

Untersuchungen zur Struktur und Derivatisierung von Kondensationsprodukten der 2,4-Diaminobuttersäure mit anderen Aminosäuren

Investigations Regarding Structure and Derivatization of the Condensation Products of 2,4-Diaminobutyric Acid with Other Amino Acids

G. Filsak, K. Taraz, und H. Budzikiewicz

Institut für Organische Chemie der Universität zu Köln, Greinstraße 4, D-50939 Köln

Z. Naturforsch. **49 c**, 18–25 (1994); eingegangen am 18. Oktober 1993

Diaminobutyric Acid Condensation Products, Pyoverdins, *Pseudomonas*

Condensation of 2,4-diaminobutyric acid (Dab) with other amino acids yields tetrahydropyrimidine derivatives. Such condensation products can be constituents of the peptide chain of pyoverdins and ferribactins (the siderophores of fluorescent pseudomonads). Synthesis of several representatives and model substances allows to confirm earlier structural conclusions based mainly on NMR evidence. Apparent anomalies accompanying the derivatization for GC/MS analysis could be clarified.

Einleitung

In einer früheren Arbeit konnten wir zeigen, daß der Chromophor **1** der Ferribactine, welche als biogenetische Vorläufer der Siderophore fluoreszierender *Pseudomonaden* [2], der Pyoverdine, angesehen werden [3], durch Kondensation von je einem Molekül D-Tyr und L-2,4-Diaminobuttersäure (L-Dab) gebildet wird [4]. Inzwischen sind auch in den Peptidketten von Pyoverdinen Kondensationsprodukte von L-Dab mit anderen Aminosäuren (Gln, Orn, Ser [5–8]) bekannt, die alle den 1,4,5,6-Tetrahydropyrimidinring (wahrscheinlich als tautomeres Gleichgewicht zwischen den beiden Amidinformen a und b) enthalten. Die Kondensation zwischen Dab und einer zweiten Aminosäure unter Verlust von 2 H₂O kann im Prinzip in zweifacher Weise erfolgen, und zwar

- entweder durch Reaktion der freien Aminogruppen von Dab mit den Carboxylgruppen der zweiten Aminosäure (für Tyr → **1**, Cyclisierung von Tyr-Dab)
- oder durch Reaktion der Carboxylgruppe von Dab mit der eigenen γ -Aminogruppe und der zweiten Aminosäure (für Tyr → **2**, Cyclisierung von Dab-Tyr).

Sonderdruckanforderungen an Prof. H. Budzikiewicz.

Verlag der Zeitschrift für Naturforschung,
D-72072 Tübingen
0939–5075/94/0100–0018 \$ 01.30/0

Eine Entscheidung zu Gunsten von **1** wurde aufgrund eingehender NMR-Untersuchungen [4] sowie durch Vergleich dieser Daten mit denen von Ectoin (**3**), dem Kondensationsprodukt von Dab mit Essigsäure [9, 10] getroffen. Eine entsprechende Vergleichsverbindung für **2** stand nicht zur Verfügung. Im folgenden soll über die Synthese der Kondensationsprodukte von Dab mit Gly (**7**) bzw. Aib (**8**), der von einigen Modellverbindungen (**4–6**) sowie von 3-Amino-2-methylamino-1-pyrrolin (**9**) als Modellverbindung für **2** berichtet werden. Auf eine Besonderheit bei der TAB-Derivatisierung (N-Trifluoracetyl-*n*-butylester) von Verbindungen vom Typ **1** wird gleichfalls eingegangen.

Synthesen

(a) Für die Synthese der Verbindungen **3–8** wurde die Kondensation entsprechender Imidoester [11] mit 1,3-Diaminopropan bzw. Dab gewählt, die bereits bei Temperaturen unter 100 °C möglich ist. Ein Schutz der Carboxylgruppe von Dab ist nicht notwendig, da freie Säuregruppen erst bei viel höheren Temperaturen reagieren, wohl aber der Aminogruppe der zweiten Aminosäurekomponente, wofür sich Benzyloxycarbonyl- oder besser Tosyl-Gruppen eignen [12]. Die Darstellung der (geschützten) Imidoester erfolgte durch Umsetzung der entsprechenden (geschützten) Nitrile mit Ethanol/Chlorwasserstoff. Da nur Vergleichsverbindungen für NMR- und massenspektroskopische Untersuchungen benötigt wurden, gingen wir von D,L-Dab aus.

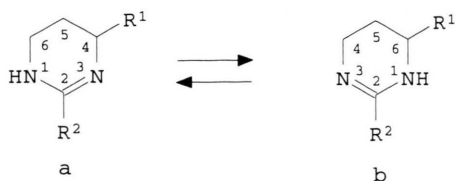


Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

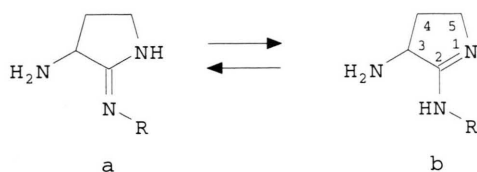
Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

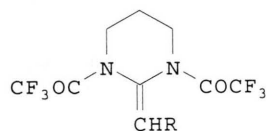
On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition “no derivative works”). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.



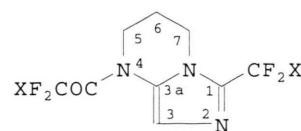
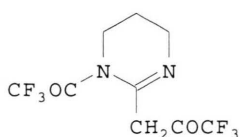
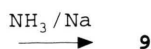
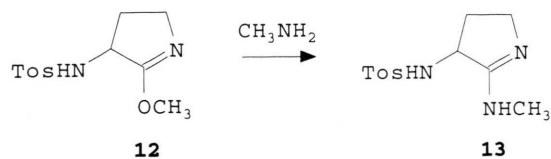
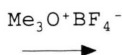
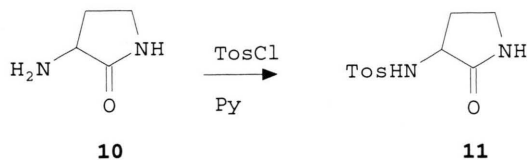
- 1:** $\text{R}^1 = \text{COOH}, \text{R}^2 = \text{CHNH}_2\text{-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{OH}$
3: $\text{R}^1 = \text{COOH}, \text{R}^2 = \text{CH}_3$
4: $\text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = \text{CH}_3$
5: $\text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = \text{CH}_2\text{NH}_2$
6: $\text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2$
7: $\text{R}^1 = \text{COOH}, \text{R}^2 = \text{CH}_2\text{NH}_2$
8: $\text{R}^1 = \text{COOH}, \text{R}^2 = \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2$



- 2:** $\text{R} = \text{HOOC-CH-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{OH}$
9: $\text{R} = \text{CH}_3$

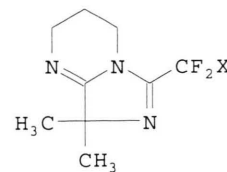
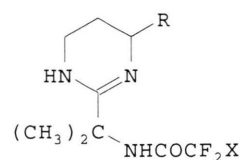


- 14:** $\text{R} = \text{H}$
16: $\text{R} = \text{COCF}_3$
19: $\text{R} = \text{NH}_2$

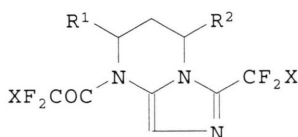


15

17: X = F

18: X = CF₃

- 20:** $\text{R} = \text{H}, \text{X} = \text{F}$
21: $\text{R} = \text{H}, \text{X} = \text{CF}_3$
32: $\text{R} = \text{COOC}_4\text{H}_9, \text{X} = \text{F}$
33: $\text{R} = \text{COOC}_4\text{H}_9, \text{X} = \text{CF}_3$



	R^1	R^2	X
24:	COOBu	H	F
25:	COOBu	H	CF ₃
26:	H	COOBu	F
27:	H	COOBu	CF ₃
28:	COOiPr	H	F
29:	COOiPr	H	CF ₃
30:	H	COOiPr	F
31:	H	COOiPr	CF ₃

Schema 1. Synthese von **9**.

(b) 3-Amino-2-methylamino-1-pyrrolin **9** wurde nach Schema 1 aus Dab-Lactam (3-Aminopyrrolidon-2) [13] dargestellt.

NMR- und Massenspektren

(a) ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren (Tab. I und II)

Die Daten, deren Zuordnung durch homo- und heteronukleare Entkopplung gesichert ist, bestätigen die für **1** und **3** [4] sowie für weitere analoge Kondensationsprodukte [7, 8] getroffenen Zuordnungen. Erwähnenswert ist, daß selbst bei der freien Base **4** der Protonenaustausch ($a \longleftrightarrow b$) so rasch erfolgt, daß die C-4- und C-6-Signale zusammenfallen. Bemerkenswert ist auch die über die N-Atome hinweg zu beobachtende 5J -Kopplung zwischen den C-4 (C-6)- CH_2 - und der CH_3 -Gruppe von **4**, die zu einer komplexen Aufspaltung des Signals letzterer führt. Eine analoge Aufspaltung des CH_2NH_2 -Signals (0,23 Hz) beobachtet man auch bei **5**. Protonierung der Amidengruppierung führt zu einer Positivierung von C-2, die ihrerseits wieder eine Entschirmung α -ständiger Protonen bewirkt (Tiefeldverschiebung des Methylsignals von ca. 0,6 ppm bei protoniertem **3** gegenüber freiem **4**).

Wichtig im Hinblick auf die Struktur der Kondensationsprodukte von Dab (s. oben) sind die NMR-Daten von **9** (Tab. III) im Vergleich mit **7** (die Zuordnung erfolgte wieder durch homo- und heteronukleare Entkopplungsexperimente), die eine eindeutige Unterscheidung zwischen den beiden Ringsystemen gestatten und so die früher [4, 7, 8] getroffenen Zuordnungen bestätigen.

(b) Massenspektren

Wie bereits erwähnt, finden sich Kondensationsprodukte von Dab mit anderen Aminosäuren auch in den Peptidketten von Pyoverdinen und fallen wegen ihrer meist großen Resistenz gegen Hydrolyse bei Totalhydrolyseversuchen neben den freien Aminosäuren der restlichen Kette an. Zur gaschromatographisch-massenspektroskopischen Identifizierung werden die Aminosäuren verestert und perfluoracyliert (Überführung in die CF_3CO -, $\text{C}_2\text{F}_5\text{CO}$ - und $\text{C}_3\text{F}_7\text{CO}$ -Derivate). Typisch ist die TAB-(Trifluoracetyl-*n*-butyl)-Derivatisierung. Bei den Kondensationsprodukten vom Typ **1** fiel dabei auf, daß unabhängig vom veresternden Alkohol (*n*-Butanol, *i*-Propanol) und der verwendeten perfluorierten Säure durchgehend nicht M^{+} -, sondern $[\text{M}-18]^+$ -Ionen beobachtet wurden. $[\text{M}-18]$ kann von einem Verlust von H_2O bei der Derivatisierung oder im Massenspektrometer stammen, durch Metalloberflächen des Massenspektrometers katalysierten Ersatz von F gegen H, aber auch die Abspaltung von F^- aus $[\text{M}+\text{H}]^+$ zur Ursache haben, um nur einige Spekulationen zu nennen, von welchen keine wirklich plausibel erschien.

Eine nähere Untersuchung ergab das folgende Bild: Unter den Standardbedingungen (5 min Umsetzung mit $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ bei 150°C) erhält man von dem einfachsten Vertreter (**4**) drei Derivate, die sich gaschromatographisch trennen lassen und bei denen es sich – wie die Massenspektren zeigen – um zwei Di- (**14**, **15**) und ein Tris-trifluoracetylderivat (**16**) handelt. Wegen der hohen Hydrolyseemp-

	H^4	H^5	H^6	CH_3	CH_2	$^3J(\text{H}^4, \text{H}^5)$ [Hz]
4 ^a	3,22	1,70	3,22	1,74		5,76
5 ^b	3,52	2,02	3,52		4,05	5,78
6 ^c	3,41	1,86	3,41	1,56		5,76
3 ^d	4,25	2,25	3,49	2,33		5,70
7 ^b	4,48	2,28	3,48/3,62		4,14	5,51
8 ^e	4,62	2,35	3,49/3,72	1,85		5,01

Tab. I. ^1H -NMR-Daten der Tetrahydropyrimidin-Derivate (300 MHz; δ ppm).

^a Freie Base/ CD_3OD ; ^b Dihydrobromid/ D_2O ; ^c Dipikrat/ $\text{DMSO}-d_6$; ^d Hydrochlorid/ D_2O /80 MHz; ^e Dihydrochlorid/ D_2O .

	C^2	C^4	C^5	C^6	$\alpha\text{-C}$	$\beta\text{-C}$	COOH
4 ^a	157,8	42,1	21,3	42,1	21,3		
5 ^b	157,4	40,2	18,1	40,2	40,4		
6 ^c	162,2	39,0	17,0	39,0	54,9	23,9	
3 ^d	161,1	53,9	22,3	38,2	19,2		177,4
7 ^b	157,6	52,9	21,2	38,7	40,3		174,1
8 ^e	164,6	54,1	22,2	40,1	58,0	25,9	175,2

Tab. II. ^{13}C -NMR-Daten der Tetrahydropyrimidin-Derivate (75,5 MHz; H,C-entkoppelt; δ ppm).

^a Freie Base/ CD_3OD ; ^b Dihydrobromid/ D_2O ; ^c Dipikrat/ $\text{DMSO}-d_6$; ^d Literaturdaten/ D_2O /pH = 3 [3]; ^e Dihydrochlorid/ D_2O .

Tab. III. NMR-Daten von **9** (HCl/D₂O pH=3,5; δ ppm).

Position	¹ H	Mult.	¹³ C	¹ J _{CH} [Hz]
2	–	–	164,7	–
3	4,95	dd	53,4	154
4	≈2,40/2,85	m	27,4	138
5	≈3,90	m	46,9	148
CH ₃	3,10	s	31,9	142
N	≈9,17/9,75	breit	–	–

findlichkeit war eine präparative HPLC-Trennung nicht möglich. Unter milden Reaktionsbedingungen (2 min, 100 °C) entstand als einziges flüchtiges Derivat nur eine der beiden Diacetylverbindungen, daneben aber auch eine nicht flüchtige Verbindung. Von diesem Gemisch konnte ein ¹H-NMR-Spektrum erhalten werden, in welchem durch Doppelresonanzmessungen und Integration die Signale den beiden Verbindungen zugeordnet werden konnten. Bei der flüchtigen Verbindung handelt es sich um **14** (symmetrische N–CH₂–CH₂–CH₂–N-Einheit: 3,80 ppm, t, 4 H; 2,10 ppm, qui, 2 H, *J* = 6,2 Hz; =CH₂: 5,60 ppm, 2 H; *m/z* = 290, M⁺; 221, [M–CF₃]⁺; 193, [M–COCF₃]⁺; 165, 154, 126, 84, 69 (CF₃⁺), 56, 41) entsprechend dem Umsetzungsprodukt von **4** mit Acetanhydrid, dessen ¹H-NMR-Spektrum mit dem von **14** gut übereinstimmt [14]. Die nicht flüchtige Komponente ist wahrscheinlich das Trifluoracetat von protoniertem **4** (symmetrische N–CH₂–CH₂–CH₂–N-Einheit: 3,42 und 2,00 ppm; CH₃ 2,20 ppm; NH 8,30 ppm; vgl. Tab. I und die zugehörige Diskussion der NMR-Spektren).

Bei Verlängerung der Reaktionszeit auf 10 min bei 150 °C verschwindet **14** fast vollständig zu Gunsten von **15** und **16**. Da diese Verbindungen nicht in für NMR-Messungen ausreichend reiner Form erhalten werden konnten, können über ihre Struktur nur Vermutungen angestellt werden. Bei der Diacetylverbindung könnte es sich um **15** (entstanden durch Fries-Umlagerung oder bimolekulare Reaktion mit (CF₃CO)₂O?) oder die tautomere Verbindung mit einer *exo*-Doppelbindung, bei **16** um deren Acylierungsprodukt handeln. **3-n**-Butylester zeigte analoges Verhalten: Es wurden gleichfalls zwei isomere Di-trifluoracetyl-Derivate gebildet. Jedenfalls findet man in den Massenspektren keiner der Verbindungen als Ion höchster Masse [M–18]⁺, sondern stets M⁺.

Im Hinblick auf dieses Problem ist das Verhalten von **5** aufschlußreicher: Umsetzung mit (CF₃CO)₂O ergibt ein einheitliches Produkt (**17**), dessen Molmasse (M⁺ *m/z* = 287) der Einführung von zwei Trifluoracetylgruppen und dem Verlust von 18 Masseneinheiten (u) entspricht (weitere charakteristische Fragmente sind [M–COCF₃]⁺, *m/z* = 190 und *m/z* = 69). Reaktion mit (C₂H₅CO)₂O führt zu einem analogen Ergebnis, Einführung von zwei Acylgruppen unter Verlust von 18 u (**18**) (M⁺ *m/z* = 387; [M–CF₃]⁺, *m/z* = 318; [M–COC₂F₅]⁺, *m/z* = 240). Verbindung **17** konnte isoliert und spektroskopisch als 4,5,6,7-Tetrahydro-4-trifluoracetyl-1-trifluormethyl-imidazo[5,1-a]pyrimidin charakterisiert werden. Die NMR-Daten sind in Tab. IV zusammengefaßt. Es läßt sich wieder die Sequenz –N–CH₂–CH₂–CH₂–N– durch homonukleare Einstrahllexperimente nachweisen. Die Zuordnung der ¹³C- zu ¹H-Signalen erfolgte durch heteronukleare Entkopplung. Die eindeutige Zuordnung der ¹³C-Signale war über die beobachteten Wechselwirkungen mit den ¹⁹F-Kernen möglich: Zwei Signale (153,7 und 131,5 ppm) zeigen ²J(C,F)-Quadruplettaufspaltung; nach ihrer chemischen Verschiebung sind sie dem CO- und dem C-1-Kern zuzuordnen. Die ¹³C-NMR-Werte der zugehörigen CF₃-Gruppen entsprechen den Literaturwerten für Trifluormethylbenzol (124,5 ppm, 272 Hz) und Trifluoressigsäure (115,0 ppm, 283 Hz). Die Zuordnung wird bestätigt durch die ¹⁹F-Resonanzen (zum Vergleich: Trifluormethylbenzol –64 ppm;

Tab. IV. NMR-Daten von **17** (CD₂Cl₂; ¹³C-Spektren C,H-entkoppelt).

Kern	δ /ppm	Int.	Mult.	Kopplungen [Hz]
H ³	7,62	1	s	
H ⁵	4,23	2	t	³ J(H ⁵ ,H ⁶) = 6,08
H ⁶	4,02	2	(t)	³ J(H ⁶ ,H ⁷) = 5,40
H ⁷	2,29	2	m	
C=O	153,7		q	² J(C,F) = 37,2
C ¹	131,5		q	² J(C,F) = 40,3
C ^{3a}	129,7		s	
1-CF ₃	119,4		q	¹ J(C,F) = 268,7
C ³	119,5		s	
4-CF ₃	116,4		q	¹ J(C,F) = 286,4
C ⁷	43,2		q	⁴ J(C,F) = 3,9
C ⁵	42,5		s	
C ⁶	21,8		s	
1-CF ₃	–63,1		s	¹ J(F,C) = 268,9
4-CF ₃	–69,6		s	¹ J(F,C) = 285,4

Trifluoressigsäure –77 ppm [15]) und die in beiden Richtungen bestimmten $^1J(\text{C},\text{F})$ -Kopplungen. Die Zuordnung von C-5 und C-7 ergibt sich aus der Quadruplett-Aufspaltung des letzteren durch $^4J(\text{C},\text{F})$ -Kopplung (eine solche Aufspaltung von C-5 über die Carboxylgruppe erfolgt nicht, wie das ^{13}C -Spektrum von **14** zeigt).

Das UV-Spektrum zeigt Absorption bei 261 nm ($\epsilon = 4930 \text{ l/mol} \cdot \text{cm}$).

Die Entstehung von **17** könnte man durch Wasserabspaltung aus **19** (gebildet in Analogie zu **14**) erklären. Eine solche Zwischenstufe wäre jedoch bei **6** nicht möglich. Umsetzung mit $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ bzw. $\text{C}_2\text{F}_5\text{CO}_2\text{O}$ ergibt hier Monoacylderivate (M^+ $m/z = 237$ bzw. 287) neben Produkten, die aus letzterem durch Verlust von H_2O entstanden sind (M^+ $m/z = 219$ bzw. 269). Bei den Monoacylderivaten handelt es sich nach ihren Massenspektren um **20** bzw. **21**, wie das Auftreten von $[\text{M} - \cdot\text{NHCOCF}_2\text{R}]^+$ ($m/z = 125$) als Hauptfragment sowie von $(\text{CH}_3)_2\text{C} = \text{NH}^+\text{COCF}_2\text{R}$ ($m/z = 154$ bzw. 204) wahrscheinlich macht. Ob die Bildung von **20/21** dahingehend interpretiert werden kann, daß auch die von **17/18** aus **5** über eine primäre Acylierung der Aminogruppe und nicht über **19** verläuft, muß offen bleiben. Wasserabspaltung aus **20/21** führt zu **22/23**, deren Massenspektren erwartungsgemäß als intensivstes Ion $[\text{M} - \cdot\text{CH}_3]^+$ zeigen, während Verlust von $\cdot\text{CF}_3$ ($\cdot\text{C}_2\text{F}_5$) kaum zu erkennen ist. Einführung einer Estergruppe an C-6 (Veresterung der Carboxylgruppe bei **7** mit *n*-Butanol oder Isopropanol) führt dazu, daß die Wasserabspaltung (Ausbildung des Imidazolringes) in zwei Richtungen erfolgen kann (**24–31**). Eine der beiden Formen (A) überwiegt, und zwar nimmt ihr Anteil mit Raumbeanspruchung der Ester- und der Acylgruppe zu. Die

Massenspektren der jeweiligen Isomere A und B unterscheiden sich in charakteristischer Weise, erlauben aber keine eindeutigen Zuordnungen (s. Tab. V). Bei Typ A ist $[\text{M} - \cdot\text{COOR} - \cdot\text{COCF}_2\text{X}]^+$ intensiver als das um H \cdot ärmere Ion (bei B umgekehrt); das Ion $[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8/\text{C}_3\text{H}_6 - \cdot\text{COCF}_2\text{X}]^+$ fehlt bei Typ A. In analoger Weise geben **32** und **33** jeweils zwei Produkte durch Wasserabspaltung, die sich in ihren Massenspektren jeweils etwas unterscheiden.

9 liefert mit $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ ein Triacylderivat aus einer tautomeren Form mit einer 2,3-Doppelbindung, das keine Wasserabspaltung zeigt.

Zusammenfassung

Modellsubstanzen für die beiden möglichen Kondensationsprodukte von Dab mit anderen Aminosäuren (Tetrahydropyrimidin- und Pyrrolinstrukturen) konnten synthetisiert und die auf NMR-spektroskopischem Weg getroffene Entscheidung zu Gunsten ersterer so bestätigt werden. Nach der Überführung der Kondensationsprodukte in die N-Trifluoracetyl-*n*-butylester (TAB-Derivate) und analoge Verbindungen waren bei der massenspektroskopischen Untersuchung stets anstelle von M^+ -Ionen der Masse $[\text{M}-18]^+$ beobachtet worden. Es konnte nun gezeigt werden, daß bei der Derivatisierung Wasserabspaltung unter Ausbildung von Imidazopyrimidin-Derivaten (**17**, **18**) erfolgt.

Danksagung

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie möchten wir für finanzielle Unterstützung bestens danken.

Tab. V. Massenspektren der Verbindungen **24–31** (m/z , rel. Int.).

Verbindung	24/26		25/27		28/30		29/31	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Ionen								
M	387 (92)	(100)	487 (82)	(100)	373 (31)	(72)	473 (28)	(100)
M–F	368 (10)	(4)	468 (11)	(11)	354 (3)	(2)	454 (4)	(5)
M– $\text{C}_4\text{H}_8/\text{C}_3\text{H}_6$	331 (7)	(21)	431 (5)	(17)	331 (28)	(100)	431 (17)	(100)
M– $\text{C}_4\text{H}_8/\text{C}_3\text{H}_6 - \text{COCF}_2\text{X}$	234 (–)	(27)	284 (–)	(72)	234 (–)	(26)	284 (–)	(52)
M–COOR	286 (100)	(29)	386 (100)	(40)	286 (82)	(75)	386 (53)	(95)
M–COOR–56	230 (14)	(4)	330 (6)	(–)	230 (17)	(7)	330 (5)	(3)
M–COOR– COCF_2X	189 (67)	(14)	239 (80)	(21)	189 (82)	(25)	239 (75)	(36)
M–COOR– $\text{COCF}_2\text{X} - \text{H}$	188 (10)	(22)	238 (5)	(36)	188 (7)	(38)	238 (5)	(60)
M–COOR– $\text{COCF}_2\text{X} - \text{X}$	170 (10)	(3)	170 (60)	(57)	170 (7)	(5)	170 (46)	(70)

Experimenteller Teil

EI-Massenspektren: Kratos MS 25 RF (Manchester, England). Probeneinführung über einen Gaschromatograph Carlo Erba HRGC/MS mit Steuereinheit MFC 500 (Säule SE-54, He) oder direkt.

NMR-Spektren: Bruker AM 300 (Karlsruhe) für 300 MHz ^1H und 75,5 MHz ^{13}C [^1H]; Bruker AC 80 für 80 MHz ^1H ; Bruker AC 200 für ^{19}F (Meßfrequenz 188,3 MHz, externer Standard CCl_3F).

UV/Vis-Spektren: Perkin-Elmer Lambda 7 (Überlingen).

Derivatisierung

1–2 mg der jeweiligen Verbindung (**3**, **7**, **8**) wurden mit 1 ml Acetylchlorid/*n*-Butanol oder Isopropanol (1/10, v/v) in einem verschlossenen Pyrex-Röhrchen 20 min auf 100 °C erhitzt und anschließend bei 30–40 °C zur Trockene gebracht, zur Entfernung von restlichem Alkohol in 1 ml Dichlormethan aufgenommen und wieder zur Trockene gebracht. Die so erhaltenen Ester und in analoger Weise 1–2 mg **4**–**6** und **9** wurden mit 1 ml Dichlormethan und 0,2 ml $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ bzw. $(\text{C}_2\text{F}_5\text{CO})_2\text{O}$ in einem verschlossenem Pyrex-Röhrchen fünf Minuten auf 150 °C erhitzt (abweichende Reaktionsbedingungen sind im Text vermerkt) und anschließend bei 20 °C zur Trockene eingengt, in 1 ml Dichlormethan aufgenommen und wieder eingengt.

2-Methyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin (4). 1 g (8 mmol) Acetimidoethylester·HCl [16] in 5 ml Ethanol gelöst wurden mit 8 mmol $\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$ in 3 ml Ethanol versetzt, von ausgefallenem NaCl durch Zentrifugieren befreit und zu einer Lösung von 8 mmol 1,3-Diaminopropan in 3 ml Ethanol zugetropft. Das Gemisch wurde zwei Stunden unter Feuchtigkeitsausschluß unter Rückfluß gekocht, Ethanol abdestilliert und der Rückstand i. V. destilliert. Ausbeute 0,55 g (69%), Kp. 100 °C/7 Torr [Lit. 114–116 °C/12 Torr [17]]. NMR-Daten s. Tab. I und II.

2-Methyl-1,4,5,6-Tetrahydropyrimidin-4-carbonsäure-hydrochlorid (Ectoin, **3**). Zu einer Suspension von 0,4 g (2,1 mmol) 2,4-Diaminobuttersäuredihydrochlorid ($\text{Dab} \cdot 2 \text{HCl}$) und 0,26 g (2,1 mmol) Acetimidoethylester-hydrochlorid in 5 ml Ethanol wurde unter Feuchtigkeitsausschluß und Rühren eine Lösung von 6,3 mmol $\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$ in 5 ml Ethanol

zugetropft (das dritte Drittel nach einer Pause von 15 min) und das Gemisch zwei Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen, Abzentrifugieren von NaCl und Einengen i. V. zur Trockene wurde verd. HCl zugesetzt und das Hydrochlorid von **3** mehrmals aus Ethanol/Ether umkristallisiert. Ausb. 0,25 g (67%), Fp. > 280 °C (Lit. > 280 °C) [9]. NMR-Daten s. Tab. I und II.

2-(N-Benzoyloxycarbonylaminoethyl)-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-hydrochlorid. Zu einer Lösung von 0,26 g (37 mmol) 1,3-Diaminopropan in 2 ml Ethanol wurde eine Lösung von N-Benzoyloxycarbonylaminoacetimidoethylester-hydrochlorid [18] in 7 ml Ethanol zugetropft, das Gemisch unter Feuchtigkeitsausschluß 3 Stunden unter Rückfluß gekocht, nach dem Abkühlen durch Filtration von festen Bestandteilen befreit, auf das halbe Volumen eingengt und langsam auf –18 °C abgekühlt. Die ausfallenden Kristalle wurden aus wenig Ethanol analog umkristallisiert. Ausb. 0,62 g (60%), Fp. 186 °C (Zers.), ^1H -NMR (CD_3OD) (δ /ppm, Mult., Integral, *J*): 7,25–7,4, m, 5 (Phenyl); 5,12, s, 2 (benzyl. CH_2); 4,07, s, 2 (CH_2N); 3,42, t, 4, 5,75 Hz und 1,98, m, 2, ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$).

2-Aminomethyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-dihydrobromid (5·2 HBr). Eine Lösung von 0,35 g der geschützten Verbindung in 0,75 ml Eisessig wurde unter Feuchtigkeitsausschluß mit 5 ml einer 33-proz. Lösung von HBr in Eisessig versetzt, die Fällung von entstandenem **5·2 HBr** durch Zugabe von 20 ml Ether vervollständigt, der Niederschlag mit Ether gewaschen, in 3 ml Ethanol gelöst und erneut mit Ether ausgefällt, abfiltriert und getrocknet. Ausb. 0,29 g (85%), Fp. 193 °C (Zers.), NMR-Daten s. Tab. I und II.

2-(N-Benzoyloxycarbonylaminoethyl)-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-4-carbonsäure. Ein Gemisch aus 0,4 g (2,1 mmol) $\text{Dab} \cdot 2 \text{HCl}$ und 0,57 g (2,1 mmol) N-Benzoyloxycarbonylaminoacetimidoethylester-hydrochlorid [18] wurde in 5 ml Ethanol suspendiert, unter Feuchtigkeitsausschluß und Rühren tropfenweise mit 4,2 mmol $\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$ in 3 ml Ethanol und nach 10 min mit weiteren 2,1 mmol $\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$ in 1,5 ml Ethanol versetzt und anschließend 2 Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. V. wurde mit Wasser bei 0 °C zur Entfernung des NaCl digeriert und anschließend aus heißem Wasser umkristallisiert. Ausb. 0,45 g (74%), Fp. 251 °C (Zers.), ^1H -NMR (CD_3OD) (δ /ppm, Mult., Integral, *J*):

7,25–7,40, m, 5 (Phenyl); 5,13, s, 2 (benzyl. CH₂); 4,32, s, 2 (CH₂N); 4,31, breit, 1 (CH); 3,49, breit, 2 und 1,98, breit, 2 (–N–CH₂–CH₂–).

2-Aminomethyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-4-carbonsäure-dihydrobromid (**7**·2 HBr) wurde wie für **5**·2 HBr beschrieben freigesetzt. Ausb. 90%, Fp. 196 °C (Zers.), NMR-Daten s. Tab. I und II.

2-(1-p-Tosylamino-1-methyl)-ethyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-hydrochlorid. Zu einer Lösung von 0,28 g (3,75 mmol) 1,3-Diaminopropan in 2 ml Ethanol wurde eine Lösung von 1,2 g (3,75 mmol) α-(p-Tosylamino)-isobutyrimido-ethylester-hydrochlorid [**18**] in 4 ml Ethanol getropft, das Gemisch unter Feuchtigkeitsausschluß und Rühren 3 Stunden gekocht, durch Filtrieren von festen Bestandteilen befreit und i. V. zur Trockene eingengt, der Rückstand in 3,5 ml Ethanol gelöst und langsam auf –18 °C abgekühlt, wobei sich Kristalle abschieden. Ausb. 1,06 g (85%), Fp. 265 °C. ¹H-NMR (DMSO-d₆) (δ/ppm, Mult., Integral, J): 7,30–7,85, AA'BB', 4 (Phenyl); 3,45, t, 4, 7,2 Hz und 1,95, m, 2 (–CH₂–CH₂–CH₂–); 2,43, s, 3 (arom. CH₃); 1,45, s, 6 (aliph. CH₃).

2-(1-Amino-1-methyl)-ethyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-dihydrochlorid (**6**·2 HCl). In einem 100-ml-Dreihalskolben mit Gaseinleitungs- und Trockenrohr werden 30 ml NH₃ kondensiert, darin bei –35 °C 0,36 g (1,1 mmol) der Tosylverbindung gelöst. Nach Zugabe von Na in kleinen Portionen bis zum Bestehenbleiben der Blaufärbung (2 min) wurde NH₄Cl bis zur Entfärbung zugegeben, NH₃ abgedampft, der Rückstand in verd. Essigsäure aufgenommen, die Lösung über Aktivkohle filtriert, das Lösungsmittel i. V. entfernt, der Rückstand in H₂O aufgenommen, mit einer Pikrinsäurelösung versetzt und der Niederschlag durch Erwärmen in Lösung gebracht. Beim Abkühlen fiel das Dipikrat in gelben Nadeln aus. Es wurde in Wasser gelöst, die Lösung mit halbkonz. Salzsäure versetzt, der Niederschlag abfiltriert und die wäßrige Phase bis zur Farblosigkeit mit Toluol extrahiert. Beim Eindampfen fiel **6**·2 HCl aus, das in Ethanol gelöst und mit Ether ausgefällt und getrocknet wurde. Ausb. (Dipikrat) 0,47 g (71%). Fp. (Dipikrat) 213 °C, Dihydrochlorid 215 °C (Zers.). NMR-Daten s. Tab. I und II.

2-(1-p-Tosylamino-1-methyl)-ethyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-4-carbonsäure. Eine Suspension von 0,27 g (1,44 mmol) Dab·2 HCl in 2 ml Ethanol

wurde mit einer Lösung von 0,46 g (1,44 mmol) α-(p-Tosylamino)-isobutyrimidoethylester [**18**] in 3 ml Ethanol und anschließend unter Feuchtigkeitsausschluß und Rühren innerhalb von 20 min tropfenweise mit 4,3 mmol C₂H₅ONa in 3 ml Ethanol versetzt und 3 Stunden unter Rückfluß gekocht, das Lösungsmittel i. V. entfernt und der Rückstand mit Ether und Wasser gewaschen. Ausb. 0,31 g (64%), Fp. > 300 °C.

2-(1-Amino-1-methyl)-ethyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-4-carbonsäure-dihydrochlorid (**8**·2 HCl) wurde wie für **6** beschrieben freigesetzt (Entfernung des NH₃ bei –30 °C). Ausb. 68%, Fp. 209 °C (Zers.). NMR-Daten s. Tab. I und II.

3-p-Tosylamino-2-pyrrolidon (**11**). Unter Eiskühlung wurde ein Gemisch von 3,2 g (32 mmol) 3-Amino-2-pyrrolidon [**13**], 6,09 g (32 mmol) Tosylchlorid und 4 ml Pyridin 30 min gerührt und dann 5 Stunden stehen gelassen. Die entstandenen Kristalle wurden abfiltriert und aus Ethanol unter Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert. Ausb. 1,50 g (18%). ¹H-NMR (CDCl₃): 6,80–7,40 (Phenyl); 3,45 (CH); 2,95 und 1,30–1,95 (–N–CH₂–CH₂–); 2,00 (CH₃).

2-Methoxy-3-p-tosylamino-1-pyrrolin (**12**). Eine Suspension von 0,87 g (5,9 mmol) (CH₃)₃O⁺BF₃[–] in 10 ml Dichlormethan wurde unter Feuchtigkeitsausschluß und Rühren mit einer Lösung von 1,5 g (5,9 mmol) **11** in 10 ml Dichlormethan versetzt, 3 Stunden gerührt und in eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 0,3 g NaOH in 30 ml Wasser gegossen, die organische Phase rasch abgetrennt, über NaOH getrocknet und zur Trockene eingengt. Der braune Rückstand (0,73 g) wurde sofort weiterverarbeitet. ¹H-NMR (CDCl₃): 6,85–7,65 (Phenyl); 3,90 (CH), 3,25 und 1,30–2,00 (–N–CH₂–CH₂–); 3,55 (OCH₃); 2,25 (arom. CH₃).

2-Methylamino-3-p-tosylamino-1-pyrrolin-dihydrochlorid (**13**·2 HCl). Eine Lösung von 0,73 g (2,7 mmol) **12** und 0,18 g (2,7 mmol) Methylaminhydrochlorid in 20 ml abs. Ethanol wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, Ethanol abdestilliert und der braune Rückstand (0,82 g) ohne Reinigung weiterverarbeitet.

3-Amino-2-methylamino-1-pyrrolin-dihydrochlorid (**9**·2 HCl) wurde wie für (**6**·2 HCl) beschrieben freigesetzt. Ausb. 0,29 g (58%). NMR-Daten s. Tab. III.

- [1] Teil LX der Reihe „Bakterieninhaltsstoffe“. Für Teil LIX s. G. Ehlert, K. Taraz und H. Budzikiewicz, Serratiochelin, a New Catecholate Siderophore from *Serratia marcescens*. *Z. Naturforsch.* **49c**, 7–17 (1994).
- [2] H. Budzikiewicz, Secondary Metabolites from Fluorescent Pseudomonads. *FEMS Microbiology Rev.* **104**, 209 (1993).
- [3] I. Longerich, K. Taraz, H. Budzikiewicz, L. Tsaiger und J. M. Meyer, Pseudoverdin, a Compound Related to the Pyoverdin Chromophore from a *Pseudomonas* Strain Incapable to Produce Pyoverdins. *Z. Naturforsch.* **48c**, 425 (1993).
- [4] K. Taraz, R. Tappe, H. Schröder, U. Hohlneicher, I. Gwose, H. Budzikiewicz, G. Mohn und J. F. Lefèvre, Ferribactins – the Biogenetic Precursors of Pyoverdins. *Z. Naturforsch.* **46c**, 527 (1991).
- [5] P. Demange, A. Bateman, J. K. MacLeod, A. Dell und M. A. Abdallah, Bacterial Siderophores: Unusual 3,4,5,6-tetrahydropyrimidine – Based Amino Acids in Pyoverdins from *Pseudomonas fluorescens*. *Tetrahedron Lett.* **31**, 7611 (1990).
- [6] P. Demange, A. Bateman, C. Mertz, A. Dell, Y. Piemont und M. M. Abdallah, Identification of an Unusual Amino Acid. *Biochemistry* **29**, 11041 (1990).
- [7] S. Gipp, J. Hahn, K. Taraz und H. Budzikiewicz, Zwei Pyoverdine aus *Pseudomonas aeruginosa* R. *Z. Naturforsch.* **46c**, 534 (1991).
- [8] I. Gwose und K. Taraz, Pyoverdine aus *Pseudomonas putida*. *Z. Naturforsch.* **47c**, 487 (1992).
- [9] F. A. Galinski, H.-P. Pfeiffer und H. G. Trüper, A Novel Cyclic Amino Acid from Halophilic Phototropic Bacteria of the Genus *Ectothiorhodospira*. *Eur. J. Biochem.* **179**, 135 (1985).
- [10] R. Regev, I. Peri, H. Gilboa und Y. Avi-Dor, ¹³C NMR Study of the Interrelation between Synthesis and Uptake of Compatible Solutes in Two Moderately Halophilic Eubacteria. *Arch. Biochem. Biophys.* **278**, 106 (1990).
- [11] Zh. Huang und Zh. Liu, Synthesis of 2-(Benzoylmethylene) imidazolines and -hexahydropyrimidines by Condensation of Ethyl Benzoylacetimides with 1,2-Ethanediamine or 1,3-Propanediamine, and some Addition Reactions. *Synthesis* **1987**, 357.
- [12] Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Bd. **11**(2), S. 223 ff., Thieme, Stuttgart, 4. Auflage 1958.
- [13] R. Pellegata, M. Pinza und G. Pifferi, An Improved Synthesis of γ -, δ -, and ϵ -Lactams. *Synthesis* **1978**, 614.
- [14] J. Okada und M. Shimabayashi, N-Acetylation of 1,3-Diazines. *Yakugaku Zasshi* **97**, 962 (1977).
- [15] M. Hesse, H. Meyer und B. Zeeh, Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie, 4. Auflage, Thieme, Stuttgart 1991.
- [16] S. M. McElvain und J. W. Nelson, The Preparation of Orthoesters. *J. Am. Chem. Soc.* **64**, 1825 (1942).
- [17] H. Baganz und L. Domaschke, Notiz über die Synthese von Δ^2 -Imidazolinen und Δ^2 -Tetrahydropyrimidinen aus Orthocarbonsäureestern. *Chem. Ber.* **95**, 1840 (1962).
- [18] M. Mengelberg, Umsetzungen von N-substituierten Aminoiminoäthern. *Chem. Ber.* **89**, 1185 (1956).