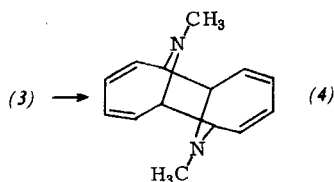


(2) [3] als thermisch unbeständiges, hellgelbes Öl [UV-Spektrum (in n-Hexan):  $\lambda_{\max} = 232 \text{ m}\mu$ , Schulter bei  $255 \text{ m}\mu$ ], das als Pikrat (Z.P.  $> 100^\circ\text{C}$ ) isoliert werden konnte [4]. Die Reduktion von (1) in siedendem Äther liefert mit 60 % Ausbeute das N-Methyl-azepin (3) [3] als thermisch wenig beständiges gelbes Öl [Kp =  $20^\circ\text{C}/10^{-3}$  Torr; strukturloses, nach kurzen Wellenlängen ansteigendes UV-Spektrum:  $\lambda_{\max} = 236 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 5100$ ) mit Schultern bei  $249 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 4020$ ),  $258$  ( $3660$ ),  $288$  ( $1950$ ),  $384$  ( $65$ ) (in n-Hexan); NMR-Spektrum (in  $\text{CCl}_4$ ): Singulett bei  $7,55 \tau$  ( $\text{CH}_3$ ); Multiplett bei  $5,0$  bis  $5,5 \tau$  (6 Ringprotonen)]. Die katalytische Hydrierung von (3) (Raney-Ni,  $20^\circ\text{C}$ ) führt zu N-Methyl-hexamethylenimin [5].

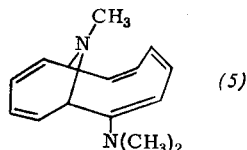
Oberhalb  $0^\circ\text{C}$  in Äther dimerisiert (3) rasch zum farblosen N,N-Dimethyl-13,14-diazatricyclo[6.4.1.1<sup>2,7</sup>]tetradeca-3,5,9,11-tetraen (4) vom Fp =  $171^\circ\text{C}$ ,  $\lambda_{\max}$  (in n-Hexan) =  $230 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 15680$ ),  $237,5$  ( $16600$ ), das man durch Chromatographie mit Äther an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  und Umkristallisieren aus Methanol reinigt [6]. Struktur (4) folgt aus dem NMR-Spek-



trum (in  $\text{CDCl}_3$ ): Dieses weist neben dem Singulett der 6 Methylprotonen bei  $7,8 \tau$  ein Dublett für die 4 Brückenkopfprotonen bei  $6,7 \tau$  und ein Multiplett für die 8 olefinischen Protonen zentriert bei  $4,1 \tau$  auf. Das Dipolmoment des Dimeren beträgt  $0,5 \text{ D}$ . Dies deutet auf die trans-Form von (4) hin [7]. Das Massenspektrum [8] bestätigt das Molekulargewicht von (4) ( $214$ ). Das Signal größter Intensität bei der MZ  $107$  weist auf den bevorzugten Zerfall von (4) zum Monomeren (3) hin. Die übrigen Spaltstücke sind für den weiteren Zerfall von (3) charakteristisch. Bei der katalytischen Hydrierung von (4) wird die für 4 Doppelbindungen berechnete  $\text{H}_2$ -Menge aufgenommen.

Wir vermuten, daß die Dimerisierung von (3) in mehreren Stufen verläuft. Eine 1,3-dipolare Cycloaddition von (3), das als Azomethinylid formuliert werden kann, dürfte nach den Regeln von Woodward und Hoffmann [9] wenig wahrscheinlich sein [\*].

Mit Bromwasserstoff ergibt (4) ein Bis-hydrobromid (farblose Blättchen, Z.P. =  $240^\circ\text{C}$ ), mit Styphninsäure oder Pikrinsäure dagegen nur die einfach protonierten Produkte (Styphnat: Z.P. =  $196^\circ\text{C}$ ; Pikrat: Z.P. =  $195^\circ\text{C}$ ). Mit Methyljodid



liefert (4) (in siedendem Methanol, 60 Std.) das Monojodmethylat (Z.P. =  $195^\circ\text{C}$ ), das durch Hofmann-Abbau in das Cyclododecapentaen-Derivat (5) überführt werden konnte (gelbes Öl,  $\lambda_{\max}$  (in n-Hexan) =  $249,5 \text{ m}\mu$ ; NMR-Spektrum (in  $\text{CCl}_4$ ): 2 Singulett bei  $7,6$  und  $7,8 \tau$  (3  $\text{CH}_3$ ), Multiplett zentriert bei  $7,15 \tau$  (2 Brückenkopfprotonen), Multiplett zentriert bei  $4,15 \tau$  (9 olefinische Ringprotonen).

Eingegangen am 4. Juli 1966, ergänzt am 27. Juli 1966 [Z 295]

[1] Diplomarbeit, Universität München, 1965.

[2] K. Hafner u. C. König, Angew. Chem. 75, 89 (1963); Angew. Chem. internat. Edit. 2, 96 (1963); K. Hafner, Angew. Chem. 75, 1041 (1963); Angew. Chem. internat. Edit. 3, 165 (1964); K. Hafner, D. Zinser u. K. L. Moritz, Tetrahedron Letters 1964, 1733.

[3] Es liegen Anhaltspunkte vor, daß (2) und (3) mit geringen Mengen der valenzisomeren Benzolimin-Derivate im Gleichgewicht stehen. Neben der Dimerisierung von (3) wurde auch dessen Aromatisierung zu N-Methylanilin beobachtet.

[4] Von allen neuen Substanzen liegen befriedigende Analysenergebnisse vor.

[5] R. Lukes u. J. Malek, Coll. czechoslov. chem. Commun. 16, 23 (1951).

[6] Über eine analoge Dimerisierung von (1) und N-Cyanazepin – jedoch erst bei  $200^\circ\text{C}$  – berichteten soeben L. A. Paquette u. I. H. Barrett sowie A. L. Johnson u. H. E. Simmons, J. Amer. chem. Soc. 88, 2590 (1966).

[7] Eine Röntgenstrukturanalyse von (4) wird zur Zeit ausgeführt.

[8] Herrn Prof. Dr. G. Spiteller, Universität Göttingen, danken wir für Aufnahme und Diskussion des Massenspektrums von (4).

[9] R. Hoffmann u. R. B. Woodward, J. Amer. chem. Soc. 87, 4388 (1965) und frühere Mitteilungen.

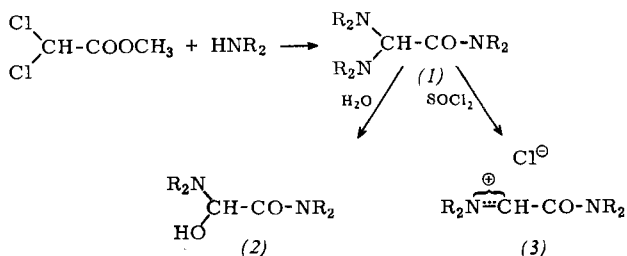
[\*] Anmerkung bei der Korrektur: Neben (4) isolierten wir kürzlich ein weiteres Dimeres von (3), dessen Struktur jedoch noch nicht aufgeklärt wurde. Die Verbindung bildet farblose Kristalle und schmilzt bei  $66^\circ\text{C}$ . UV-Spektrum in Methanol:  $\lambda_{\max} = 242 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 4470$ ), NMR-Spektrum in  $\text{CCl}_4$ : 2 Singulett bei  $7,15$  und  $7,8 \tau$  (2  $\text{CH}_3$ ), Multipletts zentriert bei  $6,35 \tau$  (4 H) und  $4,3 \tau$  (8 H).

## Darstellung von N-funktionellen Glyoxylsäurederivaten

Von Doz. Dr. H. Groß und Dr. J. Gloede

Institut für organische Chemie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Berlin-Adlershof

Bei der Umsetzung von Dichloressigsäureester mit Piperidin entsteht das N,N-Acetal des Glyoxylsäurepiperidids, Bis-piperidino-essigsäurepiperidid (1a), Fp =  $87$  bis  $89^\circ\text{C}$ , mit 90 % Ausbeute. Analog ist das Morpholinderivat (1b) zugänglich (Fp =  $120$  bis  $122^\circ\text{C}$ , Ausbeute 70 %). Beide Verbindungen sind im verschlossenen Gefäß gut haltbar, gehen aber beim Stehen an der Luft oder beim Umkristallisieren aus wasserhaltigen Lösungsmitteln (z.B. DMF) in die N-Halbacetale (2a) (Fp =  $60$ – $61^\circ\text{C}$ , Ausbeute 89 %) bzw. (2b) (Fp =  $86$  bis  $87^\circ\text{C}$ , Ausbeute 72 %) über, die sich als stabile, gut kristallisierende Verbindungen erwiesen. Die OH-Bande von (2a) liegt bei  $3366 \text{ cm}^{-1}$  (KBr-Preßling; Halbwertsbreite  $17,5 \text{ cm}^{-1}$ ) oder bei  $3420 \text{ cm}^{-1}$  (in  $\text{CCl}_4$ ; Halbwertsbreite  $87 \text{ cm}^{-1}$ ) [1].



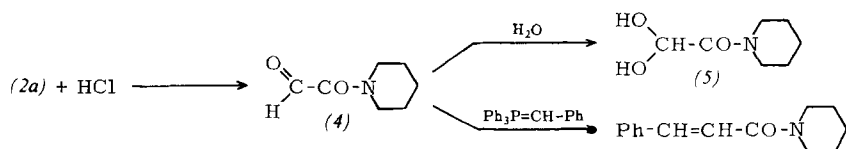
(a),  $\text{R}_2 = -(\text{CH}_2)_5-$

(b),  $\text{R}_2 = -(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-$

Beim Zutropfen von Thionylchlorid zu einer ätherischen Lösung von (1a) oder (1b) fallen mit praktisch quantitativer Ausbeute die Carbonium-Iminiumsalze (3a) bzw. (3b) aus, die sich für Aminomethylierungsreaktionen eignen [2].

Setzt man (2a) mit 1 mol ätherischer HCl um, so kann mit Ausbeuten von bis zu 62 % Glyoxylsäurepiperidid (4) isoliert werden [3] (Säureamidbande:  $1647 \text{ cm}^{-1}$ , Aldehydbande:

1722  $\text{cm}^{-1}$ ; flüssig, ohne Lösungsmittel). Diese Verbindung ist im Gegensatz zu den instabilen Estern der Glyoxylsäure beständig. Sie bildet ein stabiles Hydrat (5) (Fp = 86 bis 89 °C; Säureamidbande: 1653  $\text{cm}^{-1}$ , OH-Bande: 3362  $\text{cm}^{-1}$



(H-Brücken); KBr-Preßling). Mit Benzyliden-triphenylphosphoran reagiert sie zu Zimtsäurepiperidid (Fp = 119 bis 120 °C; Lit.<sup>[4]</sup>: 122 °C; keine Depression mit authentischem Produkt).

#### $\alpha$ -Hydroxy- $\alpha$ -piperidino-essigsäurepiperidid (2a):

0,1 mol Dichloressigsäure-methylester und 0,5 mol Piperidin werden 2 Std. auf 110 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen extrahiert man das Gemisch dreimal mit je 50 bis 60 ml wasserfreiem Äther und dampft die ätherische Lösung im Vakuum ein. Das rohe (1a) wird in 50 ml heißem Dimethylformamid gelöst und mit 120 ml Wasser und 0,5 ml 2 N HCl versetzt. Beim Abkühlen scheidet sich (2a) aus. Es wird aus Dimethylformamid/Wasser umkristallisiert, Fp = 60 bis 61 °C.

#### Glyoxylsäure-piperidid (4):

0,1 mol (2a) werden in 100 ml wasserfreiem Äther gelöst und tropfenweise bei 0 °C mit 24 ml 16-proz. ätherischer HCl (0,1 mol) versetzt. Das ausgefallene Piperidinhydrochlorid wird abgetrennt. Die Lösung engt man ein und destilliert im Hochvakuum, Kp = 74 bis 76 °C/0,02 Torr.

Eingegangen am 14. Juli 1966 [Z 286]

[1] Für die Aufnahme und Diskussion der Spektren danken wir Dr. D. Kunath, Berlin-Adlershof.

[2] H. Groß, J. Gloede u. J. Freiberg, Liebigs Ann. Chem., im Druck.

[3] Bisher wurden Glyoxylsäureamide nicht in freier Form, sondern entweder als Hydrate oder als 2,4-Dinitrophenylhydrazone durch Umsetzung von *N,N*-disubstituierten Formamiden mit Lithiumacetylid [G. H. Whitfield, Brit. Pat. 793 807; Chem. Abstr. 53, 227 (1959); Brit. Pat. 797 604; Chem. Abstr. 53, 5137 (1959)] oder Alkalimetallen [H. Bredereck, F. Effenberger u. R. Gleiter, Angew. Chem. 77, 964 (1965); Angew. Chem. internat. Edit. 4, 951 (1965)] dargestellt.

[4] B. Herstein, Ber. dtsch. chem. Ges. 22, 2265 (1889).

## Eliminierung von Schwefelwasserstoff aus Ferredoxin und Cysteinmethylester<sup>[1]</sup>

Von Prof. Dr. Ernst Bayer und Dipl.-Chem. W. Parr

Chemisches Institut der Universität Tübingen

Nachdem wir festgestellt hatten, daß aus Cysteinestern und Cysteinpeptiden bei Gegenwart von Eisensalzen leicht Schwefelwasserstoff eliminiert wird<sup>[1]</sup>, haben wir den „labilen Schwefel“ im Ferredoxin, der von Rabinowitz et al.<sup>[2]</sup> als „anorganischer Schwefel“ angesehen wird, auf eine H<sub>2</sub>S-Abspaltung aus den Cysteinresten des Ferredoxins zurückgeführt. Malkin und Rabinowitz<sup>[3]</sup> haben dieser Ansicht kürzlich widersprochen, da sie im Gegensatz zu unseren Befunden weder aus Cysteinmethylester noch aus Glutathion H<sub>2</sub>S entwickeln und darüber hinaus im Ferredoxin kein Dehydroalanin nachweisen konnten. – Dieser Widerspruch ist schwer verständlich, da die  $\beta$ -Eliminierung von H<sub>2</sub>S aus Cysteinmethylester ein sehr einfaches Experiment ist und wir Dehydroalanin nach der H<sub>2</sub>S-Abspaltung mit drei unabhängigen Methoden im Ferredoxin nachweisen können.

Unter folgenden Bedingungen<sup>[\*\*]</sup> läßt sich aus Cysteinmethylester bei Gegenwart von Eisensalzen 1 mol H<sub>2</sub>S pro mol Eisensalz abspalten:

Zur Bildung des Cysteinmethylester-Eisen-Komplexes werden die Lösungen von 17,1 mg Cysteinmethylesterhydrochlorid in 1 ml sauerstofffreiem dest. Wasser und von 19,6 mg Mohrschem Salz in 1 ml sauerstofffreiem dest. Wasser in

einem 25-ml-Rundkolben mit Rückflußkühler zusammengegeben. Nach Zugabe von 5 ml 0,5 M Tris-HCl-Puffer (pH = 7,30) wird 15 bis 20 min unter Rückfluß bei aufgesetztem Peligotrohr, das mit 7 ml *p*-Aminodimethylanilin-Reagens (0,5 g *p*-Aminodimethylanilinhydrochlorid in 500 ml 5,5 N HCl) gefüllt war, gekocht. Zur Bestimmung des Schwefelwasserstoffes<sup>[4]</sup> entfernt man das Peligotrohr und spült den Rückflußkühler mit 15 ml dest. Wasser. Die abgekühlte Probe (Lösung und Niederschlag) wird in einen 500-ml-Meßkolben, in dem sich 260 ml 1,3-proz. Zinkacetatlösung und 10 ml 12-proz. Natronlauge befinden, gefüllt. Anschließend gibt man 50 ml *p*-Aminodimethylanilinhydrochlorid-Lösung, worin auch die Reagenslösung aus dem Peligotrohr enthalten ist, zu und verschließt den Kolben. Dann schüttelt man, bis sich der Niederschlag gelöst hat. Nach etwa 10 min gibt man 10 ml 0,023 M FeCl<sub>3</sub>-Lösung in 1,2 N HCl zu. Dann läßt man 15 min stehen und füllt anschließend mit dest. Wasser bis zur Eichmarke auf. Nach 30 min wird die Extinktion bei 670 m $\mu$  bestimmt. Gefunden wurden in über 50 Bestimmungen  $1,60 \pm 0,10$  mg H<sub>2</sub>S entsprechend einem molaren Verhältnis eingesetztes Eisensalz:H<sub>2</sub>S = 1:0,94  $\pm$  0,06. Das ist genau das im Ferredoxin festgestellte Verhältnis von Eisen zu „labilem Schwefel“.

Führt man die Reaktion ohne Mohrsches Salz aus, so werden nur  $0,38 \pm 0,05$  mg H<sub>2</sub>S erhalten. Das zeigt, daß die Reaktion durch die Bildung des Eisenkomplexes katalysiert wird. Da Ferredoxin ein Eisenkomplex eines cystein-reichen Polypeptides ist, muß eine analoge Reaktion angenommen werden. Eine H<sub>2</sub>S-Eliminierung tritt auch ein, wenn der Eisenkomplex des Cysteinmethylesters ohne Kochen durch Zusammengeben der Lösungen und 16- bis 24-stündiges Stehenlassen im Becherglas bei Raumtemperatur gebildet wird. Infolge unvollständiger Bildung des Chelates und infolge von Nebenreaktionen liegen die Ausbeuten dann aber nur bei 20 % des nach obiger Vorschrift erhaltenen Wertes. Die Eliminierung von H<sub>2</sub>S aus Cysteinmethylester bedarf der Basenkatalyse nicht und verläuft schon in neutralem Milieu.

Bei der Eliminierung von H<sub>2</sub>S aus Ferredoxin entsteht ein Dehydroalanylpeptid, aus dem bei der Totalhydrolyse Brenztraubensäure erhalten werden sollte. Malkin und Rabinowitz<sup>[3]</sup> konnten nach einstündigem Erhitzen von Ferredoxin mit 3 N HCl im Wasserbad keine Brenztraubensäure nachweisen. Behandelt man Ferredoxin dagegen – wie bei der Proteinhydrolyse üblich – 24 Std. unter Stickstoff bei 110 °C mit 6 N HCl, so erhält man aus 1 mg Ferredoxin 27,5  $\mu$ g Brenztraubensäure, die enzymatisch mit Lactat-Dehydrogenase und NADH bestimmt worden ist. In Anbetracht der Labilität von Dehydroalanin unter den Bedingungen der Hydrolyse ist die Ausbeute von etwa 30 % Brenztraubensäure (berechnet auf 5 mol eliminiertes H<sub>2</sub>S je mol Ferredoxin vom Molekulargewicht 6000) befriedigend, erlaubt aber keine quantitativen Schlüsse.

Ein wesentlich besserer Weg zum Nachweis des Dehydroalanins ist die Reduktion des Dehydroalanylpeptids zum Alanylpeptid mit NaBH<sub>4</sub> und die anschließende Ausführung einer Aminosäureanalyse<sup>[5,6]</sup>. In dem Maße wie sich der Cysteingehalt verringert, muß sich der Alaningehalt vergrößern.

Wenn man 1 mg Ferredoxin aus *Clostridium pasteurianum* unter den von Pigman et al.<sup>[6]</sup> angegebenen Bedingungen mit NaBH<sub>4</sub> behandelt, anschließend mit Perameisensäure entsprechend der Vorschrift von Hirs<sup>[7]</sup> umsetzt und mit