

207. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

139. Mitteilung¹⁾Synthesen in der Sideramin-Reihe: Rhodotorulasäure
und Dimerumsäure

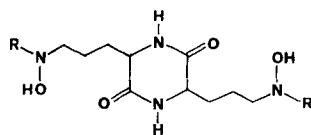
von Jörg Widmer und Walter Keller-Schierlein

Organisch-chemisches Laboratorium der ETH, Zürich

(4. VII. 74)

Summary. *t*-Butyl (*E*)-*O*-acetyl- Δ^2 -anhydromevalonate could be prepared, by a *Reformatsky* reaction of 4-acetoxybutan-2-one and *t*-butyl bromoacetate. Condensation of its activated derivatives with the diketopiperazine of N^8 -hydroxy-*L*-ornithine led to di-*O*-acetyl dimerumic acid, which could be transformed, by ammonolysis, to dimerumic acid, identical with the natural compound. The corresponding aceto-hydroxamic acid, prepared by acetylation of the diketopiperazine, was identical with natural rhodotorulic acid.

Die ursprünglich isolierten Sideramine, eisenhaltige Wachstumsfaktoren aus Mikroorganismen [2], waren ausschliesslich Eisenkomplexe verschiedener Trihydroxamsäuren. In neuerer Zeit sind nun eine Reihe von Verbindungen mit Sideramin-Wirksamkeit aufgeklärt worden, die nur zwei Hydroxamsäuregruppen besitzen. Dies sind einerseits die von einigen Bakteriengruppen erzeugten Sideramine mit einem Citronensäurerest als Kerngerüst: Schizokinen [3], Arthrobactin [4] und Aerobactin [5]. Andererseits wurden aus einigen Pilzkulturen die Diketopiperazine Rhodotorulasäure (1) [6] und Dimerumsäure (2) [7] isoliert, die aufgrund ihrer Bausteine den Pilz-Sideraminen der Ferrichromgruppe [2] und vor allem dem Coprogen [8] nahestehen, aus dem die Dimerumsäure durch Abbau erhalten werden kann.

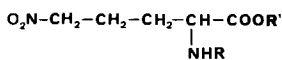
1 R = CH₃CO Rhodotorulasäure

2 R = Dimerumsäure

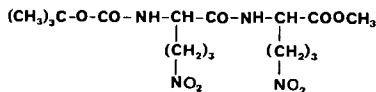
Für die Synthese des Hydroxylaminteils der beiden Verbindungen gingen wir vom 5-Nitro-*L*-norvalin (3) aus, das sich früher bei der Synthese des Ferrichroms bewährt hatte [9], und das wir nach der beschriebenen Methode [10] herstellten. Eine kürzlich von *Bayer* [11] mitgeteilte vereinfachte Synthese von ω -Nitro- α -amino-

¹⁾ 138. Mitt., s. [1].

säuren konnten wir bisher nicht mit guten Ausbeuten auf das 5-Nitronorvalin übertragen.



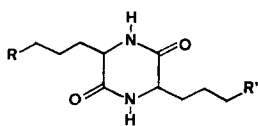
	R	R'
3	H	H
4	(CH ₃) ₃ C-O-CO-	H
5	H	CH ₃



6

Die Nitroamino-säure-Derivate **4** und **5** [10] wurden nach der Methode der gemischten Anhydride in das geschützte Dipeptid **6** umgesetzt. Nach Abspaltung der *t*-Butoxycarbonylgruppe durch Chlorwasserstoff in Dimethoxyäthan konnte der Dipeptidmethylester mit guter Ausbeute mittels methanolischem Ammoniak zum Diketopiperazin **7** cyclisiert werden. Die L-Konfiguration der Aminosäurereste ist bei diesen Operationen voll erhalten geblieben, denn nach der Reduktion der Nitrogruppen zu Aminogruppen und der anschliessenden Hydrolyse wurde optisch reines L-Ornithin erhalten.

Bei früheren Synthesen in der Sideraminreihe [9] [12] [13] wurden die Nitroverbindungen mit oft nicht ganz befriedigenden Ausbeuten mittels Zink, in Ammoniumchlorid-Lösung, zu den Hydroxylaminen reduziert. Aus dem komplizierten Gemisch, das wir bei der analogen Reduktion aus dem Dinitrodiketopiperazin **7** und anschlies-

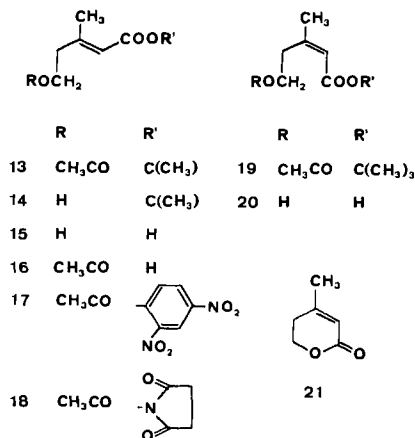


- 7 R = R' = NO₂
 8 R = -NH-COCH₃, R' = -N(OH)-COCH₃
 9 R = R' = NHOH
 10 R = R' = -N(COCH₃)₂
 11 R = R' = -N(OH)-CO-CH=CH-C(CH₃)-CH₂-COCH₃
 12 R = R' = -N(O-COCH₃)-CO-CH=CH-C(CH₃)-CH₂-COCH₃

sender Acetylierung erhielten, konnte in schlechter Ausbeute nur die Monohydroxamsäure **8** rein isoliert werden. In einem weiteren Ansatz wurde nach analoger Behandlung die Rhodotorulasäure (**1**) in nur 8proz. Ausbeute erhalten. Es hat sich nun gezeigt, dass die Reduktion der Dinitroverbindung vorteilhaft katalytisch mit Pd/

BaSO₄ in Eisessig durchgeführt werden kann (vgl. [14]). Nach der raschen Aufnahme von 4 mol Wasserstoff (Hydroxylamin-Stufe) verlangsamte sich die Hydrierung sehr stark²⁾. Wenn die Hydrierung in diesem Moment unterbrochen wurde, liess sich nach der Acetylierung des Rohproduktes **9** das Tetraacetylderivat **10** in guter Ausbeute isolieren. Durch Behandlung mit Ammoniak in Methanol wurden die beiden O-Acetylgruppen selektiv abgespalten. Die in 55% Ausbeute (bezogen auf die Dinitroverbindung) erhaltene kristalline Rhodotorulasäure (**1**) stimmte in allen Eigenschaften mit dem Naturstoff überein³⁾.

Den zweiten Baustein der Dimerumsäure (**2**), die (*E*)-*A*²-Anhydromevalonsäure (**15**) haben wir kürzlich mit Hilfe einer *Wittig*-Reaktion in präparativ befriedigender



Weise hergestellt [15]. Andererseits haben *Remizov & Tsvetkova* [16] ein (*E,Z*)-Isomerengemisch der 5-Acetoxy-3-methylpenten-(2)-säure-methylester durch eine *Reformatsky*-Reaktion und anschliessende Wasserabspaltung erhalten. Die Auftrennung des Gemisches der freien Säuren erwies sich als sehr schwierig und verlustreich. Bei der alkalischen Verseifung der reinen Methylester wurde wieder das Gemisch der beiden isomeren Säuren erhalten.

Durch Verwendung des *t*-Butylesters anstelle des Methylesters konnten wir das Verfahren von *Remizov* zu einer präparativ gangbaren Synthese ausbauen. Die Umsetzung von 4-Acetoxybutan-2-on mit Bromessigsäure-*t*-butylester und Zink und anschliessende Wasserabspaltung führt zu einem Gemisch von mindestens 6 Produkten, von denen die Hauptkomponenten durch Chromatographie und Gegenstromverteilung in guten Ausbeuten rein isoliert wurden (s. Tab.). Für die Reinigung und Charakterisierung der Nebenkomponten musste zusätzlich die präparative Gas-Chromatographie zugezogen werden. Die Zuordnung der Produkte erfolgte weitgehend aufgrund der spektroskopischen Daten⁴⁾ sowie z. T. durch Vergleich mit

²⁾ Wenn dagegen Pd/C als Katalysator verwendet wird, führt die Hydrierung ohne deutliche Verlangsamung direkt zum Diamin.

³⁾ Das aus Kulturen von *Rhodotorula glutinis* var. *dairensis* (CBS 4406) gewonnene Vergleichspräparat verdanken wir Herrn Dr. H. Diekmann, Tübingen.

⁴⁾ Massgebend war dabei vor allem der Einfluss der Estergruppe auf die NMR.-Signale der *cis*-ständigen Nachbargruppe (CH₃ bzw. γ -CH₂); s. Tabelle.

durch Abbau [17] oder mit anderen Methoden synthetisch gewonnenen Präparaten [15]. Der (*Z*)-Ester **19** gab nach Abspaltung der Schutzgruppen in schlechter Ausbeute die freie Hydroxysäure neben dem als Hauptprodukt isolierten Lacton **21**. Der (*E*)-Ester **13** gab dagegen durch selektive Abspaltung der Schutzgruppen leicht den Hydroxyester **14**, die Acetoxysäure **16** und die freie Hydroxysäure **15**, die keine Neigung zur spontanen Lactonisierung zeigte.

Tabelle. *Produkte der Reformatsky-Reaktion*

Verbindung	rel. Anteil	NMR.		UV. (Äthanol)
		δ (CH ₃)	δ (γ -CH ₂)	λ_{\max} (log ϵ)
13	in % 42,3	2,16	2,40	226 nm (3,93)
19	30,2	1,90	2,86	225 nm (3,92)
22	9,1	—	2,50	Endabsorption
23	11,8	1,80	—	leer
24	} 5,8	2,25	—	} 254 nm (4,22)
26		1,96	—	

Für die Kopplung der (*E*)-O-Acetyl- Δ^2 -Anhydromevalonsäure (**16**) mit dem Hydroxylamin **9** wählten wir die Methode der aktiven Ester. Es konnten dafür sowohl der 2,4-Dinitrophenylester **17** als auch das N-Hydroxy-succinimid-Derivat **18** eingesetzt werden. Wir gaben dem letzteren den Vorzug, weil es leicht kristallisierte und daher gut gereinigt werden konnte, während der Dinitrophenylester (**17**) eine schwer isolierbare hoch viskose Flüssigkeit ist. Wenn für die Kopplung genau 2 mol aktive Verbindung **18** resp. **19** auf 1 mol Dihydroxylamin **9** eingesetzt wurden, konnte direkt die Dihydroxamsäure **11**, Di-O-acetyldimerumsäure, erhalten werden.

Die Herstellung eines Vergleichspräparates aus natürlicher Dimerumsäure erfolgte in zwei Stufen. Vollständige Acetylierung mit Essigsäureanhydrid ergab das ölige Tetraacetylderivat **12**. Durch eine kurze Ammonolyse bei 0° konnten die beiden NO-Acetylgruppen selektiv abgespalten werden. Die auf diese Weise bereitete Di-O-acetyldimerumsäure (**11**) war mit dem synthetischen Präparat in allen Eigenschaften identisch.

Die Abspaltung der beiden O-Acetylgruppen aus den Anhydromevalonsäureresten bedurfte einer mehrtägigen Ammonolyse bei Zimmertemperatur und lieferte die synthetische Dimerumsäure mit den für den Naturstoff gefundenen Eigenschaften [7] [8]. Die Identifizierung erfolgte durch direkten Vergleich mit einer durch Abbau von Coprogen [8] bereiteten Probe (Misch-Smp., IR., NMR., Rf).

Die Rhodotorulasäure ist vor kurzem bereits auf einem anderen Weg synthetisiert worden [18]; für die Dimerumsäure war bisher keine Synthese bekannt.

Dem *Stipendienfonds der schweizerischen Industrie für Doktoranden auf dem Gebiet der Chemie* sowie der *Ciba-Geigy AG* danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Für die instrumentalanalytischen Aufnahmen sowie für die Dünnschicht (DC.)- und Säulenchromatographie wurden die in unserem Laboratorium gebräuchlichen Apparaturen, Adsorbentien und Materialien verwendet (vgl. [19]). Verbindungen ohne freie funktionelle Gruppen wurden bei der DC. mit Joddampf sichtbar gemacht.

N-(N-t-Butoxycarbonyl-L-5-nitronorvalyl)-L-5-nitronorvalinmethylester (6). Zu 1,36 g *N-t*-Butoxycarbonyl-L-5-nitronorvalin (**4**) [10] und 3,5 g *N*-Methylmorpholin in 40 ml abs. Tetrahydrofuran liess man bei 0° langsam 1,17 g Chlorameisensäure-isobutylester in 5 ml Tetrahydrofuran tropfen. Nach 10 Min. wurden 2,07 g 5-Nitronorvalin-methylesterhydrochlorid in 5 ml Dimethylformamid zugegeben und über Nacht bei 20° stehengelassen. Nach dem Filtrieren wurde eingedampft, der in Äthylacetat gelöste Rückstand mit verd. Salzsäure, Hydrogencarbonat- und ges. Kochsalz-Lösung gewaschen und nach dem Trocknen mit Natriumsulfat wieder eingedampft. Das bräunliche ölige Rohprodukt gab nach dem Chromatographieren an 100 g Kieselgel (Äthylacetat/Chloroform 9:1) 2,85 g (78,5%) farbloses Öl. DC. mit Äthylacetat/Chloroform 9:1: Rf 0,46, einheitlich. $[\alpha]_D = -28,45^\circ$ ($c = 2,23\%$, Methanol). – IR. (CHCl₃): 3450, 1740, 1700, 1670, 1550 cm⁻¹. – NMR. (CDCl₃): 1,45 ppm (s, 9 H, *t*-Butyl); 1,6–2,5 (*k*, 8 H); 3,81 (s, 3 H, OCH₃); 4,0–5,0 (*k*, 6 H); 5,44 (br. *d*, *J* = 7, 1 H, Boc-NH); 7,08 (br. *d*, *J* = 8, Amid-NH).

3,6-Bis-(γ-nitropropyl)-2,5-diketopiperazin (7). Zu 1,17 g Dipeptid **6** in 15 ml abs. Dimethoxyäthan gab man 15 ml bei 20° mit Chlorwasserstoff gesättigtes Dimethoxyäthan. Nach 2 Std. dampfte man ein und löste den Rückstand in 20 ml mit Ammoniak gesättigtem Methanol. Das ausgefallene Diketopiperazin wurde nach 16 Std. abfiltriert und je einmal aus Eisessig/Wasser und Eisessig/Äthanol umkristallisiert. Man erhielt 550 mg (68,8%) **7** in farblosen Nadeln, Smp. 240–242° (Zers.). $[\alpha]_D = -33,9^\circ$ ($c = 1,2\%$, Eisessig). – IR. (KBr): 1680, 1540 cm⁻¹. – NMR. (CF₃COOH): 2,0–2,6 (*k*, 8 H); 4,3–4,8 (*k*, 6 H).

C₁₀H₁₆N₄O₆ (288,27) Ber. C 41,66 H 5,59 N 19,44% Gef. C 41,67 H 5,59 N 19,45%

25 mg Diketopiperazin **7** wurden in 2 ml Eisessig mit 10proz. Pd/C hydriert, bis keine Wasserstoffaufnahme mehr erfolgte. Der nach Abzentrifugieren des Katalysators und Eindampfen erhaltene Rückstand zeigte keine Farbreaktion mit Triphenyltetrazoliumchlorid und wurde während 16 Std. bei 110° mit 6*N* Salzsäure im Bombenrohr hydrolysiert. Das Hydrolysat wurde im Vakuum eingedampft, an einer Säule aus Dowex 50 (H-Form) mit *n* Salzsäure als Elutionsmittel chromatographiert und die im DC. einheitlichen Fraktionen zu 25,5 mg (72%) *L*-Ornithindihydrochlorid eingedampft, das nach dem Trocknen im Hochvakuum als farbloses Glas erhalten wurde. $[\alpha]_D = +18,2^\circ$ ($c = 2,11\%$, 6*N* Salzsäure), gleich wie authentisches *L*-Ornithindihydrochlorid.

3-(γ-Acetylaminoethyl)-6-(N-acetyl-γ-hydroxylaminoethyl)-2,5-diketopiperazin (8). 80 mg Diketopiperazin **7** wurden in 2 ml 10proz. wässriger Ammoniumchloridlösung aufgeschlämmt. Zur Suspension gab man bei 30° unter starkem Rühren 145 mg Zinkstaub in kleinen Portionen. Darnach wurde noch 30 Min. gerührt. Nach dem Abfiltrieren von überschüssigem Zink wurde eingedampft und der Rückstand, der mit Triphenyltetrazoliumchlorid eine starke Rotfärbung gab, 16 Std. bei RT. mit 2 ml Essigsäureanhydrid/Pyridin 1:1 acetyliert. Darauf wurde eingedampft und der Rückstand in 10 ml mit Ammoniak ges. Methanol 90 Min. bei 10° stehengelassen. Das mit Eisen(III)-chlorid positiv reagierende Rohprodukt wurde an einer Cellulosesäule mit *n*-Butanol/Wasser 5:1 chromatographiert. Die papierchromatographisch einheitlichen Fraktionen gaben nach 4maligem Umkristallisieren aus Methanol 5 mg farblose Kristalle, Smp. 237–239°. – IR.-(KBr): 1680, 1625, 1600 (Schulter), 1550 cm⁻¹; Carbonyl- und NH-Gebiet stark verschieden von Rhodotorulasäure, im Fingerprint-Gebiet dagegen zahlreiche übereinstimmende Maxima. Papierchromatographie mit *n*-Butanol/Wasser 5:1 (Anfärben mit FeCl₃): kaum unterscheidbar von Rhodotorulasäure.

C₁₄H₂₄N₄O₅ (328,37) Ber. C 51,21 H 7,37 N 17,06% Gef. C 51,40 H 7,40 N 16,95%

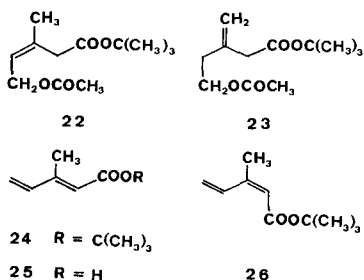
In einem zweiten, ähnlich durchgeführten Versuch wurden 8% krist. Rhodotorulasäure aus den entsprechenden Fraktionen isoliert.

Di-O-acetyl-rhodotorulasäure (10). 50 mg Dinitroverbindung **7** in 2 ml Eisessig wurden mit 50 mg 10proz. Pd/BaSO₄ bei RT. in einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 65 Min. (Aufnahme von 4 mol H₂) wurde vom Katalysator abfiltriert und das rohe Dihydroxylamin **9** mit je 1 ml Essigsäureanhydrid und Pyridin 16 Std. bei 20° acetyliert. Nach dem Eindampfen erhielt man das Tetracetat **10**, als festen Rückstand, der weder mit Triphenyltetrazoliumchlorid noch mit Eisen(III)-chlorid eine Farbreaktion gab. $[\alpha]_D = -21,9^\circ$ ($c = 0,52\%$, Wasser). – IR. (KBr): 1793, 1680 cm⁻¹. – NMR. (Pentadeuteriopyridin): 1,8–2,5 (*k*, 20 H, daraus hervorragend zwei Singulette zu je ca. 6 H bei 2,04 und 2,15 ppm); 3,95 (*t*, *J* = 6, 4 H); 4,35 (*b*, 2 H); 9,15 (br., 2 NH).

Rhodotorulasäure (**1**). Das aus 50 mg Dinitroverbindung **7** wie oben bereitete rohe Tetraacetat **10** wurde mit 10 ml methanolischem Ammoniak 2 Std. bei 20° umgesetzt und dann im Vakuum bei 40° eingedampft. Der Rückstand gab durch Umkristallisieren aus Methanol/Wasser und dann aus reinem Wasser 33 mg (55%) Rhodotorulasäure vom Smp. 229–232° (Zers.). Misch-Smp. mit natürlicher Rhodotorulasäure (Smp. 228°) unverändert. $[\alpha]_D^{20} = -30,5^\circ$ ($c = 0,67\%$, Eisessig); $-31,08^\circ$ ($c = 0,76$, Wasser) [18]. IR. (KBr): 1685, 1595 cm^{-1} , deckungsgleich mit dem Spektrum des Naturstoffs. - NMR. (CF_3COOH): 2,18 (br., 8 H); 2,58 (s, 6 H); 4,04 (h, 4 H); 4,49 (br., 2 H); 8,38 (br., 2 H); völlige Übereinstimmung mit dem Spektrum natürlicher Rhodotorulasäure. DC. auf Celluloseplatte mit *n*-Butanol/Wasser 10:1 (Anfärbung mit FeCl_3): Rf 0,23, einheitlich, wie das Vergleichspräparat.

Reformatsky-Reaktion mit 4-Acetoxybutan-2-on. 46 g Zinkstaub wurden mit 0,5N Salzsäure kurz angeätzt, mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und in Gegenwart von 10 mg Jod in der Wärme getrocknet. 46,6 g 4-Acetoxybutan-2-on [20] und 70,6 g Bromessigsäure-*t*-butylester in 200 ml Benzol/Äther 2:1 wurden zugetropft, wobei die Reaktion nach kurzem Erwärmen selbständig abließ. Nach dem Abklingen wurde noch 1 Std. auf 50° erwärmt, vom überschüssigen Zink abfiltriert und zum Filtrat verd. Salzsäure zugefügt, bis die wässrige Phase pH 5 erreichte. Das mit Äther extrahierte und mit wenig Wasser gewaschene Rohprodukt (54 g Eindampfrückstand) wurde in 200 ml Pyridin tropfenweise mit 56 g Phosphoroxychlorid versetzt. Nach 3tägigem Stehen bei RT. wurde vorsichtig Wasser zugegeben, 3mal mit Äther ausgeschüttelt und mit Hydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen. Das durch Trocknen mit Natriumsulfat und Eindampfen erhaltene Rohprodukt (49 g) wurde an 1,6 kg Kieselgel mit Petroläther/Aceton 10:1 chromatographiert.

(*Z*)- und (*E*)-3-Methylpentadiensäure-*t*-butylester (**24** und **26**). Als erste Fraktion wurden 1,5 g (2,5%) farbloses Öl eluiert und durch Destillation bei 70° (11 Torr) gereinigt. Aufgrund des NMR.-Spektrums handelte es sich um ein Gemisch (ca. 1:2,5) des (*Z*)- und des (*E*)-3-Methylpentadiensäure-*t*-butylesters. Ein Gas-Chromatogramm an einer Kapillarkolonnen (45°, FI-Detektor) gab zwei Pike mit Retentionszeiten von 7,5 und 8,3 Min. (Verh. ca. 2,5:1). Auf der präparativen Kolonne (SE-30, 130°, 40 ml Helium pro Min.) wurden die Isomeren jedoch nicht getrennt. - UV. (Alkohol): λ_{max} 254 nm ($\log \epsilon$ 4,22), vgl. [22]. - IR. (CHCl_3): 1695, 1635, 1605 cm^{-1} . - NMR. (CDCl_3): 1,52 (s, 9 H, *t*-Butyl); 1,96 (*d*, $J = 2$; CH_3 des (*Z*)-Isomeren **26**); 2,25 (*d*, $J = 2$; CH_3 des (*E*)-Isomeren **24**, zusammen 3 H); 5,36 (*d*, $J = 10,5$; $\text{H}_a\text{C}(5)$); 5,57 (*d*, $J = 17$, $\text{H}_b\text{C}(5)$), 5,70 (*h*, HC(2)); 6,44 (*d* × *d*, $J = 10,5$ und 17, HC(4) des (*E*)-Isomeren); 7,82 (*d* × *d*, $J = 10,5$ und 17; HC(4) des (*Z*)-Isomeren).



S-Benzylthiuroniumsalz. 120 mg Estergemisch (**24** und **26**) wurden 2 Tage bei 0° mit Chlorwasserstoff in abs. Methylenchlorid (bei 0° gesättigt) stehengelassen und eingedampft. Das durch Neutralisieren mit Natronlauge in 1 ml Wasser bereitete Natriumsalz wurde mit der äquivalenten Menge *S*-Benzylthiuroniumchlorid in 1 ml Wasser umgesetzt. Nach Zugabe von Äthanol und Abkühlen auf 0° kristallisierte das Salz aus und schmolz nach Umkristallisieren aus Wasser/Alkohol bei 157–158°; vgl. [21] [22]. Gemäss NMR.-Spektrum in CD_3OD handelt es sich noch immer um ein Gemisch des (*E*)- und des (*Z*)-Isomeren, Verhältnis 8:2.

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$	Ber. C 60,42	H 6,52	N 10,07	S 11,52%
(278,36)	Gef. „ 60,23	„ 6,56	„ 10,15	„ 11,62%

Die späteren Fraktionen des Chromatogramms gaben 39 g eines Gemisches, das die einfach ungesättigten Acetoxyester gemäss Gas-Chromatogramm (Apiezon K. 155°, 60 ml He pro Min.) in folgenden Anteilen enthielt:

Verbindung	Retentionszeit	Anteil
13	49,5 Min.	45,3%
19	43,5 „	31,3%
22	41,5 „	10,1%
23	35,0 „	12,3%

2,5 g dieses Gemischs wurden mit Petroläther/Tetrachlorkohlenstoff/Methanol/Wasser 43:8:34:6 im Gegenstromverfahren nach *Craig* über 810 Stufen verteilt. Es ergaben sich Verteilungsmaxima in den Gläsern 370, 423 und 475.

(E)-O-Acetyl- Δ^2 -anhydromevalonsäure-t-butylester (**13**). Die Fraktionen 405–440 (K = 1,09) gaben nach dem Eindampfen und Destillieren bei 70° (0,2 Torr) 0,73 g des Esters **13** als farbloses Öl. – UV. (Äthanol): λ_{\max} 226 nm (log ϵ 3,93). – IR. (CHCl₃): 1733, 1703, 1648, 865 cm⁻¹. – NMR. (CCl₄): 1,46 (s, 9 H, t-Butyl); 2,00 (s, 3 H, OAc); 2,16 (d, J = 1, 3 H; CH₃–C=C); 2,40 (t, J = 6,5, 2 H; γ -CH₂); 4,17 (t, J = 6,5, 2 H; δ -CH₂); 5,54 (m, J = 1, 1 H; α -CH).

C₁₂H₂₀O₄ (228,28) Ber. C 63,13 H 8,83% Gef. C 63,09 H 8,92% M⁺ 228

(Z)-O-Acetyl- Δ^2 -anhydromevalonsäure-t-butylester (**19**). Aus den Gläsern 460–510 wurden in gleicher Weise 520 mg des (Z)-Isomeren als farblose Flüssigkeit erhalten. UV. (Äthanol): λ_{\max} 225 nm (log ϵ 3,92). – IR. (CHCl₃): 1735–1695 (br.), 1645, 1067, 860 cm⁻¹. – NMR. (CCl₄): 1,45 (s, 9 H); 1,90 (d, J = 2, 3 H; CH₃–C=C); 2,00 (s, 3 H; OAc); 2,86 (t, J = 7, 2 H; γ -CH₂); 4,15 (t, J = 7, 2 H; δ -CH₂); 5,60 (m, J = 2, 1 H; α -CH).

Die Verteilungsfractionen 340–390 gaben ein farbloses Öl, das gemäss Gas-Chromatographie aus 3 Verbindungen bestand. Durch präparative Gaschromatographie (Apiezon L, wie oben) wurden folgende einheitliche Produkte isoliert:

O-Acetyl- Δ^3 ,⁶-anhydromevalonsäure-t-butylester (**23**). Retentionszeit 35 Min. Nach Destillation bei 60° (0,2 Torr) farblose Flüssigkeit. – UV. (Äthanol): kein Maximum. – IR. (CHCl₃): 1720, 1645 cm⁻¹. – NMR. (CCl₄): 1,50 (s, 9 H); 2,08 (s, 3 H; OAc); 2,50 (t, J = 6,5, 2 H; γ -CH₂); 3,04 (s, 2 H; α -CH₂); 4,26 (t, J = 6,5, 2 H; δ -CH₂); 5,03 (br. s, 2 H; C=CH₂).

C₁₂H₂₀O₄ (228,28) Ber. C 63,13 H 8,83 Gef. C 63,10 H 8,82%

O-Acetyl- Δ^3 -anhydromevalonsäure-t-butylester (**22**). Retentionszeit 41,5 Min., farbloses Öl. – UV.: kein Maximum. – IR. (CHCl₃): 1720, 1675 cm⁻¹. – NMR. (CCl₄): 1,50 (s, 9 H); 1,80 (br. s, 3 H; CH₃–C=C); 2,08 (s, 3 H; OAc); 2,99 (s, 2 H; α -CH₂); 4,64 (d, J = 7, 2 H; δ -CH₂); 5,52 (t, J = 7, 1 H; γ -CH).

C₁₂H₂₀O₄ (228,28) Ber. C 63,13 H 8,83 Gef. C 63,15 H 8,80%

Die dritte gas-chromatographisch isolierte Komponente war identisch mit dem Produkt **13**.

In präparativen Ansätzen konnten bis zu 25 g Gemisch durch *Craig*-Verteilung (1800 Überführungen) getrennt und dabei 9,5 g reiner (E)-Ester (**13**) gewonnen werden.

(E)- Δ^2 -Anhydromevalonsäure (**15**). 300 mg Ester **13** wurden drei Tage bei 20° in 10 ml ammoniakgesättigtem Methanol stehengelassen. Der Rückstand nach dem Eindampfen wurde mit Chloroform/Äthylacetat 5:1 an 20 g Kieselgel chromatographiert und gab 210 mg einheitlichen Hydroxyester **14**. Dieser wurde in 20 ml abs. Methylenchlorid gelöst und die Lösung bei 0° mit Chlorwasserstoff gesättigt. Nach 2 Tagen bei 0° erhielt man durch Eindampfen einen kristallinen Rückstand, der nach 3maligem Umkristallisieren aus Benzol bei 64–65° schmolz; vgl. [16]. Ausbeute 110 mg (65%). – IR. (CHCl₃): 3630, 3500–2300 (br.), 1690, 1640 cm⁻¹. – NMR. (CDCl₃): 2,21 (d, J = 1, 3 H; CH₃–C=C); 2,45 (t, J = 6,5, 2 H; γ -CH₂); 3,82 (t, J = 6,5, 2 H; δ -CH₂); 5,97 (m, J = 1, 1 H; HC=C); 6,35 (br., 2 OH).

C₈H₁₀O₃ (130,14) Ber. C 55,37 H 7,75 Gef. C 55,38 H 7,63%

(Z)- Δ^2 -Anhydromevalonsäure (**20**). 0,5 g Roh-Ester **19** wurden in 4 ml 2N Natronlauge 16 Std. bei RT. hydrolysiert. Aus dem mit Salzsäure auf pH 3 gestellten Hydrolysegemisch wurde durch

6maliges Ausschütteln mit Äther ein öliger Extrakt erhalten, der beim Stehen teilweise kristallisierte. Durch Umkristallisation aus Benzol wurden 35 mg (12,5%) kristalline (*Z*)-Säure erhalten, Smp. 71°; vgl. [22]. – IR. (CHCl₃): 3600–2300 (br.), 1680, 1640, 870 cm⁻¹. – NMR. (CDCl₃): 2,00 (*d*, *J* = 1, 3 H; CH₃–C=C); 2,88 (*t*, *J* = 7, 2 H; γ-CH₂); 3,84 (*t*, *J* = 7, 2 H; δ-CH₂); 5,85 (*m*, 1 H; HC=C); 7,03 (br., 2 OH).

C₆H₁₀O₃ (130,14) Ber. C 55,37 H 7,75 Gef. C 55,46 H 7,73%

Aus den Mutterlaugen wurden durch Eindampfen und Destillation bei 90° (10 Torr) 200 mg Δ²-Anhydromevalolacton (**21**) erhalten und durch Vergleich mit einem authentischen Präparat [17] identifiziert (IR., NMR., Rf).

(*E*)-*O*-Acetyl-Δ²-anhydromevalonsäure-2,4-dinitrophenylester (**17**). 1 g Ester **13** in 50 ml Methylenchlorid wurde bei 0° mit Chlorwasserstoff gesättigt und 2 Tage bei RT. stehengelassen. Zum Eindampfrückstand (rohes **16**) in 10 ml abs. Benzol gab man bei 0° 1 g Oxalylchlorid. Nach 2 Std. bei 20° wurde eingedampft und das überschüssige Oxalylchlorid mehrmals mit etwas Benzol im Vakuum abgetrieben. Zur Lösung des rohen Säurechlorids in 5 ml abs. Benzol fügte man 810 mg 2,4-Dinitrophenol in 10 ml abs. Tetrahydrofuran und 350 mg Pyridin zu. Nach 15 Std. wurde vom ausgeschiedenen Pyridinhydrochlorid abfiltriert und die Lösung eingedampft. Das in Chloroform gelöste und mit Salzsäure, Hydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschene Produkt gab 1,2 g (82%) gelbes viskoses Öl. – IR. (CHCl₃): 1730, 1640, 1600, 1540 cm⁻¹. – NMR. (CDCl₃): 2,08 (*s*, 3 H; OAc); 2,28 (*d*, *J* = 1, 3 H; CH₃–C=C); 2,60 (*t*, *J* = 6,5, 2 H); 4,30 (*t*, *J* = 6,5, 2 H); 6,02 (*m*, 1 H); 7,54 (*d*, *J* = 9, 1 H); 8,54 (*d* × *d*, *J* = 9 und 3, 1 H); 8,92 (*d*, *J* = 3, 1 H).

O-(*E*)-*O*-Acetyl-Δ²-anhydromevalyl)-*N*-hydroxy-succinimid (**18**). Aus 1 g Ester **13** wurde wie oben die *t*-Butylgruppe abgespalten und mit Oxalylchlorid das Säurechlorid bereitet. Dieses wurde mit 503 mg *N*-Hydroxysuccinimid in gleicher Weise wie oben umgesetzt. Das Rohprodukt gab nach 2maligem Umkristallisieren aus Benzol/Hexan 580 mg (49%) des Esters **18** als farblose Kristalle vom Smp. 94–95°. – IR. (CHCl₃): 1800 (Schulter), 1760 (Schulter), 1735, 1640 cm⁻¹. – NMR. (CDCl₃): 2,08 (*s*, 3 H); 2,26 (*d*, *J* = 1, 3 H); 2,06 (*t*, *J* = 6,5, 2 H); 2,90 (*s*, 4 H); 4,30 (*t*, *J* = 6,5, 2 H); 6,00 (*m*, 1 H).

C₁₂H₁₅NO₆ (269,25) Ber. C 53,53 H 5,62 N 5,20% Gef. C 53,40 H 5,63 N 5,24%

Di-*O*-acetyldimerumsäure (**11**). A. Synthetisch. 50 mg Dinitro-diketopiperazin **7** wurden wie oben mit Pd/BaSO₄ hydriert und das rohe Hydroxylamin **9** in 2 ml abs. Dimethylformamid mit 94 mg der Verbindung **18** und 35 mg Pyridin umgesetzt. Nach 16 Std. wurde eingedampft und der Rückstand an 120 g Cellulosepulver mit Butanol/Wasser 10:1 chromatographiert. Die nach DC. einheitlichen Fraktionen gaben 80 mg rohes, teilweise kristallines Diacetylderivat **11**, nach 4maligem Umkristallisieren aus wenig Methanol 8 mg farblose Kristalle, Smp. 165–168°. DC. mit Butanol/Wasser 10:1, Anfärben mit FeCl₃ in Methanol: Rf 0,67, wie ein authentisches Präparat (s. unten). [α]_D = –20,1° (*c* = 0,189%, Methanol). – IR. in KBr: 1740, 1685, 1645, 1570 cm⁻¹, kein Unterschied zum Vergleichspräparat. – NMR. (Pentadeuteriopyridin) 1,96 (*s*, 6 H); 2,1–2,4 (br., 8 H); 2,30 (*s*, 6 H); 2,43 (*t*, *J* = 7, 4 H); 3,9–4,15 (br., 4 H); 4,25 (*k*, 6 H); 4,95 (br.); 6,7 (br., 2 H); 9,2 (br., 2 H); kein Unterschied zum Vergleichspräparat.

B. Aus natürlicher Dimerumsäure. 43 mg Dimerumsäure wurden mit je 3 ml Essigsäureanhydrid und Pyridin 16 Std. bei RT. acetyliert. Das Rohprodukt (**12**) wurde in 5 ml mit Ammoniak ges. Methanol 45 Min. bei 0° gelassen und das nach dem Eindampfen erhaltene Produkt 2mal aus Methanol umkristallisiert. Ausbeute 30 mg **11**, Smp. 166–168°. [α]_D = –19,5° (*c* = 0,09%, Methanol). Rf, IR. und NMR. gleich wie bei der synthetischen Probe.

C₂₆H₁₀N₄O₁₀ (568,62) Ber. C 54,92 H 7,09 N 9,85% Gef. C 54,75 H 7,02 N 9,88%

Dimerumsäure (**2**). 20 mg Diacetylderivat **11** wurden mit 5 ml Ammoniak in Methanol (gesättigt) 3 Tage bei 20° stehengelassen. Chromatographie des Rohproduktes an Cellulose (Butanol/Wasser 10:1) gab 10 mg Dimerumsäure, Smp. nach Umkristallisieren aus Methanol 162–164°, Misch-Smp. ohne Depression. DC. mit Butanol/Wasser 10:1 auf Celluloseplatte, Anfärben mit FeCl₃; Rf 0,29 wie authentische Dimerumsäure, IR. in KBr wie das Vergleichspräparat.

Herrn W. Manser danken wir für die Mikroanalysen.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *A. Barnekow, G. Winkelmann & H. Zähler*, Arch. Mikrobiol. (in Vorbereitung).
- [2] *W. Keller-Schierlein, V. Prelog & H. Zähler*, Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe (Ed. *L. Zechmeister*) 22, 279 (1964).
- [3] *K. B. Mullis, J. R. Pollack & J. B. Neilands*, Biochemistry 10, 4894 (1971).
- [4] *W.-D. Linke, A. Cruieger & H. Diekmann*, Arch. Mikrobiol. 85, 44 (1972).
- [5] *F. Gibson & D. I. Magrath*, Biochim. biophys. Acta 192, 175 (1969).
- [6] *C. L. Atkin & J. B. Neilands*, Biochemistry 7, 3734 (1968); *T. Anke & H. Diekmann*, FEBS Letters 27, 259 (1972).
- [7] *H. Diekmann*, Arch. Mikrobiol. 73, 65 (1970).
- [8] *W. Keller-Schierlein & H. Diekmann*, Helv. 53, 2035 (1970).
- [9] *W. Keller-Schierlein & B. Maurer*, Helv. 52, 603 (1969).
- [10] *B. Maurer & W. Keller-Schierlein*, Helv. 52, 388 (1969).
- [11] *E. Bayer & K. Schmidt*, Tetrahedron Letters 1973, 2051.
- [12] *V. Prelog & A. Walser*, Helv. 45, 631 (1962).
- [13] *W. Keller-Schierlein, P. Mertens, V. Prelog & A. Walser*, Helv. 48, 710 (1965).
- [14] *H. Meister*, Liebigs Ann. Chem. 679, 83 (1964); *E. Schmidt, A. Ascherl & L. Mayer*, Ber. deutsch. chem. Ges. 58, 2430 (1925).
- [15] *W. Keller-Schierlein, J. Widmer & B. Maurer*, Helv. 55, 198 (1972).
- [16] *A. L. Remizov & G. A. Tsuethova*, Akad. Nauk SSSR, Otdelye Obsč. i Techn. Chim. 1965, 129; Chem. Abstr. 65, 614a (1966).
- [17] *W. Keller-Schierlein*, Helv. 46, 1920 (1963); *W. Keller-Schierlein, H. Zähler, V. Pünter-Streit & H. Bär*, Biochem. Z. 341, 378 (1965).
- [18] *Y. Isowa, T. Takashima, M. Ohmori, H. Kurita, M. Sato & K. Mori*, Bull. chem. Soc. Japan 45, 1467 (1972).
- [19] *R. Muntwyler & W. Keller-Schierlein*, Helv. 55, 2071 (1972).
- [20] *J. T. Hays, G. F. Hager, H. M. Engelmann & H. M. Spurlin*, J. Amer. chem. Soc. 73, 5369 (1951); *C. H. Hoffman, A. F. Wagner, A. N. Wilson, E. Walton, C. H. Shunk, D. E. Wolf, F. W. Holly & K. Folkers*, J. Amer. chem. Soc. 79, 2316 (1957).
- [21] *I. Heilbron, E. R. H. Jones, M. Julia & B. C. L. Weedon*, J. chem. Soc. 1949, 1823.
- [22] *J. W. Cornforth, R. H. Cornforth, G. Popjak & I. Y. Gore*, Biochem. J. 69, 146 (1958).

208. Azidiniumsalze¹⁾

12. Mitteilung [1]

Das ambidente reaktive Verhalten des
2-Azido-3-äthyl-benzthiazolium-Ions gegenüber Nucleophilenvon **Heinz Balli**Institut für Farbenchemie der Universität Basel
Chemisches Institut der Universität Marburg a. d. Lahn

(9. VIII. 74)

Zusammenfassung: Die Reaktivität von «harten» und «weichen» Nucleophilen (Hydroxid, Methoxid, Dimethylamin, 2-Imino-3-äthyl-benzthiazolin, Triphenylphosphin, Carbanionen, Azid, Cyanid, Arylsulfinat, 3-Äthyl-benzthiazolin-2-yliden, 3-Methyl-benzthiazolinon-(2)-hydrazon)

¹⁾ *Anmerkung der Redaktion:* Dieser Name ist nicht in den IUPAC-Regeln der organischen Nomenklatur zu finden. Seine Ableitung wird in der 1. Mitt. Liebigs Ann. Chem. 647, 1 (1961) dargelegt. Um den Zusammenhang mit früheren Abhandlungen der gleichen Reihe zu wahren, wird auf Wunsch von Prof. *Balli* der Titel «Azidiniumsalze» beibehalten.