

Über Aminosäuren und Peptide, VI¹⁾

Syntheseversuche in der Reihe der 3,6-Epidithio-2,5-dioxopiperazin-Antibiotika Gliotoxin, Sporidesmin, Aranotin, Chaetocin und Verticillin, VI¹⁾

Nucleophile Einführung von Schwefelfunktionen über Sulfone und Hydroxyderivate cyclischer Dipeptide (Dioxopiperazine)

Elisabeth Öhler, Frieda Tataruch und Ulrich Schmidt *

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

Eingegangen am 14. August 1972

2,3-Dehydroproyl-prolinanhhydrid (**6**) und 2,3-Dehydroproyl-2,3-dehydroprolinanhhydrid (**2**) werden durch Eliminierung von Methylmercaptan aus *cis*-3-(Methylmercapto)proyl-prolinanhhydrid (**5a**) und *cis*- oder *trans*-3,6-Bis(methylmercapto)proyl-prolinanhhydrid (**1a**, **1b**) hergestellt. Oxidation der Thioäther (**5a**, **1a**, **1b**) liefert die entsprechenden Sulfone (**10a**) bzw. Hydroperoxide (**12a**, **14b**). Letztere werden zu den Hydroxiden (**13a**, **15b**) reduziert. Sulfone und Hydroxide sind nucleophilen Substitutionsreaktionen durch Schwefelfunktionen zugänglich. Auf diese Weise ist es möglich, das Isomerengemisch **1a** + **1b** in racemisches Epidisulfid **20** umzuwandeln. Die Stereochemie dieser nucleophilen Reaktionen wird untersucht: Bei nucleophilen Reaktionen an nur *einem* der asymmetrischen Kohlenstoffatome des *cis*-Proyl-prolinanhydrids bleibt die Konfiguration erhalten, bei Reaktionen an *beiden* asymmetrischen Kohlenstoffatomen wird das thermodynamisch stabilere Isomere (LD oder LL + DD) gebildet.

On Amino Acids and Peptides, VI¹⁾

Studies in the Synthesis of the Antibiotics Gliotoxin, Sporidesmin, Aranotin, Chaetocin, and Verticillin, VI¹⁾

Nucleophilic Introduction of Sulfur Functions via Sulfones and Hydroxy Derivatives of Cyclic Dipeptides (Dioxopiperazines)

2,3-Dehydroproyl-proline anhydride (**6**) and 2,3-dehydroproyl-2,3-dehydroproline anhydride (**2**) are prepared by elimination of methanethiol from *cis*-3-(methylthio)proyl-proline anhydride (**5a**) and *cis*- or *trans*-3,6-bis(methylthio)proyl-proline anhydride (**1a**, **1b**). Oxidation of the sulfides (**5a**, **1a**, **1b**) affords the corresponding sulfones (**10a**) and hydroperoxides (**12a**, **14b**). **12a** and **14b** are reduced to the hydroxides **13a** and **15b**. Sulfones and hydroxides undergo nucleophilic displacement reactions with sulfur functions. In this way it is possible to convert the mixture of the isomeric sulfides **1a** and **1b** to racemic epidithioprolyl-proline anhydride (**20**). The steric course of these nucleophilic reactions is examined. Retention of configuration is observed in displacement reactions involving only *one* asymmetric carbon of *cis*-proyl-proline anhydride. Reactions involving *both* asymmetric carbons yield the thermodynamically more stable isomer (LD or LL + DD).

¹⁾ V. Mitteil.: E. Öhler, F. Tataruch und U. Schmidt, Chem. Ber. **105**, 3658 (1972).

Als einfachstes Modell der Dioxopiperazin-Antibiotika mit einer Disulfidbrücke war Epidithiosarkosyl-sarkosinanhydrid durch nucleophile Reaktionen am 3,6-Dibromsarkosyl-sarkosinanhydrid hergestellt worden²⁻⁴⁾. Diese Reaktionsfolge wurde auch bei der Herstellung des Epidithio-*N*-phenylglycyl-*N*-phenylglycinanhydrids benutzt⁵⁾. 3,6-Dibromierung ist jedoch nur bei solchen Dioxopiperazinen möglich, die in 3- und 6-Stellung entweder unsubstituiert sind oder Gruppen ohne eliminierbaren Wasserstoff in β -Stellung zum Brom tragen⁶⁾.

Als Methode zur Einführung von Schwefelfunktionen in 3,6-Dialkyldioxopiperazine wurde dann die Metallierung, gefolgt von elektrophiler Reaktion des Schwefels mit dem Carbanion, gefunden⁶⁾. Bei dem als Modell verwendeten L-Prolyl-L-prolinanhydrid isolierte man auf diesem Wege zunächst eine Mischung aus *cis*- und *trans*-Dimercaptid (ca. 3 : 4). Unsere Bemühungen, die reine *cis*-Verbindung aus dem Gemisch der beiden isomeren Mercaptide mit dem gleichzeitig entstandenen Epipoly-sulfid in guter Ausbeute zu isolieren und zum Epidisulfid zu dehydrieren, waren zwar erfolgreich⁷⁾; dennoch haben wir gleichzeitig nach Möglichkeiten gesucht, aus der Mischung von *cis*- und *trans*-3,6-Bis(methylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (**1a**+**1b**) einheitliche Derivate mit *cis*-Stellung der Schwefelfunktionen zu gewinnen. Darüber wird im folgenden berichtet.

Versuche mit 2,3-Dehydroprolyl-2,3-dehydropolineanhydrid

Unser erstes Ziel war die Umwandlung der Mischung aus aktivem *cis*-Bis(methylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (**1a**) und *meso-trans*-Bis(methylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (**1b**) in einheitliches Diolefin **2** und selektive Addition von Thioessigsäure oder einer bifunktionellen SH-Verbindung an die beiden Doppelbindungen von **2** unter Ausbildung eines Derivates mit *cis*-ständigen Schwefelfunktionen. Der Nachteil dieses Weges — die Bildung einer racemischen *cis*-Dimercapto-Verbindung — sollte in Kauf genommen werden. Die α -Addition an das System **3** hat zwar keine günstige Prognose, denn zumindest in neutralem oder basischem Medium erwartet man β -Addition. Letztere könnte aber möglicherweise bei saurer Katalyse durch primäre Protonierung zu **4** überspielt werden. Für einen derartigen Reaktionsablauf beispielhaft ist die Bildung des Brenztraubensäure-phenylhydrazons aus α -Acetaminoacrylsäure in saurer Lösung. In neutralem oder basischem Medium werden Nucleophile jedoch glatt in β -Position addiert.

Die Eliminierung von Methylmercaptogruppen aus den Positionen 3 und 6 am Prolyl-prolinanhydrid ließ sich leicht verwirklichen. Racemisches *cis*-3-(Methylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (LL+DD)⁸⁾ (**5a**) lieferte das schwierig zu reini-

²⁾ P. W. Town, Biochem. biophysic. Res. Commun. **33**, 402 (1968).

³⁾ H. Poisel und U. Schmidt, Angew. Chem. **83**, 114 (1971); Angew. Chem. internat. Edit. **10**, 130 (1971).

⁴⁾ H. Poisel und U. Schmidt, Chem. Ber. **104**, 1714 (1971).

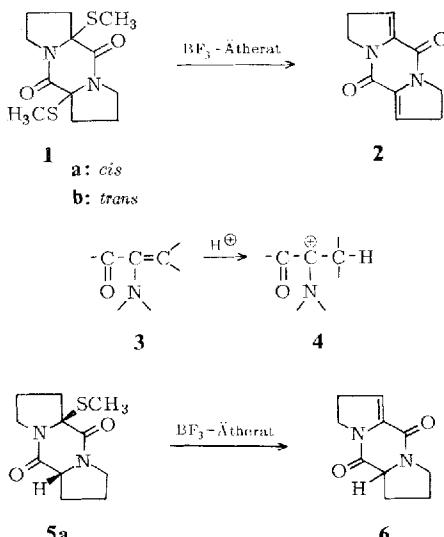
⁵⁾ American Cyanamid Co (Erf. St. G. Svokos, R. B. Angier), Ger. Offen. 2029306; C. A. **74**, 53845p (1971) und Ger. Offen. 2029305; C. A. **74**, 100095 (1971).

⁶⁾ H. Poisel und U. Schmidt, Chem. Ber. **105**, 625 (1972).

⁷⁾ E. Öhler, H. Poisel, F. Tataruch und U. Schmidt, Chem. Ber. **105**, 635 (1972).

⁸⁾ Dieses racemische Präparat erhält man, wenn L-Prolyl-L-prolinanhydrid vor der Umsetzung mit Schwefel mit Methylsulfinylmethyl-natrium in DMSO metalliert wird⁶⁾. Dabei tritt Racemisierung ein.

gende und empfindliche Monoolefin **6** beim Erwärmen mit BF_3 -Ätherat. Stabiler ist das Diolefin **2**, das beim Erwärmen des *cis*- oder des *trans*-Bis-thioäthers (**1a**, **1b**) mit Methyljodid, am besten aber durch Umsetzung mit BF_3 -Ätherat gebildet wird. **2** kann auch aus den Dihydroxiden **15a** und **15b** erhalten werden; außerdem beobachteten wir sein Auftreten bei allen Oxidationsversuchen an den Bis-thioäthern **1a** und **1b** als Nebenprodukt (s.u.). Eine übersichtliche Addition von Mercaptanen, Thioessigsäure, Polysulfan oder Schwefelwasserstoff an das Diolefin **2** haben wir nicht verwirklichen können.



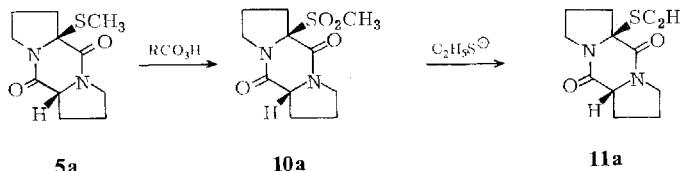
Nucleophile Reaktionen an Sulfonen und Hydroxiden der Dioxopiperazine

Diese Untersuchungen bezweckten, die Thioätherfunktionen im Isomerengemisch **1a** + **1b** in gute Abgangsgruppen für nucleophile Reaktionen umzuwandeln, um anschließend mit Hilfe eines bifunktionellen Anions, wie S_2^{2-} oder S_4^{2-} , eine Brückenbildung zu erzwingen. Im einfachsten Modellversuch wurde 3,6-Bis(äthylmercapto)-sarkosyl-sarkosinanhydrid⁴⁾ (Isomerengemisch **7a** + **7b**, *cis* : *trans* = 1 : 3) mit Wasserstoffperoxid in Eisessig zum Disulfon (**8a** + **8b**) oxidiert, dessen Umsetzung mit Natriumtetrasulfid ohne Schwierigkeiten zum Epitetralsulfid **9** führte.



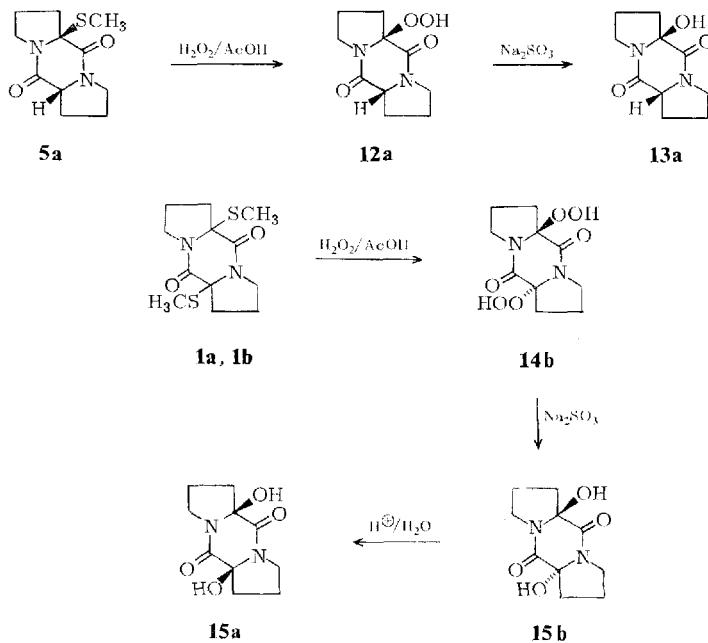
Auch an *cis*-*Monoalkylmercapto-Verbindungen* des Prolyl-prolinanhydrids (**5a**, **11a**) ließ sich nach der Oxidation zum Sulfon der nucleophile Austausch des Alkylsulfonylrestes durch eine Alkylmercaptogruppe verwirklichen: Racemisches *cis*-

3-(Methylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (LL + DD) (**5a**)⁸⁾ lieferte mit Persäuren das Sulfon **10a** und dieses mit Äthylmercaptid in Äthanol den racemischen *cis*-Thioäther **11a**.



Oxidationsversuche an den *Bis-thioäthern* **1a** und **1b** führten jedoch nicht zu einem isolierbaren Disulfon. Die *cis*-Verbindung **1a**⁷⁾ wie auch die *trans*-Verbindung **1b**⁷⁾ ergaben mit Persäuren bei Raumtemperatur und tiefer (−5°) stets Reaktionsprodukte, in denen als Hauptkomponente das durch β-Eliminierung gebildete Diolefin **2** überwog. Diese Verbindung ist bei der dünnenschichtchromatographischen Analyse auf Kieselgel als intensiv fluoreszierender Fleck im Licht der Wellenlänge 366 nm leicht zu identifizieren.

Die Oxidation der Thioäther **5a** sowie **1a** und **1b** mit Wasserstoffperoxid in Eisessig führt wohl auch primär zu den entsprechenden Sulfonen, an denen jedoch die folgende nucleophile Reaktion mit überschüssigem Wasserstoffperoxid der Eliminierung zum Olefin den Rang abläuft. Reaktionsprodukte sind das Mono- und das Bis-hydroperoxid **12a** bzw. **14b**. Bemerkenswert dabei ist, daß man aus der *cis*-Verbindung **1a** wie aus der *trans*-Verbindung **1b** in thermodynamisch kontrollierter, nucleophiler Reaktion das gleiche Bis-hydroperoxid erhält. **12a** und **14b** lassen sich mit Sulfit

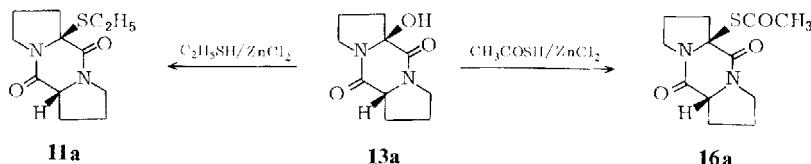


glatt zu den entsprechenden Hydroxy-Verbindungen **13a** bzw. **15b** reduzieren. Es ist somit möglich, **1a** bzw. **1b**, oder das Isomerengemisch, über das Bis-hydroperoxid **14b** in das gleiche Bis-hydroxid **15b** („schwer lösliches Bis-hydroxid“) umzuwandeln.

12a und **13a** gehören mit Sicherheit der *cis*-Reihe an. **12a** entsteht durch thermodynamisch kontrollierte Reaktion, und bei den Monosubstitutionsprodukten des Prolyl-prolinanhydrids sind die *cis*-Verbindungen die thermodynamisch stabileren; bei den disubstituierten Derivaten ist zwar auf Grund der Spannung des *trans*-Gerüstes auch die *cis*-Struktur begünstigt; sie wird aber durch wachsende Raumfüllung oder Polarität der beiden Substituenten zunehmend destabilisiert. So sind im Falle der Bis-acetylmercapto- und der Bis-hydroperoxy-Verbindungen die Isomeren mit *trans*-Konfiguration (**19b** und **14b**), in der Reihe der Bis-methylmercapto-, Bis-äthylmercapto- und wohl auch der Dihydroxy-Verbindungen jedoch die *cis*-Isomeren (**1a**, **18a**, **15a**) thermodynamisch stabiler: Das schwer lösliche Dihydroxid **15b** lässt sich nämlich in wäßriger Säure (S_N1 -Äquilibrierung) in das leicht lösliche Isomere **15a** umlagern. Wir halten deshalb bei **15b** die *trans*-Konfiguration für wahrscheinlich, ohne sie jedoch beweisen zu können. (Ringschlußversuche mit Phosgen führten weder mit **15a** noch mit **15b** zu einem cyclischen Carbonat; wir beobachteten in beiden Fällen eine Eliminierung zum Diolefin 2.)

Demnach entsteht aus dem bei der Oxidation von **1a** oder **1b** primär gebildeten *cis*- bzw. *trans*-Disulfon in thermodynamisch kontrollierter, nucleophiler Reaktion mit überschüssigem Wasserstoffperoxid das thermodynamisch stabilere *trans*-Bis-hydroperoxid **14b**, das in neutraler Lösung durch Sulfit zum thermodynamisch labilen *trans*-Dihydroxid **15b** reduziert wird. Letzteres kann erst in saurem Medium zum stabileren *cis*-Isomeren **15a** umgelaufen werden.

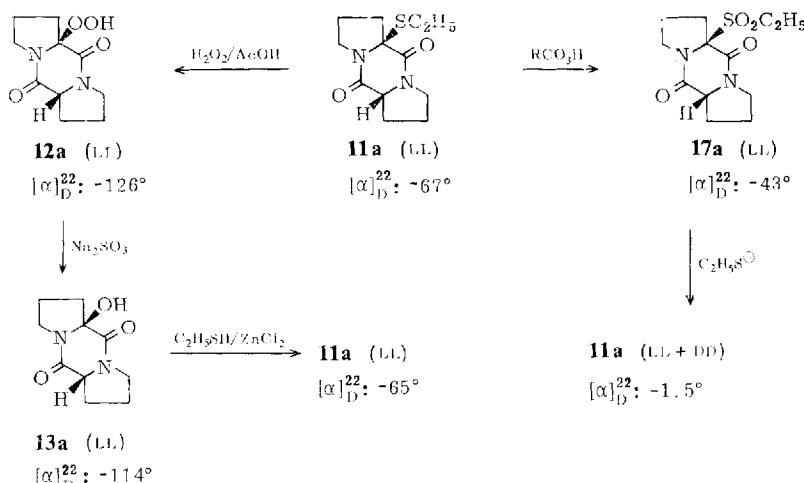
Versuche zum Austausch der Hydroxygruppen bei **13a**, **15a** und **15b** gegen Schwefel funktionen verliefen erfolgreich: Unter Mercaptalisierungsbedingungen ($ZnCl_2$, BF_3) bildete sich aus dem Mono-hydroxid **13a** mit Äthylmercaptan der *cis*-Thioäther⁶⁾ **11a** und mit Thioessigsäure das *cis*-Thioacetat **16a**. Der Verlauf der CD-Kurve von optisch aktivem **11a** stimmt mit dem von L-Prolyl-L-prolinanhydrid sowie von 3-Äthyl-L-prolyl-L-prolinanhydrid⁶⁾ völlig überein. Da das Thioacetat **16a** aus dem gleichen Mercaptid zugänglich ist wie der Thioäther **11a**⁶⁾, folgt auch für **16a** die *cis*-Konfiguration.



Die Untersuchung des räumlichen Ablaufes ergab folgendes: Aus aktivem⁹⁾ *cis*-3-(Äthylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (**11a**) ($[\alpha]_D^{22}: -67^\circ$) erhielt man aktives Hydroperoxid **12a** ($[\alpha]_D^{22}: -126^\circ$) und aktives Hydroxid **13a** ($[\alpha]_D^{22}: -114^\circ$), aus

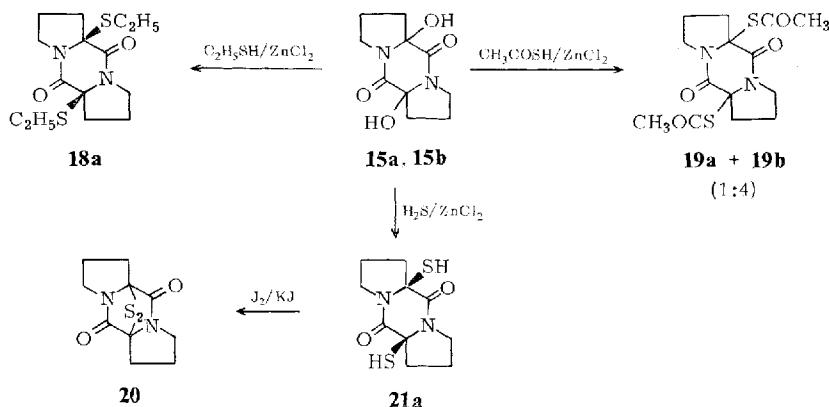
⁹⁾ Aktive Mono(alkylmercapto)prolyl-prolinanhydride erhält man bei der Metallierung aktiven Prolyl-prolinanhydrids mit Natriumamid in flüssigem NH_3 unter anschließender Umsetzung des Carbanions mit Schwefel und Alkylierung des Mercaptids mit Alkylhalogenid⁶⁾.

letzterem mit Äthylmercaptan und Zinkchlorid eine Äthylmercapto-Verbindung **11a** zurück, die nahezu die gleiche Drehung aufwies wie der in die Oxidation eingesetzte Thioäther. Oxidiert man jedoch aktives **11a** zum aktiven Sulfon **17a** ($[\alpha]_D^{22} = -43^\circ$), so entsteht bei dessen Reaktion mit Äthylmercaptid ein racemischer Thioäther **11a**.

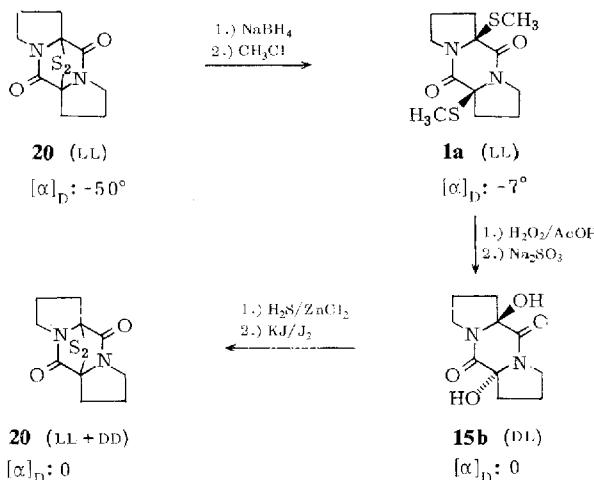


Aus den *Dihydroxiden* **15a** und **15b** entsteht mit Thioessigsäure in Gegenwart von ZnCl_2 ein Reaktionsprodukt, das überwiegend aus dem *trans*-Bis-thioacetat **19b** besteht (ca. 20% *cis*-Anteil). Mit Äthylmercaptan bzw. Schwefelwasserstoff bilden sich dagegen aus beiden Isomeren in ausgezeichneter Ausbeute der racem. *cis*-Bis-thioäther **18a** bzw. das racem. *cis*-Dimercaptan **21a**. Die *cis*-Konfiguration des Dimercaptans **21a** folgt aus der möglichen Dehydrierung zum Epidisulfid **20**; sie legt gleichzeitig die Konfigurationen der Verbindungen **18a**, **19a** und **19b** fest.

Damit war eine Reaktionsfolge gegeben, die von der Mischung aus *meso-trans*-Bis(methylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (**1b**) und aktivem *cis*-Bis(methylmercapto)-prolyl-prolinanhydrid (**1a**) zum racemischen Epidisulfid des Prolyl-prolinanhydrids (**20**) führt.



Auch hier haben wir den räumlichen Ablauf untersucht: Ausgehend von einem aktiven Epidisulfid **20**⁷⁾ wurde der aktive *cis*-Bis-thioäther **1a** hergestellt und über Bis-hydroperoxid **14b**, Bis-hydroxid **15b** und Dimercaptan **21a** in inaktives **20** zurückverwandelt. Die beobachtete völlige Racemisierung kann in der genannten Reaktionsfolge nur bei den nucleophilen Schritten, nämlich der Bildung des Hydroperoxids aus dem (nicht isolierten) Disulfon oder bei der Entstehung des Dimercaptans aus dem Dihydroxid eingetreten sein. Da, wie schon erwähnt, **15b** mit großer Wahrscheinlichkeit die *trans*-Konfiguration zugeordnet werden muß, ist offenbar bereits die Bildung des Dihydroperoxids unter Racemisierung abgelaufen.



Bei der nucleophilen Umsetzung $\text{C}-\text{SO}_2\text{R} \longrightarrow \text{C}-\text{OOH}$ an *beiden* asymmetrischen Kohlenstoffatomen des L-Prolyl-L-prolinanhydrids tritt Racemisierung ein (*LL* \rightarrow *LD*). Bei der analogen Reaktionsfolge an nur *einem* asymmetrischen Zentrum (**11a** \rightarrow **12a**) bleibt die Konfiguration völlig erhalten (keine Bildung von *LD*). Beide Befunde sind mit der größeren Spannung der Derivate des *trans*-Prolyl-prolinanhydrids erklärbar, die sich in thermodynamisch kontrollierten Reaktionen nur bei Disubstitution mit größeren und polaren Gruppen bilden.

Bei der Reaktion der monofunktionellen Verbindung (**11a** \rightarrow **12a**) würde ein Umklappen zur Bildung der thermodynamisch labileren *trans*-Verbindung führen. Tatsächlich ist es uns nie gelungen, ein *trans*-mono-substituiertes Derivat des Prolyl-prolinanhydrids zu isolieren. Racemisierung tritt nur dann ein, wenn das Reaktionsmedium ein gleichzeitiges Umklappen am zweiten asymmetrischen Kohlenstoffatom möglich macht (wie z.B. bei der Reaktion des Sulfons **17a** mit Äthylmercaptid (**17a** \rightarrow **11a**; *LL* \rightarrow *LL* + *DD*)): Die Basizität einer alkoholischen Äthylmercaptidlösung genügt nämlich, um *trans*-Prolyl-prolinanhydrid (*LD*) in racemisches *cis*-Prolyl-prolinanhydrid (*LL* + *DD*) umzulagern; außerdem sind Alkylmercaptogruppen am Prolyl-prolinanhydrid-Gerüst durch Einwirkung von Alkylmercaptid gegen andere Alkylmercaptogruppen austauschbar (**5a** + $\text{C}_2\text{H}_5\text{S}^- \rightleftharpoons \text{11a} + \text{CH}_3\text{S}^-$), und aktives (Äthyl-

mercapto)prolyl-prolinanhydrid **11a** (LL) wird unter gleichen Bedingungen racemisiert (LL + DD), Prozesse, welche der Racemisierung optisch aktiver Jodide durch Jodid-Ion entsprechen.

Weitere Untersuchungen über den Mechanismus dieser Reaktionen, insbesondere des räumlichen Ablaufes, sowie über andere Substitutionsreaktionen am Prolyl-prolinanhydrid werden Gegenstand einer späteren Publikation sein.

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

Experimenteller Teil

2,3-Dehydroprolyl-prolinanhydrid (6): 1.2 g (5 mmol) **5a**⁶⁾ und 24 ml BF₃-Ätherat werden unter Rühren 6 h auf 70° erhitzt, wobei sich schon nach kurzer Zeit ein gelber Niederschlag absetzt. Das BF₃-Ätherat wird bei etwa 40° an der Ölspalte abgezogen, der Rückstand mit 30 ml Methylenchlorid versetzt und dann mit überschüssiger gesätt. wäsr. K₂CO₃-Lösung bis zur Zerstörung des gelben Komplexes und zur alkal. Reaktion geschüttelt. Dann wird mit CH₂Cl₂ extrahiert, die organ. Lösung nochmals mit K₂CO₃-Lösung und mit Wasser gewaschen und nach Trocknen über Na₂SO₄ i. Vak. eingedampft. Aus dem Rückstand isoliert man durch Digerieren mit Äther 750 mg (78.2%) **6**. Auch durch mehrfaches Umkristallisieren aus Essigester erhält man nur ein Präparat, das sich über einen sehr weiten Temperaturbereich zersetzt (130–165°).

C₁₀H₁₂N₂O₂ (192.2) Ber. C 62.50 H 6.25 N 14.58 Gef. C 61.88 H 6.26 N 14.27

NMR (CDCl₃): τ 3.75–3.95 (t, 1H), 5.55–6.59 (m, 5H), 6.94–8.22 (m, 6H).

2,3-Dehydroprolyl-2,3-dehydroprolinanhydrid (2)

a) Aus *cis*- bzw. *trans*-3,6-Bis(methylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (**1a** bzw. **1b**): 1.5 g (5.5 mmol) **1a**⁷⁾ bzw. **1b**⁷⁾ oder des Isomerengemisches⁷⁾ werden in 30 ml absol. Diglyme mit 36 ml BF₃-Ätherat 20 h bei Raumtemp. gerührt, wobei sich bald ein intensiv gelber, kristalliner Komplex abscheidet. Dann wird, wie bei der Herstellung von **6** beschrieben, aufgearbeitet. Durch Digerieren mit Essigester erhält man 0.7 g (70%) **2**. Aus Essigester farblose Kristalle vom Schmp. 187° (Zers.).

C₁₀H₁₀N₂O₂ (190.2) Ber. C 63.15 H 5.30 N 14.73

Gef. C 63.02 H 5.18 N 14.94 Mol.-Masse 183 (osmometr. in CHCl₃)

NMR (CDCl₃): τ 3.74–3.95 (t, 2H), 5.70–6.12 (t, 4H), 6.81–7.40 (m, 4H).

b) Aus *cis*- oder *trans*-3,6-Dihydroxyprolyl-prolinanhydrid (**15a** oder **15b**): 230 mg (1 mmol) **15a** oder **15b** und 3 ml Trifluoressigsäure werden 4 h bei 40°, dann 12 h bei Raumtemp. gerührt. Danach entfernt man die Säure i. Vak., nimmt den Rückstand in Methylenchlorid auf, wäscht mit Wasser und gesätt. wäsr. NaHCO₃-Lösung, trocknet über Na₂SO₄ und engt i. Vak. ein. Aus dem Rückstand isoliert man 150 mg (79%) **2** durch Verreiben mit Essigester.

*3,6-Bis(äthylsulfonyl)sarkosyl-sarkosinanhydrid (cis-trans-Gemisch; **8a** + **8b**):* 1.31 g (5 mmol) 3,6-Bis(äthylmercapto)sarkosyl-sarkosinanhydrid⁴⁾ (**7**) werden in 20 ml Eisessig gelöst und mit 4 ml Perhydrol versetzt. Nach 60 h wird vom gebildeten Niederschlag abgesaugt. Man isoliert 1.3 g (80%) **8a** + **8b**. Aus Eisessig farblose Kristalle vom Schmp. 210 bis 214° (Zers.).

C₁₀H₁₈N₂O₆S₂ (326.3) Ber. C 36.79 H 5.55 N 8.58 S 19.64

Gef. C 36.86 H 5.51 N 8.64 S 19.69

Das NMR-Spektrum von **8** (aufgenommen in Pyridin-d₅) deutet auf das Vorliegen eines *cis-trans*-Isomerengemisches, etwa im Verhältnis 1:3; offenbar enthielt der eingesetzte Thioäther **7** ca. 25% *trans*-Verbindung, die im NMR-Spektrum von **7** nicht klar zu erkennen sind:

τ 3.56 bzw. 3.77 (1:3) (s, 2H), 6.06–6.51 (q, 4H), 6.48 bzw. 6.55 (1:3) (s, 6H), 8.39 bis 8.76 (t, 6H).

3,6-(Epitetrathio)sarkosyl-sarkosinanhydrid (9): Zu einer äthanol. Lösung von 3 mmol Na₂S₄ (man löst 0.72 g (3 mmol) Na₂S·9 H₂O in 10 ml Äthanol, fügt 0.29 g (9 mmol) Schwefel hinzu und kocht unter Rückfluß, bis eine klare Lösung entsteht) gibt man unter Rühren 1.07 g (3 mmol) **8a**–**8b**. Man erwärmt 30 min auf 50° und röhrt dann 2 h bei Raumtemp. nach. Man dampft i. Vak. bis zur Trockne ein, verreibt mit 5 ml Wasser und saugt den Rückstand ab. Umlkristallisieren aus Eisessig liefert 0.3 g (34%) **9** in Form farbloser Kristalle vom Schmp. 195–200° (Zers.). Das Präparat ist identisch mit dem von Poisel und Schmidt⁴⁾ beschriebenen.

Racem. cis-3-(Methylsulfonyl)prolyl-prolinanhydrid (10a): 240 mg (1 mmol) racem. *cis*-3-(Methylmercaptoprolyl)-prolinanhydrid⁸⁾ (**5a**) werden in 2 ml absol. CHCl₃ gelöst und unter Eiskühlung bei 5–10° mit der doppelten molaren Menge einer äther. Lösung von Monoperphthalsäure versetzt. Danach wird noch 30 min unter Kühlung und 3 h bei Raumtemp. gerührt, dann mit 10 ml CHCl₃ verdünnt und von der gebildeten Phthalsäure abgesaugt. Das Filtrat wird mit gesätt. währ. NaHCO₃-Lösung und mit Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak. kristallisiert der Rückstand beim Verröpfen mit Äther. Ausb. 210 mg (77%). Aus Essigester farblose Kristalle vom Schmp. 145°.

C₁₁H₁₆N₂O₄S (272.3) Ber. C 48.52 H 5.88 N 10.23 S 11.76
Gef. C 48.82 H 5.87 N 10.55 S 11.98

NMR (CDCl₃): τ 5.13–5.55 (m, 1H), 5.87–6.62 (m, 4H), 6.94 (s, 3H), 7.15–8.25 (m, 8H).

Racem. cis-3-(Äthylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (11a)

a) Aus racem. *cis*-3-(Methylsulfonyl)prolyl-prolinanhydrid (**10a**): 272 mg (1 mmol) **10a** werden in 5 ml absol. Äthanol suspendiert, mit einer Lösung von 1.1 mmol Natriummethylmercaptid in 1 ml Äthanol versetzt und etwa 30 min auf 50° erwärmt. Dann wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen und die Lösung mit wenig Wasser ausgeschüttelt. Aus der organ. Phase gewinnt man nach Trocknen über Na₂SO₄ und Abdampfen des Lösungsmittels 210 mg (82%) Rohprodukt, das beim Anreiben mit Petroläther kristallisiert. Farblose Kristalle vom Schmp. 56–60°; Misch-Schmp. mit einer authent. Probe⁶⁾ ohne Depression.

b) Aus racem. *cis*-3-Hydroperoxyprolyl-prolinanhydrid (**13a**): Zu 105 mg (0.5 mmol) **13a** in 2 ml absol. Benzol werden unter Rühren 2 ml Äthylmercaptan und eine Spatelspitze wasserfreies ZnCl₂ gefügt. Nach 12 h werden Lösungsmittel und Mercaptan i. Vak. entfernt und der Rückstand in Methylenechlorid/Wasser aufgenommen. Das aus der organ. Phase nach Abdampfen des Lösungsmittels erhaltene Öl wird nach Destillation im rotierenden Kugelrohr (Badtemp. 150° bei 0.001 Torr) durch Anreiben mit Petroläther zur Kristallisation gebracht. Man erhält 90 mg **11a** (71%) vom Schmp. 56–60°.

Racem. cis-3-Hydroperoxyprolyl-prolinanhydrid (12a): Man röhrt eine Mischung aus 720 mg (3 mmol) **5a**⁸⁾, 10 ml Eisessig und 2.5 ml Perhydrol 15 h bei 25° (Wasserkühlung). Danach werden 30 ml Methylenchlorid zugefügt. Nach Waschen mit Wasser und Extrahieren der Wasserphasen mit CH₂Cl₂ gewinnt man aus den organ. Lösungen nach dem

Eindampfen 300 mg (44.2%) rohes **12a**, das beim Verreiben mit Essigester kristallisiert. Aus Essigester farblose Kristalle vom Schmp. 139–142° (Zers.).

$C_{10}H_{14}N_2O_4$ (226.2) Ber. C 53.09 H 6.24 N 12.38 Gef. C 52.83 H 6.31 N 12.00

NMR ($CDCl_3$): τ –1.2 (s, 1H, mit D_2O austauschbar), 5.33–5.59 (t, 1H), 6.04–6.57 (m, 4H), 7.46–8.30 (m, 8H).

trans-3,6-Dihydroperoxyprolyl-prolinanhydrid (14b): 2.5 g (8.75 mmol) 3,6-Bis(methylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (**1a**, **1b** oder das Isomerengemisch⁷⁾) werden mit 30 ml Eisessig und 7.5 ml Perhydrol unter Wasserkühlung 15 h bei 25° gerührt. Die farblosen Kristalle von **14b** werden abgesaugt und mit wenig kaltem Eisessig gewaschen. Man erhält 2.0 g (87%) **14b** vom Schmp. ca. 210° (unter starker Zersetzung).

$C_{10}H_{14}N_2O_6$ (258.2) Ber. C 46.51 H 5.47 N 10.85 Gef. C 46.34 H 5.55 N 10.68

Racem. cis-3-Hydroxyprolyl-prolinanhydrid (13a): 400 mg (1.77 mmol) racem. **12a** in 30 ml Methylenchlorid werden 15 min mit überschüssiger, gesätt., wäbr. Na_2SO_3 -Lösung geschüttelt. Danach wird die wäbr. Phase zweimal mit CH_2Cl_2 ausgeschüttelt, die organ. Lösungen werden mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und i. Vak. eingeengt. Durch Verreiben mit Essigester/Äther erhält man 340 mg (92%) **13a**. Aus Essigester farblose Kristalle vom Schmp. 152–157°.

$C_{10}H_{14}N_2O_3$ (210.2) Ber. C 57.13 H 6.71 N 13.33 Gef. C 57.10 H 6.58 N 13.23

NMR ($CDCl_3$): τ 4.86 (s, 1H, mit D_2O austauschbar), 5.37–5.78 (m, 1H), 6.20–6.65 (m, 4H), 7.47–8.30 (m, 8H).

trans-3,6-Dihydroxyprolyl-prolinanhydrid (15b) („schwer lösliches Isomeres“): 1.80 g (7 mmol) **14b** werden bei Raumtemp. mit einer gesätt. Lösung von 30 g Na_2SO_3 in Wasser gerührt. Nach 3 h werden die farblosen Kristalle von **15b** abgesaugt und mit wenig kaltem Wasser gewaschen. Ausb. 1.3 g (82%); Schmp. 190–195° (Zers., aus Methanol).

$C_{10}H_{14}N_2O_4$ (226.2) Ber. C 53.09 H 6.24 N 12.38 Gef. C 52.92 H 6.17 N 12.52

MS: 226 (M^+ , 31%), 208 ($M^+ - H_2O$, 100%), 190 ($M^+ - 2 H_2O$, 41%), 180 ($M^+ - H_2O - CO$, 34%), 170 ($M^+ - 2 CO$, 44%).

NMR (Pyridin-d₅): τ 2.26 (s, 2H, mit D_2O austauschbar), 5.70–6.46 (m, 4H), 7.27–8.50 (m, 8H).

Racem. cis-3,6-Dihydroxyprolyl-prolinanhydrid (15a) („leicht lösliches Isomeres“): Eine Suspension von 230 mg (1 mmol) **15b** in 5 ml Wasser und 150 mg konz. Schwefelsäure wird bei Raumtemp. bis zur völligen Lösung gerührt (ca. 40 min). Nach vorsichtiger Neutralisation mit wäbr. NaOH-Lösung wird i. Vak. zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit etwa 30 ml $CHCl_3$ digeriert und über Na_2SO_4 getrocknet. Aus der Chloroformlösung isoliert man nach dem Eindampfen durch Verreiben mit Essigester 170 mg (74%) des leicht löslichen Isomeren **15a** vom Schmp. 168–173°.

$C_{10}H_{14}N_2O_4$ (226.2) Ber. C 53.09 H 6.24 N 12.38

Gef. C 53.22 H 6.18 N 12.13 Mol.-Masse 229 (osmometr. in $CHCl_3$)

MS: 226 (M^+ , 47%), 208 ($M^+ - H_2O$, 100%), 180 ($M^+ - H_2O - CO$, 24%).

NMR (Pyridin-d₅): τ 3.13 (s, 2H, mit D_2O austauschbar), 6.07–6.61 (m, 4H), 7.28–8.45 (m, 8H). ($CDCl_3$): τ 4.37 (s, 2H, mit D_2O austauschbar).

Racem. cis-3-(Acetylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (16a)

a) Aus racem. *cis-3-Hydroxyprolyl-prolinanhydrid (13a)*: 105 mg (0.5 mmol) **13a** in 4 ml absol. Benzol werden mit 1 ml Thioessigsäure und einer Spatelspitze wasserfreiem $ZnCl_2$ 1 h bei Raumtemp. gerührt. Dann wird mit 25 ml $CHCl_3$ verdünnt, mit Wasser und gesätt.

wäbr. NaHCO₃-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Durch Verreiben mit Äther und wenig Essigester erhält man 120 mg (89.8%) **16a**. Aus Essigester farblose Kristalle vom Schmp. 114–118°.

C₁₂H₁₆N₂O₃S (268.3) Ber. C 53.73 H 6.01 N 10.44 S 11.93

Gef. C 53.41 H 5.90 N 10.36 S 12.06

NMR (CDCl₃): τ 5.17–5.57 (m, 1H), 5.99–6.59 (m, 4H), 7.28–8.26 (m, 8H), 7.71 (s, 3H).

b) *Aus racem. cis-3-Mercaptoprolyl-prolinanhydrid:* In eine Lösung von Methylsulfinyl-methyl-natrium in Dimethylsulfoxid (aus 0.25 g NaH und 10 ml Dimethylsulfoxid) trägt man in kleinen Portionen 1.94 g (10 mmol) L-Prolyl-L-prolinanhydrid ein. Nach Zugabe von 0.32 g (10 mmol) Schwefel röhrt man 30 min nach, tropft unter Eiskühlung 2.5 g Acetanhydrid in 5 ml absol. DMSO zu und schüttelt 3–5 min bis zur deutlichen Aufhellung des Reaktionsgemisches. Dann gießt man unter Rühren auf Eiswasser/Methylenchlorid, schüttelt mit CH₂Cl₂ aus und arbeitet, wie unter a) beschrieben, auf. Ausb. 1.5 g (56%) **16a**.

Aktives cis-3-(Äthylsulfonyl)prolyl-prolinanhydrid (17a): 254 mg (1 mmol) aktiver Mono-thioäther **11a**⁹⁾ ($[\alpha]_D^{22}$: −67°, *c* = 1.78; CHCl₃) — erhalten aus L-Prolyl-L-prolinanhydrid von $[\alpha]_D^{22}$: −115° (*c* = 2.14; CHCl₃) — werden, wie bei der Darstellung von **10a** aus **5a**, mit einer äther. Lösung von Monoperphthalsäure oxidiert. Bei analoger Aufarbeitung erhält man 230 mg (80%) **17a**. Aus Essigester farblose Kristalle vom Schmp. 131–133°.

C₁₂H₁₈N₂O₄S (286.3) Ber. C 50.34 H 6.34 N 9.79 S 11.18

Gef. C 50.35 H 5.95 N 9.83 S 10.95

NMR (CDCl₃): τ 5.05–5.43 (m, 1H), 5.72–6.93 (m, 6H), 7.13–8.20 (m, 8H), 8.38–8.73 (t, 3H).

$[\alpha]_D^{22}$: −43° (*c* = 1.19; CHCl₃).

Racem. cis-3-(Äthylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (11a) aus aktivem cis-3-(Äthylmercapto)-prolyl-prolinanhydrid: Aktives Sulfon **17a** ($[\alpha]_D^{22}$: −43°, *c* = 1.19, CHCl₃) — aus aktivem **11a** wie vorstehend beschrieben — reagierte mit Natriumäthylmercaptid in Äthanol unter den für die Gewinnung von **11a** aus **10a** angegebenen Bedingungen zu racem. *cis*-3-(Äthylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (**11a**).

Aktives cis-3-(Äthylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (11a) aus aktivem cis-3-Hydroxyprolyl-prolinanhydrid (13a): Aktives 3-(Äthylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (**11a**)⁹⁾ ($[\alpha]_D^{22}$: −67°) wurde, wie bei der Darstellung von **12a** aus **5a** beschrieben, zur aktiven *cis*-3-Hydroperoxy-Verbindung **12a** oxidiert ($[\alpha]_D^{22}$: −126° (*c* = 0.98, CHCl₃)). Reduktion mit Sulfit lieferte aktives *cis*-3-Hydroxyprolyl-prolinanhydrid (**13a**) ($[\alpha]_D^{22}$: −114° (*c* = 2.24, CHCl₃)), das sich mit Äthylmercaptan und ZnCl₂ zum aktiven *cis*-3-(Äthylmercapto)prolyl-prolinanhydrid ($[\alpha]_D^{22}$: −65° (*c* = 2.57, CHCl₃)) umsetzen ließ.

3,6-Bis(acetylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (Isomerengemisch 19a+19b): Eine Suspension von 115 mg (0.5 mmol) **15a** bzw. **15b** in 4 ml absol. Benzol wurde mit 1 ml Thioessigsäure und einer Spatelspitze wasserfreiem ZnCl₂ bei Raumtemp. gerührt. Nach 3 h wurden 20 ml Methylenchlorid zugefügt und die Lösung mit Wasser und gesätt. wäbr. NaHCO₃-Lösung gewaschen. Aus der organ. Phase kristallisierten nach Abdampfen des Lösungsmittels und Verreiben mit Äther/Essigester 100 mg (58.3%) des reinen *trans*-Isomeren (**19b**) vom Schmp. 162–163° (aus Essigester). Aus der Mutterlauge schieden sich nach längerem Stehenlassen noch weitere 30 mg (17.8%) eines Isomerengemisches (**19a** + **19b**) ab. Das NMR-Spektrum dieser Fraktion zeigt neben den Signalen von **19b** nunmehr auch jene des schon auf anderem Wege erhaltenen *cis*-3,6-Bis(acetylmercapto)prolyl-prolinanhydrids (**19a**)⁷⁾.

19b: C₁₄H₁₈N₂O₄S₂ (342.3) Ber. C 49.12 H 5.30 N 8.18 S 18.69

Gef. C 48.70 H 4.94 N 8.15 S 18.70

NMR (CDCl₃): τ 5.72–7.15 (m, 6H), 7.52–8.13 (m, 6H), 7.79 (s, 6H).

Racem. cis-3,6-Bis(äthylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (18a)

a) Aus *trans*-3,6-Dihydroxyprolyl-prolinanhydrid (**15b**): 115 mg (0.5 mmol) **15b**, 5 ml Äthylmercaptan und eine Spatelspitze wasserfreies ZnCl₂ werden unter Feuchtigkeitsausschluß 15 h bei Raumtemp. gerührt. Dann wird das Mercaptan i. Vak. abgezogen, der Rückstand in Methylenechlorid/Wasser aufgenommen und mit CH₂Cl₂ ausgeschüttelt. Die organ. Lösungen werden nochmals mit Wasser gewaschen, getrocknet und i. Vak. eingeengt. Durch Verreiben mit Äther/Petroläther erhält man 100 mg (64%) **18a** in Form farbloser Kristalle vom Rohschmp. 97–103°.

b) Aus *racem. cis*-3,6-Dihydroxyprolyl-prolinanhydrid (**15a**): 115 mg (0.5 mmol) **15a** werden, wie unter a) beschrieben, mit Äthylmercaptan und ZnCl₂ umgesetzt. Auf diese Weise erhält man 130 mg (83%) **18a**.

Aktives cis-3,6-Bis(äthylmercapto)prolyl-prolinanhydrid (18a): Eine methanol. Lösung des aktiven *cis*-Dimercaptids, gewonnen durch NaBH₄-Reduktion¹⁾ von aktivem 3,6-(Epidithio)-prolyl-prolinanhydrid⁷⁾ ($[\alpha]_D: -50^\circ$ ($c = 2.24$, CHCl₃)), wird unter Feuchtigkeitsausschluß tropfenweise mit überschüss. Äthylbromid versetzt. Nach etwa 40 min wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand in Methylenechlorid/Wasser aufgenommen. Aus der organ. Phase gewinnt man durch Verreiben mit wenig Wasser aktives **18a** ($[\alpha]_D^{25}: -7^\circ$ ($c = 2.40$, CHCl₃)). Farblose Kristalle vom Schmp. 100–103° (aus Äther/Petroläther).

C₁₄H₂₂N₂O₂S₂ (314.3) Ber. C 53.46 H 7.05 N 8.91 S 20.39
Gef. C 53.39 H 7.00 N 9.08 S 20.12

NMR (CDCl₃): τ 6.11–6.52 (m, 4 H), 6.97–7.47 (q, 4 H), 7.47–8.25 (m, 8 H), 8.57–8.92 (t, 6 H).

Racem. 3,6-(Epidithio)prolyl-prolinanhydrid (20)

a) Aus *trans*-3,6-Dihydroxyprolyl-prolinanhydrid (**15b**): Durch eine Suspension von 450 mg (2 mmol) **15b** in 30 ml absol. Chloroform wird 10 min lang trockenes H₂S durchgeleitet; dann wird, ohne Unterbrechung des H₂S-Stromes, 1 Spatelspitze wasserfreies ZnCl₂ zugefügt. Die ZnCl₂-Zugabe wird nach 1 h wiederholt. Nach etwa 3 h ist das Ausgangsmaterial vollständig gelöst und die Reaktion beendet. Die organ. Phase wird mit Wasser gewaschen, i. Vak. eingeengt, um überschüssiges H₂S zu entfernen, dann in Chloroform/Wasser aufgenommen und im Scheidetrichter unter kräftigem Schütteln mit 10proz. KJ₃-Lösung bis zur bleibenden Rosafärbung versetzt. Überschüssiges Jod wird mit einem Tropfen verdünnter, währ. Thiosulfatlösung entfernt. Aus der organ. Phase erhält man nach Abziehen des Chloroforms durch Verreiben mit wenig Wasser 400 mg (78%) rohes racemisches Disulfid **20** vom Zers.-P. 135°. Das NMR-Spektrum von **20** ist identisch mit dem einer aktiven Vergleichsstanz⁷⁾.

b) Aus *racem. cis*-3,6-Dihydroxyprolyl-prolinanhydrid (**15a**): 226 mg (1 mmol) **15a** in 20 ml Chloroform werden, wie unter a) beschrieben, zum Dimercaptan **21a** umgesetzt und danach mit J₂/KJ zum Epidisulfid oxidiert. Man erhält 170 mg (66%) **20**.

[314/27]