

# Eine Synthese von DL-4-Dimethylamino-isoxazolidon-(3) (N,N-Dimethylcycloserin)<sup>1</sup> und Versuche zur Synthese am Ring alkylierter 4-Amino-isoxazolidone

Von

**W. Vetter** und **H. Bretschneider**

(Aus dem Institut für Organische und Pharmazeutische Chemie der Universität  
Innsbruck)

(Eingegangen am 31. Oktober 1959)

Aus  $\beta$ -Diphenylmethylenaminoxymethoxypropionitril<sup>2</sup>, einem Zwischenprodukt der von uns veröffentlichten Cycloserinsynthese<sup>2</sup>, wurde in 4stufiger Synthese über  $\beta$ -Aminoxymethoxypropionsäuremethylester N,N-Dimethylcycloserin dargestellt. Versuche, nach gleichem Syntheseprinzip an C<sub>4</sub> bzw. C<sub>5</sub> alkylierte bzw. arylierte Cycloserinanaloga zu gewinnen, blieben erfolglos.

Die von uns zur Synthese von D,L-4-Aminoisoxazolidon-(3) (Cycloserin) durchgeführte Reaktionsfolge<sup>2</sup> wurde auf ihre Anwendbarkeit zur Synthese von solchen Cycloserinanalogen untersucht, bei welchen 1. die primäre Aminogruppe des Cycloserins oder 2. dessen Atome C<sub>4</sub> oder C<sub>5</sub> durch aliphatische oder aromatische Kohlenwasserstoffreste substituiert erscheinen.

Zur Cycloserinsynthese wurde Benzophenonoxim-natrium mit Bromacetaldehydacetal kondensiert und nach Freilegung der Aldogruppe das Cyanhydrin (V) und mit NH<sub>3</sub> das entsprechende primäre Aminonitril gewonnen. Durch Umsatz von (V) mit (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NH an Stelle von NH<sub>3</sub> gelang, wie zu beschreiben ist, leicht die Lenkung auf das erste Synthesziel, das Dimethylcycloserin (I).

Das zweite Ziel, das bei gleichartigem Weg in der ersten Stufe einen

<sup>1</sup> H. Bretschneider, W. Vetter und E. Semenzitz, Kurze Mitt.: „Synthese und antibakterielle Eigenschaften des D,L-N,N-Dimethylcycloserins“, Mh. Chem. **89**, 627 (1958).

<sup>2</sup> H. Bretschneider und W. Vetter, Mh. Chem. **90**, 799 (1959).

Wechsel der evt. wieder maskierten Bromcarbonylverbindung voraussetzte, konnte nicht erreicht werden. Entweder trat mit dem Benzophenonoxim-natrium überhaupt keine Reaktion ein (Ketale des  $\omega$ -Bromacetons bzw.  $\omega$ -Brom-p-nitroacetophenons) oder das Salz wirkte (anscheinend aber in verschiedener Reaktionsweise) HBr-bspaltend (Bromisobutyral,  $\omega$ -Bromaceton,  $\omega$ -Brom-p-nitroacetophenon). Von einer Beschreibung dieser Versuche sei daher Abstand genommen.

#### D, L-4-Dimethylamino-isoxazolidon-(3) (I)

Das durch die vorhergehende Mitteilung<sup>2</sup> bekannt gewordene  $\beta$ -Diphenylmethylenaminoxy- $\alpha$ -oxy-propionitril (V)<sup>2</sup> wurde als Rohprodukt in methanol. Lösung mit einem geringen Überschuß an Dimethylamin in 57proz. Ausbeute zum Dimethylaminonitril (IV) umgesetzt (Vers. 1). Weder durch Erhöhung des Dimethylaminüberschusses noch durch Verlängerung der Reaktionszeit gelang eine Verbesserung der Ausbeute. Die Verluste waren, wenigstens teilweise, auf die Spaltung von (V) unter Bildung von Benzophenonoxim zurückzuführen.

Auffallend war die sehr schwache Basizität des entstandenen Dimethylaminonitrils (IV), die es nicht gestattete, die Base durch Ausschütteln mit verd. Salzsäure aus einer äther. Lösung herauszuziehen. Es war daher nötig, die Substanz durch Kristallisation von den daneben vorliegenden Neutralstoffen abzutrennen, was jedoch dank der vorzüglichen Kristallisationstendenz der Base leicht möglich war. — Eine Erklärung für die abnorm schwache Basizität fehlt.

Die Überführung des Nitrils (IV) in den Methyl ester (III) wurde in einer Reihe von Versuchen mit Salzsäure und Schwefelsäure in methanol. Lösung unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Dabei wurde stets ein — im Gegensatz zum Ausgangsmaterial (IV) — mit Säure ausschüttelbares, öliges, basisches Produkt erhalten, das jedoch, nach dem sehr unscharfen Schmelzpunkt seines Hydrochlorides zu schließen, ein Gemisch verschiedener Stoffe war. Während durch Umkristallisation des Hydrochlorides kein Reinigungseffekt zu erzielen war, gelang es durch ein Chromatogramm des basischen Rohproduktes, den reinen Ester (III) darzustellen. Die in den besten Versuchen gewonnenen Ausbeuten an basischem Rohprodukt lagen bei etwa 30%. Aus diesem Material ließ sich in etwa 60proz. Ausbeute der reine Ester (III) isolieren. Die aus dem Chromatogramm erhaltenen öligen Nebenprodukte, deren Hydrochloride schlechte Kristallisationseigenschaften zeigten, wurden nicht näher untersucht.

Die sehr schlechte Ausbeute dieser Reaktion liegt in der schweren Verseifbarkeit der Nitrilgruppe begründet, die Reaktionsbedingungen erfordert, welche auch eine weitgehende Verseifung der Oximgruppierung bewirken. Ein Beweis für diese Annahme ist, daß in den Neutralfrak-

tionen der aufgearbeiteten Versuche stets noch unverändertes (IV) und Benzophenon nebeneinander vorlagen (Vers. 2).

Für die Versuche zur Abspaltung von Benzophenon aus dem Ester (III) wurde stets chromatographisch gereinigtes Ausgangsmaterial eingesetzt. Durch kurzes Kochen mit konz. Salzsäure gelang die fast quantitative Hydrolyse der Oximgruppe und nach Verdampfung der salzsauren Lösung wurde in 82proz. Ausbeute ein Dihydrochlorid erhalten (Vers. 3), dessen Struktur als Dihydrochlorid des Aminosäureesters (II) durch die folgende Überführung in N,N-Dimethylcycloserin (I) eindeutig bewiesen wurde.

#### Die Cyclisierung des Esters (II) zu N,N-Dimethylcycloserin (I)

Aus den Angaben von *L. R. Jones*<sup>3</sup> geht hervor, daß nur die Isoxazolidon-Struktur des Cycloserins für die Farbreaktion mit alkalischer Natriumnitroprussiatlösung wesentlich ist, so daß 1. zu erwarten war, daß sie auch mit dem hier darzustellenden Molekül (I) wenigstens qualitativ durchführbar sein müßte. 2. war zu hoffen, daß die Cyclisierungsreaktion und Reindarstellung des gesuchten (I) geringere Schwierigkeiten als beim Cycloserin bieten würde; es kann nämlich die bei der Gewinnung des Cycloserins so störende Dimerisierungsreaktion unter Diketopiperazinbildung<sup>2</sup> aus strukturellen Gründen nicht eintreten.

Unter diesen Voraussetzungen wurden Vorversuche zur Cyclisierung des Esters (II) nach der bei der Cycloserindarstellung angewandten Methode mit Triton-B<sup>2</sup> angestellt, welche beide obigen Annahmen bestätigten. Durch Versuche zur Fällung des Reaktionsproduktes und durch einen papierchromatographischen Vergleich mit Cycloserin wurde festgestellt, daß die gesuchte Substanz (I) im Unterschied zu Cycloserin verhältnismäßig leicht in organischen Lösungsmitteln, auch solchen, die mit Wasser nicht mischbar sind, löslich ist, so daß die Darstellung von Cycloserin günstige Isolierungsmethodik<sup>1, 2</sup>, die auf der Schwerlöslichkeit desselben in Alkoholen basierte, hier fehl am Platze war.

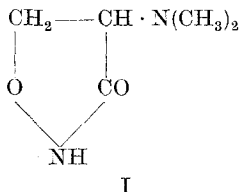
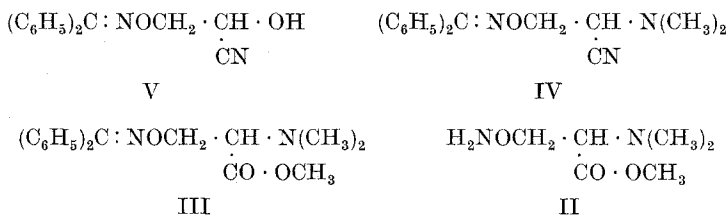
Nach diesen Erkenntnissen wurde die Cyclisierung durch Stehenlassen des Ester-dihydrochlorids (II) · 2 HCl in einem genau gemessenen Überschuß an alkohol. Natronlauge durchgeführt, hierauf mit alkohol. Salzsäure genau neutralisiert, vom ausgefallenen Kochsalz abfiltriert und die Lösung eingedampft. Durch Umlösen des Rückstandes in Chloroform konnte schließlich rohes N,N-Dimethylcycloserin (I) in fast quantitativer Ausbeute gewonnen werden (Vers. 4), das nach Kristallisation aus Äther schließlich in Analysenreinheit (Schmp. 112—117°) vorlag.

<sup>3</sup> *L. R. Jones*, *Analyt. Chem.* **28**, 39 (1956).

Die Verbindung gibt eine von Cycloserin nicht unterscheidbare Farb-reaktion nach Jones<sup>3</sup>, jedoch keine Ninhydrinreaktion wie letzteres. Trotz der guten Löslichkeit in organischen Solventien, die (I) von Cycloserin unterscheidet, ist es wie dieses auch leicht löslich in Wasser.

Wie bereits mitgeteilt<sup>1</sup>, erwies sich (I) überraschenderweise als gänzlich inaktiv in antibakterieller Hinsicht. Man kann daher eine für diese Wirksamkeit essentielle Bedeutung der primären Aminogruppe im Cycloserin annehmen.

#### Formelübersicht



#### Experimenteller Teil

Vers. 1:  $\beta$ -Diphenylmethylenaminoxy- $\alpha$ -dimethylaminopropionitril (IV) aus  $\beta$ -Diphenylmethylenaminoxy- $\alpha$ -oxypropionitril (V). Das aus 21,4 g (0,075 Mol) Diphenyl-methylenaminoxy-acetaldehydacetal hergestellte, rohe (V)<sup>2</sup> wurde in 27 ml einer Lösung von Dimethylamin in absol. Methanol (150 mg/ml, insgesamt 0,090 Mol Base) gelöst und der Kolben in Eiswasser gestellt. Nach 15 Min. begannen sich Kristalle abzuscheiden, und die zunächst gelbe Lösung nahm eine braune Farbe an. Etwa 5 Stdn. später war keine weitere Vermehrung des Niederschlages mehr bemerkbar. Das Reaktionsgemisch blieb noch 12 Stdn. bei Zimmertemp. stehen, bevor das Lösungsmittel im Vak. verdampft und der Rückstand in 50 ml Äther aufgenommen wurde. Die Lösung wurde zur Entfernung stark basischer Stoffe zweimal mit 0,5 n Salzsäure geschüttelt und hierauf mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen. Auf diese Weise wurde der zuerst tiefbraunen Ätherlösung fast die ganze Färbung entzogen, während das gesuchte überraschend schwach basische (IV) in ihr enthalten blieb. Nach der Trocknung und Filtration der Lösung wurde eingedampft und dabei ein gelbes Öl erhalten, das, mit 10 ml Methanol vermischt, durch Kratzen zur Kristallisation gebracht werden konnte. Die leicht bräunliche, etwas schmierige Masse wurde abgesaugt und aus 16 ml Methanol umkristallisiert. 12,6 g farblose Kristalle, Schmp. 76—79°; Ausb.: 57% d. Th., bezogen auf Diphenyl-methylenaminoxy-acetaldehydacetal.

Zur Analyse wurde die Substanz zweimal aus absol. Methanol umkristallisiert. Schmp. 79° (Gleichgewicht).

$C_{18}H_{19}N_3O$  (293,36). Ber. C 73,69, H 6,53, N 14,33.  
Gef. C 73,53, H 6,64, N 14,18.

Die Substanz löst sich in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln. Aus der äther. Lösung konnte durch Chlorwasserstoff ein Hydrochlorid gefällt werden, aus dem jedoch durch Wasser die Base sofort in Freiheit gesetzt wurde.

Vers. 2:  $\beta$ -Diphenylmethylenaminoxy- $\alpha$ -dimethylamino-propionsäuremethylester (III). 6,00 g (20,5 mMol)  $\beta$ -Diphenyl-methylenaminoxy- $\alpha$ -dimethylamino-propionitril wurden in einer Mischung von 10 ml konz. Schwefelsäure und 30 ml absol. Methanol bei einer Badtemp. von etwa 90° 2 Stdn. am Rückfluß erhitzt. Hierauf wurde das Reaktionsgemisch in 150 ml Wasser gegossen und die ausgefallenen nichtbasischen Anteile in Äther aufgenommen (3,12 g). Die klare wäßrige Phase wurde noch einmal mit Äther ausgeschüttelt und dann mit Soda alkalisiert. Das dabei ausgefallene Öl wurde in Äther aufgenommen, die Lösung mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es blieben 2,33 g Öl, das in wenig absol. Methanol gelöst und mit Äther-Salzsäure bis zur sauren Reaktion versetzt wurde. Auf Zusatz von absol. Äther fielen 2,20 g weisse Kristalle aus, die sehr unscharf zwischen 120 und 150° schmolzen (Ausb. ca. 30%). Da durch Umkristallisieren aus verschiedenen Mitteln keine wesentliche Änderung des Schmelzintervalles zu erreichen war, wurde die Base einer chromatographischen Reinigung unterworfen. Aus einem Teil des erhaltenen Chlorhydrates wurde mit  $NaHCO_3$  die Base in Freiheit gesetzt, in Äther gelöst, die Lösung getrocknet und eingedampft. 824 mg einer so gewonnenen öligen Base wurden in 8 ml Petroläther gelöst und an 15 g Aluminiumoxyd einem Säulen-Durchlaufchromatogramm unterworfen, wobei mit Petroläther entwickelt wurde. Als Hauptfraktion wurden 480 mg einer öligen Base erhalten, deren Chlorhydrat einen scharfen Schmelzpunkt von 164 bis 165° u. Zers. aufwies.

Zur Analyse wurde dieses Salz noch einmal aus absol. Methanol mit absol. Äther umgefällt, doch blieb der Schmelzpunkt unverändert.

$C_{19}H_{23}N_2O_3Cl$  (362,85). Ber. C 62,90, H 6,39, N 7,72, Cl 9,77.  
Gef. C 63,05, H 6,41, N 7,78, Cl 9,82.

Das Salz ist gut löslich in Alkohol und Chloroform, ebenso in Wasser, worin es im Gegensatz zu (IV). HCl nicht der Hydrolyse unterliegt.

Vers. 3:  $\beta$ -Aminoxy- $\alpha$ -dimethylamino-propionsäuremethylester (II). 1,00 g (2,76 mMol) chromatographisch gereinigtes  $\beta$ -Diphenyl-methylenaminoxy- $\alpha$ -dimethylamino-propionsäuremethylester-hydrochlorid (III) · HCl (Schmp. 160—164°) wurden in 6 ml konz. HCl gelöst und 3,5 Min. am Rückfluß erhitzt. Dann wurde abgekühlt, das Gemisch mit 5 ml Wasser verdünnt und zweimal mit je 25 ml Äther ausgeschüttelt. Die Ätherphasen wurden vereinigt, mit 8 ml Wasser gewaschen und dieses Waschwasser der zuerst abgetrennten Wasserphase zugesetzt. Die äther. Lösung hinterließ nach dem Trocknen und Verdampfen 480 mg Benzophenon (Schmp. 40—47°; 96% d. Th.).

Die wäßrige Phase wurde im Eisverdampfer bei 30—40° Badtemp. zur Trockene verdampft, der Rückstand zur vollständigen Entwässerung mit absol. Benzol versetzt und wieder eingedampft. Das zurückbleibende zähflüssige Öl wurde, um evt. bei der Säurebehandlung verseiften Ester zurückzubilden, in 5 ml absol. Methanol gelöst, die Lösung mit HCl gesättigt und

über Nacht bei Zimmertemp. stehen gelassen. Dann wurde das Lösungsmittel verdampft und der Rückstand dreimal mit je 5 ml Chloroform ausgekocht und abdekantiert, um etwa noch vorhandenes Ausgangsmaterial (III) · HCl zu entfernen. Diese Maßnahme hatte am Rückstand einen Gewichtsverlust von 80 mg zur Folge. Nun wurden 4 ml absol. Methanol zugesetzt und durch kurzes Erwärmen eine klare Lösung hergestellt. Bei allmählicher Zugabe von absol. Äther fiel ein weißes Kristallpulver aus, das vermutlich das Dihydrochlorid von (II) war. Es wurde abgesaugt, mit absol. Äther gewaschen und im Vak. getrocknet. 530 mg, Schmp. 120—130° (Zers.); Ausb. 82% d. Th.

Die Kristalle sind in reinem Zustand an Luft beständig. Sie sind in Wasser sehr leicht löslich, die Lösung reagiert sauer und bleibt auf Zusatz von Alkali klar.

Vers. 4: 4-Dimethylamino-isoxazolidon-(3) (I) (N,N-Dimethyl-cycloserin). 527 mg (2,24 mMol) β-Aminoxy-α-dimethylamino-propionsäuremethylester-dihydrochlorid (II) · 2 HCl wurden in 3 ml absol. Äthanol aufgeschlämmt, mit 12,01 ml 0,470 n absol. alkohol. NaOH (5,64 mMol) versetzt und 15 Stdn. bei Zimmertemp. stehen gelassen. Dann wurde mit 4,67 ml 0,249 n absol. alkohol. HCl (1,16 mMol) neutralisiert und die Lösung mit 10 ml absol. Äther versetzt, um die Hauptmenge des gebildeten NaCl abzuschneiden. Nach der Filtration und Vertreibung des Lösungsmittels im Vak. blieben 318 mg kristalliner Rückstand. Dieser wurde in 10 ml heißem absol. Chloroform gelöst, die Lösung filtriert und wieder der Trockenrückstand hergestellt. 292 mg etwas schmierige Kristalle, Schmp. 95—105°; quantitative Ausbeute.

Zur Analyse wurde die Substanz, nachdem sich kein geeignetes Mittel zur gewöhnlichen Umkristallisation gefunden hatte, im Extraktor für Feststoffe mittels absol. Äther umgelöst. Schmp. 112—117° (Gleichgewicht mit kleinen Prismen).

$C_5H_{10}N_2O_2$  (130,15). Ber. ·C 46,14, H 7,75, N 21,53.  
Gef. C 46,04, H 7,74, N 21,53.

Der Firma Merck Sharp & Dohme (Rahway), insbesondere Herrn Dr. K. Folkers, sei für die verschiedentliche Förderung dieser Arbeit auch an dieser Stelle herzlichst gedankt.