

Über Aminosäuren und Peptide, XI^{1,2,3)}

Hydroxylsubstituierte Cyclodipeptide durch Ringschluß von Pyruvoylaminosäure-amiden

Johannes Häusler und Ulrich Schmidt •

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

Eingegangen am 12. Juli 1973

Mit Hilfe von energiereichen Brenztraubensäure-Verbindungen (Brenztraubensäure-chlorid, -*p*-nitrophenylester und Hydroxymaleinsäure-anhydrid) werden Pyruvoylaminosäure-amide aufgebaut. Sie cyclisieren — am schnellsten bei pH 7.5 in Wasser — zu den Hydroxycyclodipeptiden **13**, **14**, **15** und **17**. Unabhängig von der Struktur der Brenztraubensäure-Verbindung liegt das Gleichgewicht vollständig auf der Seite der Ringverbindung. Beim Prolin-derivat **11** führt der Ringschluß mit hoher optischer Induktion kinetisch kontrolliert zum Isomeren **13a**, das sich in saurer und alkalischer wäßriger Lösung mit hoher optischer Induktion in das thermodynamisch stabilere Isomere **13b** umwandelt. Unter Mercaptalisierungsbedingungen läßt sich die Hydroxygruppe mit meist hoher optischer Induktion durch schwefelhaltige Gruppen ersetzen.

On Amino Acids and Peptides, XI^{1,2,3)}

Hydroxycyclodipeptides by Cyclization of Pyruvoyl Amino Acids

Pyruvoyl amino acid amides are synthesized by means of activated pyruvic acid compounds (pyruvoyl chloride, *p*-nitrophenyl pyruvate and hydroxymaleic anhydride). These undergo ring closure (optimally in water at pH 7.5) to yield the hydroxycyclodipeptides **13**, **14**, **15**, and **17**. The equilibrium lies completely on the side of the cyclic compound regardless of the structure of the pyruvic acid compound. In the case of the proline derivative **11**, cyclization occurs with high optical induction to yield the kinetically controlled isomer **13a**, which rearranges in acidic and basic aqueous solution with high optical induction to the thermodynamically stable isomer **13b**. Under specific mercaptalizing reaction conditions the hydroxy group can be replaced by sulfur groups, usually with high optical induction.

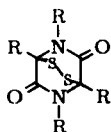
Glitoxin, die Sporidesmine, Aranotin, Chaetocin und Verticillin sind Epidisulfide cyclischer Dipeptide mit dem charakteristischen Strukturmerkmal **1**. Ihre Dihydroverbindungen **2** stellen cyclische Dipeptide von α -Mercaptoaminosäuren **3** dar, und letztere kann man als Thioaminale von α -Ketosäuren auffassen. Den möglicherweise engen biogenetischen Zusammenhang zwischen α -Mercaptocyclodipeptiden und

¹⁾ X. Mittel.: D. Scholz und U. Schmidt, Chem. Ber. 107, 2295 (1974).

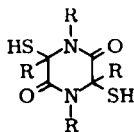
²⁾ Zugleich: Syntheserversuche in der Reihe der 3,6-Epidithio-2,5-dioxopiperazin-Antibiotika Glitoxin, Sporidesmin, Aranotin, Chaetocin und Verticillin, VIII; VII. Mittel.: E. Öhler, F. Tataruch und U. Schmidt, Chem. Ber. 106, 396 (1973).

³⁾ Zugleich: Optische Induktion bei Reaktionen von Peptiden, II; I. Mittel.: H. Poisel und U. Schmidt, Chem. Ber. 106, 3408 (1973).

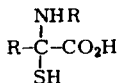
α -Ketoacylamino-säuren sollen diese und die folgenden Mitteilungen beleuchten, in denen gezeigt wird, wie sich Pyruvoylamino-säure-amide unter physiologischen Bedingungen in α -Hydroxycyclodipeptide und diese in α -Mercaptodipeptide umwandeln lassen. In der vorliegenden Arbeit wird die einfache Cyclisierung und später die zweifache zu einem Bicyclus durch intramolekulare Anlagerung von Amidstickstoff an eine Ketocarbonylgruppe beschrieben.



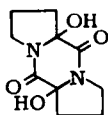
1



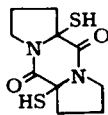
2



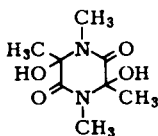
3



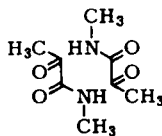
4



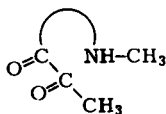
5



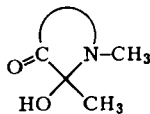
6



7



8



9

Hydroxylsubstituierte Cyclodipeptide — wie z.B. 4 — lassen sich mit Schwefelwasserstoff leicht und in guter Ausbeute in die entsprechenden Mercaptoverbindungen 5 umwandeln⁴⁾. Beim Aufbau von Epidisulfiden der Struktur 1 aus α -Ketosäuren ist also nicht der Austausch von Hydroxylfunktionen gegen Mercaptogruppen, sondern die Bildung von hydroxylsubstituierten Cyclodipeptiden aus Brenztraubensäure-Derivaten das Problem. Intermolekular kann man nämlich Brenztraubensäure-amide (wie z.B. 6) nicht⁵⁾ (Weg A) zu Dihydroxycyclodipeptiden cycloaddieren. Die „Dimere“ haben vielmehr Pyrrolidon-Struktur (z.B. 7)⁶⁾.

⁴⁾ E. Öhler, F. Tataruch und U. Schmidt, Chem. Ber. 106, 165 (1973).

⁵⁾ A. Wohl und L. H. Lips, Ber. Deut. Chem. Ges. 40, 2313 (1907), hielten das dimere Kondensationsprodukt des Brenztraubensäure-anilids für ein Dihydroxy-dioxopiperazin. Zur Korrektur dieses Strukturvorschlages vgl. l. c.⁶⁾

⁶⁾ J. V. Scudi, J. Amer. Chem. Soc. 59, 1403 (1937); P. M. Pojer und I. O. Rae, Aust. J. Chem. 26, 1737 (1972).

Herstellung von Pyruvoylaminosäure-amiden und Ringschluß zu Hydroxycyclodipeptiden

Intramolekular ließ sich die 6-Ringbildung durch Anlagerung eines Amid-Stickstoffes an ein α -Ketocarbonyl (8 $\rightarrow$ 9) bei Pyruvoylaminosäure-amiden jedoch leicht verwirklichen⁷⁾.

In den natürlich vorkommenden schwefelhaltigen Cyclodipeptiden sind stets die beiden Stickstoffatome vollständig substituiert (*N*-Methylaminosäuren bzw. Prolinderivat), und an den Dioxopiperazininring ist mindestens ein 5-Ring ankondensiert (Prolinderivat). Das letztgenannte Strukturmerkmal führt im entsprechenden Dithiol zur Fixierung der „biologisch richtigen“ *cis*-Struktur und zur Bootkonformation mit weitgehender Annäherung der beiden Mercaptogruppen. Im Hinblick auf den Mechanismus der Biosynthese haben wir untersucht, ob jedes dieser beiden Strukturmerkmale der natürlichen Verbindungen — *N*-Substitution der Stickstoffe im Dioxopiperazinkern und angegliederter Fünfring — „eine conditio sine qua non“ für den Ringschluß von Pyruvoylaminosäure-amiden zu Hydroxycyclodipeptiden ist. Als geeignete Modelle haben wir deshalb *N*-Pyruvoylprolin-methylamid (angegliedert Fünfring und kein primärer Amidstickstoff), *N*-Pyruvoylpipecolinsäure-methylamid⁸⁾ (angegliedert Sechsring und kein primärer Amidstickstoff), *N*-Pyruvoylprolin-amid (angegliedert Fünfring und ein primärer Amidstickstoff) und *N*-Pyruvoyl-*N*-methylalanin-methylamid (keine cyclische Aminosäure, kein primäres Stickstoffatom) hergestellt und die Ringschlußreaktionen untersucht. In allen Fällen erwies sich, daß die Cyclisierung zu den Hydroxycyclodipeptiden 13, 14, 15 und 17 weitgehend unabhängig von den oben diskutierten Strukturmerkmalen ablief.

Das „Gleichgewicht“ liegt bei allen von uns untersuchten Beispielen nahezu vollkommen auf der Seite des 6-Ringes. Nennenswerte Mengen „offener“ Verbindung wurden daneben — nach Abklingen der Reaktion — nie beobachtet. Die Ursache dafür ist sicher die hohe Elektrophilie der Carbonylgruppe des α -Ketosäurederivates. Bei γ -Ketosäure-amiden — insbesondere Lävulinsäure-amiden und Benzoylpropionsäure-amiden — bei denen die Cyclisierung zum Hydroxypyrrolidon oft untersucht wurde⁹⁾, liegt in manchen Fällen das Gleichgewicht der „Ring-Ketten-Tautomerie“ nicht auf Seiten der Ringverbindung, besonders bei geschwächter Nucleophilie des Stickstoffatoms — z. B. in *N*-Phenylderivaten.

Mit Hilfe des Carbodiimid- oder des Phosphoroxidchlorid-Verfahrens läßt sich Prolin-methylamid nicht durch Brenztraubensäure acylieren. Die Amidbildung gelingt mit Hydroxymaleinsäure-anhydrid¹⁰⁾ in Pyridin bei Raumtemperatur unter

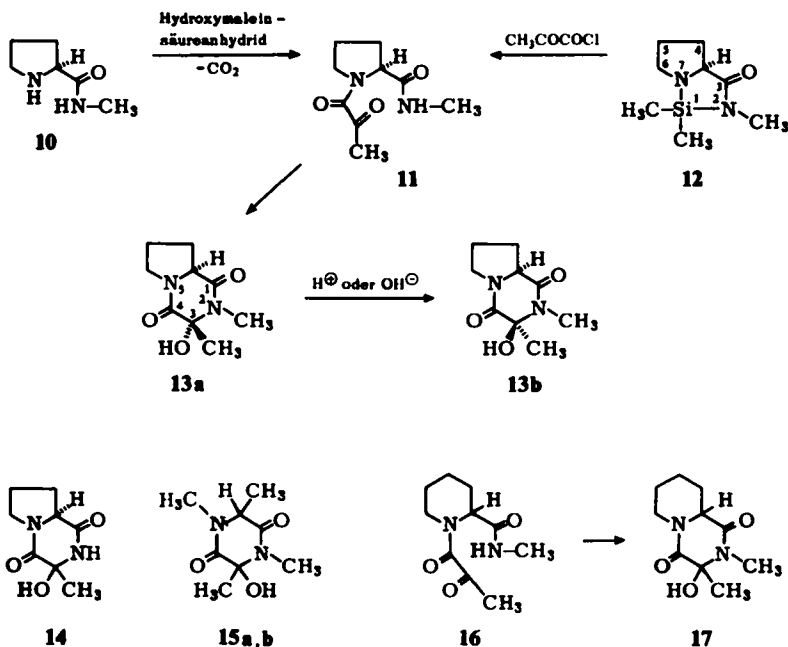
⁷⁾ Unseres Wissens ist ein derartiger intramolekularer Ringschluß bisher erst einmal beschrieben worden. H. Gross, J. Gloede, J. Keitel und D. Kunath [J. Prakt. Chem., 4. Reihe, 37, 192 (1968)] haben bei der Acetalspaltung von *N*-Benzyl-*N*-dimethoxyacetyl-DL-valin-cyclohexylamid und bei der Aminalspaltung von *N*-Benzyl-*N*-dipiperidinoacetyl-DL-valin-cyclohexylamid die Bildung von 1-Benzyl-4-cyclohexyl-3-hydroxy-6-isopropyl-2,5-piperazindion beobachtet. Katalyse, Stereochemie und Anwendungsbreite dieser Reaktion wurden nicht untersucht. Das eingesetzte Dimethoxyacetyl-valin-amid erhielt man durch eine Ugi-Reaktion, eine Reaktionsfolge, die sich weder auf den Aufbau von Pyruvoylaminosäure-amiden noch auf die Synthese von Acylprolin-amiden übertragen läßt.

⁸⁾ Von Dr. F. Tataruch bearbeitet.

⁹⁾ Siehe z. B. W. Flitsch, Chem. Ber. 103, 3205 (1970).

¹⁰⁾ A. Wohl und C. Oesterlin, Ber. Deut. Chem. Ges. 34, 1139 (1901).

stürmischer Kohlendioxid-Entwicklung. Die wäßrige saure Lösung des Reaktionsproduktes liefert bei der Extraktion mit etwa 70% Ausbeute ein halbfestes Reaktionsprodukt, das sich durch Verreiben mit Äther in einen kristallinen und einen ätherlöslichen Teil trennen läßt: letzterer enthält das Pyruvoyl-methylamid **11** (*N*-Methylgruppe erscheint im NMR-Spektrum als Dublett) und das *trans*-Cyclodipeptid **13b**¹¹⁾



(*N*-Methylgruppe als Singulett). NMR-Spektroskopisch läßt sich verfolgen, wie in Chloroformlösung aus dieser Mischung von **11** und **13b** innerhalb einiger Tage die „offene“ Verbindung **11** unter Ringschluß verschwindet. — Der kristalline Anteil besteht aus dem *cis*-Cyclodipeptid **13a**¹¹⁾, dem kinetisch kontrolliert entstandenen Isomeren, das sich in 0.1 *N* HCl innerhalb einiger Tage fast vollständig in die thermodynamisch stabile *trans*-Verbindung **13b** umwandelt. Für die Konfigurationszuordnung der beiden cyclischen Verbindungen **13a** und **13b** entscheidend ist die Beobachtung eines Kern-Overhauser-Effektes im Spektrum des stabileren Isomeren **13b**. Damit ist die — nur im *trans*-Isomeren mögliche — weitgehende Annäherung der C-Methylgruppe an den tertiären Wasserstoff des Prolinrings sowie die Bootkonformation des Sechsrings bewiesen. Die chemischen Verschiebungen der Protonen der C—CH₃-Gruppe bei den beiden Isomeren (*trans*: $\tau = 8.48$ und *cis*: $\tau = 8.23$) zeigen

¹¹⁾ Um die räumlichen Zusammenhänge zwischen den substituierten Dioxopiperazinen und den zugrunde liegenden Aminosäuren übersichtlich erscheinen zu lassen, wird bei den Aminosäuren die D,L-Bezeichnung gewählt. *cis*-Dioxopiperazine sind dementsprechend L,L- bzw. D,D-Cyclodipeptide, und *trans*-Dioxopiperazine sind L,D-Cyclodipeptide.

denselben Gang wie bei den entsprechenden Verbindungen¹²⁾ ohne Hydroxylgruppe [*trans*-*N*-Methyl-D-alanyl-L-prolin-anhydrid: $\tau = 8.55$ und *cis*-*N*-Methyl-L-alanyl-L-prolin-anhydrid: $\tau = 8.44$. (Alle Angaben für CDCl_3 als Lösungsmittel)].

Mit Brenztraubensäure-chlorid¹³⁾ in Gegenwart von Triäthylamin läßt sich Prolin-methylamid nur in mäßiger Ausbeute umsetzen. Günstiger läuft diese Acylierung ohne Zusatz tertiärer Base mit der cyclischen Siliciumverbindung **12** ab. Man erhält damit Pyruvoylprolin-methylamid **11** ohne gleichzeitige Bildung wesentlicher Mengen der ringförmigen Verbindungen **13a** und **b**. Mit diesem Präparat läßt sich der Ringschluß zum Hydroxycyclodipeptid **13a** in Deuteriumoxid NMR-spektroskopisch verfolgen. Am schnellsten verläuft er in neutraler Lösung ($\tau/2$ bei pH 7.5: 20 min, bei pH 2–3: 120 min) kinetisch kontrolliert zum Isomeren **13a**, das sich – in neutraler Lösung sehr langsam, viel schneller im sauren oder basischen Bereich – in das thermodynamisch stabilere Isomere **13b** umlagert ($\tau/2$ bei pH 1: 4 h). Beide Isomeren **13a** und **b** reagieren mit Dinitrophenylhydrazin innerhalb einiger Tage zum Hydrazon der Brenztraubensäure-Verbindung.

Die Acylierung von Prolin-amid und *N*-Methylalanin-methylamid gelingt mit Brenztraubensäure-*p*-nitrophenylester¹³⁾. Die Reaktionsprodukte cyclisieren unter den Reaktionsbedingungen zu **14** und **15**. Die Hydroxyverbindung **14** kristallisiert innerhalb 48 Stunden direkt aus, wenn man die Umsetzung in Essigester vornimmt. Sie ist auffallend schwer löslich. Nur eines der beiden möglichen Isomeren wird beobachtet. Im Reaktionsprodukt der Umsetzung von *N*-Methylalanin-methylamid lassen sich dagegen beide cyclischen Isomeren **15a** und **b** erkennen. Wieder ist eines der beiden thermodynamisch deutlich stabiler und durch Äquilibrierung des Gemisches in verdünnter wäßriger Säure rein zu erhalten. Pipecolinsäure-methylamid wurde mit Hydroxymaleinsäure-anhydrid zu einem Gemisch von Brenztraubensäure-Verbindung **16** und Dipeptid **17** umgesetzt. Bei pH 4 in Wasser ist der Ringschluß in einigen Tagen vollständig. Es wurde nur ein Isomeres der cyclischen Verbindung **17** festgestellt. Die Konfigurationen **14**, **15a,b** und **17** sind nicht bestimmt.

Optische Induktion bei Bildung und Reaktionen der Hydroxycyclodipeptide

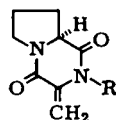
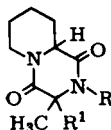
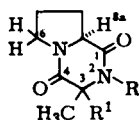
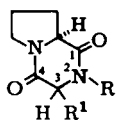
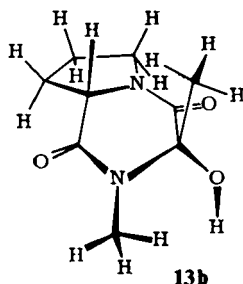
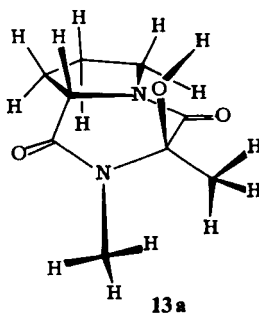
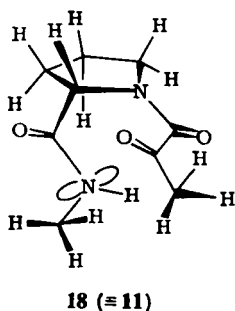
Der Ringschluß des *N*-Pyruvoylprolin-methylamids (**11**) verläuft in Wasser bei pH 6 mit hoher optischer Induktion kinetisch kontrolliert zum *cis*-Hydroxycyclodipeptid **13a**. In diesem Medium verläuft der Ringschluß schnell genug, die Umwandlung in das Isomere **13b** aber sehr langsam. Das Isomere **13b** läßt sich daneben NMR-spektroskopisch nur spurenweise erkennen. Setzt man die L-Prolinverbindung **11** um, so gehört das im kinetisch bevorzugten *cis*-Cyclodipeptid **13a** vorliegende α -Hydroxy-*N*-methylalanin der Reihe der L-Aminosäuren an.

Der räumliche Ablauf der Cyclisierung läßt sich bei der Modellbetrachtung verstehen: Das längstwellige Absorptionsmaximum primärer und sekundärer Brenztraubensäure-amide, bei denen die *s-trans*-Konformation durch eine Wasserstoff-

¹²⁾ Die isomeren Methylalanyl-prolin-anhydride wurden von Dr. H. Poisel mit Hilfe des DCCD-Verfahrens aufgebaut.

¹³⁾ J. Häusler und U. Schmidt, Chem. Ber. **107**, 145 (1974).

brücke vom Stickstoff zum Ketocarbonyl festgelegt ist, liegt bei 357 nm¹⁴). Tertiäre α -Ketosäureamide — ohne die Möglichkeit zur Ausbildung einer derartigen Wasserstoffbrücke — bei denen die beiden Carbonylgruppen offenbar nicht in einer Ebene liegen, absorbieren bei 327 nm¹⁴). Das Maximum des *N*-Pyruvoylprolin-methylamids (11) bei 355 nm weist demgemäß auf die komplanare Lage der beiden Carbonylgruppen hin. Da die *s-cis*-Konformation sterisch unmöglich ist, muß man *s-trans*-Lage annehmen (18). Dabei steht das Orbital des einsamen Elektronenpaares am Stickstoff nahezu senkrecht auf der Ketocarbonylgruppe. Bindungsbildung und Übergang des sp^2 -hybridisierten Kohlenstoffatoms in ein sp^3 -hybridisiertes muß dann zur *cis*-Konfiguration führen (13a).



	R	R ¹		R	R ¹		R	R ¹
19	H	C ₆ H ₅	23	CH ₃	SC ₂ H ₅	26 : R = CH ₃ ; R ¹ = SC ₂ H ₅	27 : R = CH ₃	
20	H	CH ₃	24a, b	CH ₃	SCOCH ₃		28 : R = H	
21	CH ₃	C ₆ H ₅	25	H	SCOCH ₃			
22	CH ₃	CH ₃						

¹⁴) G. Fischer, G. Oehme und A. Schellenberger, Tetrahedron **27**, 5683 (1971).

Die Umlagerung zum thermodynamisch stabilen L-Prolyl- α -hydroxy-N-methyl-D-alanin-anhydrid (**13b**) verläuft mit fast vollständiger optischer Induktion. Ähnliche Umlagerungen haben wir bei Hydroxyverbindungen des Prolyl-prolin-anhydrids beobachtet⁴⁾. Für den niedrigeren Energieinhalt des Isomeren **13b** ist sicher die viel geringere sterische Behinderung der beiden Methylgruppen in den Stellungen 2 und 3 des Pyrrolo-pyrazin-Systems maßgeblich.

Bei Cyclodipeptiden, die Prolin enthalten, sind für die thermodynamische Stabilität der *cis*- oder der *trans*-Isomeren die Substituenten in den Stellungen 2 und 3 verantwortlich^{2,3,4)}. Ist der Stickstoff unsubstituiert, so erscheint beispielsweise im Modell bei der 3-Phenyl- und der 3-Methylverbindung (**19** und **20**)^{3,11)} keines der beiden Isomeren sterisch benachteiligt. Die Äquilibration mit Natriumamid in flüssigem Ammoniak¹⁵⁾ führt zum Isomerengemisch (*cis-trans*-Verhältnis annähernd 1:2). Wird der 2-Stickstoff aber methyliert, so erweisen sich am Modell der 3-Phenyl- und 3-Methylverbindung **21** und **22**^{3,11)} die *trans*-Isomeren als eindeutig energieärmer. Die Natriumamidbehandlung führt deshalb vom Isomerengemisch zum *trans*-Isomeren (unter gleichzeitiger Racemisierung am Prolinteil). Bei den 3-disubstituierten Verbindungen — wie z.B. **23**, **24** — ist für die thermodynamische Stabilität die Wechselwirkung beider Gruppen in 3-Stellung mit der Funktion am Stickstoffatom maßgebend. Ob Raumerfüllung oder Polarität dabei entscheidend sind, ist nicht klar abzusehen⁴⁾.

Der Austausch der Hydroxylgruppe beim Hydroxypeptid **13** gegen Schwefelfunktionen gelingt unter „Mercaptalisierungsbedingungen“ und führt zum thermodynamisch stabilen Produkt, unabhängig davon, ob man von der *cis*- oder der *trans*-Hydroxyverbindung ausgeht. Mit Äthanthiol in Gegenwart von Zinkchlorid oder Bortrifluorid-Ätherat entsteht die annähernd einheitliche Verbindung **23**.

Einwirkung von Thioessigsäure und Zinkchlorid oder Bortrifluorid-Ätherat auf die Verbindung **13a** oder **b** führt zu einer Mischung der beiden Stereoisomeren **24a** und **24b**, oft im Verhältnis 4:1 bis 10:1, je nach Reaktionsbedingungen. 4:1 entspricht der „Gleichgewichtsmischung“, denn das durch Umkristallisieren gereinigte Hauptprodukt lagert sich in Gegenwart von Zinkchlorid wieder in diese 4:1-Mischung um.

Für die NMR-spektroskopische Konfigurationszuordnung der Thioacetate **24a** und **b** ist die Beobachtung einer starken diamagnetischen Verschiebung des Signals des Protons 8a-H beim Isomeren **24b** von Bedeutung. Bei dieser Verschiebung kommt die Resonanz des tertiären Protons bei höherem Feld zu liegen als die der Methylenprotonen 6-H₂, weicht also vom üblichen Schema in dieser Stoffklasse ab. Ursache dafür ist sicher der starke anisotrope Einfluß der Acetylcarbonylgruppe auf das Proton 8a-H, der auch bei der Betrachtung des Dreiding-Modells ersichtlich ist. Da diese Wechselwirkung nur bei räumlicher Nachbarschaft möglich ist, muß mit großer Wahrscheinlichkeit die *cis*-Konfiguration für **24b** angenommen werden. Die durch diese Anordnung bedingte starke räumliche Behinderung der beiden Methylgruppen 2 und 3 (siehe auch **13a**) erklärt auch die größere Instabilität der Verbindung im Vergleich mit **24a**.

¹⁵⁾ Dr. H. Poisel hat diese „Äquilibration“ mit ca. 10 Mol-% Natriumamid in flüssigem Ammoniak untersucht.

Die Umwandlung der Hydroxyverbindungen **14** und **17** in das Thioacetat und den Thioäther gelingt ohne Schwierigkeit. Aus den Hydroxyverbindungen **13** und **14** spaltet Trifluoressigsäure Wasser ab zu den Aminoacrylsäurederivaten **27** und **28**. Schon beim Erhitzen geht diese Eliminierung bei der am Stickstoff unsubstituierten Verbindung **14** vor sich.

Wir danken dem *Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* für die Mittel zur Anschaffung eines CH-7-Massenspektrometers und eines XL-100-NMR-Spektrometers.

Experimenteller Teil

N-Methyl-(2S)-pyrrolidin-2-carboxamid; (L-Prolin-methylamid) (10): 130 ml (rund 3 mol) wasserfreies Methylamin, in eine Kühlfalle von -20°C einkondensiert, wird schnell zu einer in einer Druckflasche befindlichen und ebenfalls abgekühlten Mischung von 129.2 g (1 mol) L-Prolin-methylester und 60 ml wasserfreiem Methanol gegeben. Die Mischung wird 7 Tage bei Raumtemp. aufbewahrt, bei 12 Torr vom Methanol befreit und schließlich i. Hochvak. destilliert. Man erhält 120.3 g (94%) einer wasserklaren, öligen Flüssigkeit. Sdp. $81-82^{\circ}\text{C}$, $n_D^{25} = 1.4946$, $[\alpha]_D^{20} = 110.0^{\circ}$ ($c = 1.10$ in CHCl_3).

NMR (CCl_4): τ 2.25 (1H); 6.21–6.62 (m, 1H); 7.12 (t, 2H); 7.31 (d, $J = 5$ Hz, 3H); 7.51 (s, 1H); 7.72–8.65 (m, 4H).

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$ (128.2) Ber. C 56.21 H 9.54 N 21.86 Gef. C 56.50 H 9.12 N 22.02

N-Methyl-1-pyruvoyl-(2S)-pyrrolidin-2-carboxamid (11)

a) Aus L-Prolin-methylamid (**10**): 1.07 g (0.01 mol) Brenztraubensäure-chlorid in 15 ml wasserfreiem Chloroform werden bei -10°C unter Rühren in eine Lösung von 2.80 g (0.021 mol) **10** getropft. Man läßt auf Raumtemp. erwärmen und schüttelt zweimal mit je 3 ml Wasser aus. Nach Trocknen mit Natriumsulfat wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das zurückbleibende Öl enthält stets einige % schon cyclisierter Verbindungen **13a** und **b** und konnte daher nie einheitlich dargestellt werden.

NMR (CDCl_3): τ 5.10–5.67 (m, 1H); 6.00–6.60 (m, 2H); 7.20 (d, 3H); 7.57–7.63 (s, 3H); 7.50–8.40 (m, 4H).

Das Rohprodukt liefert beim Ringschluß, wie unten beschrieben, 510 mg (26%) **13a**.

b) Über die cyclische Siliciumverbindung **12**: Man vereinigt eine Lösung von 1.84 g (0.01 mol) **12** in 15 ml wasserfreiem Chloroform mit einer Lösung von 1.07 g (0.01 mol) Brenztraubensäure-chlorid in 10 ml Chloroform. Die Mischung wird leicht warm; nach 30 min kühlt man auf 0°C und setzt 1.01 g (0.01 mol) Triäthylamin in 10 ml Chloroform zu. Nach Ausschütteln mit Wasser wird mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. abgesaugt. Die Pyruvoylverbindung bleibt als Öl zurück. Das rohe Öl liefert bei der Cyclisierung, wie unten beschrieben, 660 mg (33%) **13a**.

*3-Oxo-1,1,2-trimethyl-perhydro-(3a*S*)-pyrrolo[1,2-*c*][1,3,2]diazasilol (12)*: 10.32 g (0.08 mol) Dimethyldichlorsilan in 80 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran werden mit 10.24 g (0.08 mol) L-Prolin-methylamid (**10**) und 16.16 g (0.16 mol) wasserfreiem Triäthylamin in 120 ml Tetrahydrofuran vermischt. Man hält noch etwa $\frac{1}{2}$ h auf 50°C , filtriert unter Feuchtigkeitsausschluß vom Triäthylaminhydrochlorid und dampft i. Vak. ein. Der zurückbleibende Sirup wird i. Hochvak. (Kugelrohr, Luftbadtemp. 70°C) destilliert. Das übergehende Öl erstarrt meistens zu einer weißen Kristallmasse. Ausb. 12.9 g (88%). — NMR (CCl_4): τ 7.38 (s, 3H); 9.74 (s, 6H).

$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_2\text{OSi}$ (184.3) Ber. C 52.13 H 8.75 N 15.21 Gef. C 52.25 H 8.11 N 15.36

3-Hydroxy-2,3-dimethyl-perhydro-(3R:8aS)-pyrrolo[1,2-a]pyrazin-1,4-dion (13a)

a) **Aus 11:** Die Pyruvoylverbindung **11** zeigt in Chloroformlösung nicht sehr große Tendenz zu cyclisieren. Ein annähernd vollständiger Ringschluß dauert 2–3 Tage. In Mischungen von Pyridin/3 N H₂SO₄ vom pH 6 jedoch ist er in 2 h praktisch abgeschlossen. Zur Aufarbeitung wird auf pH von 3 gestellt und mit Chloroform gründlich extrahiert. Nach Trocknen des Lösungsmittels mit Natriumsulfat wird i.Vak. eingengt. Das zurückbleibende Öl, bald kristallin, wird mit Äther verrieben, wodurch die Hydroxyverbindung **13a** von dem in wenigen % stets mitentstehenden **13b** abgetrennt wird. Aus Chloroform/Äther kristallisiert **13a** in farblosen Nadeln. Schmp. (bei schnellem Aufheizen): 141–148°C (Zers.), $[\alpha]_D^{20} = -150.5^\circ$ ($c = 1.03$ in CHCl₃). Ausb. siehe unter **11** a) und b).

NMR (CDCl₃): τ 4.47 (1H); 5.44–5.87 (m, 1H); 6.20–6.62 (m, 2H); 6.96 (s, 3H); 7.27–8.38 (m, 4H); 8.23 (s, 3H).

C₉H₁₄N₂O₃ (198.2) Ber. C 54.53 H 7.12 N 14.14 Gef. C 54.67 H 7.07 N 14.20

b) **Aus 1-Prolin-methylamid (10) und Hydroxymaleinsäure-anhydrid-Pyridinsalz ohne Isolierung von 11:** Zu einem Gemisch aus 6.40 g (0.05 mol) **10** und 3 ml wasserfreiem Pyridin werden unter Rühren bei 40°C portionsweise 9.90 g (0.05 mol) Hydroxymaleinsäure-anhydrid-Pyridinsalz gegeben. Man läßt 5 min ausreagieren und gibt dann 10 ml Wasser zu. Unter Eiskühlung versetzt man mit 13 ml 3 N H₂SO₄, wodurch die Mischung ein pH von etwa 6 erhält, und stellt schließlich nach 2 h durch Zugabe von rund 20 ml 3 N H₂SO₄ kongosauer. Nach gründlicher Extraktion mit Chloroform wird die organ. Phase mit wenig 1 N KHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und i.Vak. eingengt. 6.39 g (63%) Öl kristallisieren schnell und werden wie bei a) aufgearbeitet.

3-Hydroxy-2,3-dimethyl-perhydro-(3S:8aS)-pyrrolo[1,2-a]pyrazin-1,4-dion (13b): 13a wird in wenig 0.1 N HCl gelöst. Nach 48 stdg. Stehenlassen wird mit einem Tropfen gesättigter Hydrogencarbonatlösung neutralisiert, mit Chloroform gründlich extrahiert, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel an der Ölpumpe abdestilliert. Nach mehrtägigem Aufbewahren im Eisschrank beginnt das Rohprodukt zu kristallisieren. Es liefert, mit Benzol/Petroläther verrieben, in rund 90proz. Ausb. **13b**, das noch wenig **13a** enthält. Auch nach längerer Äquilibrierungszeit nimmt dieser Anteil nicht ab, dafür wird mehr Olefin **27** gebildet. Farblose Kristalle vom Schmp. 90–93°C (aus Benzol/Petroläther).

NMR (CDCl₃): τ 5.10 (1H); 5.66–6.07 (m, 1H); 6.16–6.55 (m, 2H); 7.00 (s, 3H); 7.32–8.30 (m, 4H); 8.48 (s, 3H).

C₉H₁₄N₂O₃ (198.2) Ber. C 54.53 H 7.12 N 14.14 Gef. C 54.74 H 7.02 N 14.30

11-2,4-Dinitrophenylhydrazon: Die Hydroxyverbindung **13a** wird in einem geringen Überschuß einer methanolisch-salzsäuren Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin gelöst. Man setzt Wasser bis zur schwachen Trübung zu und erhält das Hydrazon fast quantitativ nach zweitägigem Stehenlassen. Chromatographie zur Abtrennung von Dinitrophenylhydrazin (Kieselgel 0.06–0.2 mm, Laufmittel Chloroform/5% Methanol) liefert gelbe Kristalle vom Schmp. 205–208°C.

NMR (CDCl₃): τ -1.15 (s, 1H); 3.53 (1H); 4.94–5.53 (m, 1H); 5.79–6.44 (m, 2H); 7.17 (d, 3H); 7.37–8.30 (m, 4H); 7.69 (s, 3H).

C₁₅H₁₈N₆O₆ (378.3) Ber. C 47.96 H 4.80 N 22.22 Gef. C 47.87 H 4.92 N 21.95

3-Hydroxy-3-methyl-perhydro-(8aS)-pyrrolo[1,2-a]pyrazin-1,4-dion (14): 2.28 g (0.02 mol) 1-Prolin-amid werden in 20 ml Essigester mit 4.18 g (0.02 mol) Brenztraubensäure-p-nitrophenylester umgesetzt. Die Mischung erwärmt sich und wird homogen. Man engt i.Vak. auf die Hälfte ein und läßt die Lösung im Eisschrank 48 h stehen. 2.56 g nitrophenolhaltiges

Produkt werden so gewonnen. Umkristallisiert wird (eventuell nach Behandeln mit Aktivkohle) aus Chloroform + Methanol (1:1)/Äther, 1.79 g (49%) farblose Kristalle, $[\alpha]_D^{20} = -138.7^\circ$ ($c = 0.95$ in CHCl_3).

NMR ($\text{DMSO}-d_6$): τ 1.17 (s, 1H); 3.56 (s, 1H); 5.49–5.95 (m, 1H); 6.33–6.85 (m, 2H); 7.52–8.37 (m, 4H); 8.54 (s, 3H).

$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ (184.2) Ber. C 52.16 H 6.57 N 15.21 Gef. C 52.70 H 5.91 N 15.00

Die Substanz erweicht ab etwa 185°C und wandelt sich oberhalb 200°C unter Erstarren offenbar in das Olefin **28** um. Dieses ist so schwer löslich, daß kein NMR-Spektrum erhalten werden konnte.

$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ (166.2): MS von **28** (70 eV): $m/e = 166$ (100%, M^+), 138 (5%), 97 (15%), 70 (10%), 69 (22%).

3-Hydroxy-1,3,4,6-tetramethyl-(6RS)-piperazin-2,5-dion (15a + 15b): 1.16 g (0.01 mol) *N*-Methyl-DL-alanin-methylamid und 2.08 g (0.01 mol) Brenztraubensäure-*p*-nitrophenylester¹⁾ werden in 20 ml wasserfreiem Chloroform gelöst und 12 h im Eisschrank aufbewahrt. Das *p*-Nitrophenol wird chromatographisch abgetrennt, wobei gleichzeitig eine teilweise Trennung des entstandenen Isomerengemisches gelingt (Kieselgel 0.06–0.2 mm, Laufmittel Essigsäure-äthylester/Äthanol (4:1); *p*-Nitrophenol R_F 0.85). Nur die ersten Fraktionen enthalten einheitliches **15a** ($R_F = 0.64$), alle weiteren in zunehmendem Maße das thermodynamisch stabilere Isomere **15b** ($R_F = 0.54$). Gesamtausbe. 0.86 g (46%).

15a: Schmp. $108-113^\circ\text{C}$ (Zers.?) (aus Chloroform/Äther). — NMR (CDCl_3): τ 4.70 (s, 1H); 6.00 (q, $J = 7$ Hz, 1H); 6.94 (s, 3H); 7.02 (s, 3H); 8.26 (s, 3H); 8.41 (d, 3H).

$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ (186.2) Ber. C 51.60 H 7.58 N 15.05 Gef. C 51.07 H 7.41 N 15.02

15b: Man läßt **15a** 4 Tage mit 0.05 N HCl stehen und gewinnt **15b** durch Extrahieren mit Chloroform. Schmp. $123-125^\circ\text{C}$ (aus Essigsäure-äthylester/Äther). — NMR (CDCl_3): τ 5.17 (s, 1H); 5.97 (q, $J = 7$ Hz, 1H); 7.00 (s, 6H); 8.39 (s, 3H); 8.47 (d, 3H).

Gef. C 51.73 H 7.50 N 15.17

3-Hydroxy-2,3-dimethyl-perhydropyrido[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion (17): Eine Lösung von 7.1 g (50 mmol) DL-2-Piperidincarbonsäure-methylamid^{1b)} in 20 ml absol. Pyridin wird bei 40°C portionenweise mit 9.9 g (50 mmol) Hydroxymaleinsäure-anhydrid-Pyridinsalz versetzt. Nach $\frac{1}{2}$ h wird auf 10°C gekühlt, mit 15 ml Wasser versetzt, dann mit 2 N H_2SO_4 auf pH 4 gestellt und weitere 2 h gerührt. Nach mehrmaliger Extraktion mit Chloroform, Trocknen der organ. Phase über Na_2SO_4 und Abdampfen i. Vak. wird ein kristalliner Rückstand erhalten, nach Verreiben mit wenig eiskaltem Äther 6.0 g **17** (56%) vom Schmp. 152 bis 168°C (aus Essigester).

NMR (CDCl_3): τ 4.84 (s, 1H — mit D_2O austauschbar); 5.28–5.54 (m, 1H); 6.04–6.28 (m, 1H); 6.93 (s, 3H); 7.24–7.76 (m, 3H); 7.90–8.76 (m, 4H); 8.34 (s, 3H).

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ (212.2) Ber. C 56.59 H 7.60 N 13.20 Gef. C 56.81 H 7.36 N 13.69

3-Äthylthio-2,3-dimethyl-perhydro-(8aS)-pyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion (23): 0.97 g (5 mmol) **13a** und 0.47 g $\cong$ 0.56 ml Äthanthiol in 20 ml wasserfreiem Chloroform werden mit 0.25 g gepulvertem, wasserfreiem Zinkchlorid versetzt. Nach 5 stdg. Rühren wird die organ. Phase mit Wasser ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Nach Verreiben mit Äther kristallisieren 1.16 g (68%) farblose Nadeln. Für die Analyse wurde von geringen Verunreinigungen säulenchromatographisch abgetrennt (Kieselgel 0.06–0.2 mm, Laufmittel Chloroform/5% Methanol). Schmp. $101-103^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} = -145.1^\circ$ ($c = 1.08$, CHCl_3).

^{1b)} A. Weiss, S. Fallab und H. Erlenmeyer, Helv. Chim. Acta **38**, 236 (1955).

NMR (CDCl_3): τ 5.50–5.90 (m, 1H); 6.15–6.51 (m, 2H); 6.97 (s, 3H); 7.25–8.29 (m, 4H); 7.34 (q, 2H); 8.10 (s, 3H); 8.78 (t, 3H).

$\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ (242.3) Ber. C 54.07 H 7.42 N 11.47 S 13.13
Gef. C 54.04 H 7.28 N 11.37 S 12.95

3-Acetylthio-2,3-dimethyl-perhydro-(8a*S*)-pyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion (24a, b): Zu einer Lösung von 1.98 g (0.01 mol) **13a** oder **13b** und 1.14 g – 1.06 ml (0.015 mol) Thioessigsäure in 30 ml wasserfreiem Chloroform gibt man unter kräftigem Rühren 0.5 g gepulvertes wasserfreies Zinkchlorid und rührt noch 4 h bei Raumtemp. weiter. Die Chloroformphase wird anschließend zweimal mit je 2 ml Wasser und einmal mit 5 ml gesätt. Hydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen mit Natriumsulfat und Eindampfen i. Vak. wird mit Benzol verrieben. Man erhält 2.32 g (90%) eines kristallinen Gemisches **24a** + **24b** im Verhältnis etwa 10:1. Die Hauptkomponente **24a** wird durch dreimaliges Umkristallisieren aus Essigsäure-äthylester/Äther rein erhalten. Die Beimengung reichert sich in der Mutterlauge an und wird durch Säulenchromatographie gewonnen (Kieselgel 0.06–0.2 mm, Laufmittel Essigsäure-äthylester/Äthanol 4:1).

24a: Schmp. 122–124°C, $[\alpha]_D^{20} = -259.0^\circ$ ($c = 0.97$ in CHCl_3). – NMR (CDCl_3): τ 5.19–5.67 (m, 1H); 6.00–6.67 (m, 2H); 6.95 (s, 3H); 7.23–8.25 (m, 4H); 7.72 (s, 3H); 8.12 (s, 3H).

$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ (256.3) Ber. C 51.54 H 6.29 N 10.94 S 12.51
Gef. C 51.52 H 6.25 N 11.00 S 12.63

24b: Schmp. 124–127°C, $[\alpha]_D^{20} = +95.2^\circ$ ($c = 1.09$ in CHCl_3). – NMR (CDCl_3): τ 5.59 bis 6.24 (m, 2H); 6.24–6.79 (m, 1H); 6.99 (s, 3H); 7.34–8.15 (m, 4H); 7.74 (s, 3H); 8.22 (s, 3H).

3-Acetylthio-3-methyl-perhydro-(8a*S*)-pyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion (Isomerengemisch) (25): Zu einer Suspension von 1.84 g (0.01 mol) gepulverter Hydroxyverbindung **14** in 30 ml wasserfreiem Chloroform gibt man 1.14 g $\hat{=}$ 1.06 ml (0.015 mol) Thioessigsäure und zwei Spatelspitzen gepulvertes wasserfreies Zinkchlorid. Nach zweistündigem kräftigem Rühren ist die Lösung klar geworden und die Reaktion beendet. Es wird mit Wasser und Hydrogencarbonatlösung gewaschen, i. Vak. eingengt und mit Äther/Essigsäure-äthylester verrieben. Es kristallisieren 2.10 g (87%) des Isomerengemisches im Verhältnis etwa 15:1. Zur Reinigung wird aus Essigsäure-äthylester/Äther umkristallisiert.

NMR (CDCl_3): τ 2.42 (s, 1H); 5.31 6.68 (m, 1H + 2H); 7.37–8.22 (m, 4H); 7.70 bzw. 7.74 (s, 3H); 8.05 bzw. 8.19 (s, 3H).

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ (242.3) Ber. C 49.58 H 5.83 N 11.56 S 13.24
Gef. C 49.30 H 5.79 N 11.20 S 13.61

3-Äthylthio-2,3-dimethyl-perhydro-pyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion (Isomerengemisch) (26): Eine Lösung von 212 mg (1 mmol) **17** und 1.5 ml Äthanthiol in 3 ml wasserfreiem Chloroform wird nach Zugabe einer Spatelspitze wasserfreien Zinkchlorids 4 h gerührt. Nach dreimaligem Ausschütteln mit wenig Wasser wird die organ. Lösung über Na_2SO_4 getrocknet und i. Vak. eingengt. Das zurückbleibende Öl (133 mg, 54%) konnte nicht zur Kristallisation gebracht, und daher nicht analysenrein erhalten werden. Das NMR-Spektrum deutet auf das Vorliegen eines *cis-trans*-Isomerengemisches im Verhältnis 1:1 hin.

NMR (CDCl_3): 5.05–5.55 (m, 1H); 5.90–6.33 (m, 1H); 6.93 (s, 3H); 7.20–9.02 (m, 7H); 7.54 (q, 2H); 8.16 bzw. 8.18 (1:1) (s, 3H); 8.78 bzw. 8.82 (1:1) (t, 3H).

2-Methyl-3-methylen-perhydro-(8a*S*)-pyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion (27): 1.93 g (0.01 mol) **13a** oder **b** in 2 ml Trifluoressigsäure werden 1 h auf 40°C gehalten. Die überschüss. Säure

wird i. Vak. abdestilliert, das zurückbleibende Öl in wäßriger 1 N KHCO_3 -Lösung aufgenommen und mit Chloroform ausgeschüttelt. Der Extrakt wird mit Natriumsulfat getrocknet, i. Vak. eingeengt und sein Rückstand mit Petroläther verrieben. Es kristallisieren 1.62 g (90%) Olefin. Von geringen Mengen Verunreinigungen wird säulenchromatographisch abgetrennt (Kieselgel 0.02–0.6 mm, Laufmittel Chloroform/5% Methanol). Schmp. 70 bis 73°C (aus Chloroform/Äther + Petroläther), $[\alpha]_D^{20} = +110.5^\circ$ ($c = 0.94$ in CHCl_3).

NMR (CDCl_3): τ 4.27–5.08 (d,d $J = 1$ Hz, 2H); 5.54–4.00 (m, 1H); 4.00–6.59 (m, 2H); 6.80 (s, 3H); 7.32–8.27 (m, 4H).

$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ (180.2) Ber. C 59.98 H 6.72 N 15.55 Gef. C 60.01 H 6.87 N 15.53

*Kern-Overhauser-Messung*¹⁷⁾: Gerät: XL-100; Lösungsmittel: CDCl_3 ; Konzentration: 7proz.; alle austauschbaren Protonen waren gegen ^2H ausgetauscht; die Lösungen wurden mit Argon entgast; Feld-Lock: ^2H .

Beim Hydroxycyclodipeptid **13b** wurde eine Intensitätszunahme für das Signal von 8a-H festgestellt, wenn man bei der Methylgruppe an C-3 einstrahlte. Beim Isomeren **13a** hingegen war innerhalb der Fehlergrenze kein Effekt zu beobachten.

¹⁷⁾ Wir danken Herrn Dr. E. Haslinger sehr herzlich für die Messung.

[268/73]