

- [43] G. Eisenman, in *op. cit.* in [40].
 [44] R. P. Scholer, Diss. ETHZ, Zürich 1972; J. H. Prestegard & Sunney I. Chan, J. Amer. chem. Soc. 92, 4440 (1970).
 [45] H. Strehlow, Z. Elektrochem. 56, 119 (1952).
 [46] W. Simon, NRP Work Session on «Carriers and Specificity in Membranes», MIT, Brookline, Mass., U.S.A., 1969; L. Pauling, «Die Natur der chemischen Bindung», Verlag Chemie, Weinheim/Bergstrasse 1962.
 [47] B. Metz, D. Moras & R. Weiss, Chem. Comm. 1971, 444.
 [48] E. Grell, Th. Funck & F. Eggers, in *op. cit.* in [40].
 [49] V. T. Ivanov, I. A. Laine, N. D. Abdulaev, L. B. Senyavina, E. M. Popov, Yu. A. Ovchinnikov & M. M. Shemyakin, Biochem. biophys. Res. Commun. 34, 803 (1969).
 [50] A. V. von Rechenberg, Diss. ETHZ, Zürich, in Vorbereitung.
 [51] R. M. Izatt, D. P. Nelson, J. H. Rytting, B. L. Haymore & J. J. Christensen, J. Amer. chem. Soc. 93, 1619 (1971).
 [52] M. A. Bush & M. R. Truter, Chem. Commun. 1970, 1439.

288. Konfigurative Zusammenhänge in der Muscarinreihe; Chiralität des *epi*-, *allo*- und *epiallo*-Muscarins, des Muscarons und *allo*-Muscarons. Zur Biogenese des Muscarins

37. Mitteilung über Muscarin und verwandte Stoffe¹⁾

von H. Bollinger²⁾ und C. H. Eugster

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Rämistrasse 76, 8001 Zürich

Herrn Professor Dr. K. Mothes mit allen guten Wünschen gewidmet

(15. IX. 71)

Summary. The chirality of all stereoisomeric muscarines has been determined. (–)-Muscarine chloride was converted to (+)-normuscarine, which in turn was oxidized to (+)-normuscarone. Epimerisation by acid catalysis of the latter gave a mixture of the C(2)-epimers, namely (+)-normuscarone and (–)-*allo*-normuscarone. From these were prepared by reduction with LiAlH₄ optically active stereoisomeric noralcohols. The natural stereoisomeric muscarines so far isolated are: (+)-(2*S*, 3*R*, 5*S*)-muscarine, (–)-(2*S*, 3*R*, 5*R*)-*allo*-muscarine and (+)-(2*S*, 3*S*, 5*S*)-*epi*-muscarine. Identical chirality appears only at C(2). This fact has to be taken into consideration for further speculations about the biogenesis of muscarines.

Optically active muscarone and normuscarone exhibit a strong *Cotton effect* at 300 nm, which is interpreted in terms of absolute configuration by analogy to optically active substituted cyclopentanones. Optically active *allo*-normuscarone exhibits a very weak *Cotton effect* only, presumably because of predominant pseudo-rotation.

The relative stability of the stereoisomeric norketones has been determined. Normuscarone (*cis*-2,5) is by 0,39 kcal/mol more stable than *allo*-normuscarone (*trans*-2,5).

1. Einleitung. – Bisher ist erst die Chiralität des (+)- und des (–)-Muscarins durch chemische Verknüpfung mit L- bzw. D-Glucosamin und 2-Desoxy-D-ribose festgelegt³⁾ [2] [3] [4]. Seit wir nachweisen konnten, dass alle stereomeren Muscarine in der Natur vorkommen [5] [6] und zudem (–)-*allo*-Muscarin aus *Amanita muscaria*

¹⁾ 36. Mitteilung s. [1].

²⁾ Aus der Diplomarbeit (1970) und der geplanten Dissertation von Heinrich Bollinger.

³⁾ Betr. Muscaron, s. Abschnitt 4.

isoliert [7], sowie (+)-*epi*-Muscarin in *Inocybe geophylla* bestimmt [1] haben, erhob sich die Frage nach der Chiralität dieser Stereomeren. Die vorliegende Abhandlung ist vor allem diesem Problem gewidmet. Es durfte erwartet werden, dass die Aufklärung der sterischen Zusammenhänge (Abschnitt 3) neue Einblicke in die noch ungeklärte Biogenese des Muscarins und seiner Stereomeren ergibt. Darauf wird im Abschnitt 7 eingegangen. In Abschnitt 4 werden verschiedene in der Literatur publizierte Daten und Angaben richtiggestellt, so vor allem die Chiralität der enantiomeren Muscarone. Schliesslich gehen wir auf die Konformation der Tetrahydrofuranone Normuscaron und *allo*-Normuscaron, sowie auf ihre chiroptischen Eigenschaften ein (Abschnitte 5 und 6).

2. Racematspaltungen. – Da sämtliche im Formelschema 1 angegebenen Umsetzungen mit optisch aktiven Substanzen ausgeführt werden mussten, waren mehrere Racematspaltungen durchzuführen. Diese wurden vor allem mit den enantiomeren Di-*p*-toluoyl-weinsäuren [8] durchgeführt, die sich dazu nach unseren Erfahrungen am besten bewährt haben. Unser früherer Befund [9], dass aus reinem (\pm)-Muscarinhydroxid mit (–)-Di-*p*-toluoyl-D-weinsäure in 2-Propanol als schwerlösliche Fraktion das Salz des (–)-Muscarins anfällt, konnte erneut und mehrfach bestätigt werden⁴⁾.

Tabelle 1. $[\alpha]_D$ -Werte von optisch aktiven Muscarinen

(+)-(2 <i>S</i> , 3 <i>R</i> , 5 <i>S</i>)-Muscarinchlorid	(nat.)	+ 6,7° (H ₂ O)	[15] [16]
	(nat.)	+ 8,1° (Alkohol)	[17]
	(synth.)	+ 8,1° (Alkohol)	[9]
	(synth.)	+ 7,4° (H ₂ O)	[2]
(+)-(2 <i>S</i> , 3 <i>R</i> , 5 <i>S</i>)-Muscarinboronat	(synth.)	+ 6,5° (Aceton)	[2]
	(synth.)	– 8,4° (Alkohol)	[9]
(–)-(2 <i>R</i> , 3 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)-Muscarinchlorid	(synth.)	– 8,9° (Alkohol)	a)
	(synth.)	– 7,6° (H ₂ O)	[3]
	(synth.)	– 7,0° (H ₂ O)	[4]
	(synth.)	– 7,8° (H ₂ O)	[4]
(–)-(2 <i>R</i> , 3 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)-Muscarinjodid	(synth.)	– 8,2° bzw. – 6,4°/Aceton	[3]
(–)-(2 <i>R</i> , 3 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)-Muscarinboronat	(synth.)	– 5,3° (Aceton)	[4]
	(synth.)	+ 20,5° (Alkohol)	[4]
(+)-(2 <i>R</i> , 3 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)-Normuscarin	(synth.)	+ 11,9° (Alkohol)	a)
	(synth.)	+ 18,7° (H ₂ O)	a)
(+)-(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-Muscaronjodid	(synth.)	+ 62,3° (H ₂ O)	a)
(+)-(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-Normuscaron	(synth.)	– 11,5° (H ₂ O)	[11]
(–)-(2 <i>S</i> , 5 <i>S</i>)-Muscaronchlorid	(synth.)	+ 11,2° (H ₂ O)	[11]
(+)-(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-Muscaronchlorid	(synth.)	– 38,9° (H ₂ O)	a)
(–)-(2 <i>R</i> , 3 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)- <i>epi</i> -Muscarinjodid	(synth.)	– 53,5° (Alkohol)	a)
(–)-(2 <i>R</i> , 3 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)- <i>epi</i> -Normuscarin	(nat.)	– 32° (H ₂ O)	[7]
(–)-(2 <i>S</i> , 3 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)- <i>allo</i> -Muscarinjodid	(synth.)	– 37,4° (H ₂ O)	a)
	(synth.)	– 39° (Alkohol)	a)
(–)-(2 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)- <i>allo</i> -Normuscaron	(synth.)	– 44,2° (H ₂ O)	a)
(–)-(2 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)- <i>allo</i> -Muscaronjodid	(synth.)	– 29° (H ₂ O)	a)
(+)-(2 <i>S</i> , 3 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)- <i>epiallo</i> -Muscarinjodid	(synth.)	≥ 0° (H ₂ O)	a)
(+)-(2 <i>S</i> , 3 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)- <i>epiallo</i> -Normuscarin	(synth.)	+ 16,7° (Alkohol)	a)

a) Wert aus dieser Veröffentlichung.

4) Dieser Befund ist nun auch von der holländischen Arbeitsgruppe bestätigt worden [10]; Drehungsmessungen sind allerdings auch in dieser Arbeit nicht durchgeführt worden.

Optische Reinheit konnte meist nach 3–6 Umkristallisationen der diastereomeren Salze aus 2-Propanol erreicht werden; eine ständige Kontrolle durch Drehungsmessungen am freigesetzten Muscarinchlorid war unerlässlich.

Schon vor etlichen Jahren [11] wurden durch analoge Spaltung von (\pm)-Muscaron die enantiomeren Muscaronchloride hergestellt und ihre Drehung gemessen. Wahrscheinlich sind die jetzt über die Norketone erhaltenen Methojodide optisch reiner (siehe unten) als die früher erhaltenen.

Bei der Spaltung des (\pm)-*epi*-Muscarin-hydroxids mit (+)-*Di-p*-toluoyl-L-weinsäure wurden (–)-*epi*-Muscarinchlorid, $[\alpha]_D^{22} = -8,4^\circ$ in Alkohol, nach viermaliger Umkristallisation des Ditoluoyltartrates und Zerlegung der Spitzenfraktion, sowie mit (–)-*Di-p*-toluoyl-D-weinsäure analog (+)-*epi*-Muscarinchlorid ($[\alpha]_D^{23} = +8,6^\circ$ in Alkohol) erhalten. Im Verlaufe dieser Arbeit zeigte es sich, dass diese Spaltungen trotz der Übereinstimmung der Drehungen noch unvollkommen waren. Ein wesentlich reineres Präparat wurde bei der Reduktion von optisch aktivem Normuscaron gebildet.

Schwierigkeiten traten zunächst auch bei der Zerlegung des (\pm)-*allo*-Muscarin-hydroxids auf, da die Salze der (+)-*Di-p*-toluoyl-L-weinsäure mit (–)-*allo*-Muscarin und mit (+)-*allo*-Muscarin nebeneinander auskristallisierten und mechanisch voneinander getrennt werden mussten. Wir konnten auf diese Weise eine Probe von (–)-*allo*-Muscarinjodid ($[\alpha]_D^{23} = -27,0^\circ$ in H_2O) erhalten, das also im Vergleich zum Naturprodukt [7] eine optische Reinheit von 84% aufwies; später konnten Präparate mit höherer optischer Drehung als das Naturprodukt erhalten werden. Aus diesem Grunde begannen wir erneut mit Versuchen, die tertiäre Base anstelle der quaternären zu spalten. Mit Di-isopropyliden-2-oxo-L-gulonsäure [12] und mit *o*-Nitrotartranilsäure [13] hatten wir keinen Erfolg. Hingegen lieferte (–)-*Di-p*-toluoyl-D-weinsäure in 2-Propanol bereits nach zweimaligem Umkristallisieren reines (–)-*allo*-Normuscarin mit wahrscheinlich 100-proz. optischer Reinheit. Es ist möglich, aber noch nicht geprüft, dass auch andere Stereomere vorteilhaft auf der Stufe der Norbasen gespalten werden können. Einen Überblick über die $[\alpha]_D$ -Werte der stereomeren Muscarine gibt Tabelle 1. Sie ergänzt Tabelle 9 aus [14] und ersetzt zugleich einige darin enthaltene fehlerhafte Werte. Andere chiroptische Daten siehe Abschnitt 6.

3. Chemische Verknüpfungsreaktionen (s. Formelschema 1). – In früheren Arbeiten [20] [21] wurde beobachtet, dass die mit verschiedenartigen Reduktionsmitteln durchgeführte Reduktion von Normuscaron unsterespezifisch zu einem Gemisch aller stereomeren Normuscarine führt. Als Grund wurde eine an C(2) leicht verlaufende Epimerisierung angenommen. Diese Ergebnisse sind noch vor kurzer Zeit von Hardegger & Halder [22] an einem speziell gereinigten Normuscaron in vollem Umfang bestätigt worden. Es schien uns deshalb am einfachsten, optisch aktives Normuscaron herzustellen, dieses zu reduzieren und das Gemisch der entstandenen Noralkohole chromatographisch aufzutrennen. Diese müssten alle identische Konfiguration an C(5) aufweisen. Für die Herstellung der Norketone bewährte sich am besten Chromsäure in 6N H_2SO_4 , mit der bei 40-minütiger Oxydationsdauer bei 50° Rohausbeuten von 65% erzielt wurden. Viele andere Oxydationsmittel, wie z.B. Ag_2CO_3 /Celite [23] oder Pt/O_2 in Wasser, bewährten sich nicht. Die Reinheitsprüfung

Tabelle 2. Reduktionsprodukte aus Norketonen

Ver- such Nr.	Ausgangsketon Normuscaron: <i>allo</i> - Normuscaron	Reduktionsmittel	Temp.	Zeit (Std.)	% Norbasen			Normus- carin + <i>epi</i> - Normusc.	<i>allo</i> - Normusc. + <i>epiallo</i> -	Ausbeute	
					<i>epi</i>	<i>allo</i>	<i>epiallo</i>				
1	ca. 9:1	LiAlH ₄ /Äther	-70°	2	53,6	4,8	0,6	41,0	94,6	5,4	*
2	ca. 9:1	LiAlH ₄ /Äther	22°	3	57,6	6,9	1,7	33,8	91,4	8,6	*
3	ca. 9:1	LiAlH ₄ /Dioxan	100°	1,5	49,5	4,5	3,3	42,7	92,2	7,8	*
4	ca. 9:1	KBH ₄ /Methanol- Wasser 1:1	55°/22°	6/15	54,0	4,9	2,4	38,7	92,7	7,3	*
5	ca. 9:1	Na-Amalgam/ Äther-Wasser	22°	3	37,2	3,3	6,0	53,5	90,7	9,3	gering
6	56,4:43,6	LiAlH ₄ /Äther	22°	3	37,6	36,0	5,8	20,6	58,2	41,8	*
7	56,4:43,6	Na-Amalgam/ Äther-Wasser	36°	6	32,8	44,4	2,3	20,5	53,3	46,7	gering
8	56,4:43,6	B ₂ H ₆ -Tetrahydro- furan	0°	1,5	62,0	27,9	3,9	6,2	68,2	31,8	*
9	73:27	LiAlH ₄ /Äther	-70°	2,25	34,2	25,8	3,4	36,6	70,8	29,2	87,7%
10	3,6:96,4	LiAlH ₄ /Dioxan	100°	1,25	2,2	72,8	22,2	2,8	5,0	95,0	90,5%

*) Mikroansatz, Ausbeute nicht bestimmt.

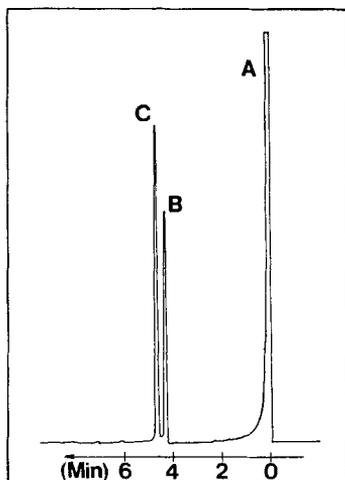


Fig. 1. Gas-Chromatogramm der Norketone

 A = Äther, B = Normuscaron, C = *allo*-Normuscaron

Tabelle 3. Isomerisation der Norketone

Versuch Nr.	Ausgangsketon Normuscaron: <i>allo</i> - Normuscaron	Katalysator A	Bedingungen	Ausbeute	Prozente Normus- caron	<i>allo</i> - Normus- caron
1	56,4:43,6	CF ₃ COOH konz.	20°, 47 Std.	*	56,1	43,9
2	56,4:43,6	H ₂ SO ₄ konz.	20°, 44 Std.	0	0	0
3	56,4:43,6	Rh-Mohr/Dioxan	100°, 5 Std.	*	56,8	43,2
4	56,4:43,6	CF ₃ COOH konz. + H ₂ SO ₄ 5%	50°, 9 Std.	*	67,0	33,0
5	6,0:94,0	Kieselgel <i>Merck</i> PF	20°, 3 Std.	95	49	51
6	6,0:94,0	Kieselgel <i>Merck</i> PF	20°, 12 Std.	90	61	39
7	95,7:4,3	N(Et) ₃	25°; 14 Std.	100	94,8	5,2
8	95,7:4,3	N(Me) ₃ 33% in Alkohol	25°; 16 Std.	100	88,5	11,5
9	95,7:4,3	N(Me) ₃ 33% in Alkohol	50°; 18 Std. 25°; 65 Std.	90	65,6	34,4
10	95,7:4,3	1 N NaOH	25°; 1/2 Std. 25°; 3/4 Std. 25°; 1 Std. 25°; 1 1/4 Std. 25°; 1 1/2 Std. 25°; 2 Std. 25°; 2 1/2 Std.	47,2 38,7 33,4 28,5 22,6 16,4 1	61 58,8 58,5 57,6 59 59 60	39 41,2 41,5 42,4 41 41 40
11	88,2:11,8	ges. NaHCO ₃	25°; 2 Std.	90	82,4	17,6
12	95,1:4,9	im evak. Rohr	220°; 15 Min.	65	76,8	24,2
13	23,8:76,2	im evak. Rohr	220°; 20 Min.	40	41,9	58,1

*) Nicht bestimmt.

haben wir stets gas-chromatographisch durchgeführt. Mit einer 15,6-m-Kapillarkolonne nach *Grob* [24] liessen sich nicht nur die isomeren Noralkohole [5], sondern auch die beiden stereomeren Norketone sauber trennen; vgl. Figur 1. Das Oxydationsprodukt bestand aus 80% Ketonen und 5% Ausgangsmaterial neben 15% unbekanntem Nebenprodukten. Die Ketonfraktion enthielt regelmässig etwas des stereomeren *allo*-Normuscarons. Ob die Isomerisierung während der Oxydation oder der Aufarbeitung (Neutralisation mit Hydrogencarbonat) eintrat, ist unsicher; vergleiche die ausführliche Diskussion unten.

In gleicher Weise wurde aus (–)-*allo*-Normuscarin das (–)-*allo*-Normuscaron und daraus durch Quaternisierung (–)-*allo*-Muscaronjodid hergestellt.

Die Reduktionen an den Norketonen ergaben eine Überraschung (siehe Tabelle 2): Auch unter variierten Bedingungen bleibt das Verhältnis der eingesetzten Ketone in den Produkten fast erhalten, d. h. es tritt keine wesentliche Epimerisierung an C(2) ein. Aus (+)-Normuscaron entstehen (+)-Normuscarin und (–)-*epi*-Normuscarin, und aus (–)-*allo*-Normuscaron analog (–)-*allo*-Normuscarin und (+)-*epiallo*-Normuscarin. Vershoben werden kann innerhalb gewisser Grenzen das Verhältnis der an C(3) Epimeren.

Damit war die angestrebte Verknüpfung der Stereomeren mit Muscarin mit Ausnahme von *epi*-Muscarin nicht möglich.

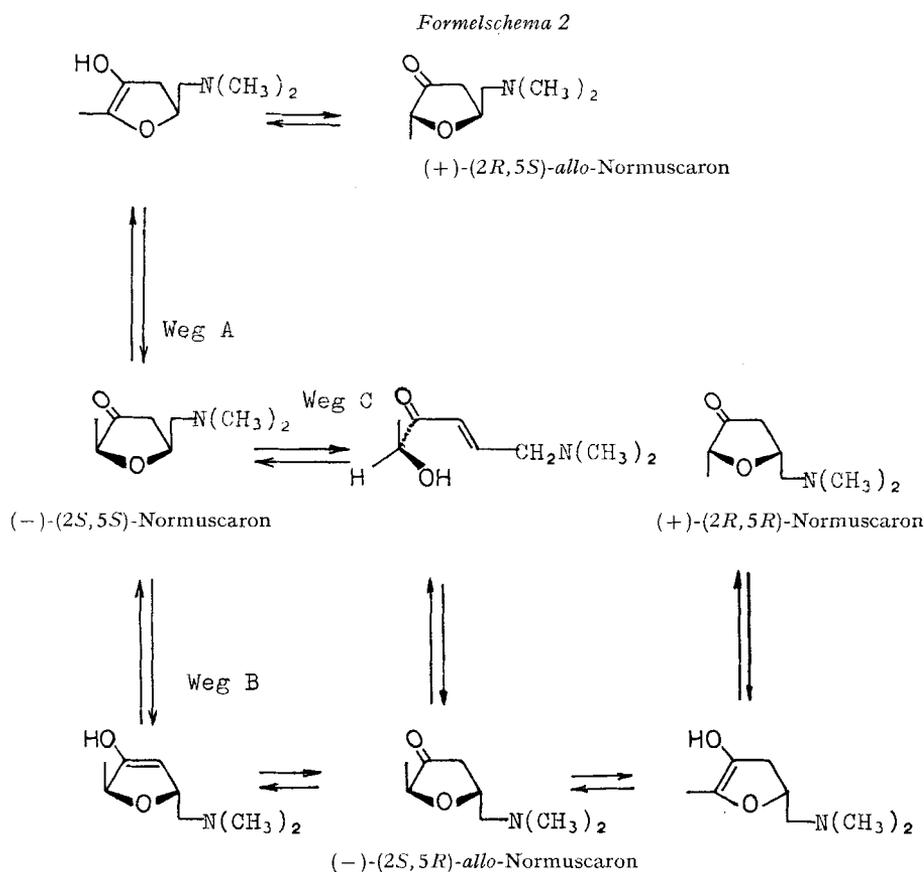
Isomerisationsexperimente an den Norketonen. Zahlreiche Versuche, die Norketone ineinander überzuführen, ergaben, dass Isomerisationen unter sauren und basischen Bedingungen sowie durch Erhitzen möglich sind (Resultate s. Tabelle 3).

Die basenkatalysierte Isomerisation verläuft mit Triäthylamin oder Trimethylamin (alkoholische Lösung) äusserst langsam und ohne Zersetzung. Mit wässriger 1N NaOH ist dagegen schon nach $\frac{3}{4}$ Std. das Isomerisationsgleichgewicht erreicht, jedoch sind die Norketone schon zu mehr als 60% zerstört und nach 3 Std. praktisch zu 100%. Die basische Isomerisation erweist sich daher für präparative Zwecke als ungeeignet. Auf die Isomerisation der Norketone in der Hitze wurden wir bei Pyrolyseversuchen an Muscaronchlorid aufmerksam. Dabei entstand aus einem Präparat, das mit 5% *allo*-Muscaronchlorid verunreinigt war, ein Norketongemisch aus 24,8% *allo*-Normuscaron und 75,2% Normuscaron in schlechter Ausbeute. Dieselbe Isomerisation trat bei Erhitzen von Normuscaron bzw. *allo*-Normuscaron im evakuierten Pyrexrohr bei 220° auf. Auch hier war sie mit starker Zersetzung verbunden. Auch (–)-*allo*-Muscaronchlorid isomerisiert sich bei der Pyrolyse. Die entstandene, Normuscaron enthaltende Base zeigte einen positiven *Cotton*-Effekt. Daraus ist zu schliessen, dass die Isomerisation nicht mit einer Racemisierung verbunden ist, sondern durch Epimerisierung an C(2) verläuft (*allo*-Normuscaron ist CD.-inaktiv, siehe später).

Bei der säurekatalysierten Isomerisation fällt auf, wie langsam sie eintritt und wie scharfe Bedingungen sie erfordert. In reiner Trifluoressigsäure tritt sie noch nicht ein, sondern erst unter Zusatz von konz. H₂SO₄. Hingegen führt reine Schwefelsäure zu vollständiger Verharzung. Da die Vermutung geäussert worden ist [22], dass in Gegenwart metallischer Hydrierkatalysatoren schnelle Isomerisation eintritt, wurde auch die Wirkung von Rhodium-Mohr untersucht. Das Gas-Chromatogramm dieses Versuches zeigt, dass das nicht der Fall ist. In Übereinstimmung mit früheren Befunden [20] [25] findet mit Hydrierkatalysatoren kaum Epimerisierung an C(2) statt.

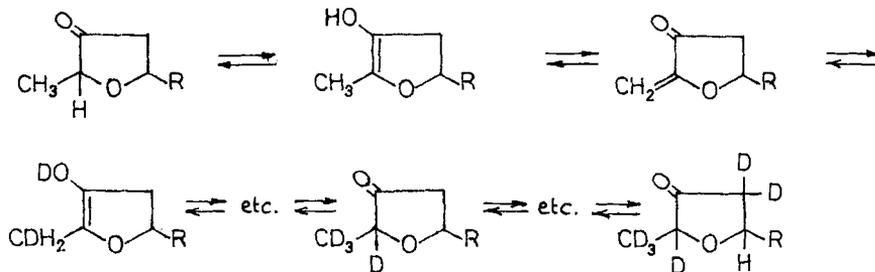
Eine weitere Isomerisation wurde bei Versuchen entdeckt, den stets noch vorhandenen Noralkohol aus dem Gemisch der beiden Norketone durch Dünnschichtchromatographie abzutrennen. An Kieselgel (*Merck* PF) entstand mit Essigester-Chloroform 3:1 nach zweimaliger aufsteigender Chromatographie eine von Noralkohol freie Norketonfraktion, die deutlich isomerisiert war. Noch stärker war der Effekt bei 12-stündiger Verweilzeit auf Kieselgel. Offensichtlich vollzieht sich diese Isomerisation auf der Oberfläche des Kieselgels wesentlich leichter als in Lösung.

Für präparative Isomerisationen haben wir die Methode mit $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$ gewählt. Unter den verhältnismässig drastischen Bedingungen könnten allerdings wiederum Enolisationen nach C(2) (Weg A) und C(4) (Weg B), und auch Ringöffnungen (β -Eliminationen) und erneute Ringschlüsse (Weg C) erwartet werden. Also müssten Epimerisierungen an einem der beiden Zentren (C(2) & C(5)) oder an beiden (Racemisierung) in Betracht gezogen werden (s. Formelschema 2).

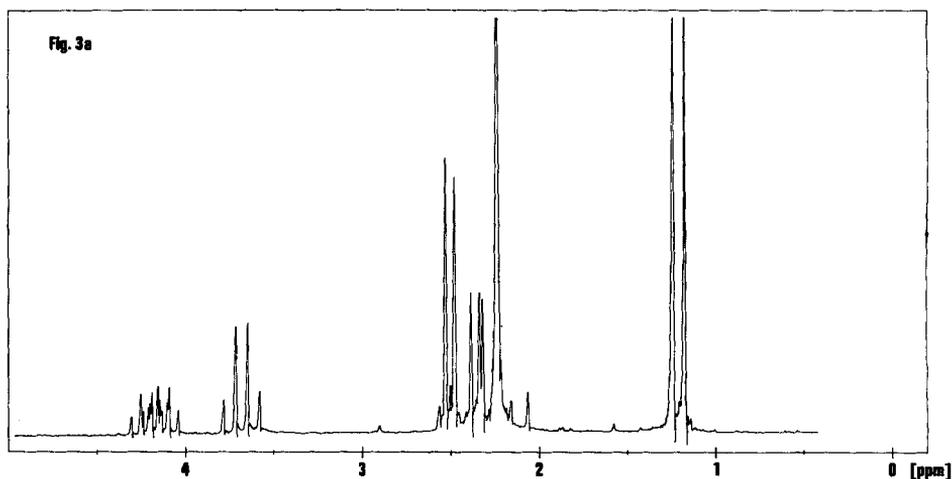
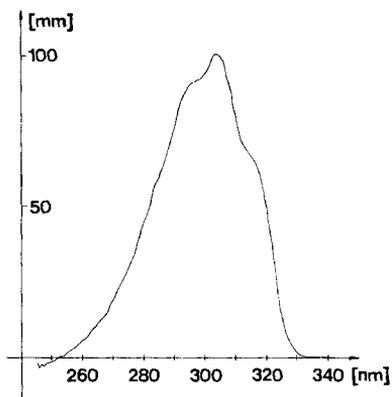


Eine Racemisierung konnte sogleich ausgeschlossen werden, als sich zeigte, dass (-)-allo-Normuscaron, welches selbst nahezu CD.-inaktiv ist (vgl. Figur 8 und Diskussion im Abschnitt 6) nach Isomerisation mit $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$ während 3 Std. bei

Formelschema 3



50° in ein CD.-aktives Gemisch, bestehend aus 41,2% *allo*-Normuscaron und 58,8% Normuscaron übergeht; siehe Figur 2. Zum selben Resultat führte die Interpretation des Deuteriumeinbaus. Nach sechsstündiger Behandlung von Normuscaron



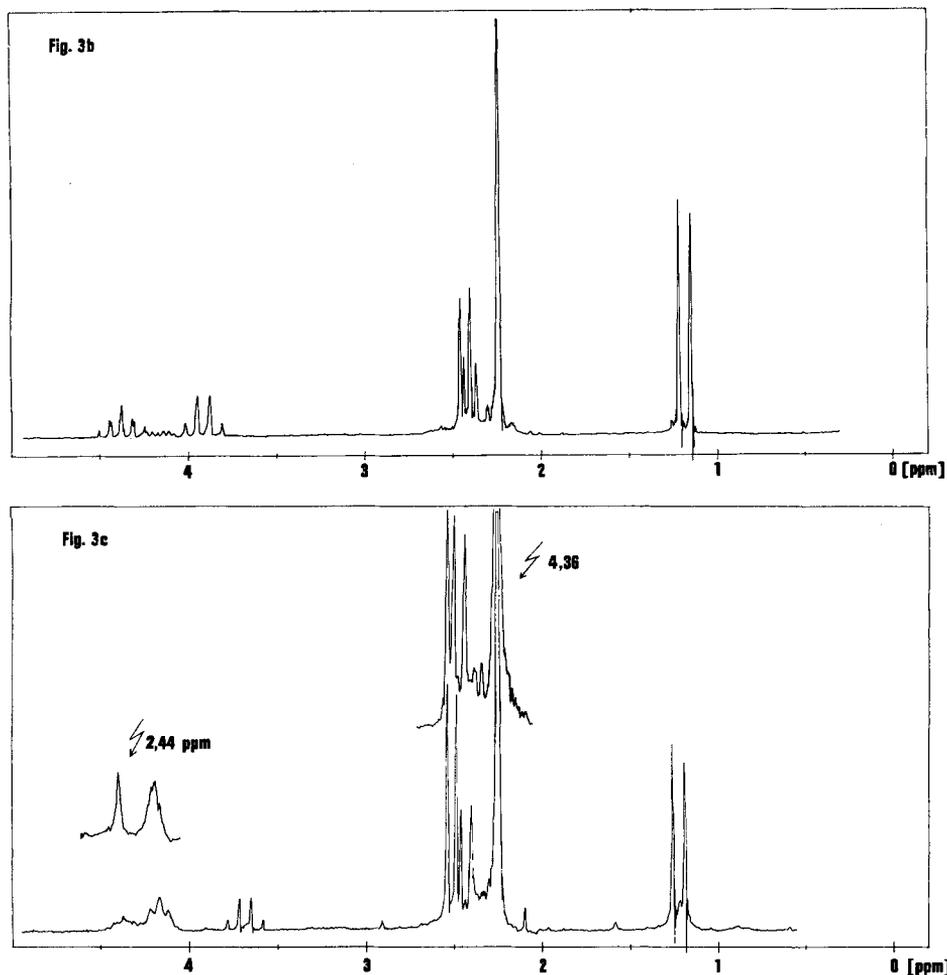


Fig. 3. NMR.-Spektrum von Normuscaron (a), *allo*-Normuscaron (b) und des Gemisches der beiden Ketone (c) nach der Isomerisation in CF_3COOD/D_2SO_4

(93,3% Normuscaron, 6,7% *allo*-Normuscaron in CF_3COOD/D_2SO_4 bei 60°)⁵⁾ erhielten wir ein NMR.-Spektrum (siehe Figur 3), das wir wie folgt interpretieren:

a. Die Methylgruppe an C(2) von *allo*-Normuscaron ist vollständig deuteriert. Also wird sie in die Enolisierung einbezogen!

b. Das Dublett bei 1,21 ppm gehört zur Methylgruppe an C(2) von Normuscaron (s. Figur 3a), das noch keinen D-Einbau erlitten hat. Ebenso ist das Signal des Protons an C(2) von Normuscaron als Quartett bei 3,68 ppm noch deutlich zu erkennen. Es stammt von noch nicht isomerisiertem Normuscaron.

⁵⁾ Verschärfte Bedingungen zum Ausgleich eventuell bestehender kinetischer Isotopieeffekte. Allerdings befand sich das Produkt laut Gas-Chromatogramm (31,8% *allo*-Normuscaron + 68,2% Normuscaron) noch nicht im Gleichgewicht.

c. Um 2,45 ppm sind gegenüber den Spektren der Ausgangsmaterialien verschiedene Signale verschwunden, was auf zusätzlichen D-Einbau an C(4) schliessen lässt.

d. Das Triplet bei 4,16 ppm wird auf Grund von Entkopplungsversuchen dem Methinproton an C(5) von Normuscaron, das flache Signal bei 4,35 ppm dem entsprechenden von *allo*-Normuscaron zugeordnet: Einstrahlen bei 2,44 ppm., d.h. im Bereich des Signals der Seitenketten-Methylenprotonen, erzeugt ein Singlett (mit Feinstruktur) bei 4,36 ppm.

Diese Experimente zeigen, dass die Isomerisation nur über den Weg A verläuft, m.a. Worten, dass in der säurekatalysierten Epimerisation nur das Zentrum an C(2) betroffen wird. Unabhängig von diesen Versuchen lässt auch die Analyse der chiroptischen Eigenschaften denselben Schluss zu (Abschnitt 6).

Dass keine Isomerisation an C(5) eintritt, dürfte auf die völlige Protonierung der basischen Seitenkette im stark sauren Reaktionsmilieu zurückzuführen sein. Die Verknüpfungsreaktionen wurden nun folgendermassen ausgeführt:

a. (-)-*allo*-Normuscaron, gewonnen aus (-)-*allo*-Normuscarin aus der Racematspaltung (Zusammensetzung: 81,1% *allo*-Normuscaron, ca. 3% Normuscaron, 14% *allo*-Normuscarin, 1,9% unbekannte Nebenprodukte), wurde mit LiAlH_4 in Dioxan bei 100° zum Gemisch der Noralkohole reduziert (72,8% (-)-*allo*-Normuscarin, 22,2% (-)-*epiallo*-Normuscarin, 2,2% *epi*-Normuscarin (nicht isoliert), 2,8% Normuscarin (nicht isoliert)), und dieses nach dem bewährten chromatographischen Verfahren an neutralem Aluminiumoxid [20] unter Verwendung eines Benzol-Methanol-Gradienten aufgetrennt. Erhalten wurden (-)-*allo*-Normuscarin mit $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -38,0^\circ$ (Alkohol). Wenn man bedenkt, dass ursprünglich von einem (-)-*allo*-Normuscarin mit $[\alpha]_{\text{D}} = -39^\circ$ (Alkohol) ausgegangen und daran die Oxydation und Reduktion durchgeführt worden war, kommt die Erhaltung der Chiralität an C(2) und C(5) erneut zum Ausdruck.

b. (+)-Normuscaron, gewonnen durch Pyrolyse von (-)-Muscarinchlorid und Oxydation der Norbase zum Keton mit $[\alpha]_{\text{D}} = +62,3^\circ$ (H_2O), Zusammensetzung 93,3% Normuscaron, 6,7% *allo*-Normuscaron, wurde in $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$ durch 4stündiges Erwärmen auf 50° zu einem Gemisch von 73% Normuscaron und 27% *allo*-Normuscaron isomerisiert und darauf bei -70° mit LiAlH_4 in Äther reduziert. Die entstandenen Norbasenalkohole bestanden aus 34,2% (-)-*epi*-Normuscarin, 36,6% (+)-Normuscarin, 25,8% (-)-*allo*-Normuscarin und 3,4% *epiallo*-Normuscarin (nicht isoliert). Aus der präparativen Trennung erhielten wir eine *epi*-Normuscarinfraktion (Reinheit 93,3%) mit $[\alpha]_{\text{D}} = -44,6^\circ$ (Alkohol), eine *allo*-Normuscarinfraktion (Reinheit 98,7%) mit $[\alpha]_{\text{D}} = -34,4^\circ$ (Alkohol) und (+)-Normuscarin (Reinheit 90,7%) mit $[\alpha]_{\text{D}} = +11,3^\circ$ (Alkohol). Letzteres war noch mit 8,5% *epiallo*-Normuscarin und 0,8% eines Nebenproduktes verunreinigt. Das Ausgangsmaterial ((+)-Normuscarin) hatte $[\alpha]_{\text{D}} = +11,9^\circ$ (Alkohol). Auch wenn der Drehungsbeitrag des zugemischten *epiallo*-Normuscarins berücksichtigt wird (ca. $+1,5^\circ$), so zeigt sich auch hier, dass die Chiralität an C(5) während der Reaktionen innerhalb der Nachweisgrenze nicht verändert worden ist.

Aus den Norbasen wurden durch Quaternierung mit JCH_3 die optisch aktiven Methojodide hergestellt, deren $[\alpha]_{\text{D}}$ -Werte in Tabelle 1 zusammengestellt sind.

Mit diesen Reaktionen sind nun alle Alkohole und Ketone der Muscarinreihe auf den Standard Muscarin [2] zurückgeführt und in ihrer Chiralität festgelegt. Eine davon unabhängige Herleitung ergibt sich aus den in Abschnitt 6 diskutierten chiroptischen Eigenschaften der Ketone.

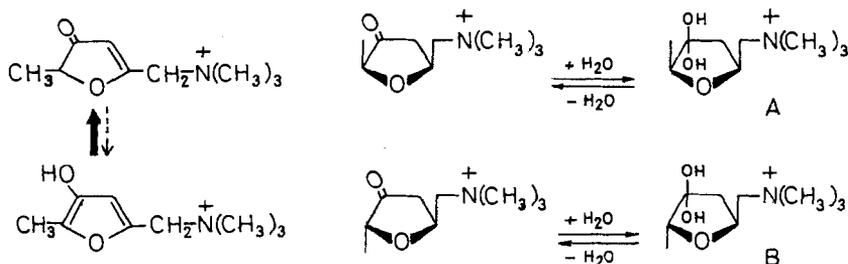
4. Bemerkungen und Korrektur bisheriger Daten. – Die im Abschnitt 3 vorgelegten Ergebnisse bringen eine Revision verschiedener in der Literatur publizierter Daten. Die wichtigsten sind die folgenden:

a. Das durch Pyrolyse von «natürlichem» (+)-Muscarinchlorid im Vakuum entstehende Normuscarin ist das (–)-Enantiomere und nicht das (+)-Enantiomere wie irrtümlich in Tabelle 9 von [14] angegeben. Der in [4] angegebene Drehwert für «unnatürliches» Normuscarin ist seinem Sinn nach richtig, aber im Betrag eindeutig zu hoch (Verunreinigungen?).

Die Chiralität der pharmakologisch hochwirksamen enantiomeren Muscarone war aus einem Versuch abgeleitet worden, bei dem natürliches «D»-(+)-Muscarinchlorid katalytisch zu einem Ketomuscarinchlorid mit $[\alpha]_D^{24} = +3,9^\circ$ (Alkohol) oxydiert worden war [18]. Dieser Wert stimmt weder im Vorzeichen noch in der Grösse mit dem in dieser Arbeit erhaltenen überein. Wir haben nun definitiv gezeigt, dass dem natürlichen (+)-Muscarin ein (–)-Muscaron mit identischer Chiralität an C(2) und C(5) zugeordnet ist.

Zur Kontrolle haben wir den Oxydationsversuch wiederholt: «unnatürliches» (–)-Muscarinchlorid mit $[\alpha]_D = -3,92^\circ$ (H₂O) lieferte ein Muscaronchlorid mit positivem Cotton-Effekt (siehe Figur 6). Diese Korrektur hat eine gewisse Bedeutung für pharmakologische Theorien über die Muscarinwirkung, seit Gyermek & Unna [26] an (+)- und (–)-Muscaronchloriden (mit $[\alpha]_D = +11,2^\circ$ bzw. $-11,5^\circ$ (H₂O) [11]) sowie an (±)-*allo*-Muscaronchlorid zeigen konnten, dass die quaternären Ketone nicht nur stärker cholinergisch als Muscarin oder Acetylcholin wirken, sondern offensichtlich auch die Stereospezifität weitgehend verloren haben⁶⁾. Verwirrend wirkte vor allem die Tatsache, dass das vermeintliche «unnatürliche» (–)-Muscaron durchwegs stärkere Wirksamkeit aufwies als (+)-Muscaron; vgl. die Diskussionen z.B. in [27] [28]. Diese Anomalie ist nun behoben: dem natürl. (+)-Muscarin entspricht konfiguratativ das (–)-Muscaron. Hingegen bleibt die Tatsache der sehr hohen Wirksamkeit sowohl des (+)-Muscarons als auch des (+)-*allo*-Muscarons (und übrigens auch des 4,5-Dehydromuscarons) bis heute nicht befriedigend erklärt. Zur Deutung wurden

Formelschema 4



⁶⁾ Es sei an die sehr hohen Wirkungsunterschiede zwischen (+)- und (–)-Muscarin erinnert.

Enolformen (siehe z.B. [28] in Betracht gezogen, was wohl die geringen Wirkungsunterschiede zwischen Muscaron- und *allo*-Muscaronsalzen deuten würde, nicht aber diejenigen zwischen (+)-Muscaron- und (–)-Muscaron-Salzen. Auch sind Enolformen von Muscaron und *allo*-Muscaron schon 1959 für sehr unwahrscheinlich erklärt worden; vgl. die einleitenden Bemerkungen in [29] und für die 4,5-Dehydromuscaron (Δ^2 -Furenidone-(4)) haben wir in mehreren Arbeiten (vgl. [30]) nachgewiesen, dass Enolformen spektroskopisch nicht festgestellt werden können und dass *entgegen mehrfach geäusserten Vermutungen die Ketoform viel stabiler ist als die Enol-(Furan-)form*⁷⁾ (Formelschema 4). Vom chemischen Standpunkt aus sind deshalb Diskussionen, die solche Enolformen verwenden, nicht befriedigend. Viel attraktiver scheint uns die bisher offenbar noch nie diskutierte Annahme, dass *Muscaron- und allo-Muscaronsalze in Form ihrer Carbonylhydrate (A oder B) an den Rezeptor gelangen, wobei der Rezeptor selbst Donator einer nucleophilen Gruppe (-OH, -SH und andere) sein könnte*.

c. *Hardegger et al.* [31] haben vor einiger Zeit ein Verfahren zur Trennung und Reindarstellung von *allo*-Normuscaron und Normuscaron veröffentlicht. Dabei wurden die Löslichkeitsunterschiede der Hydrogenoxalate ausgenützt. Da wir an der präparativen Trennung der stereomeren Ketone interessiert waren, versuchten wir das Verfahren ebenfalls anzuwenden. Es zeigte sich dank der jetzt möglichen gas-chromatographischen Überprüfung, dass die Trennungen unvollständig verlaufen. Dank der Freundlichkeit von Prof. *Hardegger* konnten wir seine Originalpräparate ebenfalls gas-chromatographisch untersuchen. Sie waren als Salze von reinem Normuscaron und *allo*-Normuscaron bezeichnet. Die Gas-Chromatogramme der freien Norbasen zeigten eindeutig, dass Mischungen vorliegen, deren Zusammensetzung zwischen 76,4–34,0 Normuscaron bzw. 23,6–66,0 *allo*-Normuscaron variierte. Dies ist ein weiteres Beispiel für die Tatsache, auf die wir übrigens schon öfters hingewiesen haben, dass in der Muscarinreihe Mischkristallbildung sehr leicht eintritt. Die Oxalat-Trennmethode muss demnach in der beschriebenen Form als ungeeignet bezeichnet werden.

Vermutlich sind wohl alle bisherigen Arbeiten an den Norketonen [20] [22] mit Gemischen ausgeführt worden⁸⁾.

d. Wir haben auch die Möglichkeit geprüft, das verhältnismässig leicht zugängliche *allo*-Normuscarin durch S_N2 -Reaktion an C(3) in das recht schwierig zugängliche *epiallo*-Normuscarin umzuwandeln, zumal diese Reaktion von *Matsumoto & Ichihara* [33] in einer kurzen Mitteilung, allerdings ohne experimentelle Daten, erwähnt worden ist. Unsere Ergebnisse (s. Tabelle 4) sind wenig erfolgversprechend. Es dürfte auch schwierig sein, reines *epiallo*-Muscarin aus den Gemischen zu isolieren. Eliminationsprozesse scheinen bei mehreren Ansätzen vorzuherrschen.

⁷⁾ Quantitative Daten für die Stabilitätsdifferenzen fehlen.

⁸⁾ *Halder* hat in seiner Dissertation [32] wohl erstmals den Verdacht geäussert, dass die komplexen Reduktionsprodukte, die bei den Reduktionen von Normuscaron bzw. *allo*-Normuscaron entstehen, ebensogut auf uneinheitliche Ausgangsmaterialien statt auf die postulierte Epimerisierung an C(2) zurückgeführt werden könnten. In dieser Richtung hätten auch die mit hoher Stereospezifität verlaufenden Hydrierungen von 4,5-Dehydromuscaron zu *epi*-Normuscarin (*Raney-Ni* in verdünnter NaOH) [20] interpretiert werden müssen.

Tabelle 4. S_N2 -Reaktionen an allo-Normuscaronestern

Versuch Nr.	Ester	Lösungsmittel	Bedingungen	Ausbeuten O-Acetyl-epiallo-Normuscarin	epiallo-Normuscarin	Nebenprodukt(e)
1	Tosyl	Dimethylformamid/ Essigsäure	Rückfluss 36 Std.	<5%	20%	80%
2	Tosyl	Essigsäure	Rückfluss 4 Std.	<5%	1%	viel
3	Tosyl	Essigsäure	Rückfluss 6 Std.	ca. 20%	Spuren	viel
4	Tosyl	Essigsäure	36 Std. Rückfluss, 48 Std. Zimmertemp.	ca. 20%	40%	viele
5	Chlorid	Essigsäure	48 Std. Rückfluss	nil	–	
6	Tosyl	Dimethylformamid	Rückfluss 72 Std.	10%	–	
7	Mesyl	Eisessig	Rückfluss 24 Std. 24 Std. Zimmertemperatur	nil	–	
8	Mesyl	Alkohol- Wasser 1:1	96 Std. Zimmertemperatur	nil	–	
9	Mesyl	Eisessig	90 Std. Zimmer- temp. 90 Std. 55°	nil	–	

Tabelle 5. Säurekatalysierte Isomerisation von Normuscaron und allo-Normuscaron in CF_3COOH/H_2SO_4 bei 50°

Prozentuale Verhältnisse

Zeit Std.	Versuch a		Versuch b	
	Normuscaron	allo-Normuscaron	allo-Normuscaron	Normuscaron
0	89,3	10,7	92	8
0,5	86,8	13,2	82,6	17,4
1	81,1	18,9	72,3	27,7
1,5	75,3	24,7	61,2	38,8
2	70,5	29,5	56,5	43,5
2,5			51,8	48,2
3	66,5	33,5	45,7	54,3
3,5			43,4	56,6
4	65,6	34,4	41,4	58,6
4,5			37,5	62,5
5	64,2	35,8	40,0	60,0
6	64,2	35,8	36,4	63,6
7	64,2	35,8	33,2	66,8
8	64,6	35,4	33,3	66,7
9	64,6	35,4		
10	64,4	35,6		
12			34,2	65,8

e. *Relative Stabilität von Normuscaron und allo-Normuscaron.* Zur Ermittlung von thermodynamischen Daten haben wir die säurekatalysierte Isomerisation der stereoisomeren Norketone auch zeitlich verfolgt (vgl. Fig. 4 und Tab. 5).

Das Gleichgewicht stellt sich unter den gewählten Bedingungen erst nach einigen Stunden ein. Zur genaueren Bestimmung der Gleichgewichtslage wurden noch weitere Isomerisationen durchgeführt (in der Tabelle nicht enthalten) und jeweils nach 24 bis 38 Std. die Mittelwerte aus je 4 gas-chromatographischen Analysen bestimmt. Danach sind im Gleichgewicht bei 50° 64,70 ± 0,44% Normuscaron neben 35,30 ± 0,44% *allo*-Normuscaron enthalten. Daraus wird ein $\Delta G = -0,388$ kcal/Mol für das Gleichgewicht Normuscaron-*allo*-Normuscaron berechnet. Mit anderen Worten, die *cis*-Verbindung Normuscaron ist unter diesen Bedingungen um ca. 0,4 kcal./Mol

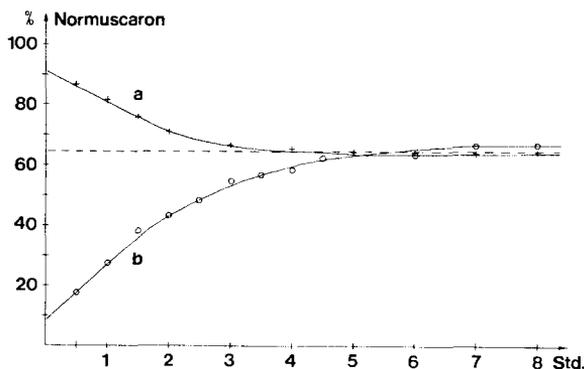


Fig. 4. Zeitlicher Verlauf der Gleichgewichtseinstellung Normuscaron/*allo*-Normuscaron durch saure Isomerisation bei 50°, ausgehend von *allo*-Normuscaron (b) und von Normuscaron (a)

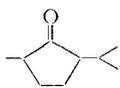
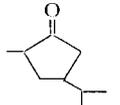
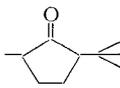
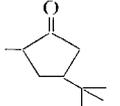
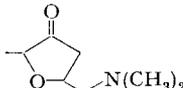
stabiler als *allo*-Normuscaron⁹⁾. Der Stabilitätsunterschied ist gering, aber typisch für disubstituierte Tetrahydrofurane.

5. Zur Konformation von Normuscaron und *allo*-Normuscaron. – Bei der nachfolgenden Diskussion beziehen wir uns auf neuere Analysen des Cyclopentanonsystems [34] [35]. Die Pseudorotation [36] zeigt dann Energiemaxima, wenn das Carbonylsystem erfasst wird. Monoalkylsubstitution in 2 oder 3 wirkt sich auf die Konformationsenergie wenig aus, da $\Delta G_{ax-äq}$ nur ca. 0,1 kcal/Mol. beträgt. Dasselbe trifft auch für *trans*-2,3-Dimethylcyclopentanon und *cis*-2,5-Dimethylcyclopentanon zu; sie weisen beide zwei fast identische Energie-minima bzw. -maxima in denselben Konformationsregionen auf (Nr. 5, 6, 15, 16, 17 der 20 Konformationen der Pseudorotation (vgl. [34] [37])). Der Verlauf der Konformationsenergiekurve ist in diesen Fällen weitgehend durch den Ring selbst und nicht durch Substituenten bestimmt. Die *trans*-2,5-Verbindung ist thermodynamisch stabiler als *cis*-2,5-Dimethylcyclopentanon. Hingegen weicht die Energiekurve des *cis*-2,4-Dimethylcyclopentanons davon stark ab. Sie zeigt ein ausgeprägtes Minimum bei Konformation 16 und die

⁹⁾ Eine Literaturangabe [31] könnte allenfalls so interpretiert werden, dass *allo*-Muscaron stabiler sei als Muscaron; die darin beschriebenen basenkatalysierten Isomerisierungen, die angeblich vollständig in die *allo*-Reihe geführt haben sollen, sind jedoch nicht an den Ketonen, sondern an Vorstufen ausgeführt worden, so dass eine Übertragung der Gleichgewichtsverhältnisse von Normuscaron-*allo*-Normuscaron auf dieses System nicht tunlich ist.

Pseudorotation ist behindert. Das *cis*-2,4-Dimethylcyclopentanon ist thermodynamisch stabiler als die *trans*-2,4-Dimethylverbindung; vgl. Tabelle 6. Die Gesamtenergie der *trans*-Verbindung wird durch Faktoren erhöht, welche offensichtlich noch nicht vollständig bekannt sind. Es ist bedeutsam, dass die grössere Stabilität der *cis*-Verbindung nicht vom Charakter der Substituenten abhängt, sondern eine Funktion der 2,4-Disubstitution am Cyclopentanon ist. Das von uns (Abschnitt 4) bestimmte Isomerisationsgleichgewicht Normuscaron-*allo*-Normuscaron passt gut in die Reihe der substituierten Cyclopentanone (Tabelle 6). Der Austausch einer Methylengruppe im Cyclopentan gegen eine Äthergruppe (Tetrahydrofuran) bringt eine Energiesenkung mit sich, welche durch geringere Wechselwirkung zwischen Methylenprotonen und nichtbindenden Elektronenpaaren am Sauerstoff bedingt ist. Konformationsanalysen von substituierten Tetrahydrofuranen mit Hilfe von NMR.-Messungen haben in neuerer

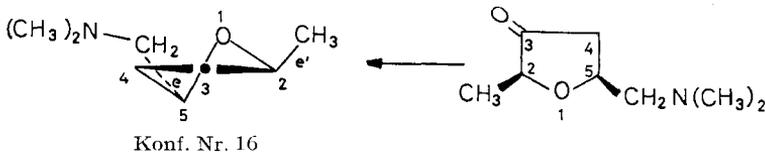
Tabelle 6. Gleichgewichtslagen von *cis-trans* Isomerie (Prozente)

Verbindung	<i>cis</i>	<i>trans</i>	$\Delta G_{298\text{K}}^{\text{cis/trans}}$	Lit.
	31	69	0,476 kcal/Mol	[35]
	70	30	-0,504 kcal/Mol	[35]
	22	78	0,753 kcal/Mol	[35]
	82	18	-0,901 kcal/Mol	[35]
	65	35	-0,388 kcal/Mol (323 K)	a)

a) Diese Arbeit.

Zeit v. Philipsborn & Hansen (vgl. [38]) & Infarnet *et al.* [39] ausgeführt. Danach sind Substituenten mit äquatorialer Stellung gegenüber axialen energetisch etwas begünstigt. Die 1,3-diaxiale Wechselwirkung von CH_3 und CH_3 bzw. CH_3 und H beträgt aber nur ca. 1,0 bzw. 0,2 kcal/Mol. Dem Tetrahydrofuranring in *cis*- und *trans*-1,2-Dimethyltetrahydrofuran und 2,2,4-Trimethyltetrahydrofuran wird von Infarnet *et al.* [39] eine Halbsesselkonformation (C_2) zugeschrieben mit dem Äthersauerstoff in der ursprünglichen Fünfecksebene (Konformationen 6, 16). Hingegen ist eine Envelopekonformation (C_s) mit C(3) ausserhalb der Ebene im kristallinen Muscarinjodid [40] (*cis*-2,5) gefunden worden. Dieselbe Envelopekonformation des Tetrahydrofuranringes soll laut NMR.-Messungen [38] in Lösungen von Muscarinchlorid (*cis*-2,5), *epiallo*-Muscarinchlorid (*trans*-2,5) und deren O-Acetylderivaten vorliegen [38],

hingegen laut Messungen desselben Autors eine C_s -Konformation mit O ausserhalb der Ebene in Lösung von *epi*-Muscarinchlorid (*cis*-2,5), *allo*-Muscarinchlorid (*trans*-2,5) und deren O-Acetylderivaten [38]. Diese auf den ersten Blick widersprüchlichen Ergebnisse lassen sich deuten, wenn man annimmt, dass eine kurze intramolekulare Wasserstoffbrücke im β -Hydroxytetrahydrofuran¹⁰⁾ konfigurationsbestimmend wirkt. In Tetrahydrofuran-3-onen fällt dieses Argument natürlich dahin. Für den Übergang der Carbonylgruppe aus der Ebene heraus ist ein Energieaufwand bis zu 3,5 kcal/Mol (Enveloppe-Spitze) notwendig. Für dasselbe Aufklappen des Äthersauerstoffes in einem Tetrahydrofuranon ist die erforderliche Energie nicht bekannt, sie scheint aber geringer zu sein; vgl. [43]. Wir nehmen für die folgende Diskussion an, dass in den Energieminima der Tetrahydrofuranone der Äther aus der Ebene herausgedreht ist, und dass ähnliche 1,3-diaxiale Wechselwirkungen wie beim *cis*-2,4-Dimethyl-cyclopentanon auftreten¹¹⁾. Für *Normuscaron* folgen dann für die Energieminima der Pseudorotation Konformationen 14, 15, 16, 17, 18 [34], worunter der Halbsessel 16



möglicherweise die günstigste sein dürfte. *Normuscaron* besitzt sicher ebensowenig wie alle bisher besprochenen Cyclopentanone eine starre Konformation.

Die Abschätzung der wahrscheinlichsten Konformation von *allo*-*Normuscaron* bereitet grössere Schwierigkeiten, da bisher kein analog substituiertes Cyclopentanon berechnet worden ist. Es muss, da wesentliche sterische Hinderungen fehlen, eine sehr flexible Molekel sein, deren Konformationsenergie in erster Linie vom Ring selbst bestimmt wird. Tatsächlich zeigen die chiroptischen Eigenschaften (Abschnitt 6), dass die Molekel ausgesprochene Pseudorotation aufweist. In 2-Methyl- und 3-Methylcyclopentanon unterscheiden sich die Konformeren 6 & 16 nur um 0,25 kcal/Mol; das ist die Energiedifferenz zwischen axialer und äquatorialer Stellung des Substituenten. Im *allo*-*Normuscaron* mit axialem und pseudoaxialem Substituenten (Konformation 6) und äquatorialem und pseudoäquatorialem Substituenten (Konformation 16) sind die Konformationsminima vermutlich etwas stärker verschieden, da wir annehmen, dass die längere und rasch rotierende¹²⁾ Dimethylamino-Seitenkette die äquatoriale Position bevorzugen dürfte.

6. Chiroptische Eigenschaften der Norketone und Noralkohole

a. *Anwendung der Benzoatregel* [44] auf die *nor*-Alkohole. Die stereomeren Muscarine zeigen im ORD. schlichte Kurven (Figur 5), die zur Ermittlung der Chiralität nicht

¹⁰⁾ Nachgewiesen von *Eugster & Allner* [41] in β -Hydroxytetrahydrofuran (3612 cm^{-1}), *trans*-Desmethylnormuscarin (3617 cm^{-1}), *epiallo*-Normuscarin (3623 cm^{-1}) und Normuscarin (3623 cm^{-1}); vgl. auch [42].

¹¹⁾ Röntgen-Strukturanalysen von Muscaron und *allo*-Muscaron sind bisher nicht ausgeführt worden.

¹²⁾ Aus der Analyse der Aufspaltung der diastereotopen Seitenketten-Methylenprotonen (*ABC*-System im NMR.) postuliert [38].

dienen können. Versuchsweise haben wir die O-Benzoylverbindungen der stereomeren Norbasen hergestellt, um die Benzoatregel [44] auf ihre Brauchbarkeit in der Tetrahydrofuranol-Reihe zu überprüfen. Die Cotton-Effekte der Benzoate: O-Benzoyl-(2*R*, 3*R*, 5*R*)-*epi*-normuscarin, $\Delta\epsilon_{242} = +1,65$, $a = +66,5$; O-Benzoyl-(2*S*, 3*R*, 5*R*)-*allo*-normuscarin, $\Delta\epsilon_{222} = -1,24$, $a = -50,1$; O-Benzoyl-(2*S*, 3*S*, 5*R*)-*epiallo*-normuscarin, $\Delta\epsilon_{225} = +0,51$, $a = +20,6$; O-Benzoyl-(2*S*, 3*R*, 5*S*)-normuscarin $\Delta\epsilon_{245} = +0,17$, $a = +4,3$, sind im allgemeinen klein verglichen mit den von Harada *et al.* [44] angegebenen Beispielen. Die geringen Amplituden unserer Benzoate lassen auf Gleichge-

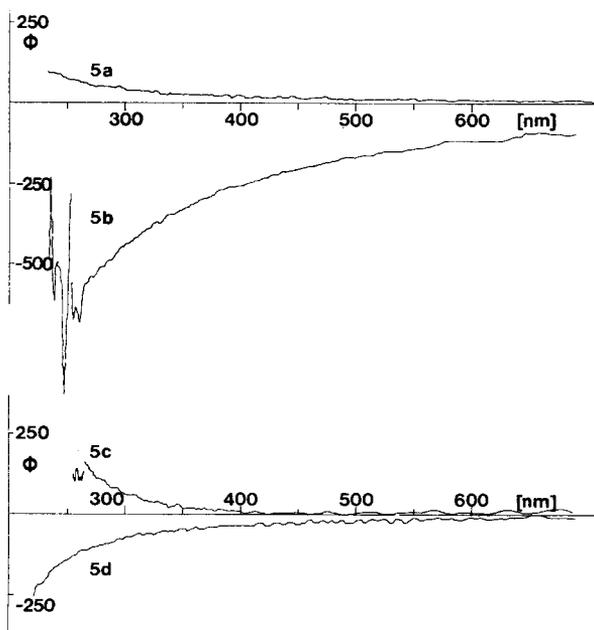


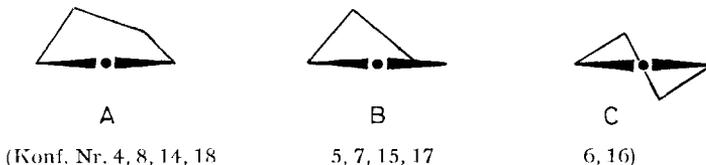
Fig. 5. ORD.-Kurven von (+)-*epi*-Muscarinchlorid (a), (-)-*allo*-Muscarinjodid (b), (+)-*epiallo*-Muscarinjodid (c) und (-)-Muscarinchlorid (d) in Wasser

wichte verschiedener Konformationen schliessen, welche zu teilweise sich kompensierenden Teilbeiträgen zum Cotton-Effekt führen.

Wenn man die Beiträge der einzelnen Konformationen der Pseudorotation zum Cotton-Effekt nach dem Schema der Benzoatregel [44] zusammenstellt, so ergibt sich einzig bei *allo*-Muscarin und *epiallo*-Muscarin eine richtige Voraussage der absoluten Konfiguration, nämlich 18 negative und 2 = 0 Beiträge beim *allo*-Muscarin; 17 positive, 2 negative und 1 = 0 Beiträge beim *epiallo*-Muscarin. Auf eine bestimmte Konformation kann auf Grund der Daten nicht geschlossen werden. Mit der chemischen Herleitung der Chiralität übereinstimmende Voraussagen sind hingegen bei *epi*-Muscarin und Muscarin nach dem gleichen Verfahren bisher nicht möglich gewesen.

b. ORD.- & CD.-Kurven der Tetrahydrofuran-3-one. Unter den 20 Konformationen der Pseudorotation des Cyclopentanons [34] und Normuscarons haben alle ausser 1 und 11 eine asymmetrische Umgebung zur Carbonylgruppe und tragen deshalb zum Vorzeichen des Cotton-Effektes in erster Linie bei. Das Oktantenvorzeichen der Sub-

stituenten besitzt für diese Konformationen nur noch eine untergeordnete Bedeutung. Unter Anwendung des Vorrangkriteriums von *Klyne* [45] ist ersichtlich, dass der Ring in allen Konformationen 2-10 einen positiven und in 12-20 einen negativen *Cotton*-Effekt bewirkt. Erhöhte molekulare Amplitude ist für 6 zu erwarten.



Für Konformationen des Typus A & B, die zwei Oktanten mit entgegengesetztem Vorzeichen besetzen, wird ein Standardwert von $a = 80$ angenommen [45], für C hingegen ein solcher von 220 [45]¹³⁾. Diese Werte liegen den Berechnungen von *Ouannes & Jacques* [34] am *cis-2R-Methyl-4S-isopropyl-cyclopentanon* zugrunde; siehe Tabelle 7.

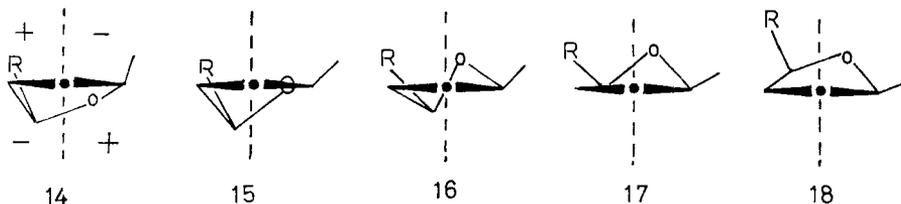
Tabelle 7. Berechnung des Cotton-Effektes von *cis-2R-Methyl-4S-isopropyl-cyclopentanon* [34]

Konformation Nr.	14	15	16	17	18
Konformationsenergie kcal/Mol	9,75	8,85	8,54	9,03	10,02
Population (%)	5,5	26,2	44,6	19,0	3,5
Standard Amplitude	-80	-80	-220	-80	-80
Beitrag	-4,4	-21,0	-98,0	-15,2	-2,8

berechnet¹⁴⁾ $a = -140$

gefunden $a = -80$

Normuscaron. In den analog angenommenen Konformationen des (-)-Normuscarons (14, 15, 16, 17, 18) ist der Beitrag der Substituenten vermutlich nicht ganz zu



vernachlässigen. Die Methylgruppe sitzt in diesen Konformationen stets in einem negativen, die Seitenkette hingegen in einem positiven Oktanten. Je nach dem Beitrag wird der von *2R-Methyl-4S-isopropyl-cyclopentanon* übernommene Wert von -140 modifiziert werden müssen. Konformationen 14-18 gelten für (-)-*2S, 5S-Normuscaron*. Gefunden wurde für «unnatürliches» (+)-*Normuscaron* (siehe Figuren 6 und 7) $a = +104,5$ (aus der CD.-Kurve berechnet), bzw. $a = +80,4$ (aus der ORD.-Kurve).

¹³⁾ Als Mittelwerte aus zahlreichen Messungen an verschiedenartigen Cyclopentanonen sind diese Werte mit einem ziemlich grossen Fehler behaftet.

¹⁴⁾ Beitrag der Substituenten vernachlässigt.

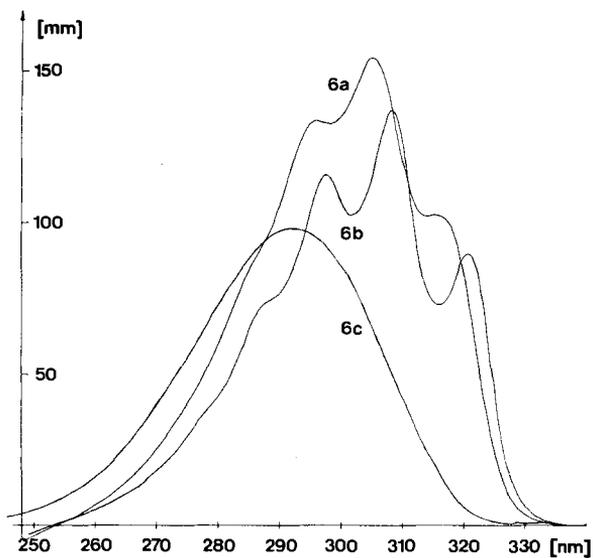


Fig. 6. CD.-Spektren bei 25° von «unnatürlichem» (+)-Normuscaron in Dioxan (a), $a = 104,5$; in Methylcyclohexan|Isopentan 3:1 (b), $a = 114,5$ und von Muscaronchlorid aus $Pt|O_2$ -Oxydation von (-)-Muscarinchlorid (c)

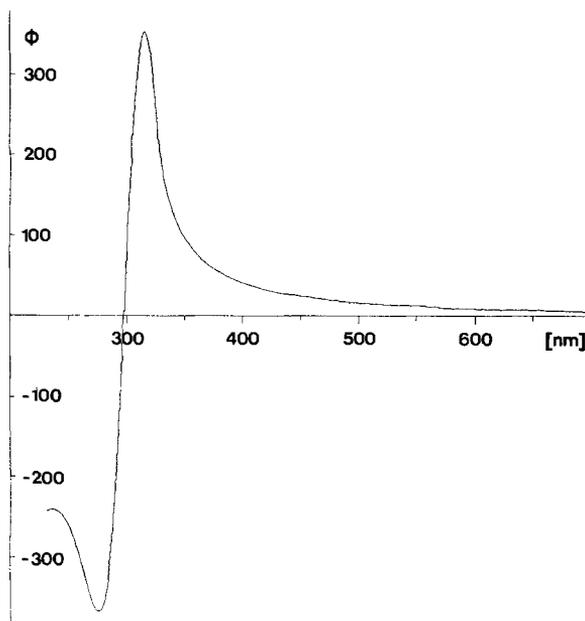


Fig. 7. ORD.-Kurve von «unnatürlichem» (+)-Normuscaron in Wasser, $a = 80,4$

Diese auf den Berechnungen von *Ouannes & Jacques* [34] beruhende Herleitung der Chiralität des Normuscarons (und damit des Muscarins und seiner Stereoisomeren) führt auf einem von der chemischen Verknüpfung unabhängigen Weg zur korrekten Voraussage der Chiralität an C(2) und C(5). Umgekehrt bestätigt sie die Brauchbarkeit der Oktantenregel für die Tetrahydrofuranone.

(-)-*allo*-Normuscaron (optische Reinheit 84%) zeigt bei Zimmertemperatur im Lösungsmittel Dioxan oder Methylcyclohexan-Isopentan (3:1) mit $\Delta\epsilon_{309} = +0,05$ praktisch keinen Cotton-Effekt; siehe Figur 8. Der geringe Messwert konnte eventuell vom beigemengten Normuscaron stammen, das ja nie ganz abgetrennt werden konnte¹⁵⁾. Dann wären die enantiomeren *allo*-Normuscarone voll flexibel und CD.-

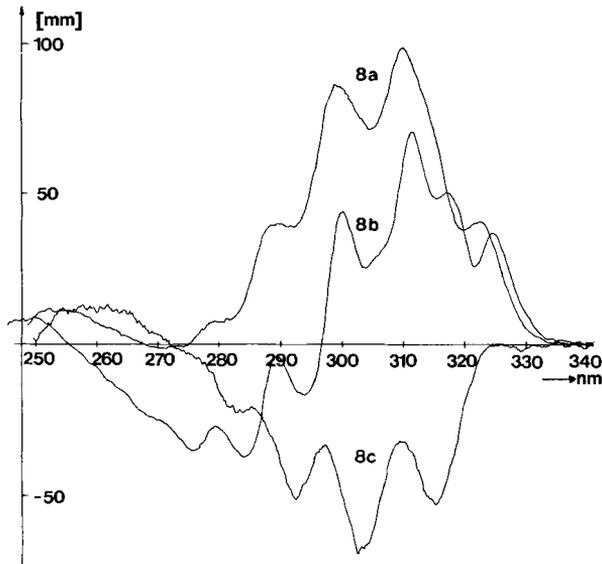
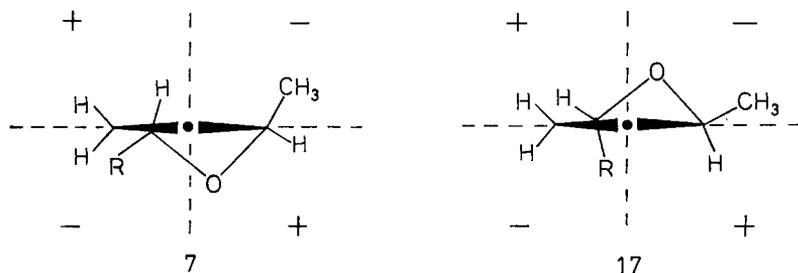


Fig. 8. CD.-Spektren von (-)-*allo*-Normuscaron in Dioxan, 25° (a), $a = 4,68$; in Methylcyclohexan/Isopentan 3:1 bei 25° (b), $a = 3,26$ und bei -192° (c), $a = -13,4$

inaktiv. Die Feinstruktur des Cotton-Effektes ist jedoch ausgeprägter als beim Muscaron, ferner liegt das Maximum etwas längerwellig und schliesslich ist die Lösungsmittel- und Temperaturabhängigkeit grösser.

Wir schreiben deshalb den gefundenen Cotton-Effekt im wesentlichen dem *allo*-Normuscaron zu und deuten ihn dadurch, dass die Konformationen in den Energieminima sich energetisch kaum unterscheiden und demnach im Verhältnis von nahezu 1:1 bevölkert sind. Sie weisen entgegengesetzte Cotton-Effekte auf. Für (2,2,4-(*R*)-Trimethyl-3-oxo-cyclopentyl)-essigsäure unterscheiden sich Konformationen 7 und 17 (berechnete Energieminima) nur um 0,09 kcal/Mol [34]. Über das Vorzeichen entscheidet die Konformation mit äquatorialer Lage der Seitenketten. Die entsprechenden Konformationen sind für *allo*-Normuscaron:

¹⁵⁾ Ob Normuscaron aus einer Isomerisation während der Oxydation oder aus der Aufarbeitung stammt, oder von Anfang an mitgeschleppt worden ist, kann nicht entschieden werden.



Bei 7 liegt der Ring mehrheitlich in einem positiven, bei 17 in einem negativen Oktanten. Der *Cotton*-Effekt dürfte durch die Seitenketten etwas modifiziert werden. Vielleicht überwiegt Konformation 7 mit positivem *Cotton*-Effekt im polaren Lösungsmittel Dioxan, weil intermolekulare Wechselwirkungen die intramolekularen dominieren (Fig. 8, Kurve a). Im unpolaren Lösungsmittel und bei tiefer Temperatur liegt vielleicht vorwiegend 17 vor mit der besseren Möglichkeit einer Wechselwirkung zwischen Carbonyl- und Dimethylamino-Gruppe (Kurve c in Fig. 8). Bei Zimmertemperatur (Kurve b, Fig. 8) liegen die Konformationen 7 und 17 miteinander im Gleichgewicht. Als Resultierende sollte eigentlich die Differenz des Konformationsgleichgewichtes in Erscheinung treten. Dass dies nicht der Fall ist, könnte möglicherweise darauf zurückgeführt werden, dass die elektronischen Übergänge bei verschiedenen Wellenlängen auftreten.

Konformationen 7 und 17 gehören zum (2*S*, 5*R*)-*allo*-Normuscaron, das demnach in Dioxan bei Zimmertemperatur einen positiven und in unpolaren Lösungsmitteln bei tiefer Temperatur einen negativen *Cotton*-Effekt zeigen sollte. Diese Effekte wurden beim (–)-*allo*-Normuscaron festgestellt, dem folglich die Chiralität (2*S*, 5*R*) zugeschrieben wird. Dieses Resultat stimmt mit der chemischen Korrelation bestens überein.

7. Zur Biogenese des Muscarins. – Die bisherigen Hypothesen und Experimente zur Biogenese des Muscarins [46] [47] stützen sich alle auf die von uns vor etlichen Jahren beiläufig und mit aller Reserve geäußerten Vermutung [48], dass *Hexosen* als Vorläufer für Muscarin in Frage kommen können. Inkorporationsversuche mit markierter *D*-Glucose [47] an *Inocybe*-Arten haben so geringe Einbauraten ergeben, dass keine positiven Schlüsse gezogen werden können. Seit dem Nachweis, dass Muscarin in *A. muscaria* und in *Inocybe*-Arten von wechselnden Mengen *aller* Isomere begleitet ist [1] [5] [6] [7]¹⁶⁾, ist unserer Meinung nach die *Hexose*-Hypothese weniger wahrscheinlich geworden, es sei denn, man schreibe den Pilzorganismen eine ausgesprochene Fähigkeit zur *Epimerisierung* zu, oder man nehme für jedes Stereoisomere einen besonderen Vorläufer an.

¹⁶⁾ (+)-(2*S*, 3*R*, 5*S*)-Muscarin ist bis heute (1971) in *Amanita muscaria*, 4 *Clitocybe*- und über 50 *Inocybe*-Arten mit neueren Verfahren nachgewiesen worden. Drehungsbestimmungen sind nur an Präparaten aus *A. muscaria* ausgeführt worden [15] [16] [17]. Die Frage nach der Enantiomerenreinheit von Muscarin aus verschiedenen Pilzarten ist noch nicht beantwortet. Es könnte durchaus sein, dass einzelne Gattungen oder Arten wechselnde Mengen des (–)-Enantiomeren erzeugen. Ein Nachweis wäre vermutlich heute auf gas-chromatographischem Wege möglich; vgl. [1].

Es fällt auf, dass alle bisher aus Pilzen isolierten stereomeren Muscarine identische Chiralität an C(2) aufweisen: (+)-Muscarin ist (2S, 3R, 5S), (–)-allo-Muscarin ist (2S, 3R, 5R), (+)-*epi*-Muscarin ist (2S, 3S, 5S). Wir sagen voraus, dass natürliches epiallo-Muscarin, dessen Isolierung noch aussteht, der (+)-(2S, 3S, 5R)-Antipode sein wird.

Bei Annahme einer gleichartigen Biogenese für Muscarin in *Amanita*, *Inocybe* und *Clitocybe* scheint heute unter Berücksichtigung der neuen Ergebnisse eine andere Hypothese möglich, dass nämlich die Bildung des Muscarins aus kleineren Bruchstücken erfolgt. Versuche, diese Annahme zu bestätigen, sind zur Zeit in unserem Laboratorium im Gange.

Wir danken folgenden Institutionen und Personen für die Unterstützung dieser Arbeit: dem Schweizerischen Nationalfonds (Gesuch Nr. 2.113.69) für die finanzielle Unterstützung; Herrn Prof. Dr. E. Hardegger, ETH Zürich, und Herrn Dr. H. Meister, Hülis, für die Überlassung von Präparaten; Herrn Prof. K. Grob für seine Hilfe bei der Gas-Chromatographie; Herrn Dr. K. Noack, F. Hoffmann-La Roche & Co., Basel, für die Aufnahme von ORD.-Kurven; Herrn dipl. chem. R. Buchecker für CD.- und Herrn dipl. chem. P. X. Iten für NMR.-Messungen; Herrn Prof. W. v. Philipsborn für die Erlaubnis, Resultate aus der nicht publizierten Diplomarbeit von G. Hansen zu zitieren; Herrn H. Frohofer für IR.-Spektren.

Experimenteller Teil

1. *Allgemeines.* Die Gas-Chromatogramme wurden mit einem Carlo-Erba-Fractovap, Modell G1, Typ AID (FID) an einer Glaskapillarkolonne 15,6 und 22 m, \varnothing 0,35 mm, beladen mit Emulphor O/KOH 10% unter folgenden Bedingungen ausgeführt: Verdampferblock 180–200°, Kolonne 120–140°, Trägergas 0,2 at H₂, Split 5–30 ml/Min. Die qualitativen Identifikationen erfolgten durch Zumischen von authentischen Proben, und die quantitative Auswertung mit einem Carlo-Erba-Elektrometer-Digital-Integrator Modell 72.

Pyrolysen quaternärer Chloride erfolgten mit Einwaagen von maximal 50 mg in einem einseitig zugeschmolzenen Pyrexrohr (\varnothing 12 mm) bei 190–240°/0,0001 Torr, wobei die Norbasen in einem angeschmolzenen U-Rohr (\varnothing 7 mm) mit flüssigem Stickstoff ausgefroren wurden.

Kernresonanzspektren wurden auf einem Varian H-A-100 (MHz) Gerät mit Tetramethylsilan als internem Standard aufgenommen.

Die CD.-Spektren wurden an einem Roussel-Jouan-Dichrographen Modell 185 in Dioxan oder Methylcyclohexan-/Isopentan 3:1 gemessen.

2. *Racematspaltung von (\pm)-Muscarin-hydroxid mit (–)-Di-*p*-toluoyl-D-weinsäure.* Aus 5,6 g Muscarinjodid (18,6 mMol) wurden nach [9] durch 6maliges Umkristallisieren 2,1 g (–)-Di-*p*-toluoyltartrat (42%) von (–)-Muscarin erhalten und daraus nach zweimaligem Umkristallisieren aus abs. 2-Propanol/Aceton 563 mg (–)-Muscarinchlorid (73% d. Th.) mit $[\alpha]_D^{25} = -7,5^\circ$ (Alkohol) entspr. 89,4% optische Reinheit.

3. *Racematspaltung von (\pm)-allo-Normuscarin mit (–)-Di-*p*-toluoyl-D-weinsäure.* Eine Lösung von 3,6 g allo-Normuscarin (22,6 mMol) in 400 ml abs. 2-Propanol wurde mit einer heissen Lösung von 8,75 g (–)-Di-*p*-toluoyl-D-weinsäure [8] (22,6 mMol) in 400 ml abs. 2-Propanol versetzt. Nach kurzer Zeit trat Kristallisation ein, welche über Nacht 5,86 g (95%) des sauren Salzes lieferte. Umkristallisation aus 700 ml abs. 2-Propanol ergab 4,5 g (–)-allo-Normuscarin-di-*p*-toluoyl-D-tartrat vom Smp. 166–166,5° (korr., Zers.).

4,1 g dieses Salzes wurden in 15 ml 10-proz. NaOH gelöst. Durch erschöpfendes Ausschütteln mit Äther wurde die Norbase abgetrennt. Ausbeute 880 mg (73,5%), Sdp. 60–80°, 1,5 Torr (Kugellohr) an (–)-allo-Normuscarin mit $[\alpha]_D^{25} = -39^\circ$ (Alkohol; $c = 2,8$); optische Reinheit 100%. Quaternieren mit Methyljodid in Äther ergab (–)-allo-Muscarinjodid mit $[\alpha]_D^{25} = -37,4^\circ$ (H₂O; $c = 1$), Smp. 129–130° (unkorr.).

4. *Partielle Racematspaltung von (\pm)-*epi*-Muscarin mit (–)-Di-*p*-toluoyl-D-weinsäure.* Analog 2 wurden aus 1,04 g (\pm)-*epi*-Muscarinjodid mit 1,33 g (–)-Di-*p*-toluoyl-D-weinsäure aus 22 ml 2-Propanol 1,0 g Tartrat erhalten, das nach viermaliger Umkristallisation konstante Drehung

($[\alpha]_D^{22} = -88,2^\circ$ in Äthanol) und Smp. (147–148°) aufwies. Nach Zerlegung wurden 133 mg (+)-*epi*-Muscarinchlorid mit $[\alpha]_D^{22} = +8,6^\circ$ ($c = 3,13$ in Alkohol) gewonnen. Analog mit (+)-*p*-toluoyl-*L*-weinsäure (–)-*epi*-Muscarinchlorid mit $[\alpha]_D^{22} = -8,4^\circ$ ($c = 4,06$ in Alkohol).

Mit derselben Methode wurde in 3 Ansätzen versucht, durch mehrmaliges Umkristallisieren von 3,5 g, 5,5 g und 7 g des sauren Salzes von (\pm)-*allo*-Muscarin das Racemate in die Antipoden zu spalten. In einem Fall wurden nebeneinander stecknadelkopfgrosse, durchsichtige Kristalle und undurchsichtige igelförmige Drusen erhalten, die mechanisch voneinander getrennt wurden. Aus ersteren (180 mg, Smp. 146–148°) wurden durch Zerlegung und Umkristallisation 80 mg (–)-*allo*-Muscarinjodid mit $[\alpha]_D^{22} = -26,5^\circ$ (Alkohol; $c = 3$) gewonnen.

5. *Chromsäureoxydation der Norbasen*. Pro Ansatz wurden höchstens 200 mg Norbase eingesetzt. Deren Lösung in 5 ml 6N H_2SO_4 wurde mit der Lösung von 80 mg CrO_3 (200%) in 5 ml 6N H_2SO_4 versetzt und 30 Min. auf 50° erwärmt. Dann wurde mit 10 ml Wasser verdünnt, mit festem $NaHCO_3$ neutralisiert und die schwach basische Lösung sofort im Scheidetrichter mit 10 Portionen Äther ausgezogen. Die vereinigten Extrakte wurden mit $MgSO_4$ getrocknet und der Äther über eine *Vigreux*-Kolonnen sorgfältig entfernt. Der Rückstand destillierte im Kugelrohr bei 60–80°/3 Torr. Ausbeute an Norketon ca. 50%.

Auf diese Weise wurden 336 mg (+)-Normuscarin mit $[\alpha]_D = 11,92^\circ$ (Alkohol; $c = 2$) oxydiert; Zusammensetzung: 93,3% Normuscarin; 6,7% *allo*-Normuscarin. Eine weitere Oxydation von 700 mg (–)-*allo*-Normuscarin mit $[\alpha]_D = -39^\circ$ (Alkohol; $c = 2,8$) ergab 340 mg (–)-*allo*-Normuscarin mit $[\alpha]_D = -44,2^\circ$ (H_2O ; $c = 1,4$); Zusammensetzung: 81,1% *allo*-Normuscarin; 3% Normuscarin; 14% *allo*-Normuscarin; 1,9% Nebenprodukte.

6. *Säurekatalysierte Isomerisation der Norketone* (s. Tab. 3). Eine Lösung von 50 mg Norketon in 3 ml Trifluoressigsäure versetzten wir mit 6 Tropfen konz. H_2SO_4 und erwärmten sie 4 Std. im geschlossenen Kolben auf 50°. Anschliessend wurde die Trifluoressigsäure im Wasserstrahlvakuum vorsichtig abdestilliert (beachte: Das Salz von Norketon mit CF_3COOH ist erheblich flüchtig). Der mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung versetzte Rückstand wurde hierauf 8mal mit Methylenchlorid extrahiert; Trocknen über $MgSO_4$; Lösungsmittel über eine *Vigreux*-Kolonnen abdestilliert und das Isomerenmisch im Kugelrohr destilliert (75–100°/4 Torr): Ausbeute 70%.

120 mg (+)-Normuscarin mit $[\alpha]_D = +62,3^\circ$ (H_2O ; $c = 3,6$), Zusammensetzung: 93,3% Normuscarin; 6,7% *allo*-Normuscarin, ergaben 87,3 mg (72,8%) Gemisch der isomeren Ketone, bestehend aus 73% Normuscarin; 27% *allo*-Normuscarin.

7. *Basenkatalysierte Isomerisation der Norketone* (s. Tab. 3). 30 mg *allo*-Normuscarin bzw. Normuscarin wurden mit 1 ml Base versetzt und unter den in Tab. 3 aufgeführten Bedingungen stehengelassen. Für die gas-chromatographischen Untersuchungen wurden Trimethylamin bzw. Triäthylamin im Wasserstrahlvakuum entfernt. Beim Versuch mit wässriger NaOH wurde mit Äther extrahiert. Die Berechnung der prozentualen Zersetzung bezieht sich auf die als Verunreinigung enthaltene Norbase, da sie sich bei der Basenbehandlung nicht verändert.

8. *Reduktion der Norketone* (s. Tab. 2). – a) *Mit $LiAlH_4$* . Die Norketone wurden in Portionen von 50 bis 90 mg mit 2 Äquivalenten klarer, ätherischer $LiAlH_4$ -Lösung während 2–3 Std. entweder bei Zimmertemperatur oder bei –70° gerührt. Darauf wurde das überschüssige Reduktionsmittel mit 70-proz. wässrigem Methanol zerstört, die ausgefallenen Hydroxide durch Zusatz von 1 ml eiskalter 15-proz. NaOH gelöst und die abgetrennte Wasserphase 10mal ausgeäthert. Von den vereinigten und über $MgSO_4$ getrockneten Ätherphasen wurde das Lösungsmittel über eine 5-cm-*Vigreux*-Kolonnen abdestilliert, da die Norbasen etwas ätherflüchtig sind. Anschliessend wurde der Rückstand im Kugelrohr bei 90–120°/1,5 Torr destilliert. Die Ausbeuten betragen 85–90% d. Th.

(–)-*allo*-Normuscarin (90 mg), gelöst in 2 ml Dioxan, wurde durch Zutropfen zu 15 ml der siedenden Lösung von $LiAlH_4$ in Dioxan, gefolgt von Rückflusskochen während 1 Std. reduziert. Nach Abkühlen wurde überschüssiges Reduktionsmittel mit 70-proz. wässrigem Methanol zerstört und die Lösung mit 5 ml 15-proz. NaOH alkalisiert. Nach Sättigung mit NaCl wurde mit Äther erschöpfend ausgezogen. Die vereinigten Extrakte wurden nach Zusatz von etwas ätherischer HCl-Lösung eingedampft. Nach üblicher Zerlegung der Hydrochloride wurden die Norbasen wie oben beschrieben isoliert.

b) *KBH_4 -Reduktion*. Eine Lösung von ca. 8 mg Normuscarin in Methanol/Wasser 1:1 wurde mit 2 Äquivalenten KBH_4 während 6 Std. bei 50–60° gehalten und über Nacht bei 25° stehengelassen. Nach dem Verdünnen auf das doppelte Volumen wurde überschüssiges Hydrid mit einigen

Tropfen 2N HCl zerstört und die anschliessend alkalisierte Lösung mit Methylchlorid ausgeschüttelt. Der Rohextrakt lieferte im Gas-Chromatogramm die relativen Verhältnisse der Norbasen.

c) *Amalgam-Reduktion*. Je 7 mg Normuscaron in 0,5 ml feuchtem Äther wurden mit überschüssigem 2-proz. Na-Amalgam versetzt und 3 bzw. 6 Std. bei 22° bzw. 36° gehalten. Dann wurde die Ätherphase mit Sole geschüttelt und gas-chromatographiert. Zur Hauptsache wurde unverändertes Keton gefunden.

d) *Diboran-Reduktion*. Zu einer Lösung von destilliertem B_2H_6 in Tetrahydrofuran wurden 30 mg Norketone in wenig Äther bei Zimmertemp. getropft. Nach 1 Std. Rühren wurde die Lösung mit 1 ml 2,5N methanolischer HCl versetzt und wiederholt unter Zugabe von Methanol eingedampft, bis die Borprobe negativ ausfiel. Die verbliebene Lösung wurde in 2N $KHCO_3$ -Lösung aufgenommen und mit Methylchlorid ausgeschüttelt.

9. *Chromatographische Trennung der optisch aktiven Norbasen*. Das nach 6 durch säurekatalysierte Isomerisation von optisch aktivem (+)-Normuscaron erhaltene Norketongemisch (87 mg) wurde in zwei Portionen mit 100% Überschuss $LiAlH_4$ in Äther bei -70° nach 8a reduziert und lieferte 77,3 mg (88%) Noralkoholgemisch, Sdp. $90-120^\circ/1,5$ Torr (Kugelrohr), bestehend aus 34,2% *epi*-Normuscarin, 25,8% *allo*-Normuscarin, 3,4% *epiallo*-Normuscarin und 36,6% Normuscarin. Es wurde an 20 g Aluminiumoxid, *Woelm* neutral, desaktiviert mit 1 g H_2O , zuerst mit 300 ml reinem Benzol chromatographiert (Fraktionen zu 12 ml), wobei noch kein *epi*-Normuscarin im Eluat feststellbar war. Darauf wurde Benzol mit 0,5% Methanol-Zusatz und ab Frakt. 130 Benzol mit 5% Methanol-Zusatz zur Elution verwendet. Fraktionen: 83–85, *epi*-Normuscarin; 86–87, Mischfraktionen; 88–130, *allo*-Normuscarin; 145–157 Normuscarin + 10% *epiallo*-Normuscarin. Die aus den vereinigten Fraktionen durch Destillation erhaltenen Norbasen wurden mit Methyljodid in Äther quaterniert. Daten betr. Norbasen und quaternäre Salze s. Tab.

Produkte aus Norketongemisch aus (+)-Normuscaron	Ausbeute	$[\alpha]_D^{22}$ exp. (Lösungsmittel; c)	$[\alpha]_D$ korr.*
(-)- <i>epi</i> -Normuscarin	26 mg	$-44,6^\circ$ (C_2H_5OH ; 2,5)	$-53,5^\circ$
(-)- <i>epi</i> -Muscarinjodid		$-34,8^\circ$ (H_2O ; 3,4)	$-38,9^\circ$
(-)- <i>allo</i> -Normuscarin	15 mg	$-34,4^\circ$ (C_2H_5OH ; 1,5)	$-38,3^\circ$
(-)- <i>allo</i> -Muscarinjodid		-23° (H_2O ; 0,6)	$-25,7^\circ$
(+)-Normuscarin	15 mg	$+11,3^\circ$ (C_2H_5OH ; 1)	$+10,7^\circ$
(-)-Muscarinchlorid		$-8,9^\circ$ (C_2H_5OH ; 2)	$-8,9^\circ$

*) Unter Berücksichtigung der optischen Reinheit des Ausgangsmaterials (Muscarinchlorid) sowie der gas-chromatographisch festgestellten Reinheit.

165 mg Norbasengemisch aus der Reduktion (8a) von (-)-*allo*-Normuscaron, enthaltend 2,2% *epi*-Normuscarin, 72,8% *allo*-Normuscarin 22,2% *epiallo*-Normuscarin und 2,8% Normuscarin, wurden für die Auftrennung an 30 g Aluminiumoxid wie oben chromatographiert (Fraktionen zu 6 ml). Fraktionen: 34–35, Mischfraktion; 36–40, *allo*-Normuscarin; 52–65, *epiallo*-Normuscarin. Daten betr. Norbasen und quaternäres Salz s. Tab.

Produkte aus «(-)- <i>allo</i> -Normuscaron»	Ausbeute	$[\alpha]_D$ exp.	$[\alpha]_D$ korr.*
(-)- <i>allo</i> -Normuscarin	80 mg	-38° (C_2H_5OH ; 2,2)	-38°
(+)- <i>epiallo</i> -Normuscarin	15 mg	$+16,7^\circ$ (C_2H_5OH ; 2,3)	$+18,6^\circ$
(+)- <i>epiallo</i> -Muscarinjodid		$\geq 0^\circ$ (H_2O ; 1)	

*) Unter Berücksichtigung der optischen Reinheit des Ausgangsmaterials (-)-*allo*-Normuscarins sowie der gas-chromatographisch festgestellten Reinheit.

10. *Katalytische Oxydation von Muscarinchlorid*. 20 mg Muscarinchlorid ($[\alpha]_D^{25} = -3,92^\circ$ (H_2O)) wurden in 5 ml H_2O mit Platin aus 40 mg PtO_2 (nach *Adams*) mittels Sauerstoff während 14 Std.

oxydiert. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators über Celite wurde das Filtrat abgedampft. CD. s. Fig. 6.

11. S_N2 -Reaktionen an *allo-Normuscarin* (s. Tab. 4). – a) *O-Tosyl-*allo-normuscarin**. 100 mg *allo-Normuscarin* wurden mit 130 mg *p*-Toluolsulfochlorid (110%) in 2 ml abs. Pyridin 15 Std. bei 25° stehengelassen und 2 Std. auf 60° erwärmt. Dann wurde das Gemisch im Vakuum vom Pyridin befreit. Die Lösung des Rückstands (Hydrochlorid des Tosylates) in Eiswasser wurde nach Zugabe von Hydrogencarbonat ausgeäthert und der Extrakt über $MgSO_4$ getrocknet. Die Ausbeuten betragen 70%.

b) *O-Acetyl-epiallo-normuscarin*. *O-Tosyl-*allo-normuscarin** wurde in 4 Versuchen mit 2–4 Äquivalenten wasserfreiem K-Acetat in 2 ml Eisessig zur Reaktion gebracht (Bedingungen s. Tab. 4). Dann wurde mit Wasser auf das doppelte Volumen verdünnt, mit Na_2CO_3 neutralisiert und mit Äther ausgeschüttelt. Da bei der gas-chromatischen Überprüfung der ersten Versuche sehr viel leichtflüchtige Nebenprodukte festgestellt wurden, welche vermutlich durch Elimination entstanden waren, wurde bei weiteren Aufarbeitungen nur noch mit Hydrogencarbonat neutralisiert und z. T. das Hydrochlorid des *O-Tosyl-*allo-normuscarin**s direkt für die S_N2 -Reaktion eingesetzt. Mit Dimethylformamid als Lösungsmittel entstanden ebenfalls viel Nebenprodukte. Für die Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Äther auf 60 ml verdünnt und 6mal mit je 10 ml H_2O und 2mal mit Sole ausgeschüttelt und über $MgSO_4$ getrocknet.

Die Produkte der S_N2 -Reaktionen wurden jeweils im Kugelrohr bei 60–90°/6 Torr destilliert.

c) *epiallo-Normuscarin*. Das erhaltene, z. T. noch stark verunreinigte *O-Acetyl-epiallo-normuscarin* wurde in Methanol mit 2N NaOH unter Rückfluss verseift.

d) *3-Chlor-3-desoxy-*allo-normuscarin**. Eine Lösung von 100 mg *allo-Normuscarin* in 2 ml Pyridin wurde bei 0° mit 90 mg (120%) $SOCl_2$ tropfenweise versetzt, nach 30 Min. auf Zimmertemperatur erwärmt, hierauf 14 Std. stehengelassen und weitere 2 Std. auf 70° erwärmt. Im Wasserstrahlvakuum wurde darauf stark eingeeengt, der Rückstand in Eiswasser aufgenommen und nach dem Neutralisieren mit $NaHCO_3$ mit Äther ausgeschüttelt. Die Basen wurden im Kugelrohr bei 60–90°/9 Torr destilliert.

Beim Versuch, 3-Chlor-3-desoxy-*allo-normuscarin* mit K-Acetat in Eisessig umzusetzen, war nach 48 Std. Kochen unter Rückfluss noch keine Reaktion eingetreten.

e) *O-Mesyl-*allo-normuscarin**. Eine Lösung von 100 mg *allo-Normuscarin* in 2 ml Pyridin wurde bei 0° unter Rühren langsam mit 90 mg (120%) Methansulfochlorid versetzt. Nach 14 Std. bei Zimmertemperatur wurde das Gemisch im Wasserstrahlvakuum eingedampft und der Rückstand in Eiswasser aufgenommen, mit $NaHCO_3$ neutralisiert und mit Äther ausgeschüttelt. Substitutionsversuche, s. Tab. 4.

12. *O-Benzoylverbindungen der Norbasen*. Eine Lösung von 5–20 mg Norbase in abs. Pyridin wurde je mit 4 Äquivalenten Benzoylchlorid versetzt, 14 Std. bei Zimmertemp. stehengelassen und weitere 15 Min. auf 65° erwärmt. Darauf wurde im Wasserstrahlvakuum eingedampft, der Rückstand (Hydrochlorid) in Eiswasser aufgenommen und ein erster, saurer Ätherextrakt (Benzoesäure) verworfen. Aus der anschliessend mit $NaHCO_3$ neutralisierten Wasserphase wurde das Benzoat mit Äther extrahiert. Nach Chromatographie an 3–4 g Aluminiumoxid (*Woelm*, neutral) mit Äther/Aceton 1:1 wurde das gereinigte Benzoat im Kugelrohr bei 110–120°/0,05 Torr destilliert. CD.-Daten s. unter 6.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. Bollinger & C. H. Eugster, *Helv. 54*, 1332 (1971).
- [2] E. Hardegger & F. Lohse, *Helv. 40*, 2383 (1957).
- [3] H. C. Cox, E. Hardegger, F. Kögl, P. Liechti, F. Lohse & C. A. Salemink, *Helv. 41*, 229 (1958).
- [4] E. Hardegger, H. Furter & J. Kiss, *Helv. 41*, 2401 (1958).
- [5] C. H. Eugster & E. Schleusener, *Helv. 52*, 708 (1969).
- [6] Ph. Catalfomo & C. H. Eugster, *Helv. 53*, 848 (1970).
- [7] E. Schleusener & C. H. Eugster, *Helv. 53*, 130 (1970).
- [8] A. Stoll & A. Hofmann, *Helv. 26*, 922 (1943).
- [9] C. H. Eugster, F. Häfliger, R. Denss & E. Girod, *Helv. 41*, 886 (1958).
- [10] C. A. Salemink & M. C. Cox, *Rec. Trav. chim. Pays-Bas 80*, 632 (1961).
- [11] F. Häfliger, unveröffentlicht (1958).
- [12] A. Brossi & S. Teitel, *J. org. Chemistry 35*, 3559 (1970).

- [13] *T. A. Montzka, T. L. Pindell & J. D. Matiskella*, *J. org. Chemistry* **33**, 3993 (1968).
- [14] *C. H. Eugster*, *Fortschr. Chem. org. Naturst.* (Ed. *L. Zechmeister*) **27**, 288 (1969).
- [15] *C. H. Eugster & P. G. Waser*, *Experientia* **10**, 298 (1954).
- [16] *C. H. Eugster*, *Helv.* **39**, 1002 (1956).
- [17] *F. A. Kuehl, N. Lebel & J. W. Richter*, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 6663 (1955).
- [18] *C. H. Eugster & P. G. Waser*, *Helv.* **40**, 888 (1957).
- [19] *C. H. Eugster*, *Helv.* **39**, 1023 (1956).
- [20] *C. H. Eugster, F. Häfliger, R. Denss & E. Girod*, *Helv.* **41**, 205 (1958).
- [21] *C. H. Eugster*, *Adv. org. Chemistry* (Ed. *Raphael, Taylor, Wynberg*), **2**, 427 (1960).
- [22] *E. Hardegger & N. Halder*, *Helv.* **50**, 1275 (1967).
- [23] *M. Fétizon, M. Golfier & M. Janot*, *C. r. hebd. Séances Acad. Sci. (Paris)* **267**, 900 (1968).
- [24] *K. Grob*, *Helv.* **51**, 718 (1968).
- [25] *C. H. Eugster, F. Häfliger, R. Denss & E. Girod*, *Helv.* **41**, 583 (1958).
- [26] *L. Gyermek & K. Unna*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **98**, 882 (1958); *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* **128**, 30 (1960).
- [27] *P. G. Waser*, *Pharmacol. Revs.* **13**, 465 (1961); *Experientia* **17**, 300 (1961); *B. Belleau & J. Puranen*, *J. med. Chemistry* **6**, 325 (1963); *R. B. Barlow*, «Steric Aspects of the Chemistry and Biochemistry of Natural Products», Cambridge Univ. Press 1960; *P. Pauling*, *J. med. Chemistry* **14**, 3 (1971).
- [28] *A. H. Beckett*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **144**, 675 (1967).
- [29] *L. Gyermek & K. Unna*, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* **128**, 37 (1960).
- [30] *C. H. Eugster, R. E. Rosenkranz, K. Allner, R. Good & W. v. Philipsborn*, *Helv.* **46**, 1259 (1963).
- [31] *E. Hardegger, H. Corrodi & N. Charialte*, *Helv.* **44**, 1193 (1961).
- [32] *N. Halder*, *Diss. Nr. 3594*, ETH Zürich 1965.
- [33] *T. Matsumoto & A. Ichihara*, *Biochem. Z.* **331**, 580 (1959).
- [34] *C. Ouannes & J. Jacques*, *Bull. Soc. chim. France* **1965**, 3601.
- [35] *D. Varech & J. Jacques*, *Bull. Soc. chim. France* **1969**, 3505.
- [36] *J. E. Kilpatrick, K. S. Pitzer & R. Spitzer*, *J. Amer. chem. Soc.* **69**, 2483 (1947).
- [37] *J. B. Hendrickson*, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 4537 (1961).
- [38] *G. Hansen*, *Diplomarbeit*, Univ. Zürich 1965.
- [39] *Y. Infarnet, J. C. Duplan, J. Delman & J. Huet*, *C.r. hebd. Séances Acad. Sci. (Paris)* **269**, 1415 (1969).
- [40] *F. Jellinek*, *Acta crystallogr.* **10**, 277 (1957).
- [41] *C. H. Eugster & K. Allner*, *Helv.* **45**, 1750 (1962).
- [42] *W. W. Zajac, F. Sweet & R. K. Brown*, *Canad. J. Chemistry* **46**, 21 (1968).
- [43] *K. S. Pitzer & W. E. Donath*, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 3213 (1959).
- [44] *N. Harada, Mo. Ohashi & K. Nakanishi*, *J. Amer. chem. Soc.* **90**, 7349 (1968).
- [45] *W. Klyne*, *Tetrahedron* **13**, 29 (1961).
- [46] *M. W. Miller*, «Handbook of Microbial Metabolites», S. 291, McGraw-Hill, New York, N.Y. 1961; *E. Lecte*, «Alkaloid Biogenesis» (Ed. *P. Bernfeld*), S. 791, Mac Millan N.Y. 1963; *H. R. Schütte (K. Mothes & H. R. Schütte, Ed.)*, «Biosynthese der Alkaloide», S. 178, VEB Verlag d. Wissenschaften, Berlin 1969.
- [47] *J. K. Brown, V. E. Tyler, Jr. & L. R. Brady*, «Biochemie & Physiologie der Alkaloide», Symposium 1965, Akademie Verlag, Berlin 1966; *J. K. Brown*, «Studies on the Physiology and Biosynthesis of Muscarine in *Inocybe* Species»; Thesis, University of Washington 1965; *Mei-Lie Lin Swenberg*, «Production of Muscarine in *Clitocybe rivulosa (Pers. ex Fries) Kummer* surface culture», Thesis, University of Connecticut 1968.
- [48] *C. H. Eugster*, *Rev. Mycol. (Paris)* **24**, 369 (1959).