Über die Inhaltsstoffe des grünen Knollenblätterpilzes, XXVIII[1]

Synthesen von β-Methyl-γ-hydroxy-leucin und β-Methyl-γ.δ-dihydroxy-leucin, zwei vermuteten Amanitin-Bausteinen

von *Theodor Wieland* und *Volkmar Georgi*[2]

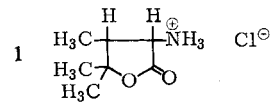
Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt a. M.

Eingegangen am 16. Mai 1966

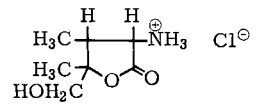
Das Lacton **1** der α-Amino-β.γ-dimethyl-γ-hydroxy-pentansäure (β-Methyl-γ-hydroxy-leucin) wurde synthetisiert: 1) aus Na-malonester und dem Epoxid **3** des Trimethyläthylens, durch α-Bromierung des α-Carboxy-β-methyl-γ-hydroxy-isocapronsäure-lactons (**4b**) und Ersatz des Broms durch eine Aminogruppe; 2) aus **4b** mit HN_3/konz. Schwefelsäure; 3) aus dem durch Addition von Isopropenyl-magnesiumbromid an Äthylidenmalonester erhaltenen 3.4-Dimethyl-2-äthoxycarbonyl-penten-(4)-säureäthylester (**23a**) durch Nitrosieren, acetylierende Reduktion des α-Oximinoesters und Säurehydrolyse des 2-Acetamino-3.4-dimethyl-penten-(4)-säureäthylesters (**26**). — Der Ester **26** ist auch die Ausgangssubstanz für das Lacton **2** der α-Amino-β.γ-dimethyl-γ.δ-dihydroxy-pentansäure (β-Methyl-γ.δ-dihydroxy-leucin): Durch Brom-Addition an **26** und $Ag^{\oplus}$-unterstützte Schwefelsäurehydrolyse wird **2** erhalten. Eine weitere, weniger ergiebige Synthese für **26** ist über den Isopentenylacetaminomalonester **9** möglich. Ferner werden Versuche geschildert, nach dem Prinzip der Erlenmeyer-Synthese zum Lacton **2** zu kommen. — Die Verbindungen **1** und **2** sind, besonders im Papier- und Dünnschicht-chromatogramm, von den Bausteinen des γ-Amanitins und des α-Amanitins verschieden.

Hydroxylierte β-Methyl-leucine (**1** bzw. **2**) sind als Bausteine von γ- bzw. α(und β)-Amanitin angesehen worden.

So haben *Wieland* und *Höfer*[3] dem aus dem Säurehydrolysat von α(und β)-Amanitin isolierten Aminolacton-hydrochlorid aufgrund des Auftretens von β-Methyl-asparaginsäure nach oxydativem Abbau die Struktur β-Methyl-γ.δ-dihydroxy-leucinlacton (**2**) zugeteilt. Für den analogen Baustein des γ-Amanitins wurde die Hydroxyl-ärmere Struktur **1** des β-Methyl-γ-hydroxy-leucinlactons vermutet[4].



1



2

[1] XXVII. Mitteilung: *P. Pfaender* und *Th. Wieland*, Liebigs Ann. Chem. **700**, 126 (1966), voranstehend.

[2] *V. Georgi*, Dissertation Univ. Frankfurt a. M. 1966 (D 30).

[3] *Th. Wieland* und *A. Höfer*, Liebigs Ann. Chem. **619**, 35 (1958).

[4] *Th. Wieland, H. Wehrt* und *J. Dölling*, Liebigs Ann. Chem. **700**, 120 (1966).

Versuche zur Synthese dieser Verbindungen sind von *Wieland* und *Ismail*[5] begonnen worden, die 2-Oxo-3.4-dimethyl-penten-(4)-säure, allerdings nur in sehr geringer Ausbeute, herstellen konnten.

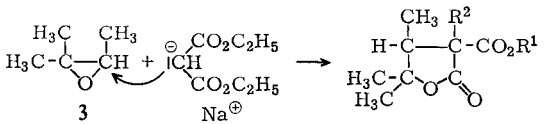
In der vorliegenden Mitteilung sind nun mehrere erfolgreiche Synthesen der Verbindungen **1** und **2** (als Hydrochloride) beschrieben, so daß ein Vergleich mit den natürlichen Amanitin-Bausteinen möglich wurde.

β-Methyl-γ-hydroxy-leucinlacton-hydrochlorid (1)

Die Synthese gelang zuerst durch Anwendung eines Reaktionsschritts, den *Traube* und *Lehmann*[6] zum Aufbau von γ-Hydroxysäuren angegeben haben: Addition von Na-acetessigester oder Na-malonester an Epoxide wie Epichlorhydrin. Im vorliegenden Fall war 2.3-Epoxy-2-methyl-butan (**3**) einzusetzen, das wir aus Trimethyläthylen (**5**, S. 136) nach der Methode von *Guss* und *Rosenthal*[7] (Umsetzung mit *N*-Bromsuccinimid in Wasser, dann Abspaltung von HBr aus dem Bromhydrin) darstellten.

Die naheliegende Idee, die später benötigte α-Amino-Gruppe durch Verwendung von Na-acetaminomalonester anstelle von Malonester direkt einzuführen, war nicht zu verifizieren, da die Reaktionsfähigkeit stark herabgesetzt ist. Schon primäre Epoxide, wie Styroloxid oder 1.2-Epoxy-propan, reagieren mit Acetaminomalonester so schlecht, daß *Fedorchuk* und *Semeniuk*[8] von dieser Methode zur Darstellung γ-substituierter α-Amino-γ-lactone abgingen. Das sekundäre Epoxid **3**, welches nach unserer Beobachtung sogar mit Na-acetessigester ganz unbefriedigend reagiert, mußte sich zur Reaktion mit Acetaminomalonester noch viel schlechter eignen.

Mit Na-malonester hingegen ließen sich aus **3** bei längerem Erwärmen immerhin 33% d.Th. an α-Äthoxycarbonyl-β-methyl-γ-hydroxy-isocapronsäurelacton (**4a**) erhalten. Durch Erwärmen mit Natronlauge und Wiederansäuern entstand daraus die entsprechende Lactonsäure **4b**.



4a: $R^1 = C_2H_5$, $R^2 = H$
b: $R^1 = H$, $R^2 = H$
c: $R^1 = H$, $R^2 = Br$

4b sollte, analog zum α-Carboxy-butyrolacton[9], der Einführung des Stickstoffs unter Decarboxylierung mit salpetriger Säure (α-Oxim-Bildung) oder mit Phenyldiazoniumsalz (α-Phenylhydrazon-Bildung) zugänglich sein. Beim Kupplungsversuch von **4b** konnte aber kein definiertes Produkt isoliert werden.

Leicht gelang die Bromierung der Lactoncarbonsäure **4b** zum α-Brom-Derivat **4c**. Das Bromatom ließ sich mit konz. Ammoniumhydroxid während mehrtägigem Auf-

[5] *Th. Wieland* und *R. M. Ismail*, Chem. Ber. **95**, 500 (1962).
[6] *W. Traube* und *E. Lehmann*, Ber. dtsch. chem. Ges. **32**, 721 (1899); **34**, 1971 (1901).
[7] *C. O. Guss* und *R. Rosenthal*, J. Amer. chem. Soc. **77**, 2549 (1955).
[8] *M. Fedorchuk* und *F. T. Semeniuk*, J. pharmac. Sci. **52**, 733 (1963).
[9] *W. W. Feofilaktow* und *A. S. Onischtschenko*, [J. allg. Chem.] **9**, 304, 314 (1939) [C. A. **34**, 378 (1940); C. **1939** II, 3079].

bewahren bei Raumtemperatur gegen die Aminogruppe austauschen. Hierbei fand partiell Abspaltung der Carboxylgruppe statt; der Rest wurde durch Erhitzen mit 6*n* HCl zu **1** decarboxyliert.

Ein *zweiter Weg* zur Einführung der α-Amino-Gruppe besteht in der Anwendung der Schmidt-Reaktion auf die Lactonsäure **4b**, bei der die Carboxylgruppe mit HN_3 in eine Aminogruppe verwandelt wird.

Ein neueres Vorbild für die erfolgreiche Anwendung dieser Reaktion in der Aminosäurechemie bietet z. B. die Untersuchung von *Takagi* und *Hayashi*[10], die allerdings bisher auf α-Carboxylactone noch nicht angewendet worden war. Deshalb versuchten wir die Aminierung zuerst am leicht zugänglichen[9] α-Carboxy-butyrolacton und konnten nach 12stdg. Einwirkung von HN_3/konz. Schwefelsäure bei 50° *α-Amino-γ-hydroxy-buttersäurelacton* als Hydrochlorid erhalten.

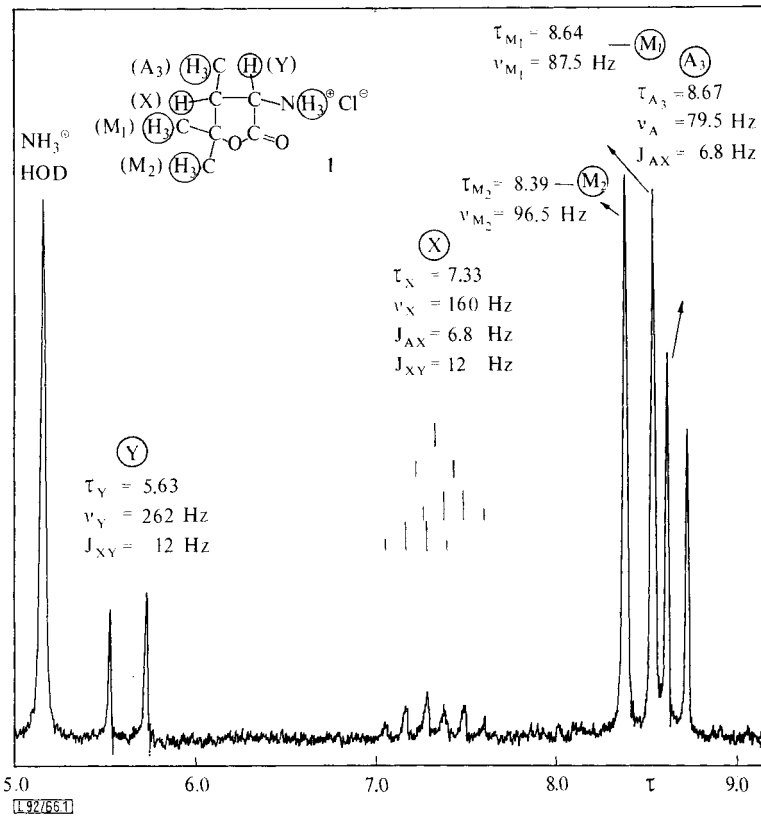


Abbildung 1. NMR-Spektrum von β-Methyl-γ-hydroxy-leucinlacton-hydrochlorid (**1**) in D_2O Aufnahme mit dem Gerät Varian A-60.

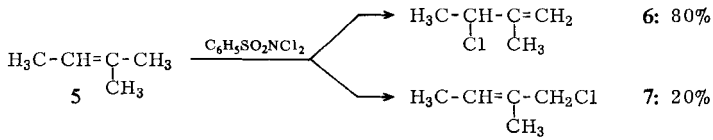
[10] *S. Takagi* und *K. Hayashi*, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **7**, 96 (1959).

Aus der Lactoncarbonsäure **4b** resultierte so, nach chromatographischer Aufarbeitung über Dowex 50-X 4, mit über 50-proz. Ausbeute das kristallisierte Hydrochlorid **1**. Aus dem einfachen Muster der Protonensignale im NMR-Spektrum der in D_2O gelösten Verbindung (Abb. 1) ergibt sich eindeutig die Struktur **1** sowie das Vorliegen nur eines diastereomeren Racemats. Über die absolute Konfiguration können wir noch keine Angaben machen.

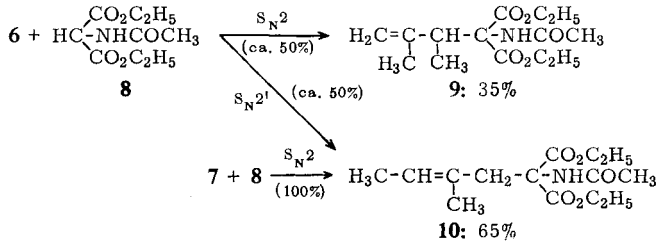
Eine *dritte Synthesemöglichkeit* für das β-Methyl-γ-hydroxy-leucinlacton **1** ergab sich im Zusammenhang mit der anschließend zu schildernden Synthese der Dihydroxyverbindung **2**.

β-Methyl-γ.δ-dihydroxy-leucin-γ-lacton-hydrochlorid (2)

Zur Synthese der Verbindung **2** stellten wir zunächst in *Fortsetzung des früher*[5] *eingeschlagenen Wegs* 2-Methyl-buten-(2) (**5**) durch Dehydratisierung von tert.-Amylalkohol mit 15-proz. Schwefelsäure dar[11]. Wir erhielten daraus durch Chlorieren mit *N.N*-Dichlor-benzolsulfonsäureamid[12] die übliche[5] Mischung, aus der durch Destillation eine Fraktion gewonnen wurde, die laut Gaschromatogramm und NMR-Spektrum zu ca. 80% aus dem gewünschten 3-Chlor-2-methyl-buten-(1) (**6**) und zu 20% aus dem allylisomeren 1-Chlor-2-methyl-buten-(2) (**7**) bestand:



Als die Umsetzung dieser Chloride mit Magnesium, außer in Äther, wo sie nur langsam und unvollständig abläuft, weder in Tetrahydrofuran noch in Glykoldimethyläther erfolgreich vor sich ging, haben wir das Chlorid-Gemisch mit Acetaminomalonsäurediäthylester (**8**) nach dem empfohlenen Verfahren (Natriumhydrid in Dimethylformamid)[13] kondensiert:



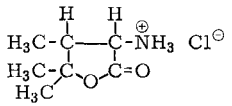
[11] *F. C. Whitmore, C. S. Rowland, S. N. Wrenn* und *G. W. Kilmer*, J. Amer. chem. Soc. **64**, 2971 (1942).

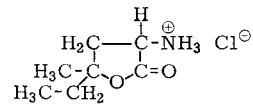
[12] *V. I. Isagulyants* und *V. V. Balashova*, [Trudy Groznensk. Neft. Inst.] **1960**, Nr. 23, 163 [C. A. **55**, 15327 (1961)].

[13] *J. Shapira, R. Shapira* und *K. Dittmer*, J. Amer. chem. Soc. **75**, 3655 (1953).

Von den hierbei als kristallisierte Mischung gewonnenen Isopentenylacetaminomalonestern **9** und **10** ist der [2-Methyl-Δ^2-butenyl-(1)]-acetaminomalonsäurediäthylester (**10**) bekannt[14], so daß sein NMR-Spektrum aufgenommen werden konnte. Dies versetzte uns in die Lage, aus dem NMR-Spektrum des Gemisches dessen Zusammensetzung zu ermitteln: Es lagen ca. 35% des gewünschten [1.2-Dimethyl-Δ^2-propenyl-(1)]-acetaminomalonsäurediäthylesters (**9**) und ca. 65% des Esters **10** vor. Daraus läßt sich schließen, daß die Substitution des Chlors am sekundären Chlorid **6** etwa zur Hälfte unter Erhaltung des bindenden Kohlenstoffs (S_N2) und zur Hälfte am anderen Ende des Allyl-Systems (S_N2') verlaufen ist, während im primären Chlorid **7** die Substitution nur an C-1 erfolgte. Die Trennung der Produkte **9** und **10** gelang nicht, so daß bei der Hydrolyse mit Salzsäure eine Mischung der Lactone von β-Methyl-γ-hydroxy-leucin (**1**) und der isomeren 2-Amino-4-hydroxy-4-methyl-capronsäure[15] (**11**) entstand. Beide Lactone lassen sich durch Papierelektrophorese bei pH 6.5 trennen, wobei **11** rascher wandert. Die Trennung gelingt auch dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel (n-Butanol/Eisessig/Wasser = 4 : 1 : 5), wobei **11** den größeren R_F-Wert aufweist.

1

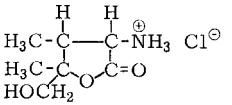


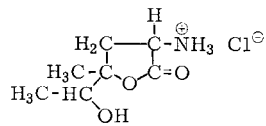


11

Um zu einem raschen chromatographischen Vergleich mit dem vermuteten lactonisierenden Baustein **2** des α-Amanitins zu kommen, haben wir, trotz des Vorliegens eines Gemisches von **1** und **11**, diese Mischung durch Anlagerung von Brom an die Doppelbindungen und anschließende $Ag^{\oplus}$-unterstützte Säurehydrolyse[16,17] in die Mischung der γ.δ-Dihydroxy-aminosäure-γ-lactone **2** und **12** verwandelt. Die beiden lassen sich ebenfalls papierelektrophoretisch trennen. Dabei wandert 2-Amino-4.5-dihydroxy-4-methyl-caprolacton (**12**), das auch aus einheitlichem Ester **10** analog bereitet wurde, bei pH 6.5 ein wenig weiter als β-Methyl-γ.δ-dihydroxy-leucinlacton (2-Amino-4.5-dihydroxy-3-methyl-isocaprolacton, **2**). Im Dünnschichtchromatogramm auf Kieselgel (n-Butanol/Eisessig/Wasser = 4 : 1 : 1) wandert das Lacton **2**

2





12

---

[14] *K. Heyns, K. Molge* und *W. Walter*, Chem. Ber. **94**, 1015 (1961).

[15] *J. Edelson, Ch. G. Skinner, J. M. Ravel* und *W. Shive*, J. Amer. chem. Soc. **81**, 5150 (1959).

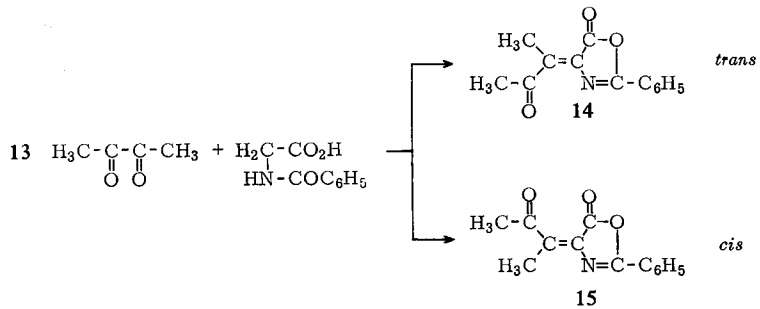
[16] *Th. Wieland* und *O. Weiberg*, Liebigs Ann. Chem. **607**, 168 (1957).

[17] *Th. Wieland* und *H. Krantz*, Chem. Ber. **91**, 2619 (1958).

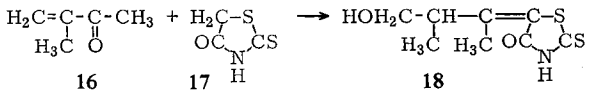
weiter als **12**, so daß nach Chromatographie an einer Säule eine kleine Menge einheitlichen Hydrochlorids des vermuteten α-Amanitin-Bausteins in Nadeln erhalten werden konnte.

Im Bestreben, einen präparativ günstigeren Weg zu finden, wandten wir uns den Synthesen zu, die unter dem Sammelbegriff der *Erlenmeyer-Reaktion* zusammengefaßt werden können.

Die für unseren Fall nötige Grundreaktion, Kondensation von Isopropenyl-methyl-keton (**16**) mit Hippursäure gelang nicht, auch nicht mit Bleiacetat als Katalysator[18], obwohl ein solcher Vorversuch mit Diacetyl (**13**) erfolgreich war. Dabei wurde das Gemisch von *trans*- und *cis*-4-[3-Oxo-butyliden-(2)]-2-phenyl-oxazolinon-(5) (**14** und **15**) erhalten, die durch Kristallisation getrennt und durch ihre IR- und NMR-Spektren strukturell zugeordnet werden konnten.



Isopropenyl-methyl-keton (**16**) reagiert aber in Eisessig/Ammoniumacetat mit Rhodanin (**17**). Allerdings erwies sich das Reaktionsprodukt als das, durch Anlagerung des abgespaltenen Wassers an die Isopropenyl-Doppelbindung entstandene 5-[3-Hydroxy-1.2-dimethyl-propyliden-(1)]-rhodanin (**18**), das für unsere Zwecke unbrauchbar war.



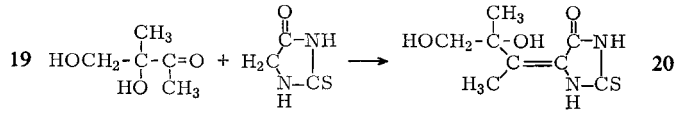
Als dritte der Erlenmeyer-Varianten wurde noch die Thiohydantoin-Methode in die Untersuchungen einbezogen. Wegen der Verharzung des ungesättigten Ketons schien es ratsamer, gleich vom 3.4-Dihydroxy-3-methyl-butanon-(2) (**19**) auszugehen, für das eine ergiebige Herstellungsvorschrift aus Isopropenyl-methyl-keton (**16**) durch Einwirkung von alkalischem Wasserstoffperoxid[19] und anschließende Hydrolyse des Epoxids vorliegt. Das Keton **19** ließ sich in der als Katalysator empfohlenen Pyridin/Piperidin-Mischung[20] mit Thiohydantoin zu einer Reihe von Stoffen umsetzen, aus denen nach Säulenchromatographie an Kieselgel eine kleine Menge 5-[2.3-Dihydroxy-1.2-dimethyl-propyliden-(1)]-2-thio-hydantoin (**20**) in einheitlicher, geometrisch isomerer Form isoliert wurde.

---

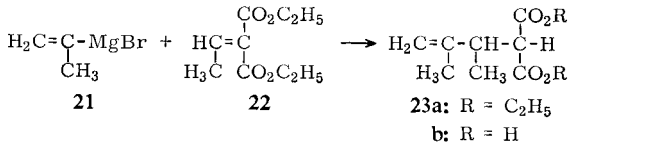
[18] *E. Baltazzi* und *R. Robinson*, Chem. and Ind. **1954**, 191.

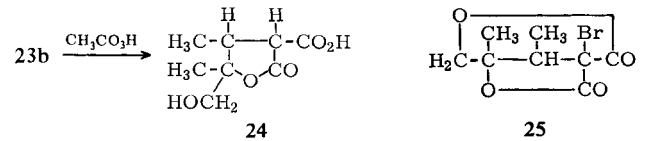
[19] *R. S. Wilder* und *A. A. Dolnick*, Amer. Pat. 2431718 v. 2. 12. 1947 [C. A. **42**, 3430 (1948)].

[20] *H. L. Yale*, J. Amer. chem. Soc. **75**, 675 (1953); *B. J. Meakin*, *F. R. Mumford* und *E. R. Ward*, J. Pharmacy Pharmacol. **12**, 400 (1960).



Als erfolgreich erwies sich schließlich das Prinzip der von *Cuvigny* und *Normant*[21] ausführlich studierten Synthese γ.δ-ungesättigter Verbindungen durch *Addition ungesättigter Grignard-Verbindungen*[22] an die Doppelbindung α.β-ungesättigter Carbonylsysteme. So gelang der Aufbau der ungesättigten Grundstruktur mit 60-proz. Ausbeute an 3.4-Dimethyl-2-äthoxycarbonyl-penten-(4)-säureäthylester (**23a**) aus Propen-(2)-yl-magnesiumbromid (**21**) und Äthylidenmalonester (**22**). Die entsprechende Malonsäure (**23b**) wurde mit Peressigsäure oxydiert, wobei, entsprechend den Ergebnissen von *Dangjan* und Mitarbeitern[23], in guter Ausbeute das γ-Lacton der α-Carboxy-β-methyl-γ.δ-dihydroxy-isocapronsäure (**24**) entstand.



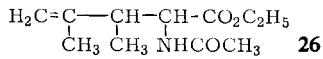


Die nunmehr zur Einführung der Aminogruppe notwendige α-Bromierung des Lactons **24** fand in Chloroform nur bei Siedetemperatur und langsam statt, so daß gleichzeitig versucht wurde, den Stickstoff auf der Stufe des ungesättigten Malonesters **23a** durch Nitrosieren einzuführen. Bei den Bromierungsversuchen konnte zwar ein Brom-haltiges Produkt kristallisiert werden, dem die Struktur **25** (α-Brom-γ.δ-dilacton) zukommt; es hat sein Analogon in der schon beschriebenen[24] Methyl-freien Verbindung. Das Dilacton **25** wurde jedoch nicht weiter verarbeitet, obwohl sich sein Brom sicher durch NH_2 ersetzen läßt, da inzwischen die Nitrosierungsversuche am Malonester **23a** erfolgreich verlaufen waren.

Analog der Vorschrift von *Shivers* und *Hauser*[25] erhielt man aus **23a** mit n-Propylnitrit in Gegenwart von Natriumäthylat den entsprechenden α-Oximinoester, der nicht isoliert, sondern sofort in Eisessig/Acetanhydrid mit Zink-Staub zum 2-Acet-

[21] *Th. Cuvigny* und *H. Normant*, Bull. Soc. chim. France **1961**, 2423.
[22] *H. Normant*, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **239**, 1510 (1954).
[23] *A. A. Achnasarjan, G. M. Schachnasarjan, S. A. Kasarjan* und *M. T. Dangjan*, [J. allg. Chem.] **34**, 1413 (1964) [C. A. **61**, 5510 (1964)].
[24] *H. Leuchs* und *O. Splettstösser*, Ber. dtsch. chem. Ges. **40**, 309 (1907).
[25] *J. C. Shivers* und *C. R. Hauser*, J. Amer. chem. Soc. **69**, 1264 (1947).

amino-3.4-dimethyl-penten-(4)-säureäthylester (**26**) acetylierend reduziert wurde. Eine Probe davon gab bei der Salzsäurehydrolyse elektrophoretisch identifizierbares β-Methyl-γ-hydroxy-leucinlacton (**1**), wodurch die Struktur der Verbindung **26** gesichert war. Somit konnten im letzten Schritt die bekannte[16,17] Brom-Addition und die $Ag^{\oplus}$-unterstützte Säurehydrolyse der γ.δ-Dibrom-Verbindung ausgeführt werden.



26

Sie führte nach Reinigung, z. B. durch Chromatographie an Dowex 50-X 4 ($H^{\oplus}$-Form, Elution mit 1*n* HCl) und Umkristallisieren aus Äthanol/Äther, in guter Ausbeute zum β-Methyl-γ.δ-dihydroxy-leucinlacton-hydrochlorid (**2**). Bei Betrachtung des klaren NMR-Spektrums (Abb. 2) scheint das Vorliegen nur eines der vier möglichen diastereomeren Racemate so gut wie sicher.

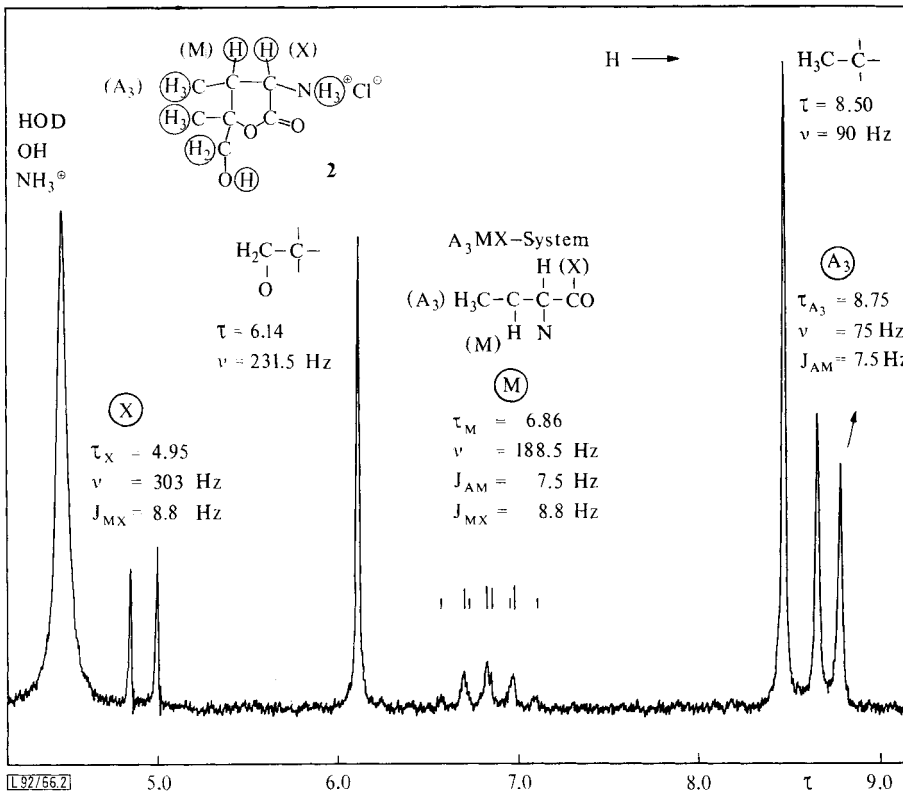


Abbildung 2. NMR-Spektrum von β-Methyl-γ.δ-dihydroxy-leucinlacton-hydrochlorid (**2**) in D_2O/Trifluoressigsäure
Aufnahme mit dem Gerät Varian A-60.

Vergleich mit den γ-Hydroxyaminosäurelactonen aus Amanitinen

Der papierelektrophoretische Vergleich bei pH 6.5, wobei die Syntheseprodukte **1** und **2** wenig, aber einwandfrei langsamer zur Kathode wandern, besonders jedoch der papierchromatographische (Abb. 3) und der dünnschichtchromatographische Vergleich lassen keinen Zweifel daran, daß die synthetisierten β-Methyl-leucin-Derivate **1** *und* **2** *mit den Naturstoffen nicht identisch* sind.

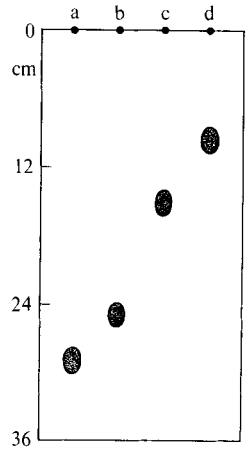


Abbildung 3. Papierchromatogramm von
a: synthet. β-Methyl-γ-hydroxy-leucinlacton-hydrochlorid (**1**)
b: γ-Hydroxyaminosäurelacton-hydrochlorid aus γ-Amanitin
c: synthet. β-Methyl-γ.δ-dihydroxy-leucin-γ-lacton-hydrochlorid (**2**)
d: γ-Hydroxyaminosäurelacton-hydrochlorid aus α-Amanitin
Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043 b; Fließmittel: sek.-Butanol/Ameisensäure/Wasser (75 : 15 : 10), 21 Stdn. absteigend.

Sowohl das aus γ-Amanitin erhaltene Aminolacton (b in Abb. 3) als auch dasjenige aus α-Amanitin (d) verhalten sich hydrophiler als die Lactone **1** (a) und **2** (c). Diese Diskrepanz, die schon die massenspektrometrische Analyse[1] aufzeigte, führt zu dem Schluß, daß in den Pilzgiften um eine Methylgruppe ärmere, daher weniger lipophile und im Papierchromatogramm langsamer laufende α-Aminolactone enthalten sein müssen. Das aus der massenspektroskopischen Analyse zu schließende Vorliegen der Isoleucin-Struktur wird in der nachstehenden Publikation bewiesen.

Herrn Dr. *P. Pfaender*, Frl. *L. Lichten* und Frau *G. Köhler* danken wir sehr für die Ausführung der NMR-spektroskopischen Messungen.

Beschreibung der Versuche

Die angegebenen *Schmelzpunkte* sind unkorrigiert.

α-Äthoxycarbonyl-β-methyl-γ-hydroxy-isocapronsäurelacton (**4a**). — 160 g (1.0 Mol) *Malonester* wurden mit äthanol. *Natriumäthylat*-Lösung (aus 11.5 g Natrium und 175 ccm absol. Äthanol) umgesetzt. Die entstandene Natriumverbindung wurde auf dem Wasserbad in Lösung gehalten und unter Rühren mit 43 g (0.5 Mol) *2.3-Epoxy-2-methyl-butan*[7] versetzt. Unter leichtem Sieden (Rückfluß) rührte man die Mischung 7 Stdn. bei 85—90° (Wasserbad). Anschließend wurde gekühlt, Eisessig (32 g) zugesetzt (Natriumacetat fällt teilweise aus) und der Alkohol bei 40—45° (Bad) i. Vak. abdestilliert. Den Rückstand versetzte man mit wenig Wasser, um das Salz in Lösung zu bringen, trennte die ölige Schicht ab und schüttelte die wäßr. Phase 2mal mit je 100 ccm Äther aus. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter $NaHCO_3$-Lösung neutral gewaschen, mit $MgSO_4$ getrocknet und vom Äther befreit. In der anschließenden Vakuumdestillation erhielt man zunächst den Überschuß Malonester (115 g; $Sdp._{17}$ 98—101°) und bei einer Siedetemperatur von 100—120°/2 Torr den Lactonester. Die Redestillation ergab 33 g (33%) vom $Sdp._{0.05}$ 79—81°; NMR-Spektrum in Lit.[2].

$C_{10}H_{16}O_4$ (200.2) Ber. C 59.99 H 8.05 Gef. C 59.89 H 7.91

α-Carboxy-β-methyl-γ-hydroxy-isocapronsäurelacton (**4b**). — 23 g Ester **4a** wurden mit 150 ccm 10-proz. *Natronlauge* vermischt. Unter Gelbfärbung und Erwärmung ging der Ester beim Schütteln schnell in Lösung. Nach 24stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wurde die alkalische Lösung unter Eiskühlung mit 6*n* HCl auf pH 2 angesäuert und die wäßr. Phase 3mal mit je 100 ccm Äther extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden getrocknet, eingedampft und das zurückbleibende gelbe Öl durch Anreiben zur Kristallisation gebracht. Nach dem Umlösen aus Benzol erhielt man 15.3 g (77%) Carbonsäure **4b** vom Schmp. 117° (Decarboxylierung); NMR-Spektrum in Lit.[2].

$C_8H_{12}O_4$ (172.1) Ber. C 55.82 H 7.02 Gef. C 55.96 H 7.09

α-Brom-α-carboxy-β-methyl-γ-hydroxy-isocapronsäurelacton (**4c**). — 3.4 g (0.02 Mol) Säure **4b** in 40 ccm CCl_4 und so viel Äthanol-freiem Chloroform, daß völlige Lösung eintrat, wurden bei Raumtemperatur tropfenweise mit 1 ccm (3.16 g) *Brom* versetzt. Es wurde 2 Stdn. gerührt, noch 10 Min. im Wasserbad bei 60—70° gehalten, das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert und der gelbe, ölige Rückstand im Exsikkator (über H_2SO_4/KOH) getrocknet. Beim Anreiben oder bei Zugabe von wenig absol. Benzol trat Kristallisation ein. Nach zweimaligem Umlösen aus Benzol erhielt man 3.9 g (78%) **4c** vom Schmp. 130° (Zers.); NMR-Spektrum in Lit.[2].

$C_8H_{11}BrO_4$ (251.1) Ber. C 38.26 H 4.42 Br 31.82 Gef. C 38.48 H 4.58 Br 32.10

β-Methyl-γ-hydroxy-leucinlacton-hydrochlorid (**1**). — a) Die Lösung der benötigten *Stickstoffwasserstoffsäure* in Chloroform wurde nach *v. Braun*[26] hergestellt und ihr Gehalt alkalimetrisch bestimmt: 1 ccm der Lösung enthielt 74.8 mg HN_3.

4.38 g Lactonsäure **4b** wurden in 20 ccm Chloroform gelöst, gekühlt und unter starkem Rühren mit 7.5 ccm *Schwefelsäure* (99—100-proz.) versetzt. Danach ließ man 20 ccm der

[26] *J. v. Braun*, Liebigs Ann. Chem. **490**, 125 (1931).

obigen Lösung von HN_3 in Chloroform (ca. 35% Überschuß) bei 40° unter die Flüssigkeitsoberfläche einlaufen. Nach 5 Stdn. wurden nochmals 2 ccm HN_3-Lösung zugegeben. Die Mischung blieb 8 Stdn. unter Rühren bei 50° (Wasserbad) stehen und entwickelte dabei ca. 1.5 *l* Gas (N_2, CO_2). Danach wurde auf 100 g Eis gegossen, die Chloroformschicht abgetrennt und die wäßr. Phase 2mal mit Äther extrahiert. (Aus dem Ätherauszug gewann man 1.24 g unumgesetzte Säure **4b** zurück.) Aus der wäßr. Phase fällte man den größten Teil der Sulfat-Ionen heiß mit $BaCl_2$-Lösung aus, trennte das $BaSO_4$ durch Zentrifugieren ab und kochte den Niederschlag 2mal mit HCl-angesäuertem Wasser aus. Die vereinigten Filtrate wurden eingeengt, mit Aktivkohle entfärbt und auf eine Säule (15 × 4 cm) von *Dowex 50-X4* ($H^{\oplus}$-Form) gebracht. Als Elutionsmittel diente zunächst Wasser, bis das Eluat keine Sulfat-Ionen mehr enthielt (200 ccm) und anschließend 1 *n* HCl. Die erhaltenen Fraktionen wurden *papierelektrophoretisch* in neutralem Pyridin/Essigsäure-Puffer untersucht: Die ersten 500 ccm enthielten keine organische Substanz. Die Fraktionen 9–15 (je 50 ccm, 1 *n* HCl) wiesen basische Nebenprodukte und etwas neutrale Aminosäure auf. Die *Fraktionen 16* (200 ccm), *17* (500 ccm), *18* (800 ccm) und *19* (100 ccm) wurden vereinigt, vom Lösungsmittel befreit und im Exsikkator (über H_2SO_4/KOH) gut getrocknet. Die Kristallisation aus absol. Äthanol/Äther gab 1.8 g (55%) **1** vom Schmp. 217° (Zers.).

$C_7H_{13}NO_2 \cdot HCl$ (179.6)	Ber.	C 46.81	H 7.86	Cl 19.74	N 7.80
	Gef.	46.65	7.82	19.63	7.99

b) *Durch Aminolyse des Bromlactons* **4c**: 2.33 g **4c** wurden 5 Tage lang mit 200 ccm 25-proz. *Ammoniak*-Lösung bei Raumtemperatur stehengelassen. Dann dampfte man ein, versetzte den Rückstand mit 100 ccm *6n HCl* und kochte 4 Stdn., um die Decarboxylierung zu vervollständigen. Die Salzsäure wurde abdestilliert, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, mit Aktivkohle behandelt, filtriert und auf eine Säule (30 × 4 cm) von *Dowex 50-X4* ($NH_4^{\oplus}$-Form) gebracht. Als Elutionsmittel diente zuerst Wasser, bis das Eluat keine Bromid- und Chlorid-Ionen mehr enthielt und anschließend 0.5 *n* NH_4OH. Die erhaltenen Fraktionen (je 200 ccm) wurden *papierelektrophoretisch* im neutralen Pyridin/Essigsäure-Puffer untersucht: Die *Fraktionen 4–6* wurden vereinigt, vom Lösungsmittel befreit, mit wenig verd. Salzsäure versetzt, eingeengt und im Exsikkator (über H_2SO_4/KOH) gut getrocknet. Die Kristallisation aus absol. Äthanol/Äther gab 0.79 g (47.5%) **1** vom Schmp. 215° (Zers.). Es erwies sich beim elektrophoretischen und chromatographischen Vergleich als identisch mit der nach a) gewonnenen Verbindung.

Gemisch von 3-Chlor-2-methyl-buten-(1) (**6**) *und 1-Chlor-2-methyl-buten-(2)* (**7**). — Die Mischung von ca. 80% **6** und 20% **7** wurde nach Lit.[12] in 60-proz. Ausbeute erhalten; $Sdp._{140}$ 43–44° (Drehbandkolonne 100 × 0.5 cm).

Gemisch von 2-Acetamino-4-methyl-2-äthoxycarbonyl-hexen-(4)-säureäthylester (**10**) *und 2-Acetamino-3.4-dimethyl-2-äthoxycarbonyl-penten-(4)-säureäthylester* (**9**). — Zu einer gekühlten Suspension von 2.4 g *Natriumhydrid* in 100 ccm *Dimethylformamid* wurden portionsweise 18 g *Acetaminomalonester* gegeben. Nach 1 stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wurde unter Feuchtigkeitsausschluß abgesaugt, das Filtrat mit 11 g der Chloride **6** + **7** versetzt und die Mischung 7 Tage bei ca. 20° belassen. Die während der Reaktion abnehmende Alkalität wurde acidimetrisch verfolgt. Danach wurde das Dimethylformamid i. Vak. entfernt und der gelbe, ölige Rückstand nach Zugabe von Wasser mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem

Waschen und Trocknen der äther. Phase wurde das Lösungsmittel entfernt, das erhaltene gelbe Öl in 28 ccm Äther gelöst, mit 80 ccm Petroläther (30—80°) versetzt und durch Kühlung zur Kristallisation gebracht; Ausbeute 11 g Rohprodukt (Schmp. 35—62°). Das Rohprodukt wurde in einer geringen Menge Petroläther (80—110°)/Methanol/Chloroform (50:3.5:35) gelöst und auf einer Säule (180 × 4 cm) von *Kieselgel* (Merck; 0.05—0.20 mm) mit dem genannten Elutionsmittel chromatographiert. Nach einem Vorlauf von 850 ccm wurden 240 Fraktionen (je 15 ccm) aufgefangen und dünnschichtchromatographisch mit demselben Laufmittel (Sichtbarmachung mit Chlor/Toluidin) geprüft. Die *Fraktionen 24—90* enthielten die Isomeren **9** + **10**. (Die Fraktionen ab Nr. 130 wiesen vor allem Acetaminomalonester und andere Verunreinigungen auf.) Nach dem Entfernen des Lösungsmittels erhielt man 9.4 g (40%) des Isomerengemisches von **10** (60—65%) und **9** (35—40%); Schmp. 38—55°.

$C_{14}H_{23}NO_5$ (285.3) Ber. C 58.93 H 8.12 N 4.91 Gef. C 59.04 H 7.99 N 5.04

Analyse der Zusammensetzung durch NMR-Spektroskopie: Wie mit einer Probe reinem, nach Lit.[14] erhaltenem Ester **10** festgestellt wurde, rühren die in einem Teil des Spektrums sichtbaren Signale vom NH-Proton ($\tau = 3.02$) und vom Methin-Proton ($\tau = 4.65$) her. Die zusätzlichen Signale bei $\tau = 3.18$ (ca. 50% der Intensität) und $\tau = 5.22$ (etwa gleiche Intensität wie bei $\tau = 4.65$) sind die des NH-Wasserstoffs und der Methylen-Wasserstoffe vom begleitenden Ester **9**.

γ.δ-Dihydroxy-γ-methyl-norleucin-γ-lacton-hydrochlorid (**12**). — 2.5 g *2-Acetamino-4-methyl-2-äthoxycarbonyl-hexen-(4)-säureäthylester*[14] (**10**) wurden in 20 ccm Äthanol-freiem, trokkenem Chloroform gelöst und unter Wasserkühlung mit einer Lösung von 1.4 g *Brom* in 5 ccm Chloroform versetzt, wobei rasche Entfärbung eintrat. Darauf wurde das Lösungsmittel abdestilliert (zuletzt i. Vak. bei 100°) und der gelbe, viskose Rückstand unter Schütteln mit Äther und Wasser (je 40 ccm) gelöst. Die wäßr. Phase wurde noch 2mal mit Äther extrahiert (Ätherextrakt verworfen), anschließend mit 5 g konz. *Schwefelsäure* und 2.7 g *Silbersulfat* versetzt und 7 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Das abgeschiedene AgBr wurde abgesaugt, der Überschuß an $Ag^{\oplus}$-Ionen mit Salzsäure und das Sulfat durch die eben nötige Menge $BaCl_2$ gefällt. Das salzsaure Filtrat wurde mit wenig Aktivkohle entfärbt, i. Vak. eingedampft und im Exsikkator (über H_2SO_4/KOH) gut getrocknet. Mehrere Versuche, den hygroskopischen Schaum aus absol. Äthanol/Äther zu kristallisieren, mißlangen. Die Verbindung war aber für elektrophoretische und chromatographische Vergleiche genügend rein.

β-Methyl-γ.δ-dihydroxy-leucinlacton-hydrochlorid (**2**). — a) 5 g der *Mischung von* **10** (60 bis 65%) *und* **9** (35—40%) wurden in 40 ccm Äthanol-freiem, trockenem Chloroform gelöst und unter Wasserkühlung mit einer Lösung von 2.8 g *Brom* in 10 ccm Chloroform versetzt. Darauf wurde das Lösungsmittel abdestilliert (zuletzt i. Vak. bei 100°) und der orangefarbene, viskose Rückstand unter Schütteln mit Äther und Wasser (je 80 ccm) gelöst. Die wäßr. Phase wurde noch 2mal mit Äther extrahiert (Ätherextrakt verworfen), anschließend mit 10 g konz. *Schwefelsäure* sowie 6 g *Silbersulfat* versetzt und 10 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Das abgeschiedene AgBr wurde abgesaugt, der Überschuß an $Ag^{\oplus}$-Ionen mit Salzsäure und das Sulfat durch die eben nötige Menge $BaCl_2$ gefällt. Das salzsaure Filtrat wurde mit wenig Aktivkohle entfärbt, i. Vak. eingedampft und im Exsikkator (über H_2SO_4/KOH) gut getrocknet. Das erhaltene Gemisch der α-Amino-lactone **2** und **12** kristallisierte nicht. Rohausbeute 1.5 g (44%). — Zur Abtrennung von **2** wurden 800 mg des Gemischs in wenig

n-Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:1) gelöst und auf einer Säule (180 × 4 cm) von Kieselgel (Merck; 0.05—0.20 mm) mit dem genannten Elutionsmittel chromatographiert. Nach einem Vorlauf von 1.5 *l* wurden 500 Fraktionen (je 15 ccm) aufgefangen und elektrophoretisch oder dünnschichtchromatographisch (Tüpfeln mit Ninhydrin) geprüft. Die *Fraktionen 88—119* enthielten nahezu reines Lacton **2**. (Die Fraktionen 120—400 weisen noch das Gemisch von **2** und **12** auf.) Die vereinigten **2**-haltigen Fraktionen wurden i. Vak. eingedampft, der Rückstand zunächst in wenig 6*n* HCl gelöst, von der Salzsäure wieder i. Vak. befreit und im Exsikkator (über H_2SO_4/KOH) getrocknet. Die Kristallisation aus absol. Äthanol/Äther ergab 50 mg **2** als farblose, nadelförmige Kristalle vom Schmp. 202°; NMR-Spektrum in Abb. 2 (S. 140).

$C_7H_{13}NO_3 \cdot HCl$ (195.7) Ber. C 42.96 H 7.21 N 7.16 Gef. C 42.62 H 7.05 N 7.12

b) *Aus 2-Acetamino-3.4-dimethyl-penten-(4)-säureäthylester:* 4.8 g **26** (S. 140) wurden in 40 ccm Alkohol-freiem Chloroform unter Kühlung tropfenweise mit einer Lösung von 3.6 g (1.2 ccm) *Brom* in 10 ccm Chloroform versetzt. Die *Brom*-Lösung entfärbte sich anfangs sofort, erst gegen Ende der Zugabe erhielt die Lösung eine orangegelbe Tönung. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. abdestilliert und der ölige Rückstand mit 40 ccm 2*n* H_2SO_4 sowie 7.2 g *Silbersulfat* 10 Stdn. unter Rückfluß und starkem Rühren gekocht (Ausscheiden von AgBr). Das zunächst in der wäßr. Phase unlösliche Brom-Addukt ging im Laufe der Hydrolyse vollständig in Lösung. Der Überschuß an $Ag^{\oplus}$-Ionen wurde mit Salzsäure gefällt, der Niederschlag abgesaugt und gewaschen. Im Filtrat fällte man den größten Teil der Sulfat-Ionen heiß mit $BaCl_2$-Lösung, trennte das $BaSO_4$ durch Zentrifugieren ab und kochte den Niederschlag 2mal mit HCl-angesäuertem Wasser aus. Die vereinigten Filtrate wurden eingeengt, mit Aktivkohle entfärbt und auf eine Säule (14 × 4 cm) von *Dowex 50-X 4* ($H^{\oplus}$-Form) gebracht. Als Elutionsmittel dienten zuerst Wasser, bis das Eluat keine Sulfat-Ionen mehr enthielt, und anschließend 1*n* HCl. Die erhaltenen 10 Fraktionen (je ca. 200 ccm) wurden *elektrophoretisch* in neutralem Pyridin/Essigsäure-Puffer untersucht. Die *Fraktionen 4—6* wurden vereinigt, vom Lösungsmittel befreit und im Exsikkator (über H_2SO_4/KOH) gut getrocknet. Die Umkristallisation des Rückstands aus absol. Äthanol/Äther ergab 2.6 g (59%) einheitliches **2** vom Schmp. 202° (Zers.). Das NMR-Spektrum stimmte mit dem der nach a) bereiteten Substanz überein.

$C_7H_{13}NO_3 \cdot HCl$ (195.7) Ber. C 42.96 H 7.21 Cl 18.12 N 7.16
Gef. 42.85 7.22 18.04 7.15

trans- und cis-4-[3-Oxo-butyliden-(2)]-2-phenyl-oxazolinon-(5) (**14** bzw. **15**). — Die Mischung von 10 g *Hippursäure*, 4.8 g *Diacetyl*, 9 g *Blei(II)-acetat*, 17 g *Acetanhydrid* und 120 ccm absol. Tetrahydrofuran wurde unter starkem Rühren 1.5 Stdn. bei 60—70° (Wasserbad) gehalten. Beim langsamen Einrühren dieser Lösung in 500 ccm Wasser schied sich ein braunes Öl ab, das beim Stehenlassen langsam erstarrte. Nach dem Absaugen und Trocknen über H_2SO_4/KOH erhielt man 9.5 g Rohprodukt, das noch Polymere enthielt. Es wurde in Petroläther (80—110°)/Benzol (50:1) heiß gelöst, mit einer kleinen Menge *Kieselgel* 10 Min. unter Rückfluß gekocht, filtriert und bei Raumtemperatur der Kristallisation überlassen. Zunächst kristallisierte in gelbbraunen, groben Kristallen das *trans-Isomere* **14**, auf dem sich nach längerem Stehenlassen bei 0° eine geringe Menge des hellgelben, nadelförmigen *cis-Isomeren* **15** abschied. Die beiden Isomeren wurden *mechanisch getrennt* und mehrmals umkristallisiert. Man erhielt:

14: Ausbeute 4.2 g (32.5%); Schmp. 143.5–145° (2mal aus Petroläther, 80–110°, 1mal aus $CHCl_3$).

$C_{13}H_{11}NO_3$ (229.2) Ber. C 68.12 H 4.84 N 6.11 Gef. C 68.18 H 4.90 N 6.22

15: Ausbeute 0.53 g (4%); Schmp. 87–88° (2mal aus Petroläther, 50–80°).

Gef. C 68.22 H 4.95 N 6.23

Die *Zuordnung der Isomeren* erfolgte durch IR- und NMR-Spektroskopie, wobei besonders die Absorption der Amid-Wasserstoffe in den durch Methanolyse aus **14** und **15** erhaltenen *Benzaminoestern* Aufschluß gab (zur Wasserstoffbrücke im Ester aus **14** vgl. Lit.[2]).

5-[3-Hydroxy-1.2-dimethyl-propyliden-(1)]-rhodanin (**18**). — 25 g *Rhodanin* (**17**), 19 g (20% Überschuß) *Isopropenyl-methylketon* (**16**), 20 ccm Eisessig, 50 ccm absol. Benzol und 0.5 g *Ammoniumacetat* wurden 7 Stdn. unter Rühren bei 80–85° (Wasserbad) gehalten. In 12 Stdn. bei ca. 20° kristallisierten 4.1 g unumgesetztes Rhodanin aus. Dem Filtrat wurde das Lösungsmittel i. Vak. entzogen und der erstarrte Rückstand in 1 *l* Petroläther (80–110°)/Benzol (4:1) heiß gelöst. Zur Aufhellung wurde die siedende Lösung mit wenig *Kieselgel* behandelt, filtriert und zur Kristallisation auf 0° gekühlt. Zweimaliges Umlösen aus Petroläther/Benzol (4:1) oder CCl_4 ergab 15 g (44%) **18** als gelbe Kristalle vom Schmp. 79°; NMR-Spektrum in Lit.[2].

$C_8H_{11}NO_2S_2$ (217.3) Ber. C 44.21 H 5.11 N 6.46 S 29.50
Gef. 44.24 5.34 6.49 29.24

3.4-Dihydroxy-3-methyl-butanon-(2) (**19**). — 61.5 g *3.4-Epoxy-3-methyl-butanon-(2)*[19] wurden in 350 ccm Wasser durch Schütteln langsam gelöst. Die Lösung wurde mit einigen Tropfen *Perchlorsäure* versetzt, 12 Stdn. bei Raumtemperatur aufbewahrt und zur Beendigung der Hydrolyse 10 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Die Hauptmenge Wasser wurde, nach Neutralisation der Lösung mit $NaHCO_3$, bei 30–40° (Bad) abdestilliert (Rotationsverdampfer). Das restliche Wasser erschien als Vorlauf bei der anschließenden Vakuumdestillation. Ausbeute 63.6 g (87.6%) **19** vom $Sdp._{20}$ 108–110° (Lit.[27] $Sdp._{15}$ 104–106°); NMR-Spektrum in Lit.[2].

5-[2.3-Dihydroxy-1.2-dimethyl-propyliden-(1)]-2-thio-hydantoin (**20**). — 7 g (0.06 Mol) *2-Thio-hydantoin*, 2.5 g (0.02 Mol) *3.4-Dihydroxy-3-methyl-butanon-(2)* (**19**) und 5.1 g (0.06 Mol) *Piperidin* wurden in 20 ccm *Pyridin* stark gerührt und 9 Stdn. bei 65° (Wasserbad) gehalten. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. abdestilliert und der dunkle, ölige Rückstand in möglichst wenig siedendem Chloroform gelöst. Beim Abkühlen dieser Lösung kristallisierte das durch Nebenreaktion entstandene Thiohydantoinsäurepiperidid (Schmp. 167°, Zers.) aus. Das abgesaugte Kristallisat wurde zur Abtrennung des anhaftenden Kondensationsproduktes nochmals aus Chloroform umgelöst und das anfallende Filtrat mit der ursprünglichen Mutterlauge vereinigt. Diese Lösung enthielt außer dem Kondensationsprodukt und restlichem Thiohydantoinsäurepiperidid noch Polymere, die zwischen 400 und 600 mμ eine breite Absorption zeigten. Zu ihrer Entfernung wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand in 400 ccm Methanol gelöst und bei Raumtemperatur 2 Stdn. unter Rühren mit 4 g Aktivkohle behandelt. Nach dem Absaugen wurde diese Operation, falls notwendig, nochmals mit 1 g Aktivkohle wiederholt. Zur Loslösung des Kondensationsprodukts wurde das Kohleadsorbat 1–2mal mit

[27] *J. Colonge* und *L. Cumet*, Bull. Soc. chim. France **1947**, 840.

Methanol gerührt und abgesaugt. Die vereinigten methanol. Filtrate wurden i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Man löste den Rückstand gerade in Chloroform/Methanol (19:1) und brachte diese Lösung auf eine Säule (180 × 4 cm) von *Kieselgel* (Merck, 0.05–0.20 mm). Als Elutionsmittel diente die genannte Mischung. Nach einem Vorlauf von 700 ccm wurden 340 Fraktionen (je 20 ccm) aufgefangen und UV-spektroskopisch sowie dünnschichtchromatographisch geprüft. Die Fraktionen 61–157 enthielten Thiohydantoinsäurepiperidid. Die *Fraktionen 210–260* ergaben nach dem Abdestillieren des Elutionsmittels und dem Umkristallisieren des Rückstands aus Wasser 420 mg (9.5%) **20** vom Schmp. 199°; UV- und NMR-Spektrum in Lit.[2].

$C_8H_{12}N_2O_3S$ (216.2) Ber. C 44.44 H 5.59 N 12.95 S 14.82
Gef. 44.26 5.45 12.75 14.76

3.4-Dimethyl-2-äthoxycarbonyl-penten-(4)-säureäthylester (**23a**). – Im 500-ccm-Dreihalskolben wurden unter Ausschluß von Luftfeuchtigkeit 7.29 g (0.3 Mol) *Magnesium*-Späne zunächst mit wenig *Jod* aktiviert und danach mit einer Mischung von 36.3 g (0.3 Mol) *2-Brompropen* und 200 ccm Tetrahydrofuran tropfenweise versetzt. Dazu erwärmte man auf dem Wasserbad, bis die Reaktion einsetzte, und gab dann die Bromverbindung weiter so zu, daß die Mischung sanft unter Rückfluß siedete. Nach Beendigung der Zugabe wurde die Lösung noch 1 Stde. unter Rückfluß gekocht und dann auf 0° gekühlt, wobei sich das entstandene *Propen-(2)-yl-magnesiumbromid*[22] (**21**) kristallin abschied.

Zu der Grignard-Lösung von **21** in Tetrahydrofuran wurden bei 0° unter starkem Rühren 45 g (0.24 Mol) *Äthylidenmalonester*[28] in 60 ccm absol. Äther getropft. Danach ließ man unter weiterem Rühren auf Raumtemperatur kommen, wobei evtl. abgeschiedene Kristalle wieder in Lösung gingen. Man rührte noch 2 Stdn. und hydrolysierte dann mit ca. 200 ccm einer kalt gesättigten *Ammoniumchlorid*-Lösung. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wäßr. Phase 2mal mit je 100 ccm Äther extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit $MgSO_4$ getrocknet, das Lösungsmittel wurde abdestilliert und die zurückbleibende Flüssigkeit i. Vak. destilliert; Sdp.$_{12}$ 119–122°. Die Redestillation über eine 15-cm-Vigreux-Kolonne ergab 31.8 g (58%) **23a** vom Sdp.$_{12}$ 119–120°; NMR-Spektrum in Lit.[2].

$C_{12}H_{20}O_4$ (228.3) Ber. C 63.13 H 8.83 Gef. C 63.26 H 8.67

3.4-Dimethyl-2-carboxy-penten-(4)-säure (**23b**). – 17.1 g **23a** wurden tropfenweise unter starkem Rühren einer Lösung von 10 g *NaOH* in 30 ccm Wasser zugefügt. Unter heftiger Reaktion trat die Verseifung ein, und das gebildete Natriumsalz schied sich teilweise aus der Lösung ab. Die Mischung wurde durch Zugabe von Wasser geklärt und 6 Stdn. auf dem siedenden Wasserbad gerührt. Anschließend wurde 2mal mit je 50 ccm Äther extrahiert, um den unverseiften Ester zu entfernen, dann die alkalische, wäßr. Phase mit konz. Salzsäure angesäuert (kongosauer) und 3mal mit je 100 ccm Äther extrahiert. Nach dem Trocknen der vereinigten äther. Auszüge mit $MgSO_4$ destillierte man den Äther ab und erhielt einen gelben, öligen Rückstand, der beim Anreiben kristallisierte. Zweimalige Umkristallisation aus Benzol gab 11.1 g (86%) **23b** vom Schmp. 84°; NMR-Spektrum in Lit.[2].

$C_8H_{12}O_4$ (172.2) Ber. C 55.79 H 7.02 Gef. C 55.78 H 6.80

α-Carboxy-β-methyl-γ.δ-dihydroxy-isocapronsäure-γ-lacton (**24**). – 10 ccm *Wasserstoffperoxid* (30-proz.) wurden mit 10 ccm *Acetanhydrid* gemischt, bis unter Erwärmung Reaktion

[28] *W. S. Fones*, Org. Syntheses **32**, 54 (1952).

und Bildung einer Phase erfolgte. Die entstandene Lösung der Peressigsäure tropfte man zu einer Lösung von 8.6 g (0.05 Mol) **23b** in 10 ccm Acetanhydrid, die in einem 100-ccm-Vierhalskolben stark gerührt und auf 40° erwärmt wurde. Danach wurde die Mischung 24 Stdn. bei 55—60° (Innentemperatur) gehalten. Man destillierte mittels Rotationsverdampfers bei 30—40° (Bad) die Hauptmenge Wasser und Essigsäure ab. Das zurückbleibende farblose, viskose Öl wurde im Vakuumexsikkator (über H_2SO_4/KOH) getrocknet, um die hartnäckig festgehaltene Essigsäure vollends zu entfernen. Dabei fand im Laufe einiger Wochen eine teilweise Kristallisation statt. Nach Zugabe von wenig Methylenchlorid, das die öligen Anteile besser löste als die kristallinen, konnten die Kristalle abgesaugt werden (1. Frakt. = 3.6 g). Das Filtrat wurde vom Lösungsmittel befreit und erneut über H_2SO_4/KOH getrocknet (2. krist. Frakt. = 1.6 g). Nach dem Umlösen der Kristalle aus absol. Tetrahydrofuran/Petroläther (50—80°) erhielt man 4.85 g (51.5%) farblose, nadelförmige Kristalle vom Schmp. 139° (Decarboxylierung); NMR-Spektrum in Lit.[2].

$C_8H_{12}O_5$ (188.2) Ber. C 51.05 H 6.42 Gef. C 51.12 H 6.38

1-Brom-2.7-dioxo-5.8-dimethyl-3.6-dioxa-bicyclo[3.2.1]octan (oder α-Brom-α-carboxy-β-methyl-γ.δ-dihydroxy-isocapronsäure-γ.δ-dilacton, **25**). — 1.9 g (0.01 Mol) **24** in 50 ccm Chloroform (nur teilweise löslich) wurden auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt und langsam mit der Lösung von 1.7 g *Brom* in 10 ccm Chloroform versetzt. Nur in der Wärme fand eine Entfärbung der Brom-Lösung statt. Mit dem Fortschreiten der Reaktion gingen die ungelösten Anteile der Ausgangssubstanz in Lösung. Nach 3 Stdn. wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand im Exsikkator (über H_2SO_4/KOH) bis zur Kristallisation getrocknet. Die Umkristallisation aus absol. Äthanol gab 1.55 g (62%) farblose Nadeln vom Schmp. 177°; NMR-Spektrum in Lit.[2].

$C_8H_9BrO_4$ (249.1) Ber. C 38.57 H 3.64 Br 32.09 Gef. C 38.80 H 3.68 Br 32.01

2-Acetamino-3.4-dimethyl-penten-(4)-säureäthylester (**26**). — 15 g **23a** wurden in einem 100-ccm-Vierhalskolben zunächst bei 0° mit 7.75 g *n-Propylnitrit* gemischt, dann unter starkem Rühren bei —10° tropfenweise mit einer äthanol. *Natriumäthylat*-Lösung (aus 1.6 g Natrium und 30 ccm absol. Äthanol) versetzt. Nach 16 Stdn. bei —10 bis —20° destillierte man den Alkohol i. Vak. ab und löste den braunen Rückstand im gleichen Volumen Eis/Wasser. Diese wäßr. alkalische Lösung wurde 3mal mit wenig Äther extrahiert, sehr gut gekühlt und mit eiskalter konz. Salzsäure auf pH 2 angesäuert. Der *α-Oximinoester* schied sich als braunes Öl ab, wurde mit Äther verdünnt, abgetrennt und die wäßr. Phase 3mal mit je 50 ccm Äther extrahiert. Nach dem Trocknen der Ätherauszüge mit $MgSO_4$ destillierte man den Äther vorsichtig ab; braunes Öl.

Zur Reduktion wurde der rohe *α-Oximinoester* sofort in 100 ccm Eisessig gelöst, die Lösung unter Rühren mit 45 ccm *Acetanhydrid* versetzt und bei 40—50° portionsweise mit 18 g *Zink*-Staub reduziert. Nach dessen Zugabe wurde noch 1 Stde. gerührt, warm abgesaugt und der Filterkuchen 2mal mit je 50 ccm Eisessig von 50° ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden mittels Rotationsverdampfers vom Lösungsmittel befreit. Den gelbbraunen, öligen Rückstand löste man in wenig absol. Äthanol und saugte vom Zinkacetat ab. Nach der Entfernung des Äthanols wurde i. Hochvak. destilliert. $Sdp._{0.12}$ 94—97°; Ausbeute 7.2 g (51.5%) **26**; NMR-Spektrum in Lit.[2].

$C_{11}H_{19}NO_3$ (213.3) Ber. C 61.93 H 8.97 N 6.56 Gef. C 61.10 H 8.87 N 6.50