 460 mg (20 mmol) Methanthiol und 46 mg (2 mmol) Natrium in 0.5 ml Methanol versetzt und über Nacht gerührt. Das Methanol wurde i. Vak. abdestilliert, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen, die Lösung einmal mit Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Kugelrohr destilliert (Hochvak., Badtemp.  $150^\circ\text{C}$ ). Ausb. 490 mg (87%).

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.42$  (s, 3H); 1.46 (s, 3H); 2.06 (s, 3H); 3.76 (s, 3H); 4.02 (s, 1H); 6.80–7.50 (m, 4H); 8.35 (s, 1H); 13.02 (br. s, 1H). – MS (70 eV):  $m/e = 281$  (2.6%,  $\text{M}^+$ ), 234 (2), 222 (0.4), 193 (1), 174 (2.2), 89 (100).

*S-Benzyl-N-salicyliden-DL-penicillamin-methylester (28)*: Hergestellt analog zu **27**. Ausb. 89%; gelbes Öl; unzersetzt destillierbar (Kugelrohr, Badtemp.  $180^\circ\text{C}$ ).

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.46$  (s, 3H); 1.52 (s, 3H); 3.73 (s, 3H); 3.76 (s, 2H); 3.97 (s, 1H); 6.64–7.46 (m, 9H); 8.07 (s, 1H); 13.00 (s, 1H).

*Bestimmung der Additions geschwindigkeit von Phenylmethanthiol an Dehydrovalinderivate*: Zu einer Lösung von je 2 mmol Dehydrovalinverbindung **21–25** und 2 mmol Phenylmethanthiol

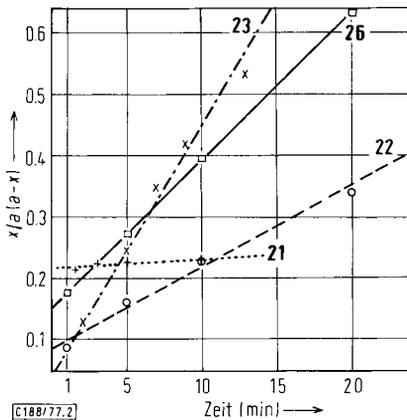


Abb. 2. Addition von Phenylmethanthiol an Dehydrovalinderivate **21**, **23** in 0.2 M, **22**, **26** in 0.025 M ethanolischer Lösung. Katalysator 1 Moläquiv. DBU

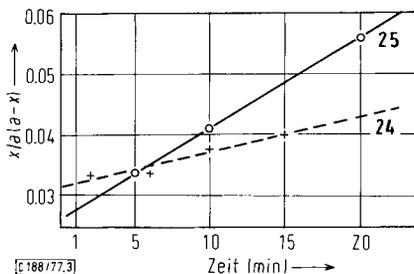


Abb. 3. Addition von Phenylmethanthiol an Dehydrovalinester (**24**) und *N*-Acetyldehydrovalinester (**25**) in 0.2 M ethanolischer Lösung. Katalysator 1 Moläquiv. DBU

in 8 ml trockenem Ethanol wurden bei 50°C 2 mmol DBU in 2 ml trockenem Ethanol gegeben. Zur Bestimmung des Umsatzes wurde jeweils 1 ml Lösung entnommen, mit 50proz. Essigsäure auf etwa 30 ml verdünnt und mit 0.1 M KI<sub>3</sub>-Lösung titriert (Sauerstoffausschluß, Indikator Stärkelösung). Zum Vergleich wurden jeweils gleichzeitig 2 Leerwerte gemessen: 1. Substrat mit Katalysator, 2. Dehydroverbindung mit Substrat ohne Katalysator.

Wegen der Schwerlöslichkeit der Pyridoxylidenverbindung **26** mußte die Addition an diese Verbindung in 0.025 M Lösung (1.25 mmol **26**, 1.25 mmol Phenylmethanthiol in 48 ml Ethanol, 1.25 mmol DBU in 2 ml Ethanol, Probenentnahme jeweils 5 ml) untersucht und mit der Addition an **22** unter gleichen Bedingungen verglichen werden.

Eine exakte Berechnung der Reaktionsordnung für den gesamten Beobachtungszeitraum war durch Primär- und/oder Folgeprozesse nicht möglich. Aus der Beobachtung der Anfangsgeschwindigkeiten und auf Grund der Linearisierung der Werte konnte jedoch zumindest für die Reaktion während der ersten 20 min eindeutig ein Verlauf 2. Ordnung nachgewiesen werden (Abb. 2 und 3). Die Geschwindigkeitskonstanten ergaben sich als:

n	$k_n$ (l · mol <sup>-1</sup> · min <sup>-1</sup> )	$k_{2s}/k_n$
<b>25</b>	$1.46 \cdot 10^{-3}$	1
<b>22</b>	$1.58 \cdot 10^{-2}$	10.8
<b>26</b>	$2.45 \cdot 10^{-2}$	16.8
<b>23</b>	$3.69 \cdot 10^{-2}$	25.2

[188/77]