

The homogeneity of these fractions is characterized by means of sedimentation photographs.

The results of our measurements are evaluated to support the validity of more modern theories. Out of the relation between molecular weight and sedimentation constants the length of the preferential element  $A_m$  and the hydrodynamical thickness of the chain  $d_n$  are calculated according to the work of *Kuhn & Kuhn*. The results are found to be  $8,5 \cdot 10^{-8}$  cm for  $A_m$  and  $4 \cdot 10^{-8}$  cm for  $d_n$ . The viscosity-molecular weight relation is graphically evaluated in the usual double logarithmic form, which runs:

$$[\eta] = 3,0 \cdot 10^{-3} \cdot M^{0,5}.$$

Among the theoretical statements for the calculations of this relationship the one of *Debye & Bueche* agrees most closely with our experimental results.

An expression for the molar frictional ratio  $f/f_0$  is derived for the special case of total immobilisation of the solvent. For this ratio proportionality to the sixth root is found according to the theories mentioned. In view of this we point to the fact that comparatively high  $f/f_0$ -values can be well explained on the strength of the modern theories and have not to be interpreted simply as asymmetric factors.

Wissenschaftliche Laboratorien der  
*F. Hoffmann-La Roche & Co. Aktiengesellschaft*, Basel.

### 114. Synthesen in der Biotinreihe. III. DL-epi-Biotin, DL-epi- allo-Biotin und zur Konfiguration der Biotinisomeren<sup>1)</sup>

von C. A. Grob und H. von Sprecher.

(14. III. 52.)

Wir beschreiben im Folgenden die Synthese zweier Isomeren des Biotins (I), nämlich des DL-epi-Biotins und des DL-epi-allo-Biotins. Diese vor mehreren Jahren durchgeführten Arbeiten laufen auf die Synthese zweier isomerer 2-( $\omega$ -Carboxybutyl)-3,4-diamino-thiophane (IXb) hinaus. Die vier möglichen Racemate dieser Struktur, deren wahrscheinliche Konfigurationen weiter unten diskutiert werden, sind seither in der Literatur beschrieben worden<sup>2)</sup>.

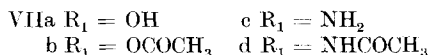
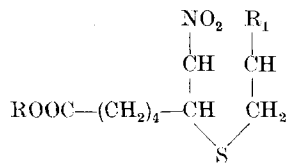
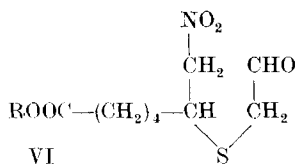
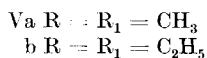
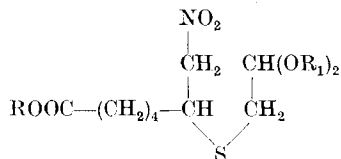
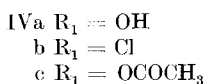
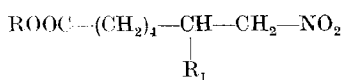
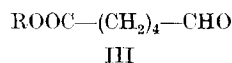
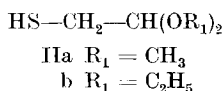
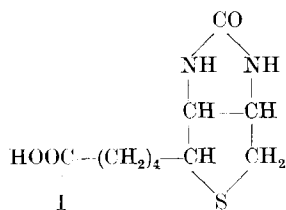
Die vorliegenden Synthesen, deren Stufen durchwegs mit befriedigenden Ausbeuten verliefen, gehen von  $\omega$ -Carbomethoxyvaleral-

<sup>1)</sup> II. Mitteilung, *Helv.* **33**, 1776 (1950).

<sup>2)</sup> Zusammenfassungen dieser Arbeiten finden sich in Annual Reports, **41**, 217 (1944), **43**, 239 (1946), **45**, 220 (1948).

dehyd (III, R = CH<sub>3</sub>), Nitromethan, Mercaptoacetaldehyd-acetal (II) und Ammoniak aus. Die benutzten, zum Teil neuartigen Umsetzungen aliphatischer Nitroverbindungen wurden zuerst an einfacheren Modellen studiert, worüber später berichtet wird.

$\omega$ -Carbomethoxy-valeraldehyd<sup>1)</sup> (III, R = CH<sub>3</sub>) liess sich mit Nitromethan in Gegenwart von Alkali glatt zu 6-Oxy-7-nitro-heptansäure-methylester (IVa, R = CH<sub>3</sub>) umsetzen. Diese Verbindung reagierte ohne weiteres mit Phosphorpentachlorid oder Acetylchlorid, wobei das 6-Chlor- (IVb) resp. das 6-Acetoxy-Derivat IVc entstand.



R jeweils CH<sub>3</sub> oder C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

Es wurde nun gefunden, dass sich die beiden letzteren Verbindungen glatt mit Alkalisalzen von Acetalen des Mercaptoacetaldehyds (IIa oder IIb) zu den Thioäthern Va und Vb umsetzen lassen. Die noch unbekanntenen Mercaptoacetaldehyd-acetale IIa und b konnten leicht aus den entsprechenden Bromacetaldehyd-acetalen mit Kaliumsulfhydrat gewonnen werden. Diese sind als Sulphydrylverbindungen leicht oxydabel und wurden als Quecksilberderivate charakterisiert<sup>2)</sup>. Die zu den Thioäthern führenden Reaktionen stellen formal einen Austausch von Chlor resp. Acetoxy gegen einen Alkylmercaptoest dar.

<sup>1)</sup> E. Baer, Am. Soc. **64**, 1416 (1942).

<sup>2)</sup> Mercaptoacetaldehyd-dimethylacetal liefert bei längerem Stehen eine kristalline Verbindung, Smp. 83°, der Zusammensetzung C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>S, die also aus dem Acetal unter Verlust zweier Molekeln Methanol hervorgegangen. Wir glauben, dass es sich um das 2,5-Dimethoxy-dithian (XII) handelt.

Wie später erörtert wird, führen diese Umsetzungen aber mit grosser Wahrscheinlichkeit über ein intermediär gebildetes  $\alpha$ -Nitroolefin.

Die Acetalgruppe in Va und Vb liess sich mit verdünnter Salzsäure leicht unter Bildung der Aldehyde VI ( $R = CH_3$  oder  $C_2H_5$ ) hydrolysieren. Diese lieferten in Gegenwart von Natriumalkoholaten Gemische isomerer 2-( $\omega$ -Carbalkoxybutyl)-3-nitro-4-oxy-thiophane (VIIa). Wird die Aldol-artige Reaktion mit Natriumhydroxyd eingeleitet, so resultiert ein entsprechendes Gemisch isomerer Säuren VIIa,  $R = H$ . Eine Verbindung der Struktur VIIa besitzt bereits drei Asymmetriezentren und könnte somit in vier racemischen Formen auftreten. Obiges Gemisch isomerer Ester VIIa,  $R = CH_3$  stellte ein Öl dar, welches nach längerem Stehen bei  $-10^\circ$  teilweise kristallisierte. Es liessen sich daraus zwei kristallisierte p-Nitrobenzoate herstellen. Aus dem bei Raumtemperatur ebenfalls flüssigen Säuregemisch VIIa ( $R = H$ ) liess sich ein kristallisiertes Dimethylaminsalz abscheiden.

Das Gemisch racemischer Nitroalkohole VIIa ( $R = CH_3$ ) wurde mit Acetylchlorid zu VIIb ( $R = CH_3$ ) acetyliert. Da beim folgenden Schritt, der Überführung in das 3-Nitro-4-amino-thiophan-Derivat VIIc ( $R = CH_3$ ) intermediär ein einheitliches  $\alpha$ -Nitroolefin, nämlich 2-( $\omega$ -Carbomethoxybutyl)-3-nitro-2,5-dihydro-thiophen (VIII) entsteht, kann auf die Auftrennung des Gemisches der 3-Nitro-4-Acetoxy-Verbindungen VIIb ( $R = CH_3$ ) verzichtet werden. Die intermediäre Bildung eines  $\alpha$ -Nitroolefins lässt sich folgendermassen zeigen.

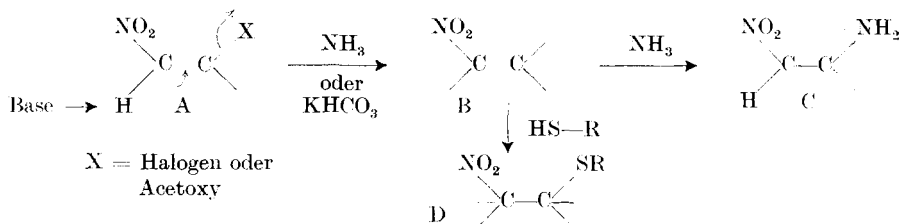
Wird das Gemisch isomerer 3-Nitro-4-acetoxy-thiophane VIIb,  $R = CH_3$ , nach dem früher beschriebenen Verfahren<sup>1)</sup> mit Ammoniak in Dioxanlösung behandelt, so entsteht ein Gemisch zweier 3-Nitro-4-amino-thiophane VIIc,  $R = CH_3$ , welche stabile 3-Nitro-4-acetamidothiophane VIIId,  $R = CH_3$ , liefern. Dieses Gemisch enthält ca. 30% eines isomeren vom Smp.  $114^\circ$  neben ca. 70% eines nicht ganz einheitlichen Isomeren vom Smp.  $78-80^\circ$ <sup>2)</sup>. Es ist nun bekannt, dass bereits schwache Basen aus Estern von 1,2-Nitroalkoholen die entsprechende Säure unter Bildung von  $\alpha$ -Nitroolefinen abspalten<sup>3)</sup>. Wird das Gemisch isomerer 3-Nitro-4-acetoxy-thiophane VIIb,  $R = CH_3$ , mit Kaliumhydrogencarbonat in Äther<sup>3)</sup> behandelt, so entsteht in guter Ausbeute ein einheitliches Nitroolefin, nämlich VIII. Die Behandlung dieses Nitroolefins mit Ammoniak unter den oben verwendeten Bedingungen führt zu den gleichen zwei 3-Nitro-4-acetamidothiophanen VIIId,  $R = CH_3$ , und zwar in genau demselben Verhältnis. Die Tatsache, dass sowohl bei der direkten Umsetzung der Nitro-acetoxy-Verbindung VIIb,  $R = CH_3$ , mit Ammoniak als auch bei der Anlagerung von Ammoniak an das  $\alpha$ -Nitroolefin VIII die glei-

<sup>1)</sup> C. A. Grob & W. von Tscherner, Helv. **33**, 1070 (1950).

<sup>2)</sup> Wie im experimentellen Teil ausgeführt wird, lässt sich dieses Isomere nur auf relativ mühsamem Wege völlig reinigen und schmilzt dann bei  $91^\circ$ .

<sup>3)</sup> E. Schmidt & G. Rutz, B. **61**, 2143 (1928).

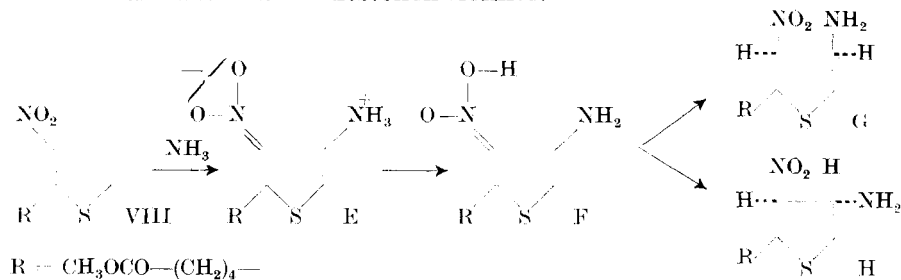
chen zwei 3-Nitro-4-acetamido-thiophane VIIId,  $R = CH_3$ , im gleichen Mengenverhältnis entstehen, ist eine starke Stütze für die früher geäußerte Vermutung, dass die Bildung von 1,2-Nitro-aminen (C) aus Estern von 1,2-Nitro-alkoholen (A) über intermediär gebildete  $\alpha$ -Nitroolefine (B) erfolgt<sup>1)</sup>.



Der gleiche Mechanismus dürfte auch für die Bildung der 1,2-Nitro-thioäther V resp. D gelten, wobei hier dem Anion des Mercaptoacetaldehyd-acetals II die Rolle der Base zukommt.

$\alpha$ -Nitro-olefine addieren leicht nucleophile Reagenzien wie Amine<sup>2)</sup> oder Ammoniak<sup>3)</sup> und, wie hier und andernorts<sup>4)</sup> gezeigt wird, Mercaptane. Die Bildung eines Nitroolefins (B) aus einer 1,2-Nitrohalogen-Verbindung oder einem Ester eines 1,2-Nitro-alkohols (A) stellt eine 1,2-Eliminierung dar, welche offensichtlich durch Angriff einer Base auf das zur Nitrogruppe  $\alpha$ -ständige Wasserstoffatom eingeleitet wird. Die Eliminierung erfolgt hier ungewöhnlich leicht, weil die im Übergangszustand entstehende negative Ladung von der Nitrogruppe mitaufgenommen wird.

Die Konfiguration am Kohlenstoffatom 4 des Thiophanringes wird somit durch die Anlagerungsrichtung des Ammoniaks an das Nitroolefin VIII bestimmt. Die Konfiguration an C-3 des Thiophanringes dürfte davon abhängen, von welcher Seite das Proton beim Übergang der Aci-form (F) in die Nitro-form (G) resp. (H) vom Kohlenstoffatom 3 aufgenommen wird, wobei grundsätzlich die cis-Form G oder die trans-Form H entstehen könnte.



<sup>1)</sup> C. A. Grob & W. von Tscherner, *Helv.* **33**, 1070 (1950).

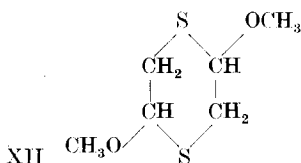
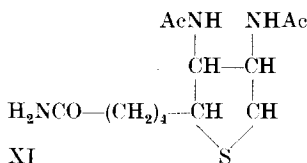
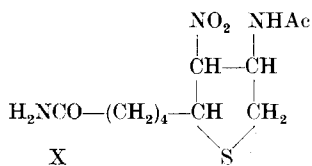
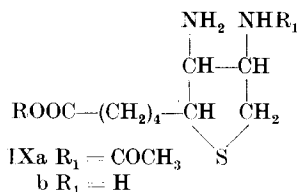
<sup>2)</sup> D. E. Worrall, *Am. Soc.* **49**, 1598 (1927).

<sup>3)</sup> R. L. Heath & J. D. Rose, *Soc.* **1947**, 1486.

<sup>4)</sup> R. L. Heath & A. Lambert, *Soc.* **1947**, 1477.

Diese Annahme basiert auf der wohlbekannten Tatsache, dass ein Nitro-carbanion wie E (hier ist nur eine Grenzform abgebildet) das Proton zuerst am Sauerstoff unter Bildung der Aci-nitro-Form, wie F, addiert<sup>1)</sup>. Letztere lagert sich in einem langsameren Schritt zur Nitro-Form, wie G resp. H, um. Wir werden später auf diese Verhältnisse zurückkommen.

Im Hinblick auf das Resultat der weiteren Umsetzungen liegt im mehrheitlich gebildeten 3-Nitro-4-acetamido-thiophan VIIId, R = CH<sub>3</sub>, vom Smp. 78—80° ein Derivat der epi-Biotinreihe vor. Das zweite Isomere VIIId, R = CH<sub>3</sub>, vom Smp. 114° gehört der epi-*allo*-Biotinreihe an. So führte die Reduktion der zuerst erwähnten Verbindung mit amalgamiertem Aluminium zu einem Monoacetyldiamin IXa, R = CH<sub>3</sub>, welches nach der Hydrolyse mittels wässrigem Bariumhydroxyd oder Salzsäure das bekannte, als Sulfat charakterisierte epi-2-( $\omega$ -Carboxybutyl)-3,4-diamino-thiophan (IXb, R = H)<sup>2)</sup> lieferte. Analoge Behandlung des höherschmelzenden Isomeren vom Smp. 114° führte zum bekannten Sulfat<sup>3)</sup> der epi-*allo*-Diaminosäure IXb, R = H. Ringschluss dieser beiden Verbindungen mit Phosgen lieferte DL-*epi*-Biotin (I) vom Smp. 191<sup>0,2)</sup> resp. DL-*epi*-*allo*-Biotin (I)<sup>3)</sup>4), welches bis 300° keinen Schmelzpunkt aufwies.



Eine Modifikation obiger Synthese besteht darin, die Aldehydsäure VI, R = H, oder deren Methylester VI, R = CH<sub>3</sub>, mit flüssigem Ammoniak bei ca. 30° umzusetzen. Im ersten Fall entsteht neben anderen Produkten direkt das epi-*allo*-2-( $\omega$ -Carboxybutyl)-3-nitro-4-amino-thiophan (VIIc, R = H), welches als Acetylderivat VIIId, R = H, gefasst wurde. Die Behandlung des Methylesters der Aldehydo-

<sup>1)</sup> A. Hantzsch & O. W. Schultz, B. **29**, 699, 2251 (1896); K. H. Meyer & P. Wertheimer B. **47**, 2374 (1914).

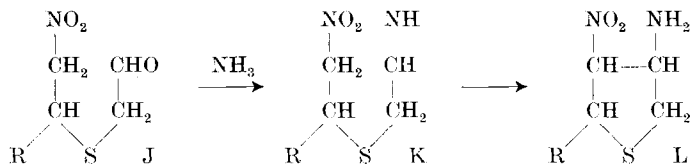
<sup>2)</sup> B. R. Baker, W. L. McEwen & W. N. Kinley, J. Org. Chem. **12**, 322 (1947).

<sup>3)</sup> S. A. Harris, R. Mozingo, D. E. Wolf, A. N. Wilson, G. E. Arth & K. Folkers, Am. Soc. **67**, 2096 (1945).

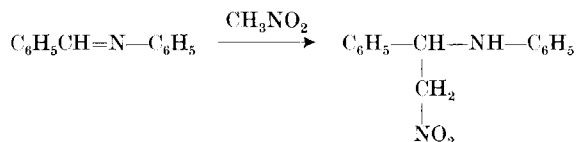
<sup>4)</sup> B. R. Baker, M. V. Querry, W. L. McEwen, S. Bernstein, S. R. Safir, L. Dorfman & Y. SubbaRow, J. Org. Chem. **12**, 186 (1947).

säure VI mit flüssigem Ammoniak führte zu einem Gemisch, aus welchem nach der Acetylierung das epi-*allo*-2-(*ω*-Carbomethoxybutyl)-3-nitro-4-acetamido-thiophan (VIIId, R = CH<sub>3</sub>), dessen Amid X sowie eine kleine Menge der entsprechenden freien Säure VIIId, R = H, isoliert werden konnten. Die kristallisierbaren und identifizierten Anteile stellten ca. 50% des Reaktionsproduktes dar. Das restliche Material wurde nicht weiter untersucht und dürfte noch weitere Isomere obiger Verbindungen enthalten. Das Amid X wurde zum 3,4-Bis-acetamido-Derivat XI reduziert, welches nach der Hydrolyse und Ringschluss epi-*allo*-Biotin (I) lieferte.

Der Verlauf dieser unter Aminierung verlaufenden Ringschlussreaktion ist nicht ganz klar. Wir vermuten, dass aus dem Nitroaldehyd J und Ammoniak zunächst das Aldimin K entsteht und dass sich dessen Nitro-carbanion intramolekular an die Azomethin-Bindung unter Bildung des Nitroamins L anlagert.



Diese Annahme stützt sich auf die analoge Anlagerung von Nitromethan an Benzal-anilin<sup>1)</sup>:



Die oben beschriebenen Synthesen führen praktisch nur zu epi-Biotin und epi-*allo*-Biotin<sup>2)</sup>. Es ist nun für das Verständnis des stereochemischen Verlaufes dieser Synthesen und für die Erwägung eventueller Konfigurationswechsel wünschenswert, die Konfiguration aller Biotinisomeren der Struktur I und damit des Biotins selbst zu kennen. Durch die Arbeit von *Harris et al.*<sup>3)</sup> ist gezeigt worden, dass im Biotin und epi-Biotin die beiden Stickstoffatome *cis*-ständig, im *Allo*- und epi-*allo*-Biotin jedoch *trans*-ständig zueinander am Thiophanring angeordnet sind. Die erwähnten synthetischen Arbeiten von *Baker et al.*

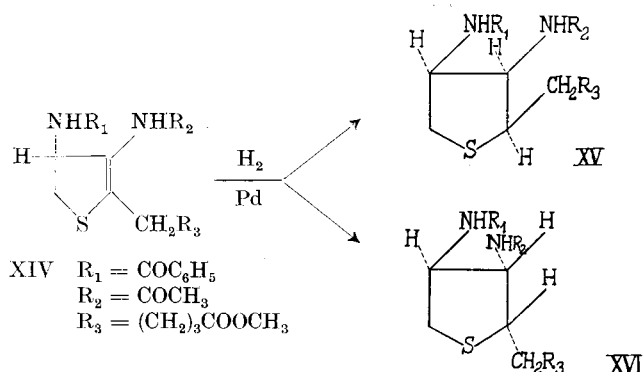
<sup>1)</sup> *Ch. Mayer*, Bl. [3] **33**, 395 (1905).

<sup>2)</sup> Es liess sich zwar durch mikrobiologische Prüfung eines Gemisches, das durch Reduktion, Hydrolyse und Ringschluss von rohem VIIId, R = CH<sub>3</sub>, erhalten wurde, zeigen, dass letzteres mindestens 1% des dem *DL*-Biotin entsprechenden Isomeren enthielt.

<sup>3)</sup> *S. A. Harris, R. Mazingo, D. E. Wolf, A. N. Wilson & K. Folkers*, Am. Soc. **67**, 2102 (1945).

haben diese Zuordnungen bestätigt und zudem gezeigt, dass sich Biotin und epi-allo-Biotin an C-3, epi-Biotin und epi-allo-Biotin an C-4 des Thiophanringes unterscheiden. Die relative Lage der Valeriansäure-Seitenkette in den einzelnen Isomeren konnte u. W. noch nicht festgelegt werden. Somit ist noch nicht entschieden, ob dem Biotin oder dem epi-Biotin die all-cis Konfiguration zukommt.

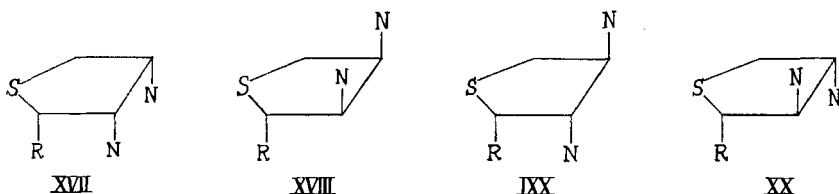
Unserer Meinung nach geben Hydrierungsergebnisse, welche in der obgenannten Arbeit von *Harris* et al. beschrieben sind, Anhaltspunkte, woraus mit ziemlicher Sicherheit die Konfiguration des DL-Biotins und seiner Isomeren abgeleitet werden kann. So lieferte die katalytische Hydrierung des sog. iso-Dehydroesters XIV über Palladium bei Raumtemperatur zwei gesättigte Thiophanderivate, wovon eines die Konfiguration des Biotins, das andere die Konfiguration des allo-Biotins besass.



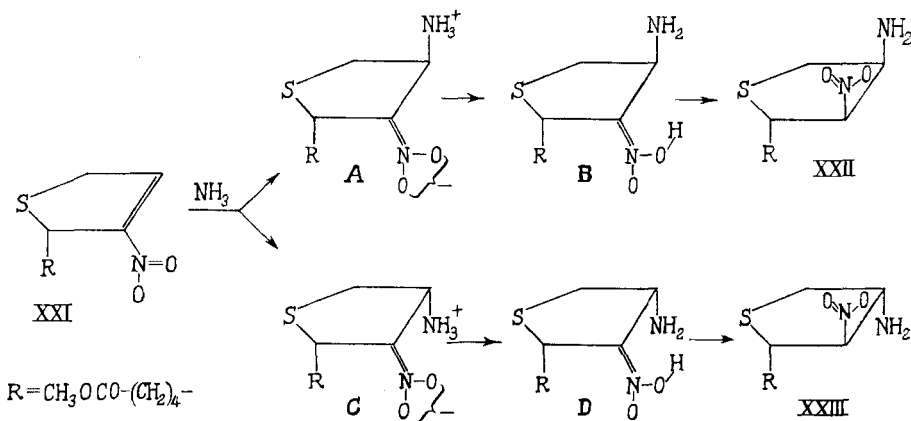
Unter normalen Umständen werden bei der Hydrierung einer olefinischen Doppelbindung über Palladium oder Platin die beiden Wasserstoffatome cis zueinander angelagert<sup>1)</sup>. Diese cis-Anlagerung selbst kann aber cis oder trans in bezug auf einen bereits im System enthaltenen Substituenten erfolgen. Wenn nachträgliche Umlagerungen ausgeschlossen werden können, was hier zutrifft, kann die Hydrierung von XIV zu zwei 2,3-cis-disubstituierten Thiophanen führen. Da, wie erwähnt, das eine Hydrierungsprodukt stereochemisch dem DL-Biotin entspricht, in welchem die cis-Stellung der 3,4-ständigen Aminogruppen bewiesen ist, besitzt dieses mit grosser Wahrscheinlichkeit die all-cis Konfiguration XV. Das zweite Hydrierungsprodukt (XVI) des iso-Dehydroesters XIV gehört der allo-Biotinreihe an und entspricht dem anderen möglichen Anlagerungsmodus des Wasserstoffs, nämlich cis in bezug auf den Substituenten an C-4. Somit

<sup>1)</sup> *A. Farkas & L. Farkas*, Trans. Faraday Soc. **33**, 837 (1937); *A. Farkas*, Trans. Faraday Soc. **35**, 906 (1939); *H. A. Weidlich*, Angew. Ch. **64**, 1985 (1942); *R. P. Linstead, W. E. Doering, S. B. Davis, P. Levine & R. R. Whetstone*, Am. Soc. **64**, 1965 (1942).

kommen dem Biotin die Konfiguration XVII, dem epi-Biotin, allo-Biotin und epi-allo-Biotin die Konfigurationen XVIII, XIX und XX zu.



Auf dieser Basis lässt sich die praktisch alleinige Entstehung der epi-Biotin und epi-allo-Biotin-Formen des 2-( $\omega$ -Carbomethoxybutyl)-3-nitro-4-amino-thiophans (VIIc, R = CH<sub>3</sub>) durch Anlagerung von Ammoniak an 2-( $\omega$ -Carbomethoxybutyl)-2,5-dihydro-thiophen (VIII) wie folgt interpretieren.



Ammoniak wird aus sterischen Gründen bevorzugt trans zur Valeriansäure-Seitenkette an die nitroolefinische Doppelbindung in XXI angelagert. Das intermediär gebildete, zwitterionische Anlagerungsprodukt A ergibt durch intramolekulare Neutralisation die Aci-nitroform B, in welcher der 3-ständige Substituent noch in der Ringebene liegt. Schliesslich lagert sich B in das cis-1,2-Nitroamin (XXII) der epi-Reihe um, wobei die Möglichkeit zur Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen einem Nitro-Sauerstoffatom und einem Amino-Wasserstoffatom massgebend für die sterische Selektivität der Prototropie B  $\rightarrow$  XXII sein dürfte.

Die geringere Menge (ca. 30%) an 1,2-Nitroamin der epi-allo-Biotinreihe XXIII entspricht einer cis-Anlagerung des Ammoniaks in bezug auf die Seitenkette. Die somit ca. 2,3-mal langsamere cis-Anlagerung könnte auf der sterischen Abschirmung einer Seite der Ringebene durch die Valeriansäure-Seitenkette und/oder auf eine sterische Behinderung des zum ersten Zwischenprodukt (C) führenden



Übergangszustandes durch die zueinander cis-ständigen Substituenten an C-2 und C-4 beruhen. Interessanterweise entsteht bei der Prototropie  $D \rightarrow XXIII$  der in der Ringebene liegenden Aci-nitro-Gruppe kein all-cis Produkt der Biotinreihe. Die Nitrogruppe wird vielmehr auf die entgegengesetzte Seite der Ringebene gedrängt. Die Betrachtung von Kalottenmodellen macht dieses Verhalten verständlich, indem es äusserst schwierig erscheint, alle drei, relativ viel Raum beanspruchenden Substituenten auf einer Seite der Ringebene unterzubringen. Der stereochemische Verlauf der Ammoniak-anlagerung wird also unter Annahme der oben für die Biotinisomeren abgeleiteten Konfigurationen plausibel. An den beiden 2-( $\omega$ -Carbomethoxybutyl)-3-nitro-4-acetamido-thiophanen VIIId,  $R = CH_3$ , lassen sich gewisse Isomerisierungen vornehmen, worauf wir an anderer Stelle eingehen werden.

### Experimenteller Teil.

Die Schmelzpunkte wurden auf einem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ .

6-Oxy-7-nitro-heptansäure-methylester (IVa,  $R = CH_3$ ). Eine Lösung von 1,5 g NaOH in 250 cm<sup>3</sup> Methanol wurde unter Eiskühlung mit 26 g Nitromethan und anschliessend mit 38 g  $\omega$ -Carbomethoxyvaleraldehyd<sup>1)</sup> versetzt. Nach 14-stündigem Stehen bei ca. 20° wurde mit der berechneten Menge Eisessig neutralisiert und das Methanol unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde in Äther aufgenommen. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das zurückbleibende Öl wurde bei 0,01 mm destilliert und ergab 46,2 g (85%) des schwach gelblichen Nitroalkohols, Sdp. 114–116°,  $n_D^{24} = 1,4611$ , der bald erstarrte. Eine Probe wurde aus Äther umkristallisiert und schmolz bei 36–37°.

$C_8H_{15}O_5N$	Ber. C 46,82	H 7,37	N 6,83%
	Gef. „ 46,86	„ 7,22	„ 6,83%

Wenn Natriummethylat als Katalysator verwendet wurde (0,1 Mol bezogen auf Aldehyd), zersetzte sich der rohe Nitroalkohol beim Destillieren und wurde dann durch Kristallisation gereinigt.

Äthylester IVa ( $R = C_2H_5$ ). Eine Lösung von 0,25 g KOH in abs. Alkohol wurde zuerst mit 5 g Nitromethan und dann mit 10 g  $\omega$ -Carbäthoxyvaleraldehyd<sup>2)</sup> versetzt und das Gemisch 2 Tage unter Stickstoff bei ca. 20° stehengelassen. Nach Ansäuern mit 0,6 cm<sup>3</sup> Eisessig wurde wie oben aufgearbeitet. Es wurden 11,5 g (83%) eines Öles, Sdp.<sub>0,05</sub> 126–131°,  $n_D^{19} = 1,4595$ , erhalten.

$C_9H_{17}O_5N$	Ber. C 49,30	H 7,82	N 6,39%
	Gef. „ 49,52	„ 7,89	„ 6,10%

Bei der Durchführung der Kondensation mit der entsprechenden Menge Natriumäthylat zersetzt sich der Nitroalkohol bei der Destillation.

6-Acetoxy-7-nitro-heptansäure-methylester (IVc,  $R = CH_3$ ). 52 g Methylester IVa wurden mit 23 g Acetylchlorid vermischt. Die sofort einsetzende Reaktion wurde durch Kühlen mit Eiswasser gemässigt und nach dem Abklingen durch Erwärmen auf 40° während 40 Min. vervollständigt. Nach Entfernung des überschüssigen Acetylchlorids

<sup>1)</sup> *E. Baer*, Am. Soc. **64**, 1416 (1942).

<sup>2)</sup> Aus Äthyl-adipoylchlorid nach *Rosenmund* hergestellt. Die Herstellung ist seither von *G. B. Brown et al.*, J. Org. Chem. **12**, 160 (1947), beschrieben worden.

unter vermindertem Druck wurde im Hochvakuum destilliert, wobei 60 g (95%) Acetoxyverbindung, Sdp<sub>0,01</sub> 114—115°, n<sub>D</sub><sup>22,5</sup> = 1,4503, erhalten wurden.

C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>O<sub>6</sub>N Ber. C 48,58 H 6,93 N 5,67%  
Gef. „ 48,84 „ 6,88 „ 5,59%

Der Äthylester wurde auf gleiche Weise aus 6-Oxy-7-nitro-heptansäure-äthylester in 96-proz. Ausbeute hergestellt. Sdp<sub>0,01</sub> 115—120°, n<sub>D</sub><sup>27,5</sup> 1,4480.

6-Chlor-7-nitro-heptansäure-äthylester (IVb, R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>). Zu einer Lösung von 11 g Phosphorpentachlorid in 60 cm<sup>3</sup> trockenem Chloroform wurden unter Eiskühlung 9 g 6-Oxy-7-nitro-heptansäure-äthylester in 30 cm<sup>3</sup> Chloroform zugetropft. Nach 30-minütigem Stehen bei 30° wurde mit Eis versetzt, die Chloroformschicht mit Wasser neutral gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Beim Versuch, den Rückstand (9,9 g) im Hochvakuum zu destillieren, trat HCl-Abspaltung ein. Das Rohprodukt ist für die Weiterverarbeitung rein genug.

Mercapto-acetaldehyd-diäthylacetal IIb. Eine Lösung von 88 g KOH in 500 cm<sup>3</sup> 96-proz. Äthanol wurde unter Eiskühlung mit Schwefelwasserstoff gesättigt. Anschliessend wurde während 1 Std. von O<sub>2</sub> befreiter Stickstoff durchgeleitet. Dann wurden 200 g Bromacetal zugegeben und das Gemisch in einer Stickstoffatmosphäre gut verschlossen und unter zeitweiligem Umschwenken 5—6 Std. auf 70—80° erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch in 2 l frisch ausgekochtes und während des Abkühlens mit H<sub>2</sub>S gesättigtes Wasser gegossen. Das Mercaptoacetal wurde unter Stickstoff mehrere Male mit peroxydfreiem Äther ausgeschüttelt, die Ätherauszüge über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der flüssige Rückstand, durch eine Kolonne fraktioniert, ergab 87 g (57%) farbloses Acetal, Sdp. 59°.

Zur Charakterisierung wurde aus Quecksilber(II)-oxyd in Äthanol das Quecksilbersalz hergestellt. Nadelchen aus Äthanol, Smp. 94°.

C<sub>12</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>Hg Ber. C 28,88 H 5,25 S 12,85%  
Gef. „ 28,87 „ 5,23 „ 12,40%

Das entsprechende Dimethylacetal IIa wurde analog hergestellt, Sdp<sub>13</sub> 43—44°. Das Quecksilbersalz wurde aus Methanol umkristallisiert, Smp. 52°.

C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>Hg Ber. S 14,48 Hg 45,29% Gef. S 14,27 Hg 45,17%

Diese Mercaptoacetale sind in reinem Zustand unter Luftausschluss längere Zeit haltbar. Unreine Präparate zersetzen sich innert weniger Tage. Beim Stehenlassen des Dimethylacetals IIa mit einer Spur HBr entstand unter Austritt zweier Molekeln Methanol eine kristalline Verbindung vom Smp. 83°, welche durch Sublimation bei 0,05 mm und 60° gereinigt wurde und vermutlich das 2,5-Dimethoxydithian (XII) darstellt.

C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> Ber. S 35,57 Gef. S 35,58%

6-(2',2'-Dimethoxyäthylmercapto)-7-nitro-heptansäuremethylester (Va, R = CH<sub>3</sub>). Bei -10° wurde eine Lösung von 8,1 g Natrium in 150 cm<sup>3</sup> abs. Methanol unter Stickstoff mit 43 g Mercaptoacetal (IIa) in 70 cm<sup>3</sup> abs. Methanol, dann unter Umschütteln mit der Lösung von 87 g 6-Acetoxy-7-nitro-heptansäure-methylester in 100 cm<sup>3</sup> abs. Methanol versetzt. Das Gemisch wurde 1 Std. bei -10° und weitere 12 Std. bei 20° stehengelassen. Die Hauptmenge des Methanols wurde unter vermindertem Druck abdestilliert, der Rückstand in Äther aufgenommen und diese Lösung mit Wasser, KHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser gewaschen. Die über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung wurde eingedampft und der Rückstand zuerst bei 12 mm, dann im Hochvakuum von Lösungsmittelresten befreit. Es wurden 109 g eines beinahe farblosen Öles, das praktisch reines V darstellte, erhalten. Dieses lässt sich nur im Molekularkolben bei 0,01 mm und ca. 130° destillieren.

Zur Analyse wurde eine Probe des rohen Öles durch eine Jeauer Glasnutsche Nr. 4 filtriert und im Hochvakuum während 2 Std. bei 50° entgast. n<sub>D</sub><sup>20</sup> 1,4802.

C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>O<sub>6</sub>NS Ber. C 46,58 H 7,49 N 4,53 S 10,36%  
Gef. „ 46,62 „ 7,44 „ 4,38 „ 10,27%

6-(2',2'-Diäthoxyäthylmercapto)-7-nitro-heptansäure-äthylester (Vb, R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) aus IVb. 0,69 g Natrium wurden in 20 cm<sup>3</sup> abs. Äthanol gelöst und unter N<sub>2</sub> bei -10° zuerst mit 4,5 g Mercaptoacetal IIb in 9 cm<sup>3</sup> abs. Äthanol und dann unter Umschütteln mit 7,0 g 6-Chlor-7-nitro-heptansäure-äthylester in 12 cm<sup>3</sup> abs. Äthanol versetzt. NaCl schied sich momentan aus. Das Gemisch wurde 1 Std. bei -10° und weitere 4 Std. bei 20° stehengelassen. Die Hauptmenge des Alkohols wurde unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand wie oben aufgearbeitet. Es wurden 9,8 g rohes Sulfid als gelbliches Öl erhalten. Durch Destillation im Molekularkolben bei 0,01 mm und ca. 130° Badtemperatur wurde ein beinahe farbloses Öl erhalten, n<sub>D</sub><sup>18</sup> 1,4738.

C <sub>16</sub> H <sub>29</sub> O <sub>6</sub> NS	Ber. C 51,26	H 8,32	N 3,99%
	Gef. ,, 51,42	,, 8,23	,, 4,12%

6-(2'-Oxoäthylmercapto)-7-nitro-heptansäure-methylester (VI, R = CH<sub>3</sub>). 10 g Dimethylacetal-methylester Va (R = CH<sub>3</sub>) wurden mit 30 cm<sup>3</sup> Dioxan, 2,5 cm<sup>3</sup> 5-n. Salzsäure und 30 cm<sup>3</sup> Wasser unter heftigem Rühren und Überleiten von CO<sub>2</sub> auf dem Dampfbad erhitzt. Nach ca. 5 Min. ging alles Acetal in Lösung. Nach dem Erkalten wurde das Gemisch mit Äther durchgeschüttelt, die Ätherlösung mit Wasser neutral gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren des Äthers und Entfernung von Lösungsmittelresten hinterblieben 8,0 g (94%) des öligen Aldehydesters, der nicht unzersetzt destillierbar war. Das Semicarbazon desselben wurde aus Methanol umkristallisiert, Smp. 109,5°.

C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> S	Ber. C 41,24	H 6,29	N 17,49%
	Gef. ,, 41,18	,, 6,22	,, 17,58%

Äthylester (VI, R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>). 5 g Diäthylacetal-äthylester Vb (R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) wurden mit 15 cm<sup>3</sup> Dioxan, 10 cm<sup>3</sup> Wasser und 5 cm<sup>3</sup> 1-n. Salzsäure 10 Min. wie oben behandelt und aufgearbeitet. Es wurden 4,4 g des öligen Aldehydesters erhalten, dessen Semicarbazon nach Umkristallisieren aus Äthanol bei 108—109° schmolz. Misch-Smp. mit obigem Semicarbazon: Depression von ca. 10°.

C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> S	Ber. C 43,10	H 6,63	N 16,77%
	Gef. ,, 43,40	,, 6,85	,, 16,87%

6-(2'-Oxoäthylmercapto)-7-nitro-heptansäure (VI, R = H). 11 g Dimethylacetal-methylester (Va, R = CH<sub>3</sub>) wurden mit einer Lösung von 4,4 g KOH in 50 cm<sup>3</sup> Methanol gemischt, sodann mit 30 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 16 Std. bei ca. 20° stehengelassen. Nach Ansäuern unter Eiskühlung mit 4,7 g Eisessig wurde das Methanol unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit Salzsäure auf Kongo angesäuert und zwischen Wasser und Äther verteilt. Durch Ausschütteln der Ätherlösung mit KHCO<sub>3</sub>-Lösung und Ausäthern des angesäuerten Auszuges wurde die Säure abgetrennt. Der mit Wasser gewaschene Ätherextrakt dieser Säure hinterliess nach Trocknen über Natriumsulfat und Abdampfen im Vakuum 9,5 g der Acetal-säure als gelbliches Öl. Dieses wurde zur Verseifung der Acetalgruppe mit 12 cm<sup>3</sup> Dioxan, 12 cm<sup>3</sup> Wasser und 2 cm<sup>3</sup> 1-n. Salzsäure unter Rühren und Überleiten von CO<sub>2</sub> 3 Min. auf dem Dampfbad erwärmt. Die abgekühlte klare Lösung wurde ausgeäthert, die Ätherlösung neutral gewaschen und getrocknet.

Nach dem Eindampfen hinterblieben 8,1 g Aldehydsäure, welche nicht kristallisierten. Ihr Semicarbazon schmolz nach Umkristallisieren aus Dioxan bei 131,5—132,5° unter Zersetzung.

C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> S	Ber. C 39,20	H 5,92	N 18,30%
	Gef. ,, 39,39	,, 6,10	,, 18,43%

2-(ω-Carbomethoxybutyl)-3-nitro-4-oxy-thiophan (VIIa, R = CH<sub>3</sub>). 8,0 g VI (R = CH<sub>3</sub>) wurden mit einer Lösung von 0,75 g Natrium in 75 cm<sup>3</sup> abs. Methanol versetzt und 15 Std. bei ca. 20° stehengelassen. Das Gemisch wurde bei 0° vorsichtig mit 1,3 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt, das Methanol unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand zwischen Äther und verdünnter KHCO<sub>3</sub>-Lösung verteilt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft, wobei 7,6 g eines gelben Öles

hinterblieben. Dieses kristallisierte bei längerem Aufbewahren bei  $-10^{\circ}$  teilweise durch und stellte offenbar ein Isomerenmisch dar.

*p*-Nitrobenzoate. 1,86 g *p*-Nitrobenzoylchlorid wurden unter schwachem Erwärmen in 12 cm<sup>3</sup> abs. Benzol gelöst, mit 0,79 g abs. Pyridin<sup>1)</sup> und 2,9 g des rohen Thiophan-gemisches versetzt. Nach 48 Std. bei ca.  $20^{\circ}$  wurde vom ausgeschiedenen Pyridinhydrochlorid und *p*-Nitrobenzoesäureanhydrid abfiltriert, das Filtrat mit Benzol verdünnt und mit Wasser, verdünnter Salzsäure und verdünnter  $\text{KHCO}_3$ -Lösung gewaschen. Die getrocknete Benzollösung hinterliess nach dem Eindampfen 2,3 g eines gelben Öles, welches mit Äther befeuchtet kristallisierte, Smp.  $60-70^{\circ}$ . Durch Umkristallisieren aus  $\text{CCl}_4$  wurde a) ein schwerlösliches *p*-Nitrobenzoat, Smp.  $104-105^{\circ}$  erhalten. Aus der Mutterlauge wurde nach Einengen b) ein leichtlösliches Isomeres isoliert, das nach mehrmaligem Umlösen aus  $\text{CCl}_4$ -Äther bei  $67-69^{\circ}$  schmolz.

$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_8\text{N}_2\text{S}$	Ber. C 49,51	H 5,85	N 6,79	S 7,78%
a) Gef. „	49,75	„ 4,98	„ 6,71	„ 7,52%
b) „ „	49,63	„ 4,59	„ 6,84	

2-(*o*-Carboxybutyl)-3-nitro-4-oxy-thiophan (VIIa, R = H). 8,5 g der freien Säure VI (R = H) wurden bei  $0^{\circ}$  in einer Lösung von 4,5 g KOH in 70 cm<sup>3</sup> Wasser aufgelöst und 6 Std. bei ca.  $20^{\circ}$  stehengelassen. Nach dem Abkühlen auf  $0^{\circ}$  wurde mit 3 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt und anschliessend mit verd. Salzsäure kongosauer gemacht. Die ausgeschiedene, ölige Säure wurde ausgeäthert, der Ätherauszug gewaschen und getrocknet. Nach dem Eindampfen hinterblieben 8,0 g der isomeren Thiophansäuren VIIa (R = H) als orangerotes Öl, aus welchem sich nach längerem Stehen bei  $-10^{\circ}$  ein Teil kristallin (Smp. unscharf zwischen  $50$  und  $55^{\circ}$ ) ausschied.

Von diesem Isomeren wurde mit Dimethylamin in Aceton-Alkohol ein Salz erhalten welches nach dem Umkristallisieren aus Methanol-Aceton bei  $110-111^{\circ}$  unter Zersetzung, schmolz.

$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$	Ber. C 44,88	H 7,53	N 9,52%
Gef. „	45,07	„ 7,54	„ 9,33%

2-(*o*-Carbomethoxybutyl)-3-nitro-4-acetamido-thiophan (VIIId, R =  $\text{CH}_3$ ). 14,9 g des Oxythiophans VIIa (R =  $\text{CH}_3$ ) wurden mit 7,5 cm<sup>3</sup> Acetylchlorid versetzt, nach Abklingen der Reaktion mit weiteren 5 cm<sup>3</sup> Acetylchlorid vermischt und 20 Min. auf ca.  $40^{\circ}$  erwärmt. Das überschüssige Acetylchlorid wurde unter vermindertem Druck abdestilliert, der dunkel gefärbte Rückstand in Äther gelöst und mit Aktivkohle entfärbt. Die nach dem Filtrieren nur noch schwach gefärbte Ätherlösung wurde eingedampft und das hinterbliebene rohe 2-(*o*-Carbomethoxybutyl)-3-nitro-4-acetoxy-thiophan (VIIb, R =  $\text{CH}_3$ ), 16,8 g, im Hochvakuum von Lösungsmittelresten befreit.

Die 16,8 g Acetoxyverbindung wurden in 170 cm<sup>3</sup> Dioxan gelöst und unter gutem Rühren und Durchleiten eines kräftigen  $\text{NH}_3$ -Stromes im Laufe von 3,5 Std. zu 180 cm<sup>3</sup> mit  $\text{NH}_3$  gesättigtem Dioxan, dessen Temperatur zwischen  $10$  und  $12^{\circ}$  gehalten wurde, zutropft. Dabei schied sich Ammoniumacetat aus. Nach beendetem Zutropfen wurde noch 3 Std. unter Durchleiten eines schwachen  $\text{NH}_3$ -Stromes bei ca.  $20^{\circ}$  weiter gerührt. Das ausgeschiedene Ammoniumacetat wurde abfiltriert, das Filtrat unter vermindertem Druck kurz vom gelösten  $\text{NH}_3$  befreit und darauf unter Kühlung mit 20 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid versetzt. Nach 15-stündigem Stehen bei ca.  $20^{\circ}$  wurde die Dioxanlösung unter vermindertem Druck bei ca.  $60^{\circ}$  zur Trockne verdampft. Der ölige Rückstand wurde mit ca. 30 cm<sup>3</sup> Wasser angraben, wobei mit der Zeit die Masse durchkristallisierte. Dieses Gemisch isomere Nitro-acetamido-Verbindungen VIIId (R =  $\text{CH}_3$ ) wurde abgenutzt und wog nach dem Trocknen 14,7 g (85% bezogen auf rohe Oxyverbindung).

Die 14,7 g des Isomerenmischs wurden in 60 cm<sup>3</sup> heissem Methanol gelöst. Es kristallisierten 3,3 g, Smp.  $107-112^{\circ}$ , epi-allo-Verbindung aus. Nach Einengen der

<sup>1)</sup> Ein Überschuss an Pyridin ist zu vermeiden, weil sonst aus der entstehenden  $\alpha$ -Nitro-*p*-nitrobenzoyloxy-Verbindung *p*-Nitrobenzoesäure unter Bildung des Nitro-olefins VIII abgespalten wird.

Mutterlauge auf ca. 30 cm<sup>3</sup> kristallisierten weitere 270 mg, Smp. 107–112°, derselben Verbindung aus.

*epi-allo-Verbindung.* Obige Fraktionen, Smp. 107–112°, wurden aus Methanol umkristallisiert und lieferten Nadeln des reinen epi-allo-Isomeren, Smp. 114°.

C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> S	Ber. C 47,33	H 6,57	N 9,20%
	Gef. ,, 47,23	,, 6,57	,, 8,98%

Die Verbindung ist löslich in heissem Methanol und Benzol, schwerlöslich in kaltem Benzol und unlöslich in Äther.

Die Mutterlauge der epi-allo-Verbindung wurde im Vakuum eingedampft und der zähflüssige Rückstand in 50 cm<sup>3</sup> siedendem Äther gelöst. Daraus schieden sich 6,5 g Smp. 75–83°, ab. Die Mutterlauge wurde wieder eingedampft und der Rückstand in 20 cm<sup>3</sup> Äther gelöst. Daraus schieden sich weitere 1,4 g, Smp. 58–71°, ab. Wie sich aus den weiteren Umsetzungen dieser noch nicht einheitlichen Fraktionen (total 7,9 g) ergibt, bestehen sie zur Hauptsache aus der epi-Verbindung VIIId (R = CH<sub>3</sub>). Die Mutterlauge der letzten Fraktion wurde zur Trockne verdampft und lieferte 2,95 g eines teilweise kristallinen Rückstandes, der weitere Mengen obiger Isomeren enthielt, aber nicht weiter aufgetrennt werden konnte.

*epi-Verbindung.* Obige, hauptsächlich das epi-Isomere enthaltende Fraktionen konnten trotz wiederholtem fraktioniertem Umkristallisieren aus Benzol- und Äthergemischen nicht ganz einheitlich gemacht werden. Die so gereinigten Fraktionen schmolzen unscharf zwischen 76 und 80° und enthielten stets kleine Mengen eines höherschmelzenden Isomeren. Eine noch uneinheitliche Fraktion, Smp. 76–79° (klar bei 83°), gab richtige Analysenwerte.

C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> S	Ber. C 47,33	H 6,57	N 9,20%
	Gef. ,, 47,58	,, 6,86	,, 8,93%

Ein einheitliches Produkt konnte auf folgende Weise gewonnen werden. 250 mg einer Fraktion, Smp. 76–79°, wurde in 5 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 1 Std. unter Rückfluss erhitzt. Die dunkel gefärbte Lösung wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Äther aufgenommen, von wenig unlöslichem Material abfiltriert und nach Einengen der Ätherlösung mit Petroläther versetzt. Beim Reiben kristallisierten Nadeln, Smp. 85–87°, aus. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus heissem Äther, dem wenig Benzol zugesetzt war, schmolz die epi-Verbindung konstant bei 90–91°.

C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> S	Ber. C 47,33	H 6,57	N 9,20%
	Gef. ,, 47,45	,, 6,63	,, 9,30%

Die Verbindung ist löslich in kaltem Methanol und Benzol, schwer löslich in kaltem Äther und Petroläther. Die weiteren Umsetzungen liefern reines DL-epi-Biotin.

2-(*ω*-Carbomethoxybutyl)-3-nitro-2,5-dihydro-thiophen (VIII, R = CH<sub>3</sub>). 12,2 g der rohen, isomeren 4-Acetoxy-thiophane VIIb (R = CH<sub>3</sub>) wurden in 120 cm<sup>3</sup> Äther gelöst und 5 1/2 Std. über 6,5 g fein pulverisiertem Kaliumhydrogencarbonat gekocht. Dann wurde Wasser zugesetzt und die Ätherlösung nochmals mit Wasser gewaschen. Die Ätherlösung hinterliess nach dem Trocknen einen gelblichen kristallinen Rückstand, der durch Lösen in wenig Äther und Kühlen auf 0° 8,35 g (85%) Nitroolefin, Smp. 41–43°, ergab. Durch Destillation im Molekularkolben bei 70–80° und 0,01 mm wurden schwach gelbe<sup>1)</sup> Kristalle vom Smp. 43–43,5° erhalten, die durch weiteres Umlösen aus Äther nicht verändert wurden.

C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> NS	Ber. C 48,96	H 6,16	N 5,71	S 13,07%
	Gef. ,, 48,91	,, 6,41	,, 5,67	,, 12,87%

An der Luft färbt sich das Nitroolefin rasch dunkel.

Anlagerung von Ammoniak an 2-(*ω*-Carbomethoxybutyl)-3-nitro-2,5-dihydro-thiophen (VIII, R = CH<sub>3</sub>). 5,0 g Nitroolefin, Smp. 41–43°, wurden in

<sup>1)</sup> Nitroolefine sind schwach gelb gefärbt. Siehe E. Schmidt & G. Rutz, B. 61, 2142 (1928).

50 cm<sup>3</sup> abs. Dioxan gelöst und unter Rühren und Durchleiten eines kräftigen NH<sub>3</sub>-Stromes bei 12—15° innert 2 Std. zu 70 cm<sup>3</sup> mit NH<sub>3</sub> gesättigtem Dioxan getropft. Nach weiterem Einleiten von NH<sub>3</sub> unter Rühren wurde das überschüssige NH<sub>3</sub> im Vakuum abgesaugt und die Dioxanlösung mit 7 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid versetzt. Nach 14-stündigem Stehen bei 20° wurde das Dioxan unter vermindertem Druck entfernt und der kristalline Rückstand mit Wasser gewaschen. Das trockene Produkt wurde mit Äther angerieben und lieferte 4,6 g eines kristallinen Isomerengemisches VIIId (R = CH<sub>3</sub>). Dieses wurde nach der oben beschriebenen Art in 1,3 g epi-allo-Verbindung, Smp. 113—114°, und verschiedene, hauptsächlich aus dem epi-Isomeren bestehende Fraktionen vom Smp. 74—80°, insgesamt 3,2 g, zerlegt.

2-(*ω*-Carboxybutyl)-3-nitro-4-acetamido-thiophan (VIIId, R = H). *epi-allo-Reihe*. 1 g des Methylesters VIIId vom Smp. 114° wurde unter Zugabe einiger Tropfen Methanol in 5 cm<sup>3</sup> 2-n. NaOH gelöst und nach 12-stündigem Stehen bei ca. 20° auf 0° gekühlt, mit 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig und darauf mit 5 cm<sup>3</sup> 2-n. Salzsäure versetzt.

Die ausgeschiedene Säure (920 mg) wurde mit Wasser gewaschen und aus Dioxan-Wasser umkristallisiert. Prismatische Nadeln, Smp. 183—184°.

C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> S	Ber. C 45,50	H 6,25	N 9,65%
	Gef. „ 45,50	„ 6,32	„ 9,78%

Die gleiche Säure entsteht bei der Behandlung der Aldehydo-Säure VI (R = H) mit flüssigem NH<sub>3</sub>. 7,5 g VI (R = H) wurden in einem Glasgefäß in einem Autoklaven mit 30 cm<sup>3</sup> flüssigem NH<sub>3</sub> 20 Std. auf 30° erwärmt. Nach dem Ablassen des NH<sub>3</sub> wurde das Reaktionsprodukt mit wenig Methanol herausgelöst und im Vakuum unterhalb 30° wieder zur Trockene verdampft. Das Nitroamin wurde unter Kühlung in wenig Eisessig gelöst und anschliessend während 15 Min. mit Acetanhydrid bei ca. 75° acetyliert. Nach Entfernen der Lösungsmittel im Vakuum wurde der ölige Rückstand mit 50 cm<sup>3</sup> Wasser verrieben. Das Produkt kristallisierte nach einigem Stehen und wurde abfiltriert. Die so erhaltenen 3,5 g VIIId (R = H) wurden mehrmals aus Dioxan-Wasser umkristallisiert. Die Säure schmolz bei 181—183° und gab mit der durch Verseifung von VIIId (R = CH<sub>3</sub>) erhaltenen keine Depression.

C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> S	Ber. C 45,50	H 6,25	N 9,65	S 11,03%
	Gef. „ 45,33	„ 6,29	„ 9,74	„ 10,81%

*epi-Reihe*. 1,0 g des tieferschmelzenden Isomeren VIIId (R = CH<sub>3</sub>), Smp. 72—79°, wurde auf gleiche Weise verseift. Das rohe Säuregemisch, 900 mg, schmolz zwischen 120 und 170°. Durch fraktionierte Kristallisation aus Dioxan konnte eine schwerer lösliche Fraktion, Smp. 158—175°, abgetrennt werden. Nach zweimaligem Umlösen aus Wasser und wenig Methanol schmolz diese bei 183—184° und gab mit obiger Säure der epi-allo-Reihe, Smp. 183—184°, keine Depression.

Die in Dioxan-Wasser leichter lösliche Fraktion lieferte die nicht ganz einheitlich zu erhaltende epi-Säure, Smp. 118—121°.

C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> S	Ber. C 45,50	H 6,25	N 9,65%
	Gef. „ 45,29	„ 6,43	„ 9,45%

Veresterung mit Diazomethan lieferte den ursprünglichen, nicht ganz einheitlichen Methylester, Smp. 78—80°, zurück.

epi-allo-2-(*ω*-Carbamidobutyl)-3-nitro-4-acetamido-thiophan (X). 15 g Aldehydo-methylester VI (R = CH<sub>3</sub>) wurden mit 60 cm<sup>3</sup> flüssigem NH<sub>3</sub> im Autoklaven 20 Std. auf 30° erwärmt. Nach dem Ablassen des NH<sub>3</sub> wurde das Reaktionsprodukt mit wenig Methanol herausgelöst und im Vakuum unterhalb 30° zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde unter Kühlen in Eisessig gelöst und mit Acetanhydrid bei ca. 75° während 20 Min. acetyliert. Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde der braune Rückstand mit Benzol ausgekocht. Beim Einengen des Benzolauszuges schied sich ein Öl aus, welches nach einiger Zeit kristallisierte. Aus diesem (3,5 g) wurde durch Kristallisation aus Methanol 2-(*ω*-Carbomethoxybutyl)-3-nitro-4-acetamido-thiophan, Smp. 114°, erhalten, welches identisch mit obigem Produkt der epi-allo-Reihe war.

Der in Benzol unlösliche Teil des Reaktionsproduktes wurde in wenig Dioxan gelöst. Nach längerem Stehen trat Kristallisation ein, welche durch Zufügen von Äther und Petroläther vervollständig wurde.

Die so erhaltenen 6,8 g Kristalle lieferten durch fraktioniertes Umlösen aus Äthanol ein Säureamid, Smp. 192—193,5°.

$C_{11}H_{19}O_4N_3S$	Ber. C 45,68	H 6,57	N 14,53	S 11,07%
	Gef. „ 45,57	„ 6,74	„ 14,67	„ 11,14%

Weiter unten beschriebene Umsetzungen lieferten daraus DL-*epi-allo*-Biotin. Aus der äthanolischen Mutterlauge schied sich eine weitere Fraktion, Smp. 181—183°, ab. Diese erwies sich als identisch mit der oben beschriebenen Säure der *epi-allo*-Reihe VII d (R = H), Smp. 183—184°.

DL-*epi-allo*-2-( $\omega$ -Carbamidobutyl)-3,4-diacetamido-thiophan (XI)-2,3 g X vom Smp. 192—193,5° wurden in 50 cm<sup>3</sup> Methanol suspendiert und zu 8 g amalgamiertem Aluminium (aus Aluminiumfolie, welche mit Petroläther und Aceton gewaschen, mit 1-n. NaOH angeätzt und dann mit 1-proz. Sublimatlösung amalgamiert worden war) unter ca. 50 cm<sup>3</sup> Methanol und 6 cm<sup>3</sup> Wasser gegeben. Die Reaktion setzte sofort unter Selbsterwärmung auf ca. 40° ein. Unter gelegentlichem Umschütteln wurde 18 Std. stehengelassen, nach welcher Zeit sich soviel Aluminiumhydroxyd gebildet hatte, dass eine feste Masse entstanden war. Diese wurde mit Methanol versetzt, aufgekocht und filtriert. Der Rückstand wurde noch 2mal mit Methanol ausgekocht, und die vereinigten methanolischen Extrakte wurden zur Trockne verdampft. Der weisse, kristalline Rückstand wurde unter Erwärmen auf dem Dampfbade in Acetanhydrid gelöst und das Acetylierungsprodukt nach dem Verdampfen zur Trockne aus siedendem Wasser umkristallisiert. Es resultierten 1,65 g des Diacetylproduktes, Smp. (Kofler-Block) 267 bis 269°; Zersetzung (Kapillare) >260°.

$C_{13}H_{23}O_3N_3S$	Ber. C 51,80	H 7,69	N 13,94%
	Gef. 51,90	„ 7,85	„ 13,80%

2-( $\omega$ -Carbomethoxybutyl)-3-amino-4-acetamido-thiophan (IXa, R = CH<sub>3</sub>), *epi-allo*-Reihe. 4,1 g 2-( $\omega$ -Carbomethoxybutyl)-3-nitro-4-acetamido-thiophan (VII d, R = CH<sub>3</sub>), Smp. 114°, wurden in 70 cm<sup>3</sup> Methanol und 110 cm<sup>3</sup> Äther gelöst, auf amalgamiertes Aluminium, aus 12 g Aluminium-Spänen bereitet, gegossen und mit 2 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt. Die sofort einsetzende Reaktion wurde durch äussere Kühlung gemässigt. Unter öfterem Umschütteln wurde bei ca. 20° stehengelassen und nach dem Zerfall der Aluminium-Späne noch 20 Std. mechanisch gerührt. Die Lösung wurde vom Aluminiumhydroxyd-Schlamm abfiltriert und letzterer 3mal mit Methanol ausgekocht. Die vereinigten Filtrate wurden unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft, wobei 3,6 g (97%) kristallisiertes Amin IXa (R = CH<sub>3</sub>), Smp. 115—121°, zurückblieben. Durch Umkristallisieren aus Methanol-Äther stieg der Smp. auf 125°

$C_{12}H_{22}O_3N_2S$	Ber. C 52,53	H 8,08	N 10,22%
	Gef. „ 52,60	„ 8,25	„ 10,09%

*Benzoylderivat*. Eine Probe desamins wurde mit Benzoylchlorid in Pyridin in 2-( $\omega$ -Carbomethoxybutyl)-3-benzamido-4-acetamido-thiophan, Smp. 197—198°, aus Methanol, übergeführt.

$C_{19}H_{26}O_4N_2S$	Ber. C 60,29	H 6,92	N 7,40%
	Gef. „ 60,14	„ 7,10	„ 7,60%

*epi*-Reihe. 4,3 g 2-( $\omega$ -Carbomethoxybutyl)-3-nitro-4-acetamido-thiophan (VII d, R = CH<sub>3</sub>), Smp. 76—79°, wurden in 60 cm<sup>3</sup> Methanol und 100 cm<sup>3</sup> Äther gelöst und zu amalgamiertem Aluminium (aus 12 g Aluminium-Spänen) gegossen. Innert 6 Std. wurden unter häufigem Schütteln tropfenweise 6 cm<sup>3</sup> Wasser zugefügt und über Nacht bei ca. 20° stehengelassen. Der Aluminiumhydroxyd-Schlamm wurde abfiltriert und 3mal mit Methanol ausgekocht. Die vereinigten Filtrate hinterliessen nach dem Eindampfen 3,5 g eines viskosen Öles, welches nach längerem Stehen teilweise kristallisierte. Dieses stellt ein hauptsächlich die *epi*-Form enthaltendes Gemisch der Monoacetyldiamine IXa dar.

*Benzoylderivat.* Eine Probe des rohen Amins wurde mit Benzoylchlorid und Pyridin benzyliert. Durch Umkristallisieren des rohen 2-( $\omega$ -Carbomethoxybutyl)-3-benzoylamido-4-acetamido-thiophans aus Methanol, wurde vorerst ein kleiner hochschmelzender hauptsächlich die epi-*allo*-Form enthaltender Anteil, Smp. 135—180°, abgetrennt. Nach Versetzen der Mutterlauge mit Äther kristallisierte die epi-Form, Smp. 120—135°, aus. Weiteres Umkristallisieren aus Methanol-Äther und dann aus Methanol-Wasser erhöhte den Smp. auf 139—140°.

$C_{19}H_{26}O_4N_2S$	Ber. C 60,29	H 6,93	N 7,44%
	Gef. ,, 60,42	,, 7,05	,, 7,50%

2-( $\omega$ -Carboxybutyl)-3,4-diamino-thiophan (IXb, R = H).

1. *epi-*allo*-Reihe.* a) Sulfat aus IXa (R = CH<sub>3</sub>). 1,0 g des Monoacetyl-diamins wurden mit 10,0 g Ba(OH)<sub>2</sub>·8H<sub>2</sub>O und 50 cm<sup>3</sup> Wasser 16 Std. im Bombenrohr auf 150° erhitzt. Die Reaktionslösung wurde mit Schwefelsäure bis eben zur kongosauren Reaktion versetzt, kurz aufgekocht und durch ein mit Bariumsulfat gedichtetes Filter abgenutscht. Das klare Filtrat wurde im Vakuum auf 10 cm<sup>3</sup> eingeeengt und mit Methanol versetzt, wobei 1,0 g des Sulfats der Diamino-Säure auskristallisierten. Nach Umlösen aus Wasser schmolz dieses auf dem *Kofler*-Block bei 248—249° zu einer zähen Masse, Zersetzung in der Kapillare > 273°<sup>1)</sup>.

$C_9H_{20}O_6N_2S_2$	Ber. C 34,15	H 6,34%	Gef. C 34,11	H 6,59%
----------------------	--------------	---------	--------------	---------

b) Sulfat aus XI. 1,65 g der Bis-acetamido-carbamido-Verbindung XI und 16,0 g Ba(OH)<sub>2</sub>·8H<sub>2</sub>O wurden mit 80 cm<sup>3</sup> Wasser 18 Std. im Bombenrohr auf 125—130° erhitzt. Aufarbeitung wie oben lieferte 1,6 g des oben beschriebenen Sulfates, Smp. (*Kofler*-Block) 248—249°, Zersetzungspunkt (Kapillare) > 273°.

Das Sulfat lieferte mit Phosgen DL-*epi-*allo**-Biotin.

c) Bis-hydrochlorid. 0,50 g des Monoacetyldiamins wurden mit 5 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure (d = 1,19) unter Verschluss 12 Std. auf 100° erwärmt. Die leicht braun gefärbte Lösung wurde unter vermindertem Druck eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und mit Äthanol versetzt. Es kristallisierten 0,40 g Bis-hydrochlorid, Smp. 127—129°, aus. Durch Einengen der Mutterlauge kristallisierten weitere 0,11 g, Smp. 127°, aus. Aus wässrigem Aceton kristallisierte das Salz mit einem Mol Kristallwasser, Smp. 127—129°.

$C_9H_{22}O_3N_2S_2Cl_2$	Ber. C 34,95	H 7,17	N 9,06%
	Gef. ,, 35,08	,, 6,93	,, 9,04%

2. *epi-*Reihe*.* 0,90 g Benzoylderivat von IXa (R = CH<sub>3</sub>), wurden mit 10 g Ba(OH)<sub>2</sub>·8H<sub>2</sub>O und 50 cm<sup>3</sup> Wasser 14 Std. im Bombenrohr auf 135° erhitzt und wie oben aufgearbeitet. Die eingeengte wässrige Lösung des Sulfates wurde mit etwas Methanol versetzt und lieferte 0,64 g, Smp. 244—245°, unter Zers. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol-Wasser schmolz das Sulfat bei 246—247°<sup>2)</sup>.

$C_9H_{20}O_6N_2S_2$	Ber. C 34,16	H 6,37	N 8,85%
	Gef. ,, 34,17	,, 6,60	,, 8,73%

DL-*epi-*allo**-Biotin (I). In eine Lösung von 0,5 g Sulfat der *epi-*allo**-Diamino-säure IXb (R = H), und 4,0g wasserfreiem Natriumcarbonat in 25 cm<sup>3</sup> Wasser wurde unter Rühren bei 0° langsam Phosgen bis zur kongosauren Reaktion eingeleitet. Die ausgedehnten kugelförmigen Kristalle wurden aus Wasser umkristallisiert. Das *epi-*allo**-Biotin zersetzte sich oberhalb 195° ohne bis 300° zu schmelzen<sup>3)</sup>. Aus Methanol kristallisierte

<sup>1)</sup> S. A. Harris et al., Am. Soc. **67**, 2099 (1945), geben Smp. 283—285° an, während B. R. Baker et al., J. Org. Chem. **12**, 186 (1947) einen Zersetzungsp. von 272—273° angeben.

<sup>2)</sup> B. R. Baker et al., J. Org. Chem. **12**, 322 (1947), geben Smp. 244—245° an.

<sup>3)</sup> Nach S. A. Harris et al., Am. Soc. **67**, 2096 (1945) findet ohne Schmelzen allmähliche Zersetzung oberhalb 195° statt.



die Verbindung in prismatischen Nadeln, welche in der Kapillare bis 300° keine Veränderung zeigten.

$C_{10}H_{16}O_3N_2S$	Ber. C 49,16	H 6,60	N 11,47%
	Gef. ,, 49,18	,, 6,43	,, 11,28%

*Methylester.* Durch Veresterung der Säure in wenig Methanol mit ätherischer Diazomethanolösung erhalten. Nadeln aus Methanol-Äther, Smp. 151—152° (Lit.<sup>1)</sup> 150—151°).

$C_{11}H_{18}O_3N_2S$	Ber. C 51,14	H 7,02	N 10,85%
	Gef. ,, 51,15	,, 6,95	,, 10,70%

DL-epi-Biotin (I). 1,0 g des Sulfates der epi-Diaminosäure wurden in 50 cm<sup>3</sup> 10-proz. Sodalösung gelöst und wie oben mit Phosgen behandelt. Es schieden sich 0,75 g der epi-Verbindung aus, welche nach Umkristallisieren aus Wasser bei 190—191° schmolz (Lit.<sup>2)</sup> 190—191°).

$C_{10}H_{16}O_3N_2S$	Ber. C 49,16	H 6,60	N 11,47%
	Gef. ,, 49,07	,, 6,53	,, 11,30%

*Methylester.* Dieser wurde mit Diazomethan wie oben bereitet. Aus Äther und wenig Methanol Platten, Smp. 119—120°.

$C_{11}H_{18}O_3N_2S$	Ber. C 51,14	H 7,02	N 10,85%
	Gef. ,, 51,22	,, 6,95	,, 10,80%

### Zusammenfassung.

DL-epi-Biotin und DL-epi-allo-Biotin wurden ausgehend von  $\omega$ -Carbomethoxy-valeraldehyd, Nitromethan und Mercaptoacetaldehyd-acetal synthetisiert. Dabei wurden neuartige Reaktionen aliphatischer Nitroverbindungen verwendet. Diese Reaktionen werden diskutiert.

Aus Angaben in der Literatur wird geschlossen, dass dem Biotin mit grosser Wahrscheinlichkeit die all-cis-Konfiguration XVII zukommt. Damit ergibt sich auch die Konfiguration des DL-epi-Biotins, sowie des DL-Allo- und des DL-epi-allo-Biotins. Der sterische Verlauf der hier beschriebenen Synthese ist ebenfalls im Einklang mit den angenommenen Konfigurationen der Biotinisomeren.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel und  
Wissenschaftliche Abteilung der *HACO-Gesellschaft AG.*,  
Gümligen-Bern.

<sup>1)</sup> B. R. Baker et al., J. Org. Chem. **12**, 186 (1947).

<sup>2)</sup> B. R. Baker et al., J. Org. Chem. **12**, 322 (1947).