

wird verschlossen, kurz erhitzt und verschlossen 1–2 Tage stehengelassen. Die labilen Produkte **9** und **10** sowie das «Sepiapterin-ähnliche Produkt» sind nur zu Beginn der Reaktion zu beobachten, da sie unter den Reaktionsbedingungen weiter verändert werden. Der Abbau wird über einen längeren Zeitraum in relativ kurzen Intervallen chromatographisch verfolgt.

Zur Identifizierung der Abbauprodukte trennt man einen genügenden Teil der Reaktionslösung zweidimensional auf Cellulosedünnschichtplatten (*Merck*, 0,2 mm) oder Cellulosefolien (*Machery & Nagel* MN 300 CEL) auf. Dazu wird ein Teil der Reaktionslösung in einer Ecke der 20 cm-Platten aufgetragen und zuerst mit *n*-Propanol/1% NH₃ 2:1 bzw. 1 M Essigsäure, dann mit 3proz. wässriger NH₄Cl-Lösung bzw. 4proz. wässriger Natriumcitratlösung zweidimensional chromatographiert.

Die elektrophoretischen Trennungen führten wir in einer kleinen Elektrophoresekammer auf Papier Nr. 2045 von *Schleicher & Schüll* mit 1 M Essigsäure bei 400 V/2 mA durch.

Neben der Charakterisierung der Hydrolyseprodukte auf der Basis vergleichender R_f-Werte und Wanderungsgeschwindigkeiten mit den authentischen Materialien wurden zusätzlich die Reflexionsspektren zur Sicherung der Identität aufgenommen. Die Papierelektrophorese bietet hierfür besondere Vorteile, da die Abbauprodukte in scharf abgegrenzten Flecken unter guter Auftrennung wandern.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *H. Braun & W. Pfeleiderer*, Collect. czechoslov. chem. Commun. im Druck.
- [2] *M. Lederer*, Biol. Rev. Cambridge philos. Soc. 15, 273 (1940).
- [3] *M. Viscontini, E. Hadorn & P. Karrer*, Helv. 40, 579 (1957).
- [4] *M. Viscontini*, Helv. 41, 1299 (1958).
- [5] *M. Viscontini* in Pteridine Chemistry, *W. Pfeleiderer & E. C. Taylor* (Edit.), S. 579, Pergamon Press, London 1964.
- [6] *M. Viscontini*, Ind. chim. belge 10, 1181 (1960).
- [7] *W. Pfeleiderer*, Angew. Chem. 75, 1008 (1963).
- [8] *M. Viscontini & M. Piraux*, Helv. 46, 1537 (1963).
- [9] *W. Pfeleiderer* in Chemistry and Biology of Pteridines, *K. Iwai, M. Akino, M. Goto & T. Iwanami*, S. 7, Internat. Acad. Printing Co. Ltd., Tokyo 1970.
- [10] *T. Svedberg & K. O. Pederson*, Die Ultrazentrifuge, Th. Steinkopf, Dresden und Leipzig 1940. The Ultracentrifuge, Clarendon Press, 1940. The Ultracentrifuge, photochem. Nachdruck Johnson, Reprint Co., New York 1960.
- [11] *H. Schlobach & W. Pfeleiderer*, Angew. Chem. 83, 440 (1971); Angew. Chem. internat. Edit. 10, 414 (1971).
- [12] *P. B. Russell, R. Purrmann, W. Schmitt & G. Hitchings*, J. Amer. chem. Soc. 71, 3412 (1949).

251. Die physikalischen Eigenschaften der roten Augenpigmente aus *Drosophila melanogaster*, einer neuen Klasse atropisomerer Naturstoffe

Pteridine, LIII¹⁾

von **Heinrich Schlobach**²⁾ und **Wolfgang Pfeleiderer**

Aus dem Fachbereich Chemie der Universität Konstanz

(25. VIII. 72)

Summary. UV./VIS.-, ORD.-, CD.- and fluorescence spectra of the drosopterins are discussed on the basis of the proposed structure **1**. The drosopterins show 4 pK-values in the normal pH range and are relatively basic compounds as can be seen from electrofocussing and electrophoresis

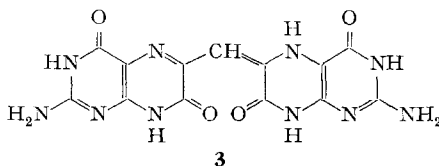
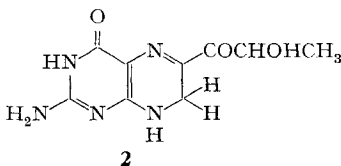
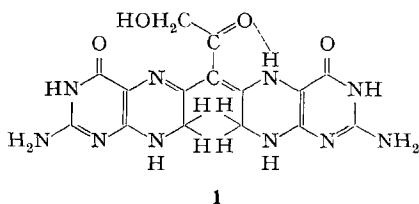
¹⁾ LII. Mitteilung: siehe [1].

²⁾ Teil der Dissertation *H. Schlobach*, Univ. Konstanz 1971.

experiments. Solvatochromic effects are in agreement with the merocyanine character of the pigments. Polarographic studies revealed two twoelectron waves of reduction as expected from the structure.

Ein charakteristisches Merkmal der roten Augenpigmente Droso- und Isodrosopterin (**1**) aus der Fliege *Drosophila melanogaster* sind die langwelligen Absorptionsbanden im Bereich von 500 nm [2] und deren hohe Extinktionskoeffizienten von $\epsilon > 30000$. Diese Tatsache erklärt sich aus dem Vorhandensein eines ausgedehnten Konjugationssystems, wie es in **1** durch das gekreuzt konjugierte vinyloge Amid- bzw. Amidinsystem zum Ausdruck kommt.

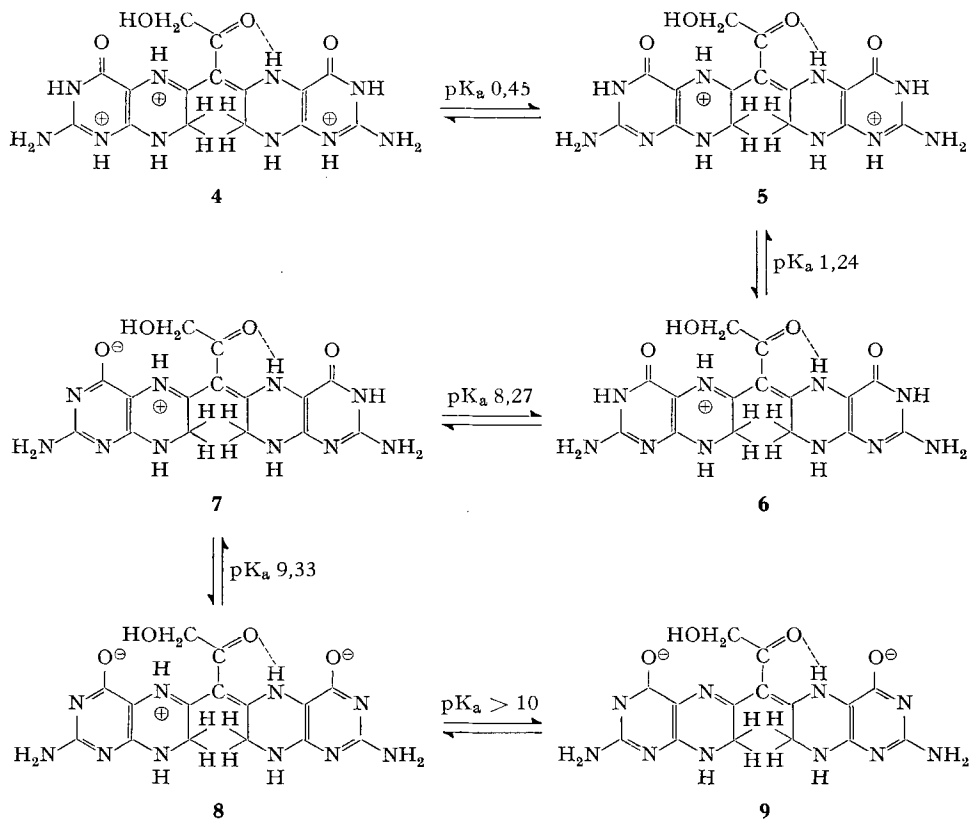
Im Vergleich zum Sepiapterin (**2**) [3], einem monomeren 7,8-Dihydropterin langwelliger Absorption im Bereich von 410–440 nm, und dem Diisoxanthopterylmethan-Farbstoff Allopterorhodin (**3**) [4], welcher bei 560–600 nm absorbiert, nehmen die Drosopterine eine auch strukturell sichtbare Mittelstellung ein.



Diese Beispiele stehen nicht für sich allein, denn geeignet verknüpfte Pteridin-Dimere, wie sie etwa bei der Luftoxydation von alkalischen Tetrahydropterin-Lösungen [5] oder der Alkalibehandlung von 6-Oxo-5,6-dihydro-pteridin [6] [7] entstehen, sind allgemein in der Lage, recht langwellig zu absorbieren.

Bemüht man sich, die schon früher festgestellte Abhängigkeit der UV.-/VIS.-Spektren [2] der Drosopterine vom pH-Wert mit den pK-Werten verschiedener Dissoziationsgleichgewichte zu korrelieren, so zeigt die übliche spektrophotometrische Bestimmung, dass sowohl im sauren Bereich bei pH 1 als auch im alkalischen Gebiet bei pH 8–9 jeweils zwei dicht beieinanderliegende überlappende pK-Werte vorhanden sein müssen. Die komplexen Verhältnisse lassen sich jedoch zu je zwei isobestischen Kurvenscharen entwirren, wenn man im entscheidenden pH-Bereich die einzelnen Kurven in kleinen Intervallen von 0,2 pH-Einheiten aufnimmt. Es resultieren hieraus im normalen pH-Bereich insgesamt 4 pK_a-Werte bei 0,45, 1,24, 8,27 und 9,33, die wir folgenden Gleichgewichten zuordnen.

Diese Zuordnung gründet sich auf Elektrophorese-Versuche und eine Elektrofokussierung. Es war uns in Analogie zu den Beobachtungen von *Viscontini* [2] bei papierelektrophoretischen Experimenten ebenfalls aufgefallen, dass lediglich in einem engen pH-Bereich zwischen 8 und 9 keine Wanderung erfolgt, während sich die Drosopterine unterhalb von pH 7 zur Kathode und oberhalb pH 10 zur Anode be-


 Tab. 1. UV.-Absorptionsspektren des Droso- und Isodrosopterins (1) (\square = Schulter)

	pK-Wert in Wasser 20°	UV./VIS.-Absorptionsspektrum				pH	Molekelart		
		λ_{max} (nm)	lg ϵ						
4	0,45 ± 0,1	262	[295]	455	4,24 [3,94]	4,34	-1,5	+++ Tri- kation	
5	1,24 ± 0,02	219	267	[325]	470	4,45 4,12 [3,64]	4,36	0,80	++ Di- kation
6	8,27 ± 0,04	220	273	[324]	478	4,55 4,12 [3,72]	4,42	5,0	+ Mono- kation
7	9,33 ± 0,02	216	265	[330]	485	4,51 4,13 [3,64]	4,42	8,8	± Neutral- molekel
8	>10	210	264	[330]	493	4,55 4,16 [3,64]	4,43	10,0	- Mono- anion
9		210	265	337	502	4,87 4,24 3,79	4,54	13,0	-- Dianion

wegen. Dieser Befund, dass es sich bei den Augenpigmenten um relativ basische Molekeln handelt, wurde dann durch die Elektrofokussierung bestätigt, da hierbei in einem *Drosophila*-Extrakt die Drosopterine zwischen pH 8,7 und 9 konzentriert werden. Es besteht damit auch gute Übereinstimmung mit den pK_a -Werten des Über-

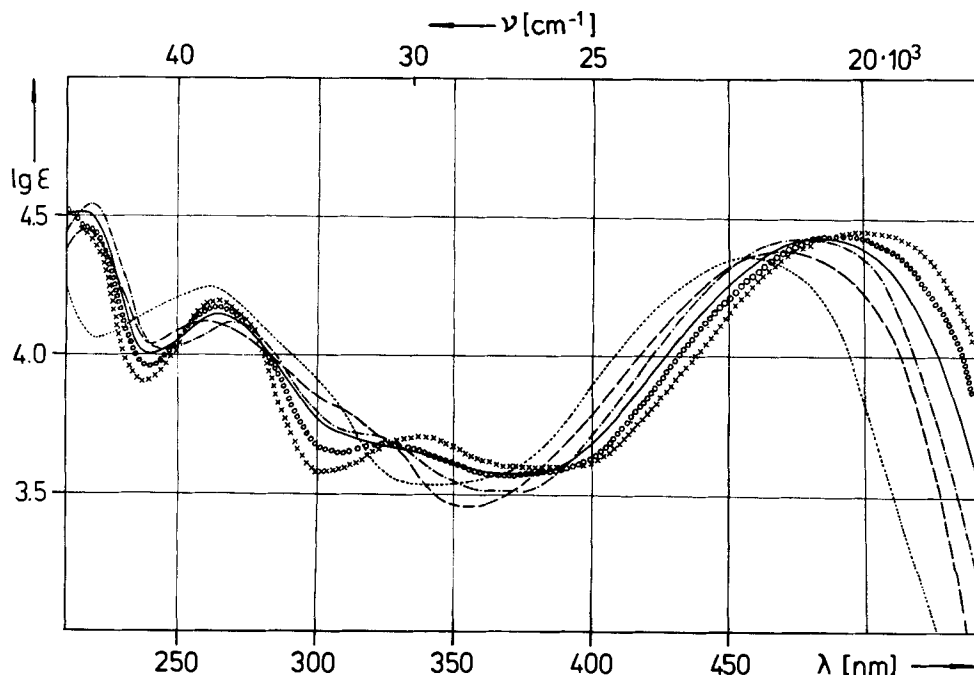


Fig. 1. UV.-VIS.-Absorptionsspektren von Triktion (4)

.... (pH -1,5), Dikation (5) ----- (pH 0,8), Monokation (6) - · - · - (pH 5), Neutralmolekel (7)
 ——— (pH 8,8), Monoanion (8) ○○○○○○ (pH 11,0) und Dianion (9) ×××××× (pH 13,0) des Droso- und Isodrospterins

ganges Neutalmolekel → Monokation bei 8,27 einerseits und Neutalmolekel → Monoanion bei 9,33 andererseits bzw. deren arithmetischem Mittel von 8,8.

Die langwellige Absorptionsbande verschiebt sich beim Übergang vom sauren zum alkalischen pH-Gebiet stufenweise bathochrom vom Triktion 4 bei 455 nm bis zu 502 nm beim Dianion 9. Die reinen Spektren des Dikations 5 und der Neutalmolekel 7 lassen sich verständlicherweise nicht erhalten, sondern stellen bei pH 0,80 bzw. 8,8 Überlagerungen mit entsprechenden Anteilen an 4 und 6 bzw. 6 und 8 dar. Obwohl der Verlauf der Spektren oberhalb pH 10 auf einen weiteren Übergang Monoanion 8 → Dianion 9 hinweist, lässt sich der dazugehörige pK-Wert aufgrund der zunehmenden Instabilität der Drosopterine im alkalischen Medium nicht mehr bestimmen. Ferner muss man anhand der besonderen Konstitution der Drosopterine annehmen, dass der Neutalmolekel aller Wahrscheinlichkeit nach eine zwitterionische Struktur 7 und keine Neutalform 1 zu eigen ist. Es bleibt dadurch über einen weiten pH-Bereich das stabile, symmetrische Amidinium-System erhalten, welches erst nach Deprotonierung am N(5) einen nucleophilen Angriff am benachbarten C(6) erlaubt und dann den hydrolytischen Abbau¹⁾ der Molekel zulässt.

Der aus der Molekelstruktur hervorgehende basische Charakter von Droso- und Isodrospterin und die damit verbundenen polaren Eigenschaften machen es verständ-

lich, dass diese Pigmente als Merocyanine aufgefasst werden können und demzufolge Solvatochromieeffekte zeigen (Tab. 2).

Tabelle 2. Lösungsmittelabhängigkeit der langwelligen Absorptionsbande der Drosopterine

Lösungsmittel protisch	DK	λ_{\max} (nm)	+ 20% H ₂ O		Solvatochromie
			λ_{\max} (nm)	λ_{\max} (nm)	
Wasser	80	478			↑ -
Methanol	32,6	485	485		
Äthanol	24,3	492	485		
Pyridin	12,5	512	500		
aprotisch					
Dimethylformamid	109	510	500		↑ +
Dimethylsulfoxid	48	500	490		
Acetonitril	37,5	495	485		
Aceton	21	490	480		

Diskutiert man diese Effekte auf der Basis der Dielektrizitätskonstanten, so findet man je nach der Natur der Lösungsmittel zwei Reihen, von denen die protischen Solventien mit zunehmender Polarität eine negative Solvatochromie und die aprotischen Vertreter eine positive Solvatochromie zeigen. Ein Zusatz von 20% Wasser verändert das Bild prinzipiell nicht, sondern bedingt lediglich eine Parallelverschiebung.

Die interessanten Molekeleigenschaften der Drosopterine werden in erster Linie von sterischen Faktoren bestimmt. So ist es aufgrund der 7,8-Dihydrostruktur sowie der sperrigen Seitenkette nicht möglich, eine coplanare Anordnung der beiden Pterinmolekeln zu erreichen, d. h. die freie Drehbarkeit um die formale Einfachbindung der Ringverknüpfung ist so stark gehindert, dass es uns, selbst unter den verschiedensten Bedingungen, nicht gelang, eine Isomerisierung des Droso- in das Isodrosopterin bzw. umgekehrt zu erreichen. Die Dissymmetrie der Molekel bringt somit das Auftreten zweier Molekelformen mit sich, welche aufgrund der spiegelbildlichen ORD.- und CD.-Spektren, der ausschliesslichen Trennbarkeit an der chiralen Cellulose und den gleichen UV.-/VIS.- sowie NMR.-Spektren als Enantiomere charakterisiert sein dürften. Die durch die sterischen Bedingungen erzwungene Auslenkung des chromophoren Systems aus der Ebene erzeugt ferner einen inhärent dissymmetrischen Chromophor

Tabelle 3. Physikalische Daten der ORD.- und CD.-Spektren von Droso- (A) und Isodrosopterin (B)

Wellenlänge λ^0 (nm)	Optische Rotationsdispersion		Circulardichroismus			Molekel		
	Amplitude	Cotton-Effektbreite (nm)	Θ_K^0	Δ_K^0 (nm)	$[R_K]$			
478	+	13,04 · 10 ²	95	+	8,7 · 10 ⁴	55,5	134	B
	-			A				
320	-	11,5 · 10 ²	42	-	8,2 · 10 ⁴	21,5	74	B
	+			A				
270	-	15,0 · 10 ²	20	-	12,5 · 10 ⁴	10	62	B
	+			A				
225	-	21,2 · 10 ²	17	-	13,7 · 10 ⁴	10	81	B
	+			A				

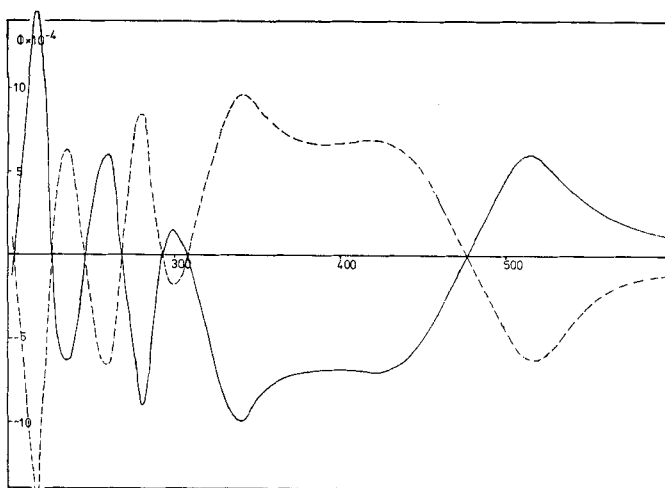


Fig. 2. ORD-Spektren von Droso- (—) und Isodrosoplerin (-----) in Wasser

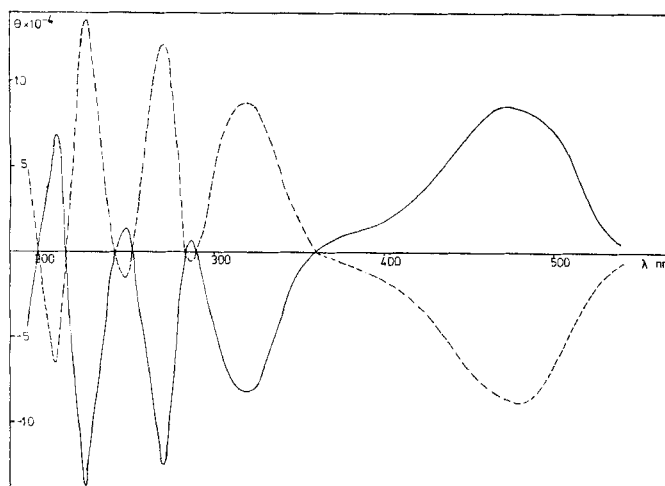


Fig. 3. CD-Spektren von Droso- (—) und Isodrosoplerin (-----) in Wasser

mit speziellen optischen Eigenschaften, die vor allem in den ORD.- und CD.-Spektren (Fig. 2 und 3) offenkundig werden.

Aus den CD.-Spektren werden die Elliptizitäten erhalten, welche nach *Djerassi* [8] zur Berechnung der reduzierten Rotationsstärke $[R_K]$ der einzelnen Übergänge aufgrund des in erster Näherung *Gauss*'schen Verlaufes der Kurven gemäss folgender Formel Verwendung finden können:

$$R_K = 0,696 \cdot 10^{-42} \sqrt{\pi} [\Theta_K^0] \frac{\Delta_K^0}{\lambda_K^0} \quad [R_K] = 1,08 \cdot 10^{40} R_K$$

Für den langwelligen Übergang bei 478 nm findet man z. B. eine Rotationsstärke von 134, deren Grösse erst richtig beurteilt werden kann im Vergleich mit den Werten

< 10 für asymmetrisch gestörte Chromophore. Die bei den Drosopterinen gefundenen ungewöhnlichen Rotationsstärken lassen erkennen, dass das Auftreten der optischen Aktivität mit der durch die Atropisomerie hervorgerufenen Dissymmetrie der Molekel direkt zusammenhängt.

Die spezifischen Drehwerte $[\alpha]_D^{25}$ von reinem Droso- und Isodrosopterin liegen mit -4100° bzw. $+4100^\circ$ noch wesentlich höher als die bisher publizierten Werte [9].

Weitere interessante Ergebnisse wurden aus Fluoreszenzmessungen am Droso- und Isodrosopterin erhalten, welche wir mit der Bestrahlung von Cellulose-Dünnschichtchromatogrammen mit Licht der Wellenlänge 365 nm und Aufnahme des emittierten gelborangefarbenen Fluoreszenzlichtes einleiteten und durch Emissionsspektren in Lösung ergänzten, wobei prinzipiell übereinstimmende Resultate erhalten wurden.

Im engen Zusammenhang mit der Struktur der Drosopterine steht ihr Verhalten bei der polarographischen Reduktion. Sie weisen im sauren und neutralen Medium zwei polarographische Reduktionsstufen auf, welche zwischen pH 2 und 6 gleich hoch sind und jeweils zweielektronigen/2-H⁺-Übergängen entsprechen. Oberhalb pH 6 fällt die negativere zweite Stufe nach Art einer Dissoziationsstufe ab und ist bei pH 9 verschwunden. Der scheinbare polarographische pK-Wert (pK') ergibt sich zu etwa 7,2 und die Lage der beiden pH-abhängigen Stufen aus folgender Beziehung:

$$1. \text{ Stufe: } E_{1/2} = -315 - 49 \cdot \text{pH (mV)}$$

$$2. \text{ Stufe: } E_{1/2} = -635 - 63 \cdot \text{pH (mV)}$$

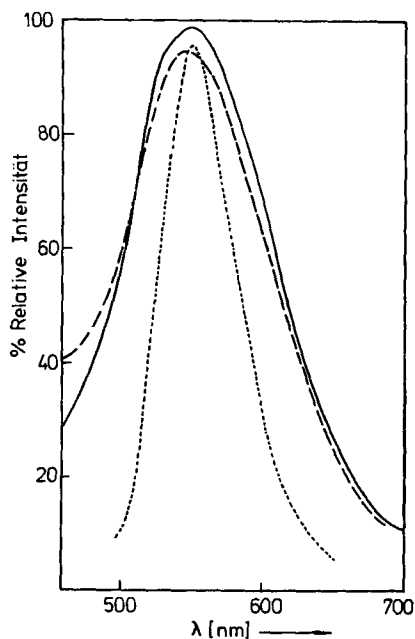


Fig. 4. Chromatogramm-Fluoreszenzspektren des Droso- (----) und Isodrosopterins (—) auf Dünnschichtcellulosefolien Machery & Nagel MN 300 CEL, Laufmittel 3proz. NH₄Cl-Lösung und Emissionsspektrum der Drosopterine (.....) in Wasser ($c = 1 \text{ mg}/100 \text{ ml}$) bei Anregung mit $\lambda = 469 \text{ nm}$

Das Bezugshalbstufenpotential (pH 7) beträgt somit im ersteren Falle – 660 mV und im letzteren etwa –1080 mV.

Aus dem für Pterine mit 7,8-Dihydrostruktur sehr positiven Potential zwischen – 600 und – 700 mV müssen wir schliessen, dass die Reduktion primär in der Seitenkette ansetzt, wobei die Einbeziehung der Carbonylfunktion in das Konjugationssystem als reduktionserleichternder Effekt zu werten ist. Ähnliches polarographisches Verhalten zeigt das Sepiapterin (2), dessen Bezugshalbstufenpotentiale (pH 7) bei – 600 und –1200 mV gefunden werden.

Herrn Dr. H. Braun danken wir für die polarographischen Untersuchungen und der chem.-techn. Assistentin Frau M. Bischler für die Bestimmung der pK-Werte.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft gilt unser Dank für die grosszügige Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Droso- und Isodrosopterin (1). Für sämtliche Untersuchungen wurden frisch gereinigte Materialien verwendet. Da sich die Pigmente bei längerer Lagerung langsam zersetzen, empfiehlt es sich, vorsichtshalber vorstehende Reinigungsoperationen [1] durchzuführen.

Spektrophotometrische Methoden. Die UV./VIS.-Spektren wurden mit einem Cary-15-Doppelstrahlphotometer aufgenommen, während für die Messungen der ORD.- und CD.-Spektren ein Cary-60-Spektropolarimeter mit CD.-Zusatz 6002 zur Verfügung stand. Es wurde jeweils bei Raumtemp. gemessen.

Die in Remission von Chromatogrammen aufgenommenen Fluoreszenzspektren wurden mit Hilfe eines Zeiss-Chromatogrammspektralphotometers PMQ II, M4 Q3 mit Fluoreszenzzusatz bestimmt. Messanordnung: Strahlenquelle – Probe – Monochromator – Photomultiplier. Zur Aufnahme der Lösungsspektren diente das Fluorometer Pevkin-Elmer-Hitachi MPF 3.

Bestimmung der pK-Werte. Es wurde nach der spektrophotometrischen Methode [10] in der Weise verfahren, dass zunächst eine Stammlösung aus 10 mg 1/100 ml Wasser hergestellt wurde und hiervon jeweils 1 ml mit der entsprechenden Pufferlösung [11] auf 10 ccm aufgefüllt wurde. Die Einstellung der Pufferlösungen auf den exakten pH-Wert erfolgte mit einer Glaselektrode und dem pH-Meter Orion Research, Modell 801. Sämtliche Messungen erfolgten bei 20° Raumtemp.

Elektrophorese. Man trägt eine ges. wässrige Drosopterinlösung in der Mitte von Schleicher & Schüll-Papier 2045a in Form eines schmalen Streifens auf, lässt antrocknen und arbeitet nach Befeuchtung des Papiers mit dem entsprechenden Puffer bei 320 V. Versuchsdauer 90 Min.

Die *Elektrofokussierung* wurde mit dem Gerät Uniphar 7900 der LKB-Producer GmbH durchgeführt. Der in wässriger Lösung vorliegende *Drosophila*-Gesamtextrakt wurde mit einem Saccharose-pH-Gradienten (Ampholin pH-3-10) in die Säule eingefüllt. Die Konzentration an Ampholin betrug 1,5%, und gearbeitet wurde bei $U = 1000$ V, $I = 1,5$ mA und einer Temp. von 8–10°. Nach 52 Std. kam die Wanderung der verschiedenen Substanzen zum Stillstand. Die Drosopterine hatten sich im basischen pH-Bereich konzentriert. Die Saccharose-Lösung wurde vorsichtig abgelassen und die die Drosopterine enthaltende Schicht mit der Glaselektrode vermessen. Es zeigte sich ein pH-Wert von 8,7.

Polarographische Messungen. Die polarographischen Reduktionsstufen wurden mit dem Metrohm Polarographiestand E 354 und Polarecord E 261 bestimmt. Die verwendeten Pufferlösungen wurden vor jeder Messung 20 Min. mit N₂ begast.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. Schlobach & W. Pfeleiderer, *Helv.* 55, 2518 (1972).
- [2] M. Viscontini, E. Hadorn & P. Karver, *Helv.* 40, 579 (1957).
- [3] S. Nawa, *Bull. chem. Soc. Japan* 33, 1555 (1960).
- [4] P. B. Russell, R. Purvmann, W. Schmitt & G. Hitchings, *J. Amer. chem. Soc.* 71, 3412 (1949).
- [5] W. Pfeleiderer, in *Chemistry and Biology of Pteridines*, S. 7., Internat. Acad. Printing Co Ltd., Tokyo 1970.

- [6] *A. Albert*, J. chem. Soc. [London] 1955, 2690.
[7] *A. Albert & H. Rokos*, in Chemistry and Biology of Pteridines, S. 95, Internat. Acad. Printing Co. Ltd., Tokyo 1970.
[8] *C. Djerassi* in Optical Rotatory Dispersion, S. 165, McGraw-Hill Book Comp., New York 1960.
[9] *M. Viscontini*, Helv. 41, 1299 (1958).
[10] *A. Albert & E. P. Serjeant*, The Determination of Ionization Constants, S. 44, Chapman and Hall Ltd. London 1971.
[11] *D. D. Perrin*, Austral. J. Chemistry 16, 572 (1963).

252. Synthese und Reaktionen von Droso- und Isodrosopterin

Pteridine, LIV¹⁾

von **Heinrich Schlobach**²⁾ und **Wolfgang Pfeleiderer**

Aus dem Fachbereich Chemie der Universität Konstanz

(25. VIII. 72)

Summary. The synthesis of the *Drosophila* pigments droso- and isodrosopterin (**7**) from 7,8-dihydropterin (**3**) and 2-hydroxy-3-oxobutyric acid (**4**) is described. A reaction mechanism is discussed and proven by isotope experiments. Droso- and isodrosopterin form in weak acidic medium in the presence of NH_4^{\oplus} ions two red reaction products each one of which seems to be identical with neodrosopterin.

Die ausserordentlich schwierige Zugänglichkeit von Droso- und Isodrosopterin aus natürlichem Material [2] stellt einen limitierenden Faktor für sämtliche Untersuchungen dieser interessanten Pigmente dar. Zurückgreifend auf eine Beobachtung von *Forrest & Nawa* [3] [4], welche bei der Umsetzung von partiell oxydiertem 5,6,7,8-Tetrahydropterin mit 3-Hydroxy-2-oxo-buttersäure die Bildung geringer Mengen der Drosopterine feststellen und ihre Identität mit den roten Augenpigmenten von *Drosophila melanogaster* wahrscheinlich machen konnten, bemühten wir uns um einen besseren synthetischen Zugang zu diesen Substanzen.

Als Ausgangskomponenten verwendeten wir das durch sein hohes elektrophiles Potential ausgezeichnete 7,8-Dihydropterin (**3**) [5] und die 2-Hydroxy-3-oxo-buttersäure (**4**). **3** kann dabei entweder in Form seines Hydrogensulfitadditionsproduktes **1** [5] oder besser als Dinatriumsalz des kovalenten 5,6-Hydrates **2** eingesetzt werden, da beide Addukte in Lösung mit freiem **3** im Gleichgewicht stehen. **4** wird ebenfalls direkt in Lösung durch alkalische Verseifung des durch Bleitetraacetat-Oxydation von Acetessigester in Eisessig/Acetanhydrid erhältlichen 2-Acetoxy-3-oxo-buttersäure-äthylesters [6] hergestellt.

Die Drosopterine **7** bilden sich nur dann in relativ guten Ausbeuten, wenn man spezifische Reaktionsbedingungen einhält. Als günstig erwies sich die Umsetzung der zunächst neutralen wässrigen Lösung von **4**, wie sie bei der Verseifung des 2-Acetoxy-3-oxo-buttersäureesters anfällt, mit dem basischen **2** unter Stickstoff, da sich hierdurch der pH-Wert auf 11,5 erhöht und jetzt die basenkatalysierte *Michael*-Addition

¹⁾ LIII. Mitteilung: s. [1].

²⁾ Teil der Dissertation *H. Schlobach*, Univ. Konstanz. 1971.