

Über die beiden diastereomeren Homochloramphenicole und Reaktionen der 4-Nitrophenyl-paraconsäuren

Von

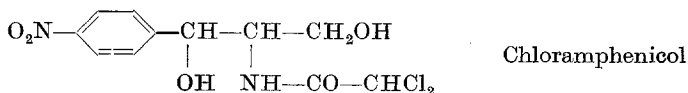
W. Klötzer und H. Bretschneider

Aus dem Institut für Organische und Pharmazeutische Chemie
der Universität Innsbruck

(Eingelangt am 11. Februar 1956)

Ausgehend von der 4-Nitrophenyl-paraconsäure und der diastereoisomeren Iso-4-Nitrophenyl-paraconsäure werden durch acylierenden Curtius-Abbau und nachfolgende Reduktion die beiden diastereomeren 1-(4-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1,4-butandiole (Homochloramphenicole) dargestellt. Ihre Struktur wird durch Verseifungs- und Abbaureaktionen sichergestellt. Weiters werden einige neue Derivate (Ester, Amide) der 4-Nitrophenyl-paraconsäure beschrieben.

In den letzten Jahren wurden eine Reihe von Arbeiten veröffentlicht, die Variationen am Molekül des 1-(4-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1,3-propandiol (Chloramphenicol)

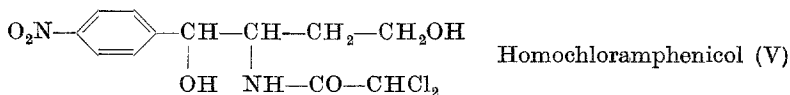


zum Inhalt haben¹. Die strukturellen Veränderungen an dieser Verbindung hatten in der Regel einen dystherapeutischen Effekt, insbesondere wenn diese die Seitenkette betrafen.

Es schien daher von Interesse, die Auswirkung einer einfachen Homologisierung — unter Erhaltung des Charakters der funktionellen Gruppen — auf die antibakterielle Wirksamkeit zu untersuchen, zumal

¹ H. Vonderbank, *Arzneimittelforsch.* 2, 284 (1952). — C. M. Suter, S. Schalit und R. A. Cutler, *J. Amer. Chem. Soc.* 75, 4330 (1953). — D. S. Morris und S. D. Smith, *J. Chem. Soc. London* 1954, 1680. — K. Biemann, *Mh. Chem.* 86, 895 (1955).

die ins Auge gefaßte Verbindung, das 1-(4-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1,4-butandiol (V)



in wenigen Syntheseschritten zugänglich sein sollte. Infolge der bekannt hohen Konfigurationsspezifität des Chloramphenicols — die Erythroform ist praktisch unwirksam — war es natürlich erwünscht, beide diastereomeren Formen des Homochloramphenicols kennenzulernen.

Tatsächlich konnte die neue Verbindung (V) von der bekannten 4-Nitrophenyl-paraconsäure (I)² aus in 4 stufiger Synthese erreicht werden. Durch Übertragung derselben Schrittfolge auf die neu dargestellte diastereomere Iso-4-nitrophenyl-paraconsäure (Ia) konnte auch das zweite diastereomere Homochloramphenicol (Va) zugänglich gemacht werden.

Die Nacharbeitung der angegebenen Darstellungsmethode für (I)², der Umsatz von neutralen Natriumsuccinat mit 4-Nitrobenzaldehyd und Essiganhydrid bei 140° ergab nur sehr schlechte Ausbeuten (10 bis 20% d. Th.), die auf eine starke Decarboxylierung während der Reaktion zurückzuführen sind. Durch Umsatz von saurem Kaliumsuccinat mit 4-Nitrobenzaldehyd und Essiganhydrid in Gegenwart von Pyridin bei 100° konnte die Ausbeute an 4-Nitrophenyl-paraconsäure (I) (Schmp. 164°) auf zirka 50% d. Th. erhöht werden (Vers. 1).

Aus den Mutterlaugen dieser Darstellung von (I) konnte bei manchen Versuchen, jedoch nicht immer, eine geringe Menge der diastereomeren 4-Nitrophenyl-paraconsäure (Ia) vom Schmp. 205° erhalten werden (Vers. 1). Vorteilhafter wurde diese Säure (Ia) durch Nitrierung der bekannten Isophenylparaconsäure³ dargestellt (Vers. 2).

Die nunmehr in guter Ausbeute zugängliche Säure (I) wurde durch Umsatz mit Thionylchlorid in ihr nicht analysiertes Säurechlorid (II) (Schmp. 115°) verwandelt, welches durch Reaktion mit Natriumazid das ebenfalls nicht analysierte Säureazid (III) (Zersp. ~ 90°) ergab (Vers. 3). Durch Umsatz des Azides (III) mit Dichloressigsäureanhydrid und Dichloressigsäure erhielt man das β -Dichloracetamido- γ -(4-nitrophenyl)- γ -butyrolacton (Schmp. 166°, IV). (Vers. 4.)

Es sei erwähnt, daß bei einer Serie von Versuchen dieser Schrittfolge einmal mit Sicherheit die nebeneinander erfolgende Bildung beider diastereomeren Lactone (IV + IVa) beobachtet werden konnte.

Die rationelle und gut reproduzierbare Darstellung des diastereomeren Butyrolactons (IVa) erfolgt jedoch über die vorerwähnte diastereomere

² H. W. Salomonson, Ber. dtsch. chem. Ges. 18, 2155 (1885).

³ Fr. Fichter und C. Dreyfus, Ber. dtsch. chem. Ges. 33, 1453 (1900).

4-Nitrophenyl-paraconsäure (Ia, Schmp. 205°) mit Hilfe der gleichen Reaktionsfolge (Vers. 5).

Die beiden Verbindungen (IV, IVa) sind in Wasser ziemlich schwer löslich, während organische Solventien (Alkohol, Essigester) die Verbindungen gut lösen. Beim Digerieren mit 0,5 n NaOH in der Kälte (Eisbad) gehen die Verbindungen in Lösung (vermutliche Öffnung des Lactonringes). Die Mischprobe zwischen beiden Lactonen (IV, Schmp. 166°) und (IVa, Schmp. 172°) gab eine Depression auf 130°.

In der Folge wurde das Lacton (IV, Schmp. 166°) durch Reduktion mit Lithiumborhydrid in Tetrahydrofuran in das d,l-erythro-1-(4-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1,4-butandiol (V), Schmp. 148 bis 150°, übergeführt (Vers. 6). Unter etwas gelinderen Reduktionsbedingungen ergab auch das diastereomere Lacton (IVa, Schmp. 172°) das entsprechende d,l-threo-1-(4-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1,4-butandiol (Va, Schmp. 133 bis 135°) (Vers. 7).

Diese mit allem Vorbehalt gebrachte Konfigurationszuteilung erfolgte auf Grund der Schmelzpunktsanalogien mit threo- und erythro-Chloramphenicol⁴.

Eine weitere Stütze für die Richtigkeit dieser Annahme stellt der Befund vor, daß nur die hypothetische threo-Form in Übereinstimmung mit Chloramphenicol eine deutliche antibakterielle Wirksamkeit besitzt (siehe unten).

Die beiden Verbindungen (V, Va) weisen eine gegenüber den Lactonen (IV, IVa) erhöhte Wasserlöslichkeit auf, dagegen sind die in 0,5 n kalter NaOH im Gegensatz zu den Lactonen (IV, IVa) nicht löslich. Wenn die Verbindung (V) (Schmp. 148 bis 150°) jedoch mit 8 n NaOH bei 0° digeriert wird, so tritt vollständige Lösung ein. Durch Ansäuern mit Salzsäure kann die Ausgangsverbindung (V) unverändert wieder erhalten werden. Ein gleiches Verhalten zeigte auch das strukturell sehr ähnliche 1-(4-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1,3-propandiol (Chloramphenicol). Es ist ebenfalls in starker NaOH (8 n) in der Kälte (bei 0°) löslich und läßt sich mit Salzsäure wieder unverändert ausfällen (Vers. 6).

Eine Erklärung für die Alkalilöslichkeit der obgenannten Verbindungen besteht in der Annahme, daß das Wasserstoffatom am Amidstickstoff durch den stark positivierenden Effekt des Dichloracetylrestes genügend acidifiziert wird, um bei höheren Laugenkonzentrationen ein Natriumsalz zu bilden.

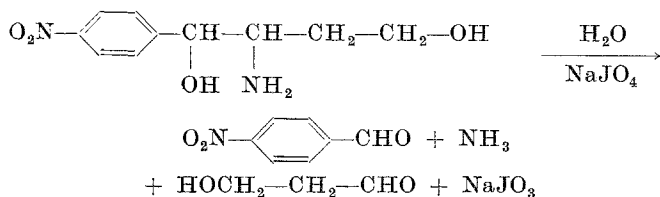
Die Beweise für das Vorliegen der angenommenen Struktur in (V bzw. Va) wurden an Hand der in höherer Ausbeute anfallenden Verbindung (V, Schmp. 148 bis 150°) erhoben und richten sich im wesent-

⁴ J. Controulis, M. C. Rebstock und H. M. Crooks, J. Amer. Chem. Soc. 71, 2467 (1949).

lichen nach dem von *Rebstock*⁵ angegebenen Verfahren für das Chloramphenicol.

Das 1-(4-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1,4-butandiol (V, Schmp. 148 bis 150°) wurde mit 2 n HCl verseift und ergab neben Dichloressigsäure (identifiziert als Thiuroniumsalz) das 1-(4-Nitrophenyl)-2-amino-1,4-butandiol-hydrochlorid (VI) (Vers. 8). Das Hydrochlorid wurde in üblicher Weise in die freie Base (Schmp. 148°) verwandelt, welche beim Umsatz mit Dichloressigsäureäthylester wiederum (V) zurückergab (Vers. 8, 9).

Die Oxydation einer eingewogenen Menge der freien Base von (VI) (Schmp. 148°) mit überschüssigem Natriumperjodat, nach der beschriebenen Methode⁵ ergab nahezu den theoretischen Verbrauch an Natriumperjodat unter Bildung von 4-Nitrobenzaldehyd und Ammoniak (Vers. 10). In einer zweiten Probe wurde der bei der Oxydation entstehende Ammoniak in guter Übereinstimmung mit der theoretisch möglichen Menge erfaßt (Vers. 10a).

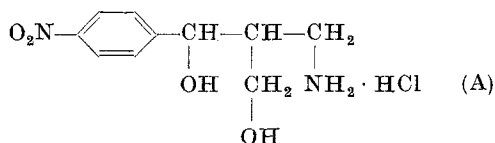


Das nach der Reaktionsgleichung zu erwartende dritte Spaltprodukt, der β -Oxypropionaldehyd, konnte auch bei der Oxydation einer größeren Menge des Basenhydrochlorids (VI) nicht sichergestellt werden (Vers. 10 b). Nach den Literaturangaben⁶ stellt dieser Aldehyd eine sehr instabile Verbindung vor, deren Identifikation schwierig ist. Ein Versuch, in der vom 4-Nitrobenzaldehyd befreiten wäßrigen Mutterlauge des Oxydationsansatzes den β -Oxypropionaldehyd mit *Tollens*-Reagens zu Hydracrylsäure zu oxydieren und diese dann in die leichter identifizierbare Acrylsäure zu verwandeln, blieb erfolglos. Es konnte lediglich die stark positive *Tollens*-Reaktion der Mutterlauge festgestellt werden (Vers. 9).

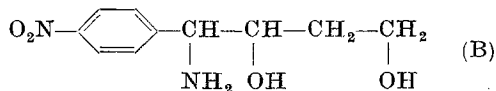
Folgende Überlegungen können zur Stützung der angenommenen Struktur für (VI) zusätzlich herangezogen werden. Bei der an sich nicht naheliegenden Annahme, daß der *Curtius*-Abbau an der anderen, γ -ständigen Carboxylfunktion ansetzt, müßte bei derselben Schrittfolge, wie für (VI) angegeben, ein zu (VI) isomeres Basenhydrochlorid (A) entstehen. Dieses kann als 1,3-Glycol keinen Perjodatverbrauch zeigen.

⁵ *M. C. Rebstock* und Mitarbeiter, *J. Amer. Chem. Soc.* **71**, 2458 (1949).

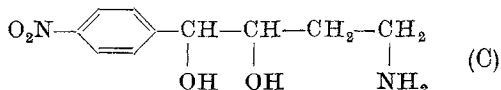
⁶ *R. H. Hall* und *E. S. Stern*, *J. Chem. Soc. London* **1950**, 490.



Dem Basenhydrochlorid (VI) die zweite denkbare isomere Struktur (B) zuzuweisen, ist auf Grund der Herstellungsbedingungen nicht möglich.



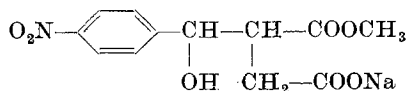
Eine wiederum zu (VI) isomere Verbindung der dritten prinzipiell möglichen Struktur (C)



würde bei der Spaltung mit NaJO_4 wohl 4-Nitrobenzaldehyd, aber keinen Ammoniak liefern und schließt daher ebenfalls aus.

Darstellung von weiteren Derivaten der 4-Nitrophenyl-paraconsäure (I)

Durch Umsatz des 4-Nitrophenyl-paraconsäure-chlorids (II) mit Methylalkohol erhielt man den Methylester (VII) (Schmp. 108°) (Vers. 11). *Salomonson*⁷ beschreibt den Methylester als Öl, so daß wahrscheinlich damals keine reine Verbindung vorgelegen hat. Der Ester (VII) ist in verd. Natronlauge mit nach gelb verblassender violetter Farbe löslich und mit starker Salzsäure wieder unverändert fällbar. Es wird angenommen, daß sich unter Öffnung des Laktonringes ein Natriumsalz der Struktur



bildet, welches im sauren Medium unter Ringschluß zu (VII) zurückverwandelt wird.

Durch Erhitzen des Esters (VII) mit verd. Natronlauge und nachfolgendes Ansäuern erhält man die 4-Nitrophenyl-paraconsäure (I) zurück (Vers. 11).

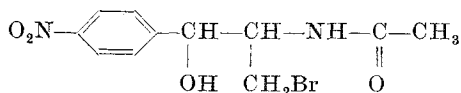
Bei der Reaktion des Säurechlorids (II) mit Ammoniak in Benzol erhält man das Amid (VIII) (Schmp. 207°) der 4-Nitrophenyl-paraconsäure (I).

⁷ *H. W. Salomonson, Rec. trav. chim. Pays-Bas* 6, 13 (1887).

Auch diese Verbindung ist in verd. Natronlauge löslich und läßt sich mit konz. Säure aus der wäßrig-alkalischen Lösung unverändert fällen (Vers. 12).

Zu einem Carbonamid der Struktur (IX) (Schmp. 137°) gelangt man durch Umsatz von (I) mit konz. Ammoniak. Dieses Carbonamid ist erwartungsgemäß im Gegensatz zu (VIII) bereits in Natriumbicarbonat löslich (Vers. 13).

Als Modells substanz für eine eventuelle Synthese des Chloramphenicols wurde aus (I) über das Säurechlorid (II) und das Säureazid (III) durch Umsatz mit Essigsäureanhydrid das β -Acetamido- γ -(4-nitrophenyl)- γ -butyrolacton (X, Schmp. 222°) hergestellt (Vers. 14). Die durch Partialverseifung der Lactongruppierung hergestellte freie Carboxylgruppe sollte nach *Hunsdiecker*⁸ in Form ihres Silbersalzes mit Halogen (Br₂) in die Verbindung



übergeführt werden (Vers. 15).

Dieses Bromhydrin sollte leicht in eine der beiden diastereomeren Chloramphenicolbasen überführbar sein, wodurch auch eine sterische Zuordnung vollziehbar wäre. Zahlreiche Versuche, das Silbersalz des geöffneten Acetaminolactons nach *Hunsdiecker* abzubauen, blieben erfolglos. Es konnte weder ein Verbrauch des Halogens noch CO₂-Entwicklung festgestellt werden. Bei der Aufarbeitung wurde Ausgangsmaterial (X) in guter Ausbeute zurückerhalten.

Die Verbindungen (IV), (IVa), (V) und (Va) wurden im Röhrenverdünnungstest gegen *Bact. coli commune* im Vergleich zu Chloramphenicol geprüft⁹. Die Verbindungen (IV), (IVa) und (V) waren bei einer Konzentration von 1000 γ /ccm unwirksam. Das racem. hypothetische threo-Homochloramphenicol (Va) zeigt hingegen 1/50 der Wirksamkeit des natürlichen optisch-aktiven Chloramphenicols.

Konzentration in γ /ccm	250	125	62	31	15	7	3	1,5	0,7
Chloramphenicol	0	0	0	0	0	0	0	0	+
(Va) threo-Homochloramphenicol	0	0	0	0	+	+	+	+	+

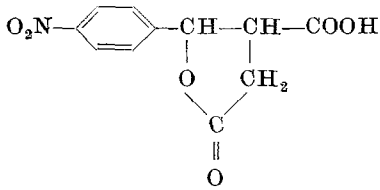
0 = Hemmung des Wachstums.

+ = Wachstum.

⁸ *J. Kleinberg*, Chem. Rev. 40, 381 (1947).

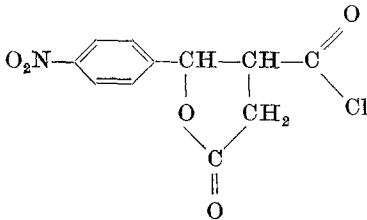
⁹ Wir danken an dieser Stelle nochmals Herrn Dr. *E. Semenz* (Bundesstaat. bakteriolog.-serolog. Untersuchungsanstalt Innsbruck) für die Durchführung der bakteriologischen Tests.

Formelübersicht



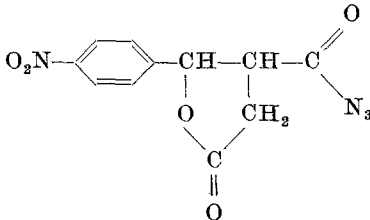
(I) Schmp. 164°

(Ia) Schmp. 205°



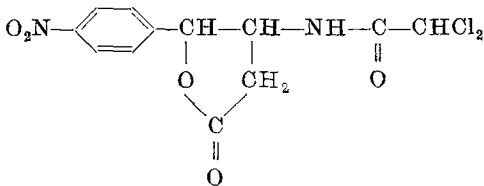
(II) Schmp. 115 bis 120° nicht analysiert

(IIa) nicht isoliert



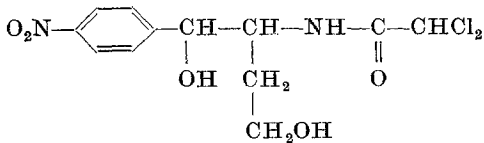
(III) Zersp. ~ 90°

(IIIa) Zersp. ~ 70°



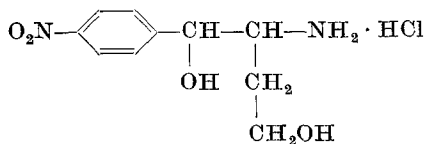
(IV) Schmp. 164 bis 166°

(IVa) Schmp. 169 bis 171°



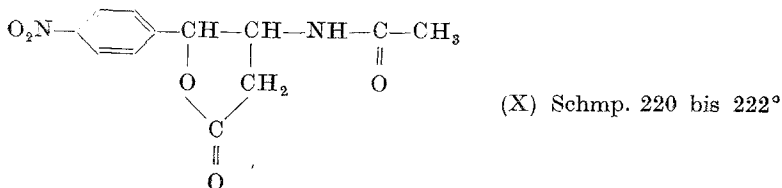
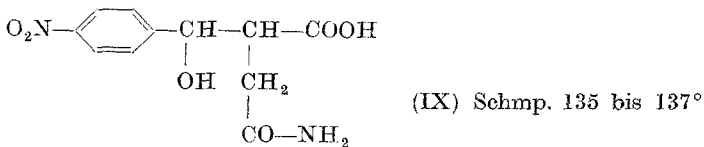
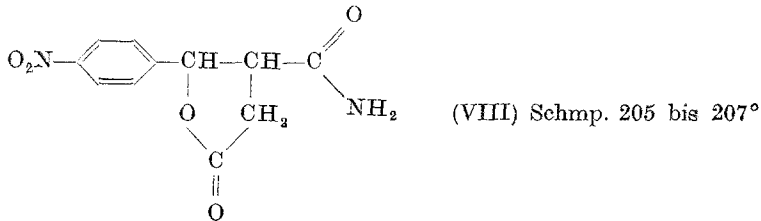
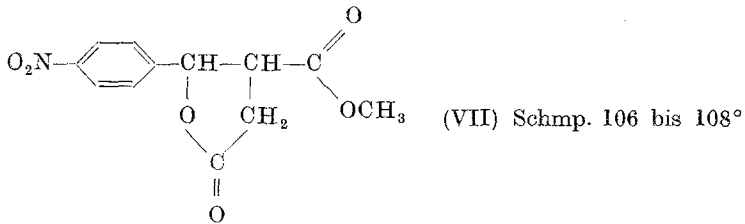
(V) Schmp. 148 bis 150°

(Va) Schmp. 133 bis 135°



(VI) Zersp. 257 bis 263°

Base: Schmp. 148°



Experimenteller Teil

Versuch 1 (I, Ia): 12 g Kaliumsuccinat (trocken) und 11 g p-Nitrobenzaldehyd werden miteinander fein verrieben und zusammen mit 12 ccm Essigsäureanhydrid und 1 ccm Pyridin unter Feuchtigkeitsausschluß 16 Stdn. am siedenden Wasserbad erhitzt (Schwarzfärbung). Nach dieser Zeit wird der Ansatz erkalten gelassen und mit Wasser und Natriumbicarbonat bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt. Dann wird von schwarzen, ungelösten Bestandteilen abfiltriert. Der unlösliche Anteil wird nochmals mit Na-bicarbonatlösung verrieben und filtriert. Die vereinigten bicarbonat-alkalischen Lösungen (Gesamtvol. ~ 300 ccm) werden mit Tierkohle zirka 10 Min. geschüttelt und nach der Filtration mit konz. Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion angesäuert. Sofort nach dem Einsetzen der Kristallisation (Klarwerden der Mutterlauge) wird filtriert. Man erhält so 11,5 g 4-Nitrophenyl-paraconsäure (I) vom Schmp. 153 bis 160°. Durch Umkristallisieren aus verd. Alkohol (140 ccm Wasser, 20 ccm Alkohol) erhält man 9,2 g (I) vom Schmp. 164 bis 166° (51% d. Th.).

Die obengenannte kongosaure Mutterlauge schied bei manchen Versuchen nach 24stünd. Stehen bei 0° 0,4 g eines Produktes ab, das bei 145

bis 190° schmilzt. Durch 1- bis 2maliges Umkristallisieren aus Wasser erhält man 0,15 g der diastereomeren 4-Nitrophenyl-paraconsäure (Ia) vom Schmp. 205 bis 207° (Umwandlung bei 130 bis 140°). Zur Analyse wird nochmals aus Wasser umgelöst. Die Verbindung enthält 1 Mol Kristallwasser und ist bicarbonatlöslich.

$C_{11}H_{11}O_7N$ (269,2). Ber. C 49,07, H 4,12, N 5,20.

Gef. C 49,14, H 4,19, N 5,36.

Versuch 2 (Ia): 1 g Isophenyl-paraconsäure³ (Schmp. 168°) werden langsam unter Rühren in 5 ccm auf -15° abgekühlte, rauchende Salpetersäure (1,52) innerhalb 5 Min. eingetragen. Der Ansatz wird 15 Min. bei -15°, dann 30 Min. bei 0° gehalten und schließlich auf 15 g Eis gegossen. Die nach einiger Zeit abgeschiedene Verbindung (0,8 g, 60% d. Th., Schmp. 180 bis 200°) wird zur Reinigung aus Wasser umkristallisiert (Schmp. 200 bis 205°) und erweist sich als ident mit der obengenannten diastereomeren 4-Nitrophenyl-paraconsäure (Ia) vom Schmp. 205 bis 207°.

Versuch 3 (II, III): 15 g 4-Nitrophenyl-paraconsäure (I, Schmp. 164°) werden mit 15 ccm reinem Thionylchlorid bis zum Aufhören der HCl-Entwicklung (vollständige Lösung) am Wasserbad erhitzt (Dauer zirka 30 Min.). Dann wird das überschüssige Thionylchlorid im Vak. bei 70° abdestilliert, etwas Benzol zugesetzt und nochmals abgezogen. Der ölige Rückstand erstarbt beim Anreiben mit Petroläther und stellt das Säurechlorid von (I) vor (Ausbeute 15 g, 94% d. Th., Schmp. 115 bis 120°).

Das Säurechlorid (II) wird mit 20 ccm absol. Tetrachlorkohlenstoff in einer Reibschale ganz fein verrieben und mit weiteren 70 ccm CCl_4 in einen Kolben gespült. Dann wird der Ansatz auf 0° gekühlt und unter heftigem Turbinieren und fortgesetztem Kühlen mit einer Lösung von 10 g Natriumazid in 25 ccm Wasser tropfenweise versetzt. Das Rühren wird 40 Min. fortgesetzt und die entstehende dicke Emulsion filtriert. Der Filtrerrückstand wird mit etwas CCl_4 und 20 ccm Eiswasser gewaschen. Das Säureazid (III) der 4-Nitrophenyl-paraconsäure wird im Vakuumexsikkator bei zirka 10° über P_2O_5 und Silicagel 12 Stdn. getrocknet. Man erhält so 15 g (90% d. Th.) gelbliche Verbindung (III) vom Zersp. ~90° (unter Gasentwicklung).

Versuch 4 (IV): 10 g (III) werden mit 10,5 g Dichloressigsäureanhydrid und 1,5 ccm Dichloressigsäure bei 0° versetzt und im Verlauf von 12 Stdn. mit dem Eisbad auftauen gelassen. Dann wird vorsichtig am Wasserbad im Verlaufe von 2 Stdn. auf 80° erhitzt, wobei starke Stickstoffentwicklung einsetzt. Dann läßt man noch 1 Std. bei 80° ausreagieren und versetzt nach dem Erkalten mit 200 ccm Wasser. Nach einigem Stehen bei 0° kristallisiert der vorher ölige Kolbeninhalt. Die Kristallisation wird zerkleinert, isoliert und mit verd. Na-bicarbonatlösung extrahiert. Die bicarbonat-alkalische Lösung gibt beim Ansäuern 2,5 g (I) (27% d. Th.), Schmp. 162°. Der unlösliche Rückstand (9,0 g) wird aus verd. Methylalkohol (90 ccm + 40 ccm Wasser) unter Zusatz von Tierkohle umgelöst. Man erhält so 8,0 g β -Dichloracetamido- γ -(4-nitrophenyl)- γ -butyrolacton (IV) vom Schmp. 162 bis 164° (66% d. Th.) in Form von feinen Nadeln. Zur Analyse wurde noch 2mal aus Methylalkohol umkristallisiert (Schmp. 164 bis 167°).

$C_{12}H_{10}O_5N_2Cl_2$ (333,13). Ber. C 43,26, H 3,03, Cl 21,29.

Gef. C 43,62, H 3,17, Cl 20,78.

Die Verbindung geht beim Digerieren mit 0,5 n NaOH bei ~0° langsam in Lösung. Sie ist weiterhin löslich in Alkohol und Essigester, während sie in Wasser sehr wenig löslich ist.

Versuch 5 (IVa aus Ia): 0,4 g der diastereoisomeren p-Nitrophenylparaconsäure (Ia) vom Schmp. 203 bis 205° werden durch 30 Min. Kochen mit 1,5 ccm Thionylchlorid in das nicht identifizierte Säurechlorid übergeführt. Nach dem Abdampfen des überschüssigen Thionylchlorids im Vak. wird der Rückstand noch warm mit 10 ccm absol. CCl₄ versetzt und unter starkem Turbinieren auf 0° abgekühlt. Dann wird unter fortgesetztem starkem Rühren mit 0,7 g festem NaN₃ und dann langsam mit 1 ccm Wasser versetzt. Nach zirka 30 Min. ist der größte Teil der vorher glasig-amorphen Substanz in den Kristallzustand übergegangen. Die restlichen, nicht kristallisierten Anteile werden möglichst gut von Hand aus verrieben. Der emulgierte Ansatz wird sodann filtriert, mit einigen ccm CCl₄ und 5 ccm Eiswasser gewaschen und im P₂O₅-Silicagel-Exsikkator 12 Stdn. bei 10° getrocknet. Die so erhaltenen 0,45 g Säureazid von (Ia) (Zersp. ~ 70°) werden mit 0,8 ccm Dichloressigsäureanhydrid bei 0° versetzt und langsam am Wasserbad bis zum Auflösen der N₂-Entwicklung erhitzt. Beim nachfolgenden Anreiben des abgekühlten Ansatzes mit wenig Wasser tritt sofort Kristallisation ein. Die isolierten Kristalle werden noch mit verd. Bicarbonatlösung am Filter gewaschen. (Falls der heterogene Umsatz des Säurechlorids mit NaN₃ nicht vollständig war, kann an dieser Stelle durch Ansäuern des bicarbonat-alkalischen Extraktes mit Salzsäure ein Teil der Ausgangssäure, Schmp. 205°, rückgewonnen werden.)

Durch Umkristallisieren des bicarbonatunlöslichen Anteiles (0,3 g, Schmp. 160°) aus verd. Methylalkohol erhält man 0,22 g reines β-Dichloracetamido-γ-(p-nitrophenyl)-γ-butyrolacton (IVa) vom Schmp. 169 bis 171° (42% d. Th.), welches bei der Mischprobe mit dem im Vers. 4 gewonnenen (IV) Depression auf 130° ergibt.

Zur Analyse wird nochmals aus verd. Methylalkohol umkristallisiert (Schmp. 170 bis 171°).

C₁₂H₁₀O₅N₂Cl₂ (333,13). Ber. C 43,26, H 3,03, Cl 21,29.

Gef. C 43,19, H 3,03, Cl 21,49.

Da trotz der gleichen Analyse wie für (IV) angegeben, die beiden Verbindungen (Schmp. 164 bis 166° und Schmp. 170 bis 171°) bei der Mischprobe eine Depression auf 130° ergaben, wurde angenommen, daß die bei 170 bis 171° schmelzende Substanz ein diastereoisomeres β-Dichloracetamido-γ-(p-nitrophenyl)-γ-butyrolacton (IVa) vorstellt. (IVa) ist ebenfalls in 0,5 n NaOH bei 0° langsam löslich. Die Löslichkeit in Alkohol ist gut, während die Verbindung in Wasser nur schwer löslich ist.

Versuch 6, Reduktion von (IV) zu (V) erythro-Homochloramphenicol: 1,8 g Lacton (IV, Schmp. 162 bis 164°) werden in 10 ccm absol. Tetrahydrofuran gelöst und bei 0° mit 0,1 g LiBH₄ in 10 ccm absol. Tetrahydrofuran versetzt. Nach 30 Min. wird der Ansatz aus dem Eisbad genommen und 16 Stdn. bei 20° aufbewahrt. Nach dieser Zeit wird mit 20%iger Essigsäure bis zur Beendigung der Gasentwicklung tropfenweise versetzt und das Lösungsmittel im Vak. bei 40° entfernt. Der Rückstand kristallisiert auf Anreiben mit wenig Wasser. Man erhält so 1,6 g rohes erythro-1-(p-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1,4-butandiol (V), vom Schmp. 130 bis 145°. Durch Umkristallisieren aus 10%igem Methylalkohol erhält man 1,2 g (V) vom Schmp. 146 bis 148° (66% d. Th.).

Zur Analyse wird nochmals aus Wasser und Imal aus Äther umkristallisiert. Schmp. 147 bis 150°.

C₁₂H₁₄O₅N₂Cl₂ (337,16). Ber. C 42,74, H 4,18, Cl 21,04.

Gef. C 42,79, H 4,21, Cl 21,10.

Die Verbindung ist im Gegensatz zu (IV) in 0,5 n NaOH auch bei längerem Digerieren unlöslich, dagegen wird sie von 8 n NaOH bei 0° aufgenommen. Beim nachfolgenden Ansäuern mit HCl 1:1 unter sorgfältigem Kühlen fällt (V) wieder unverändert (Mischprobe) aus. Ein gleiches Verhalten bei paralleler Anordnung zeigt auch d-(—)-threo-1-(p-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1,3-propan diol (Chloramphenicol).

Die Verbindung (V) ist fernerhin ziemlich löslich in Wasser und Alkohol und gibt bei der Mischprobe mit ihrem Startmaterial (IV) eine Depression auf 130°.

Versuch 7, Reduktion von (IVa) zu (Va) threo-Homochloramphenicol: 0,3 g (IVa), Schmp. 169 bis 171°, werden in 7,5 ccm absol. Tetrahydrofuran gelöst und bei — 15° mit 0,018 g LiBH₄ in 1,8 ccm absol. Tetrahydrofuran versetzt. Der Ansatz wird hernach bei 0° unter Feuchtigkeitsausschluß 50 Stdn. aufbewahrt. Dann wird mit verd. Salzsäure tropfenweise bis zum Aufhören der Gasentwicklung versetzt und das Lösungsmittel im Vak. bei 20 bis 30° entfernt. Der Rückstand wird mit 3 bis 4 ccm Wasser angerieben und kaltgestellt. Das nach mehreren Stdn. kristallisierte threo-1-(4-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1,4-butandiol (Va) (250 mg, Schmp. 128 bis 135°, 80% d. Th.) wird aus wenig Wasser umgelöst und schmilzt dann bei 133 bis 135° (zirka 150 mg). Zur Analyse wird nochmals aus Wasser umkristallisiert (Schmp. 133 bis 135°).



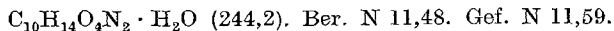
Die Verbindung (Va) gibt bei der Mischprobe mit ihrem Ausgangsmaterial (IVa) eine Depression auf 125°. Die Mischprobe mit (V, Schmp. 148 bis 150°) gibt eine Depression auf 120°.

Versuch 8, Verseifung von (V) zu (VI): 1,5 g 1-(4-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1,4-butandiol (V) werden mit 20 ccm 2 n HCl und 2 ccm Methanol 4 Stdn. am siedenden Wasserbad erhitzt. Dann wird die entstandene Lösung mit Tierkohle filtriert und 5mal mit 15 ccm Äther ausgeschüttelt*.

Die wäßrig-salzsäure Lösung wird im Vak. bei 40° zur Trockene eingeeengt. Der hinterbleibende salzartige Rückstand wird in wenig warmem Methanol gelöst und mit Äther wieder ausgefällt. Man erhält so 1,0 g 1-(4-Nitrophenyl)-2-amino-1,4-butandiol-hydrochlorid (VI) vom Zersp. 258 bis 262° (85% d. Th.). Zur Analyse wird 2mal aus Alkohol-Äther umgefällt (Zersp. 258 bis 263°).



Durch Lösen des Hydrochlorids (VI) in wenig Wasser und Versetzen mit einer konz. Kaliumcarbonatlösung g läßt sich die freie Base gewinnen. Aus Wasser umgelöst, schmilzt sie bei 148°. Zur Analyse wurde nochmals aus Wasser umgelöst (Schmp. 148°, kristallwasserhaltig).



Die obengenannten vereinigten Ätherextrakte* der salzsäuren Lösung werden getrocknet und abdestilliert. Der Rückstand wird mit Na-bicarbonatlösung genau neutralisiert und mit einer konz. alkohol. Lösung von 0,5 g S-Benzylthiuroniumchlorid versetzt. Die nach kurzem Erwärmen einsetzende Kristallisation wird durch Abkühlen vervollständigt. Man erhält so 0,1 g Benzylthiuroniumsalz der Dichloressigsäure vom Zersp. 176°. Das nach dem Umlösen aus Alkohol bei 178° schmelzende Salz ist nach Mischprobe ident mit einem aus Dichloressigsäure zu Identifikationszwecken hergestellten.

Versuch 9 (V aus VI): 0,12 g Base von (VI), Schmp. 148°, werden mit 0,3 g Dichloressigsäureäthylester $2\frac{1}{2}$ Std. am siedenden Wasserbad erhitzt. Der abgekühlte Ansatz wird mit Petroläther verrieben, der Petroläther abdekantiert und der ölige Rückstand mit Wasser angerieben, worauf Kristallisation eintritt. Die isolierte Substanz wird aus wenig Wasser umkristallisiert und schmilzt bei 145 bis 148° (30 mg). Die Mischprobe mit (V), Schmp. 148 bis 150°, ergibt keine Depression.

Versuch 10, Bestimmung des Perjodatverbrauches von (VI) Base: 61 mg (0,00025 Mol) dieser Base (Schmp. 148°) werden mit 5 ccm Wasser und 5 ccm 0,1 n Natriumperjodatlösung bis zum Aufhören der Ammoniakentwicklung (zirka 30 Min.) auf 70 bis 80° am Wasserbad erhitzt. Beim Abkühlen tritt Kristallisation ein. Durch Filtration können 19 mg 4-Nitrobenzaldehyd (50% d. Th., identifiziert durch Mischprobe) erhalten werden. Das Filtrat wird mit 5 ccm 0,1 n Natriumarsenitlösung, 0,5 g Kaliumjodid, 1 g Natriumbicarbonat und Stärkelösung versetzt und dann mit 0,1 n Jodlösung zurücktitriert. Der gefundene Jodverbrauch (5,7 ccm, ber. 5,0 ccm) läßt auf einen Perjodatumsatz schließen, der 86% der theoretisch zu erwartenden Menge entspricht.

Versuch 10a, Perjodatoxydation von (VI)-Base, Erfassung von Ammoniak: 61 mg (0,00025 Mol) der Base von (VI) werden mit 0,2 g Natriumperjodat in 30 ccm Wasser in einer mit einem Tropftrichter versehenen gasdichten Destillationsapparatur, in deren Vorlage sich 5,27 ccm 0,1 n HCl befinden, langsam auf 70 bis 80° erhitzt und 15 Min. bei dieser Temp. gehalten. Dann wird bis zum Siedepunkt erhitzt, 15 ccm Wasser überdestilliert, 2 ccm 50%ige Natronlauge durch den Tropftrichter zugesetzt und weitere 5 ccm Wasser überdestilliert. Durch Rücktitration mit 0,1 n NaOH kann ein durch übergegangenen Ammoniak hervorgerufener 0,1 n HCl-Verbrauch von 2,20 ccm (ber. 2,50 ccm) festgestellt werden (88% d. Th.).

Versuch 10b, Perjodatoxydation von (VI), Versuch der Erfassung des β -Oxypropionaldehydes: 0,5 g (VI) werden in 30 ccm Wasser gelöst und mit 0,45 g Natriumperjodat versetzt. Der Ansatz wird 15 Min. auf 80° am Wasserbad erhitzt, wobei fast alles in Lösung geht und im Gasraum ein basisches Gas nachweisbar ist. Beim Abkühlen tritt Kristallisation ein. Die Filtration ergibt 150 mg p-Nitrobenzaldehyd vom Schmp. 106° (identifiziert durch Mischprobe). Die Mutterlauge wird 2mal mit 15 ccm Äther extrahiert, ammoniakalisch gemacht und mit einer Tollens-Lösung (hergestellt aus 1,7 g Silbernitrat in 10 ccm Wasser, 0,4 g NaOH in 10 ccm Wasser und Ammoniak) versetzt. Der Ansatz wird sodann 30 Min. auf 50° erwärmt, wobei sich ein Silberspiegel bildet. Nach der angegebenen Zeit wird mit konz. Salzsäure eben kongosauer gemacht, das ausgeschiedene Silberchlorid abfiltriert und die mit Kaliumcarbonat schwach alkalisch eingestellte Lösung im Vak. bei 40 bis 50° zur Trockene eingengt. Der salzartige Rückstand wird 3mal mit 20 ccm Methanol heiß extrahiert und das Methanol verdampft. Der trockene methanol. Extrakt wird mit 15 ccm halbkonz. Schwefelsäure versetzt und wasserdampfdestilliert. Das Destillat (100 ccm) wird mit Natronlauge genau neutralisiert und bei 40 bis 50° im Vak. auf zirka 2 bis 3 ccm eingengt. Beim Versetzen der stark eingengten Lösung mit 0,2 g S-Benzylthiuroniumchlorid in wenig Wasser konnte kein (als schwerlöslich bekanntes) Thiuroniumsalz der Acrylsäure erhalten werden.

Versuch 11 (VII): 10 g p-Nitrophenyl-paraconsäure-chlorid (II) (Vers. 3) werden mit 200 ccm absol. Methanol 15 Min. rückflußerhitzt. Nach dem Abdestillieren des Methanols wird mit Petroläther angerieben, wobei man

10 g rohen p-Nitrophenyl-paraconsäure-methylester (VII) vom Schmp. 96 bis 98° erhält. Durch Umlösen aus Methylalkohol erhält man 8,5 g reinen Ester vom Schmp. 106° (86% d. Th.).

$C_{12}H_{11}O_6N$ (265,21). Ber. C 54,34, H 4,18. Gef. C 54,53, H 4,26.

Der Methylester löst sich langsam in der äquivalenten Menge Natronlauge (mit etwas Alkohol als Lösungsvermittler) mit violetter Farbe, die beim längeren Stehen nach gelb verblaßt. Durch Ansäuern der Lösung mit konz. Salzsäure erhält man nach längerem Stehen auf Eis den unverändert schmelzenden Ester zurück.

Durch Erhitzen von 0,5 g Ester (VII) mit verd. Natronlauge (0,2 g NaOH und 15 ccm Wasser) am Wasserbad während 3 Stdn. und nachfolgendes Ansäuern mit 4 ccm konz. Salzsäure erhält man 0,47 g 4-Nitrophenyl-paraconsäure (I) vom Schmp. 160° (96% d. Th.).

Versuch 12 (VIII): 2 g frisch hergestelltes Säurechlorid (II) (Vers. 3) werden mit 20 ccm absol. Benzol verrieben. In die Suspension wird unter Rühren 15 Min. lang ein rascher Ammoniakstrom eingeleitet. Nach weiterem 2stünd. Stehen wird der Ansatz mit 20 ccm gesättigter, wäbr. Kaliumbicarbonatlösung geschüttelt und filtriert. Der unlösliche Rückstand wird aus Alkohol umkristallisiert und schmilzt bei 202°. Die Ausbeute beträgt 1,65 g (88% d. Th.). Zur Analyse wurde 2mal aus 90% Alkohol umkristallisiert (Schmp. 205 bis 207°).

$C_{11}H_{10}O_5N_2$ (250,2). Ber. N 11,20. Gef. N 11,14.

Das γ -(4-Nitrophenyl)-butyrolacton- β -carbonsäureamid (4-Nitrophenyl-paraconsäureamid) (VIII) ist in Na-bicarbonat- und Sodalösung unlöslich, dagegen wird es von verd. Natronlauge ohne Ammoniakentwicklung bei Zimmertemp. langsam aufgenommen.

Versuch 13 (IX): 1,3 g 4-Nitrophenyl-paraconsäure (I) vom Schmp. 164° werden mit 5 ccm konz. (28%) Ammoniak 15 Min. auf zirka 80° erwärmt. Die abgekühlte Lösung scheidet beim Ansäuern mit Salzsäure 1,3 g 1-(4-Nitrophenyl)-1-hydroxy-2-carboxy-3-carbonamido-propan (IX) vom Schmp. 135 bis 137° ab (über 90% d. Th.). Zur Analyse wurde 2mal aus wenig Wasser umkristallisiert.

$C_{11}H_{12}O_6N_2$ (268,22). Ber. N 10,44. Gef. N 10,23.

Die Verbindung (IX) ist in Na-bicarbonat-Lösung löslich und läßt sich daraus mit Salzsäure unverändert fällen. Mit (I) gibt die Substanz eine Depression auf 130°.

Versuch 14 (X): 2,5 g 4-Nitrophenyl-paraconsäure (I) (Schmp. 164°) werden, wie im Vers. 3 angegeben, in das Säureazid (III) verwandelt. Das so erhaltene trockene Säureazid (2,6 g) wird mit 5 ccm Essigsäureanhydrid bei 0° versetzt und dann langsam am Wasserbad erwärmt. Bei zirka 50° setzt N_2 -Entwicklung ein, die durch weiteres Erwärmen auf zirka 80° zu Ende geführt wird. Dann wird am Wasserbad im Vak. das überschüssige Essiganhydrid abdestilliert und der Rückstand nach dem Erkalten mit wäbriger Kaliumbicarbonatlösung angerieben. Nach einigem Stehen tritt Kristallisation ein. Das isolierte rohe β -Acetamido- γ -(4-nitrophenyl)-butyrolacton (X) schmilzt bei 210° (1,9 g). Die bicarbonatalkal. Mutterlauge scheidet beim Ansäuern mit Salzsäure 0,5 g (I) (Schmp. 162 bis 164°) ab.

Das rohe (X) wird zur Reinigung aus verd. Alkohol umkristallisiert und schmilzt bei 222° (Ausbeute 1,5 g, 57% d. Th.). Zur Analyse wird nochmals aus Wasser umgelöst (Schmp. 222°).

$C_{12}H_{12}O_5N_2$ (264,23). Ber. C 54,54, H 4,58, N 10,60.
Gef. C 54,55, H 4,55, N 10,80.

Versuch 15: 2,6 g (X) werden mit 0,4 g NaOH in 15 ccm Wasser digeriert, bis fast alles in Lösung ist. Die filtrierte Lösung reagiert neutral. Durch Versetzen dieser Lösung mit 1,7 g $AgNO_3$ in 10 ccm Wasser erhält man 3,4 g Silbersalz.

1,95 g dieses Silbersalzes (über P_2O_5 getrocknet) werden in 10 ccm absol. CCl_4 suspendiert und unter Feuchtigkeitsausschluß in Gegenwart einer UV-Tauchlampe mit 0,8 g Brom versetzt. Dabei tritt auch nach längerer Beleuchtungsdauer und Erwärmung keine Entfärbung des Broms und keine CO_2 -Entwicklung (angeschlossene Gasbürette!) ein.

Zur Aufarbeitung wird filtriert, der Rückstand mit verd. Salpetersäure digeriert und nochmals filtriert. Der Filtrerrückstand wird in Na-bicarbonatlösung gelöst, von etwas Silberbromid abfiltriert und das Filtrat mit konz. Salzsäure angesäuert. Dabei kristallisieren 1,0 g einer bei 220 bis 222° schmelzenden Verbindung, die nach Mischprobe ident mit (X) ist.