

- [9] B. ARVENTIER, H. WEXLER & M. STRUL, Chem. Abstr. 55, 15453a (1961).  
[10] R. B. CARLIN & G. E. FOLTZ, J. Amer. chem. Soc. 78, 1997 (1956).  
[11] ST. V. NIEMENTOWSKI, Ber. deutsch. chem. Ges. 34, 3327, 3336 (1901).  
[12] HOLLEMAN, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 6, 60 (1887).  
[13] G. SCHÄFER & F. QUINT (Höchst), DBP 871452 (GE 30.4.1951).  
[14] J. E. BANFIELD, W. DAVIES, N. W. GAMBLE & S. MIDDLETON, J. chem. Soc. 1956, 4794.  
[15] F. G. BORDWELL & W. H. MCKELLIN, J. Amer. chem. Soc. 73, 2251 (1951).  
[16] W. L. F. ARMAREGO & E. E. TURNER, J. chem. Soc. 1956, 1665.  
[17] H. W. SCHWECHTEN, Ber. deutsch. chem. Ges. 65, 1608 (1932).  
[18] M. TOMITA, J. pharmaceut. Soc. Japan, 58, 510 (1938).  
[19] K. FRIES & W. VOLK, Ber. deutsch. chem. Ges. 42, 1173 (1909).

### 139. Über Metaboliten von Thiocarlid

von R. W. Balsiger, Th. Leuenberger, W. Michaelis und O. Schindler

Forschungsinstitut DR. A. WANDER AG, Bern

(22. IV. 69)

*Zusammenfassung.* Nach oraler Verabreichung des Tuberkulostatikums Thiocarlid (I) wurden im menschlichen Urin die beiden in den Seitenketten hydroxylierten Derivate VI und XI nachgewiesen; unverändertes Thiocarlid konnte nicht aufgefunden werden. Die durch Abbaureaktionen an amorphen Präparaten von VI und XI ermittelten Konstitutionen wurden durch Synthese sichergestellt. Im Verhältnis zur verabreichten Dosis von I sind die ausgeschiedenen Mengen von VI und XI nur gering.

Aus der Gruppe der tuberkulostatisch wirksamen Thiocarbanilide [1] ist Thiocarlid (I)<sup>1)</sup> zur Behandlung der menschlichen Tuberkulose herangezogen worden [2]. Mit verschiedenen mikrobiologischen Methoden konnte nachgewiesen werden, dass die Substanz aus dem Darm resorbierbar ist [3]. Der vorliegenden Arbeit liegt das Ziel zugrunde, im Urin ausgeschiedene Metaboliten zu isolieren und deren Konstitution aufzuklären.

*A. Isolierung und Konstitutionsermittlung der Metaboliten.* Als Ausgangsmaterial dienen 201 l Urin von gesunden Probanden nach oraler Verabreichung von insgesamt 1,2 kg Thiocarlid. Das im experimentellen Teil beschriebene Aufarbeitungsverfahren erfasst die nicht sauren, mit Chloroform-Alkohol-(85:15) aus wässriger Lösung ausschüttelbaren Ausscheidungsprodukte<sup>2)</sup>. Für die Kontrolle der Anreicherung in den Isolierungsschritten dienten die tuberkulostatische Wirksamkeit im *in-vitro*-Test und die dünnschichtchromatographische Prüfung. Die Chromatogramme wurden dabei im UV.-Licht bei 254 nm und 350 nm auf absorbierende Zonen geprüft und anschliessend durch Besprühen mit Jodazidlösung [4] entwickelt<sup>3)</sup>. Auf diese Weise

<sup>1)</sup> Wirksubstanz von DAT®; Hersteller DR. A. WANDER AG, Bern.

<sup>2)</sup> Auf die Erfassung stark wasserlöslicher Metaboliten, z. B. mit Glucuronsäure oder Schwefelsäure gepaarte Derivate, wurde dabei verzichtet.

<sup>3)</sup> Die Nachweismethode mit Jodazid-Lösung lässt Derivate des II-wertigen Schwefels auf dem blauen Hintergrund der Jodstärke-Färbung als farblose Zonen erkennen. Die Reaktion ist nicht spezifisch; positiv reagieren z. B. Thioamide, Sulfide, Mercaptane. Für den Nachweis von Thiocarbaniliden ist das Reagens mit einer Empfindlichkeit bis zu 0,1 ng aufgetragener Substanz gut geeignet.

wurden sieben Substanzen, A–G, nachgewiesen, wobei A die Substanz mit der schwächsten und G diejenige mit der stärksten Polarität darstellt. Ihre chromatographische Charakterisierung ist in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. *Chromatographisches Verhalten und tuberkulostatische Wirksamkeit der Substanzen A–G*

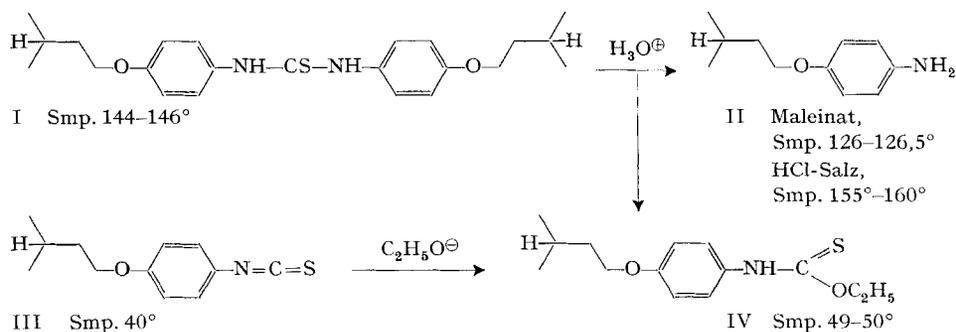
	A	B	C	D	E	F	G
Tuberkulostatische <i>in-vitro</i> -Wirksamkeit	–	–	+	+	–	–	+
UV.-Abs.	254 nm	+	+	+	+	–	+
	350 nm	+	–	–	–	–	–
Jodazid-Reaktion	–	–	+	+	–	±	+
Rf <sup>4)</sup>	0,94	0,70	0,70	0,63	0,58	0,40	0,38
R <sub>DAT</sub> <sup>5)</sup>	1,0	0,86	0,85	0,77	0,63	0,43	0,42

Mit der im experimentellen Teil beschriebenen Trennmethode wurden aus den Extrakten die Substanzen A bis F in chromatographisch einheitlicher Form isoliert; Substanz G konnte nur im Gemisch mit F gefasst werden. C, D und F liessen sich in kristallisierter Form, A als gas-chromatographisch einheitliches Öl gewinnen.

*Substanz A* wurde auf Grund des IR.-Spektrums und der Analyse als Phtalsäure-diocylester identifiziert. A entstammt als Weichmacher den Kunststoffbehältern, in denen der Urin gesammelt und gelagert wurde.

Durch direkten Vergleich konnten *Substanz B* mit Coffein und *Substanz E* mit Theobromin identifiziert werden<sup>6)</sup>.

Es gelang nicht, die für das gestellte Problem interessanten Substanzen C, D und G in kristallisierter Form zu fassen. Die betr. angereicherten Fraktionen zersetzten sich nach kurzer Zeit unter Dunkelfärbung. Die Konstitution der Substanzen C und D liess sich jedoch durch Abbau aufklären und durch Synthese sicherstellen.



<sup>4)</sup> Kieselgel-Platten MERCK HF-254; Fließmittel: Chloroform-Methanol-(3:1); Temperatur 23°.

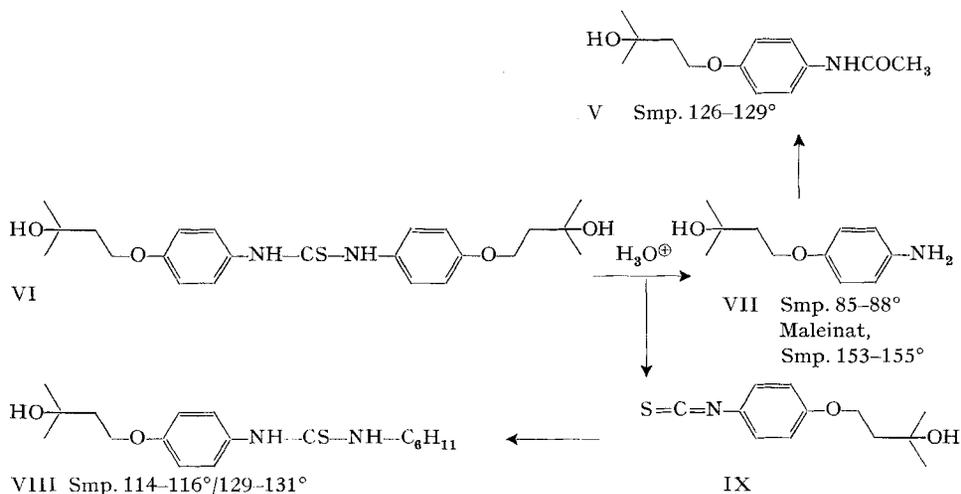
<sup>5)</sup> R<sub>DAT</sub> bedeutet das Verhältnis der Laufstrecke zu derjenigen von parallel gelaufenem Thiocarlid.

<sup>6)</sup> Für die Mithilfe bei der Identifizierung der Substanz danken wir Herrn Dr. S. ALLISSON, Herrn Dr. M. BARBIER, CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE, Institut de la Chimie des Substances Naturelles, Gif-sur-Yvette, danken wir für die Aufnahme des Massenspektrums der Substanz.

Für Konstitutionsermittlungen geeignete Abbau-Reaktionen wurden zunächst an Thiocarlid (I) geprüft. Am besten bewährte sich hierzu die Hydrolyse mit 0,6N  $H_2SO_4$  in wässrigem Alkohol. I wurde dabei zu *p*-Isoamyloxyanilin (II) und zu einem Neutralstoff gespalten. Nach Abtrennung von unverändertem Ausgangsmaterial durch Chromatographie an Silicagel kristallisierte das neutrale Hydrolyseprodukt. Die Konstitution IV folgt aus dessen Synthese durch Anlagerung von Äthylat-Anion an das Isothiocyanat III<sup>7)</sup>.

Die Übertragung der Hydrolysebedingungen auf amorphe Konzentrate der Substanz C führte zu einem basischen Spaltstück, das nach chromatographischer Reinigung als freie Base VII der Bruttoformel  $C_{11}H_{17}NO_2$  und als maleinsaures Salz kristallisierte. Das gegenüber II zusätzliche Sauerstoffatom liess sich auf Grund einer Absorption im IR.-Spektrum (in KBr) bei  $1155\text{ cm}^{-1}$  als Hydroxylgruppe vermuten. Acetylierung der Substanz VII mit Pyridin-Acetanhydrid führte zu einem Produkt V, das sich IR.-spektroskopisch als Amid erwies (CO-Bande bei  $1655\text{ cm}^{-1}$ ; NH-Bande bei  $3120\text{ cm}^{-1}$ ) und in dem im Carbonylgebiet keine Absorption einer Estergruppierung nachzuweisen war. Die Hydroxylgruppe war demnach nicht acetyliert worden, was auf einen tertiären Alkohol schliessen liess.

Die Stellung der vermutlich tertiären Hydroxylgruppe in der Molekel konnte mit Hilfe des NMR.-Spektrums abgeklärt werden. In I liegt das Signal der Methylprotonen bei  $9,10\ \tau$  als Dublett, in der Spaltbase VII als Singulett bei  $8,75\ \tau$  vor. Das Spektrum zeigt des weitern zwei Triplette (entsprechend je zwei Protonen) bei  $5,90\ \tau$  ( $-OCH_2-$ ) und bei  $8,05\ \tau$  ( $-CH_2-$ ), vier aromatische Protonen bei  $3,30\ \tau$  und ein breites Signal bei  $7,00\ \tau$ . Aus diesen spektroskopischen Daten folgt die Konstitution VII, was durch Synthese (vgl. Abschnitt B) sichergestellt wurde.

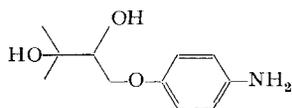


Aus den neutralen Anteilen der Hydrolyseprodukte wurde eine Substanz als Öl gefasst, bei der es sich auf Grund des IR.-Spektrums (Bande bei  $2090\text{ cm}^{-1}$ ) und des NMR.-Spektrums (Singulett der 6 Methylprotonen bei  $8,75\ \tau$ ) um das Isothiocyanat

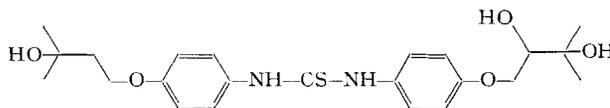
<sup>7)</sup> Der Verlauf der sauren Hydrolyse von I ist in der Zwischenzeit von NESTLER & SEYDEL [5] publiziert worden.

IX handelt. Durch Reaktion mit Cyclohexylamin wurde daraus der krist. Thioharnstoff VIII gebildet, der mit einer synthetischen Probe (vgl. Abschnitt B) identisch war. Aus den Spaltstücken VII und IX folgt für Substanz C die Konstitution VI, was durch Synthese bestätigt wurde.

Die basischen Anteile der Produkte der sauren Hydrolyse von Konzentraten der *Substanz D* zeigten bei der chromatographischen Untersuchung zwei Komponenten, von denen die rascher laufende dem Rf-Wert von VII entsprach. Die Trennung gelang durch Chromatographie an Silicagel, wonach beide Basen kristallisiert werden konnten. Die aus dem chromatographischen Verhalten vermutete Identität der rascher laufenden Substanz mit VII liess sich durch direkten Vergleich bestätigen. Die Untersuchung der zweiten Spaltbase beschränkte sich auf spektroskopische Messungen. Im NMR.-Spektrum war das Signal der  $-CH_2-$ Protonen verschwunden, dafür lag bei  $6,00 \tau$  ein Multiplett, dessen Integral drei Protonen entsprach. Das Erscheinen des Signals von *einem* weiteren Proton bei  $6,00 \tau$ , das in VII noch als 2-Protonensignal bei  $8,05 \tau$  zu finden war, zeigte, dass sich die HO-Gruppe in Nachbarstellung zur Isopropoxy-Gruppe befinden muss. Dies erklärt auch die Aufspaltung des Methylsignals als Folge einer gehinderten Drehbarkeit der Isopropoxygruppe. Als Struktur kommt deshalb X in Frage. Die beiden Hydroxylgruppen waren auch im IR.-Spektrum in zwei Banden bei  $1105 \text{ cm}^{-1}$  (sek. Alkohol) und  $1165 \text{ cm}^{-1}$  (tert. Alkohol) zu erkennen. Die aus den spektroskopischen Daten gefolgerte Konstitution X wurde durch Synthese sichergestellt (vgl. Abschnitt B). Das durch Hydrolyse erhaltene X war optisch inaktiv<sup>8)</sup>.

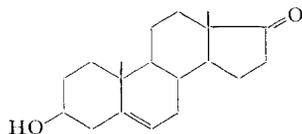


X Smp. 88–91°

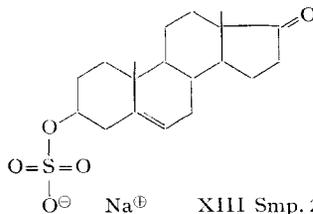


XI

Durch die Festlegung der Konstitution VII und X der Hydrolyseprodukte kommt Substanz D die Konstitution XI zu, was durch den Vergleich des Rf-Wertes im Dünnschichtchromatogramm mit einer synthetisch bereiteten Probe von XI (vgl. Abschnitt B) sichergestellt wurde. Aus den Fraktionen, welche die *Substanzen F und G* enthielten, kristallisierte Substanz F. Die Mutterlauge, welche der Hauptmenge der betr. Fraktion entsprach, wurde sauer hydrolysiert. Die neutralen Anteile lieferten nach Chromatographie an Aluminiumoxid  $3\beta$ -Hydroxy-androsten-(5)-17-on (XII). Zusammen mit den analytischen Daten der Substanz F liess sich daraus für F die Konstitution XIII ableiten.



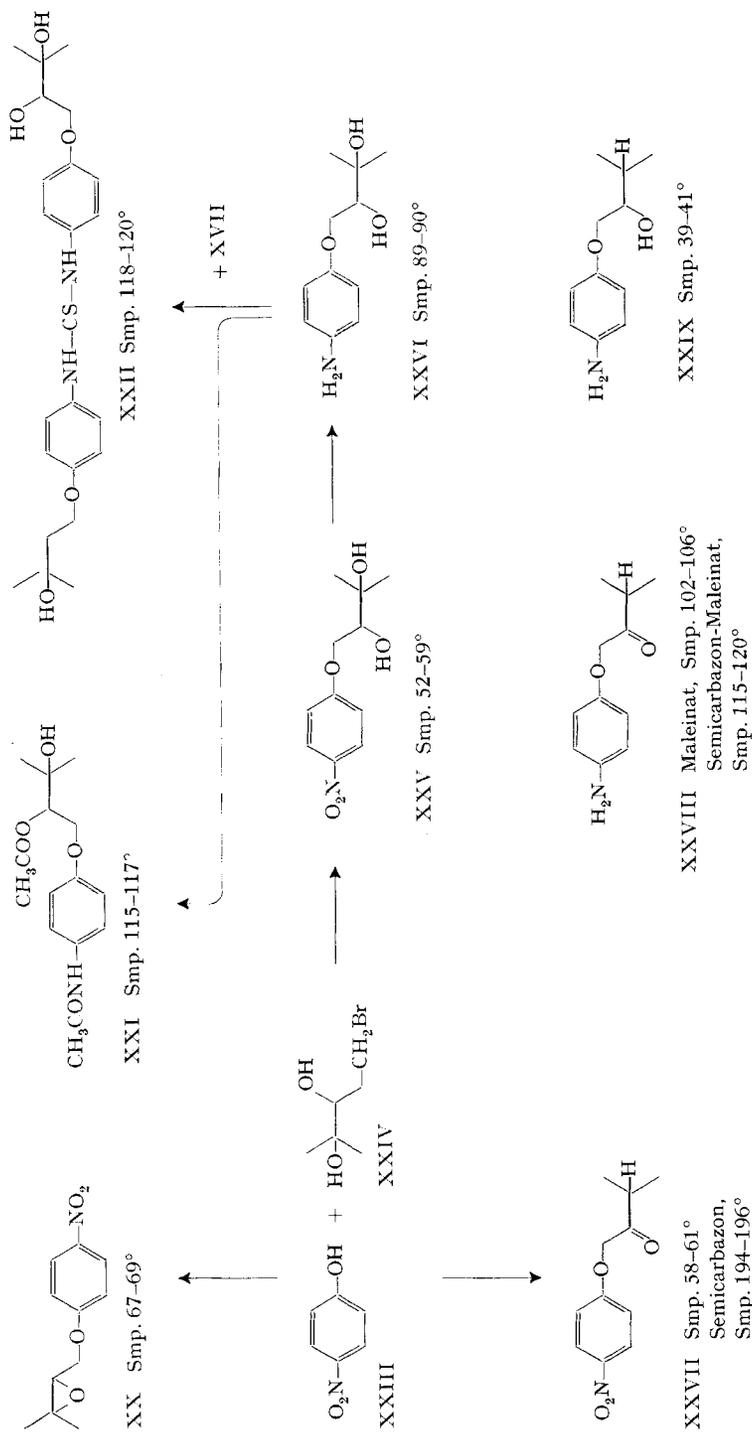
XII Smp. 145–148°



XIII Smp. 205–210°

<sup>8)</sup> Wir danken Herrn Prof. Dr. J. W. CORNFORTH, Milstead Laboratory of Chemical Enzymology, SHELL RESEARCH LTD., Sittingbourne, Kent, England, für die Prüfung der optischen Aktivität.





Zur Synthese des *Metaboliten D* wurde *p*-Nitrophenol (XXIII) als Anion in Dimethylformamid-Lösung mit dem aus Isopren zugänglichen 1-Brom-3-methyl-2,3-dihydroxy-butan (XXIV) [10] [11] umgesetzt. Der kristallisierte Äther XXV ging durch katalytische Hydrierung in XXVI über. Dieses war nach den üblichen Kriterien identisch mit der im Dünnschichtchromatogramm kürzer laufenden Hydrolyse-Base von Metabolit D. Für den Aufbau zu XXII wurde XXVI mit dem Isothiocyanat XVII umgesetzt. Die Reaktion lieferte ein Gemisch des symmetrischen XVIII und des gesuchten Thioharnstoffs XXII, das sich durch Chromatographie an Silicagel trennen liess. XXII konnte aus Isopropanol-Äther kristallisiert erhalten werden und war sehr empfindlich, indem sich die Substanz schon beim Umkristallisieren aus Methanol-Äther oder Alkohol-Äther-Gemischen unter H<sub>2</sub>S-Entwicklung zersetzte. Ihre Laufstrecke im Dünnschichtchromatogramm entsprach der des Metaboliten D; bei der *in-vitro*-Prüfung zeigte die Substanz die gleiche tuberkulostatische Wirksamkeit wie Thiocarlid.

Zur Erleichterung der Interpretierung der spektroskopischen Daten wurde auch die zu XVI stellungsisomere Base XXIX synthetisiert. Hierzu wurde das Anion von *p*-Nitrophenol mit 1-Chlor-3-methyl-butanon-(2) [12] in Dimethylformamid zu XXVII kondensiert, das als Semicarbazon charakterisiert wurde. Katalytische Hydrierung lieferte die ölige Base XXVIII, deren Maleinat und Semicarbazon-Maleinat kristallisierten. Reduktion mit NaBH<sub>4</sub> ergab XXIX. Schliesslich wurde *p*-Nitrophenol mit 1-Chlor-2,3-epoxy-3-methylbutan [11] zu XX veräthert.

### Experimenteller Teil

**Allgemeines.** – Die *Smp.* wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind nicht korrigiert. Zur *Analyse* wurden die Substanzproben 60 Min. bei 0,01 Torr bei einer dem Schmelzpunkt angepassten Temperatur getrocknet. Die *IR.-Spektren* wurden auf einem PERKIN-ELMER-Gerät PE 21 (NaCl-Prisma) und die *NMR.-Spektren* in CHCl<sub>3</sub> mit Tetramethylsilan als internem Standard mit einem VARIAN-Kernresonanzspektrographen A-60 A aufgenommen.

**Abkürzungen:** (Ac)<sub>2</sub>O = Acetanhydrid; Ac = Diäthyläther; Alk = 95-proz. Äthanol; An = Aceton; Be = Benzol; Chf = Chloroform; DMF = Dimethylformamid; Hn = Hexan; Ipr = Isopropanol; Me = Methanol; Py = Pyridin; W = Wasser; DC. = Dünnschichtchromatographie und Dünnschichtchromatogramm; ML. = Mutterlauge und Mutterlaugenrückstand. Die Feststellung der Identität von zwei Substanzen umfasst die Vergleiche der *Smp.*, der *IR.-Spektren* sowie der Laufstrecken im DC.

«*Aufarbeitung Methode A*» bedeutet: Aus der wässrig-alkoholischen Lösung wurde der Alk im Vakuum abdestilliert. Die wässrige Lösung wurde 3mal mit dem 3-fachen Volumen Ae ausgeschüttelt und die Ae-Lösungen der Reihe nach gewaschen mit 1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3mal), 2N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3mal), W (2mal), über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft (neutrale Anteile). Die sauren Auszüge wurden mit Ammoniak auf pH = 9 gestellt, 3mal mit Ac ausgeschüttelt; die Ae-Lösungen wurden 2mal mit W und 2mal mit Sole gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft (Basen). Die Soda-Auszüge sowie das Waschwasser wurden mit konz. HCl kongosauer gestellt und 4mal mit Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Lösungen wurden 2mal mit W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft (Säuren).

«*Aufarbeitung Methode B*»: Die ätherische Lösung wurde gewaschen mit je 1/10 des Volumens 1N HCl (2mal), 10-proz. KHCO<sub>3</sub> (3mal), W (2mal), Sole (2mal), über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Die DC. wurden auf Kieselgel-Platten MÆRCK HF 254 bei 23° ausgeführt; Lösungsmittelsysteme Chf-Me-(3:1) und Heptan-Chf-Alk (10,8:5,8:1); Entwicklung vgl. Tab. 1.

Sofern nichts anderes vermerkt, wurden die *Chromatographien* nach dem Durchlaufverfahren an der 50-fachen Menge Silicagel (0,15–0,30 mm gekörnt) durchgeführt. Die einzelnen Fraktionen wurden durch Eluieren mit der 100-fachen Menge Lösungsmittel (bezogen auf die aufgezogene Menge Substanz) steigender Polarität erhalten.

**A. Extraktion und Fraktionierung des Urines.** – Der Urin (201 l) wurde in zwei Portionen (23 l und 178 l) aufgearbeitet. Hier beschreiben wir ausführlich nur die Isolierung der Substanzen B, E und F aus den Auszügen von 23 l Urin. Die Aufarbeitung der grösseren Menge wurde analog ausgeführt; es wird davon nur die Isolierung der Substanz A und die chromatographische Trennung der Substanzen B und D beschrieben.

23 l des gesammelten Urines wurden im Rotationsverdampfer bei 50° Badtemperatur im Vakuum auf 1,2 l (= 1660 g) konzentriert. Die zähflüssige, mit Kristallen durchsetzte Masse, pH = 5,4, wurde in 1000 ml W aufgenommen und 10mal mit je 1270 ml Chf und 230 ml Alk ausgeschüttelt. Die 2mal mit je 200 ml 2N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 2mal mit je 200 ml W gewaschenen Auszüge wurden einzeln über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Gewicht und tuberkulostatische Wirksamkeit der Auszüge vgl. Tab. 2.

5,2 g der Auszüge Nr. 1–3 (*Fraktion 1*) wurden zwischen 80 ml Ae und 20 ml W verteilt und die wässrigen Lösungen 3mal mit je 80 ml Ae nachextrahiert. Die Ae-Lösungen wurden gewaschen 3mal mit je 8 ml W, 4mal mit je 8 ml 2N HCl, 1mal mit 8 ml W, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft; 872 mg bräunliches Öl (*Fraktion 11*). Die vereinigten Salzsäure-Lösungen stellte man mit Ammoniak alkalisch und extrahierte die Basen durch Ausschütteln mit Chf; basische Anteile: 200 mg (*Fraktion 12*). Die mit Ae ausgeschüttelte ursprüngliche wässrige Lösung und das damit vereinigte erste Waschwasser wurden 4mal mit je 15 ml Chf extrahiert. Die Chf-Lösungen wusch man mit je 8 ml W, 2N HCl (2mal), W, trocknete über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; Rückstand nach dem Eindampfen im Vakuum 1,11 g (*Fraktion 13*). Die vereinigten salzsauren Lösungen und das Waschwasser wurden mit Ammoniak alkalisch gestellt und durch 5maliges Ausschütteln mit je 8 ml Chf und 1,5 ml Alk die basischen Anteile extrahiert; Rückstand 162 mg; *Fraktion 14*. Die ursprüngliche, mit Ae und Chf ausgeschüttelte wässrige Lösung wurde zusammen mit dem ersten Waschwasser der Chf-Auszüge 5mal mit je 8 ml Chf und 4 ml Alk ausgeschüttelt. Die organischen Auszüge wurden 2 ml mit je 3 ml W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft, Rückstand 276 mg; *Fraktion 15*.

Die Auftrennung der *Fraktion 2* wurde analog ausgeführt; dabei wurden die *Fractionen 6, 7, 8, 9* und *10* erhalten.

*Ausschüttelung der Hauptmenge:* 178 l Urin wurden im Vakuum bei 45° Badtemperatur auf 14,2 l konzentriert und das Konzentrat mit 0,5 l W in ein Rührgefäss übergespült (pH = 5,9), wo es 9mal mit je 5100 ml Chf und 1000 ml Alk während 4 Std. bei 20° ausgerührt wurde. Die Schichten liess man jeweils zur Trennung über Nacht stehen und klärte die abgezogene untere Phase durch Zentrifugieren. Die klaren Chf-Alk-Auszüge wurden der Reihe nach mit 700 ml, 500 ml 2N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 500 ml W (2mal) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingedampft. Gewichte der Rückstände: Auszug 1–3, 13,5 g; 4–7, 10,0 g; 8, 2,3 g; 9, 2,6 g.

Die weitere Auftrennung wurde analog dem in Tab. 2 beschriebenen Aufarbeitungsschema durchgeführt.

*Isolierung der Substanzen B (Coffein) und F (XIII):* 1,10 g *Fraktion 11* (vgl. Aufarbeitungsschema, Tabelle 2) wurden nach üblicher Methode chromatographiert. Aus den mit Chf eluierten *Fractionen* (37 mg) wurden aus An-Ae 6,1 mg *Substanz B* erhalten; Wegsublimieren zwischen 210 bis 220°; Reinigung durch Sublimation im Molekularkolben bei 0,01 Torr/80–110° Badtemperatur. Nach den üblichen Kriterien identisch mit Coffein.

C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	Ber. C 49,5	H 5,2	N 28,9%
(194,2)	Gef. „ 49,9; 49,8	„ 5,2; 5,1	„ 29,0; 29,1%

Die mit Chf-Me-(92:8) abgelösten *Fractionen* gaben aus Me-Ac 20,4 mg krist. *Substanz F* in Drusen, Smp. 179–182°; nach den üblichen Kriterien identisch mit einer authentischen Probe von XIII.

C <sub>19</sub> H <sub>27</sub> O <sub>5</sub> SNa · 3H <sub>2</sub> O	Ber. C 51,3	H 7,5	S 7,21%	Gef. C 51,6	H 7,4	S 6,06	N 0%
--	-------------	-------	---------	-------------	-------	--------	------

Die ML. der *Fractionen* sowie Reste von reinen Kristallen der *Substanz F*, 90 mg, wurden in 14 ml 95-proz. Alk gelöst, mit 7 ml 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> versetzt und 8 Std. unter Rückfluss gekocht. Die «Aufarbeitung Methode A» lieferte 41 mg neutrale, 11 mg basische und 3 mg saure Hydrolyseprodukte. 41 mg der neutralen Anteile wurden an 2,0 g bas. Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Eluieren der *Fractionen* dienten je 5 ml Lösungsmittel. Die mit Be-Ac-(4:1) eluierten *Fractionen*, 19 mg,

Tabelle 2. Aufarbeitungsschema von 23 l Urin

(⊕ bzw. ⊖ bedeuten die tuberkulostatische Wirksamkeit *in vitro*)

Ausschüttelungs- fraktionen	Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	in 2N Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> lösliche Säuren																
Gewichte der Rückstände	1,8 g	2,2 g	1,2 g	2,8 g	1,7 g	3,0 g	2,9 g	2,9 g	3,0 g	3,0 g	45 g																
	<b>1</b> ⊕	<b>2</b> ⊕	<b>3</b> ⊖	<b>4</b> ⊖	<b>5</b> ⊖																						
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 25%;"></td> <td style="width: 25%; text-align: center;">Ae-löslich</td> <td style="width: 25%; text-align: center;">Chf-löslich</td> <td style="width: 25%; text-align: center;">Chf-Alk-(2:1)-löslich</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Neutral</td> <td style="text-align: center;">Neutral</td> <td style="text-align: center;">Neutral</td> <td style="text-align: center;">löslich</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">230 mg</td> <td style="text-align: center;">19 mg</td> <td style="text-align: center;">190 mg</td> <td style="text-align: center;">8 mg</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><b>6</b> ⊕</td> <td style="text-align: center;"><b>7</b> ⊕</td> <td style="text-align: center;"><b>8</b> ⊕</td> <td style="text-align: center;"><b>10</b></td> </tr> </table>												Ae-löslich	Chf-löslich	Chf-Alk-(2:1)-löslich	Neutral	Neutral	Neutral	löslich	230 mg	19 mg	190 mg	8 mg	<b>6</b> ⊕	<b>7</b> ⊕	<b>8</b> ⊕	<b>10</b>
	Ae-löslich	Chf-löslich	Chf-Alk-(2:1)-löslich																								
Neutral	Neutral	Neutral	löslich																								
230 mg	19 mg	190 mg	8 mg																								
<b>6</b> ⊕	<b>7</b> ⊕	<b>8</b> ⊕	<b>10</b>																								
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 25%;"></td> <td style="width: 25%; text-align: center;">Chf-löslich</td> <td style="width: 25%; text-align: center;">Chf-Alk-(2:1)-löslich</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Basen</td> <td style="text-align: center;">Basen</td> <td style="text-align: center;">löslich</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">200 mg</td> <td style="text-align: center;">162 mg</td> <td style="text-align: center;">276 mg</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><b>12</b> ⊕</td> <td style="text-align: center;"><b>14</b></td> <td style="text-align: center;"><b>15</b> ⊕</td> </tr> </table>												Chf-löslich	Chf-Alk-(2:1)-löslich	Basen	Basen	löslich	200 mg	162 mg	276 mg	<b>12</b> ⊕	<b>14</b>	<b>15</b> ⊕				
	Chf-löslich	Chf-Alk-(2:1)-löslich																									
Basen	Basen	löslich																									
200 mg	162 mg	276 mg																									
<b>12</b> ⊕	<b>14</b>	<b>15</b> ⊕																									
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 25%;"></td> <td style="width: 25%; text-align: center;">Ae-löslich</td> <td style="width: 25%; text-align: center;">Chf-löslich</td> <td style="width: 25%; text-align: center;">Chf-Alk-(2:1)-löslich</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Neutral</td> <td style="text-align: center;">Neutral</td> <td style="text-align: center;">Neutral</td> <td style="text-align: center;">löslich</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">872 mg</td> <td style="text-align: center;">1100 mg</td> <td style="text-align: center;">190 mg</td> <td style="text-align: center;">8 mg</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><b>11</b> ⊖</td> <td style="text-align: center;"><b>13</b> ⊖</td> <td style="text-align: center;"><b>9</b></td> <td style="text-align: center;"><b>10</b></td> </tr> </table>												Ae-löslich	Chf-löslich	Chf-Alk-(2:1)-löslich	Neutral	Neutral	Neutral	löslich	872 mg	1100 mg	190 mg	8 mg	<b>11</b> ⊖	<b>13</b> ⊖	<b>9</b>	<b>10</b>
	Ae-löslich	Chf-löslich	Chf-Alk-(2:1)-löslich																								
Neutral	Neutral	Neutral	löslich																								
872 mg	1100 mg	190 mg	8 mg																								
<b>11</b> ⊖	<b>13</b> ⊖	<b>9</b>	<b>10</b>																								

lieferten aus Ac-Hn 13 mg farblose Nadeln, Smp. 145–148°;  $[\alpha]_D^{23} = +33,20 \pm 3^\circ$  ( $c = 0,782$  in Alk). Identisch mit authentischem *3β-Hydroxy-androsten-(5)-on-(17)* (XII).

$C_{19}H_{28}O_2$  (288,4) Ber. C 79,2 H 9,8% Gef. C 79,2 H 10,4%

*Isolierung der Substanz E (Theobromin)*: 162 mg chloroformlösliche Basen *Fraktion 12* (vgl. Aufarbeitungsschema, Tabelle 2) wurden an 8 g Silicagel wie üblich chromatographiert. Die mit Chf eluierbaren kristallinen Fraktionen, 40 mg, lieferten aus Chf-Ae 12,7 mg farblose Nadeln, anschnmelzen bei 270°, wegsublimentieren zwischen 290–300°; identisch mit Theobromin.

$C_7H_8N_4O_2$  Ber. C 46,7 H 4,5 N 31,1%  
(180,2) Gef. „ 46,0; 46,4 „ 4,7; 4,7 „ 31,2; 31,2%

Aus *Fraktion 13*, vgl. Tab. 2, wurden durch Chromatographie an 14 g Silicagel 99 mg krist. Theobromin gefasst.

*Isolierung und Identifizierung von Substanz A (Phtalsäure-dioctylester)*: 5,3 g ätherlösliche neutrale Anteile der Auszüge 1–3 von 178 l Urin wurden an 260 g Silicagel chromatographiert; zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 550 ml Lösungsmittel. Mit Be waren 3,73 g A als farbloses Öl eluierbar; Sdp. 160–162°/0,1 Torr (Badtemperatur 190–200°).

$C_{24}H_{38}O_4$  (390,5) Ber. C 74,2 H 9,34 O 16,5% Gef. C 74,3 H 9,7 O 16,7%

134 mg des Destillates wurden in 6 ml Alk und 1,2 ml 2N NaOH 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Die nach üblicher Aufarbeitung (Methode A) isolierten Säuren lieferten aus An-Ae 24 mg farblose Platten, Smp. 232–235°; identisch mit authentischer Phtalsäure.

$C_8H_6O_4$  (166,1) Ber. C 57,8 H 3,6 O 38,5% Gef. C 58,0 H 3,7 O 37,9%

*Trennung und saure Hydrolyse der Substanzen C und D*: 3,5 g der mit Chf aus wässriger Lösung ausschüttelbaren, neutralen Anteile (entspr. *Fraktion 13* aus 178 l Urin) wurden an 180 g Silicagel chromatographiert; vgl. Tab. 3.

Tabelle 3. *Chromatographie von 3,5 g Chf-löslichen, neutralen Anteilen an Silicagel*

Fraktion Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand mg	DC.	Basen aus saurer Hydrolyse	
				Ausbeute in %	isolierte Spaltstücke
1–7	Chf	911			
8–11	Chf	269	C		
12–14	Chf	83	C	58,4	(VII); Y <sup>11)</sup>
15–20	Chf-Me-(99:1)	239	C	45,0	VII; Y
21–28	Chf-Me-(99:1)	217	C + D		
29	Chf-Me-(98:2)	32	D		
30	Chf-Me-(98:2)	125	D	43,0	VII; X
31	Chf-Me-(98:2)	180	D		
32–36	Chf-Me-(98:2)	284	D	40,5	VII; X
37–38	Chf-Me-(97:3)	85	D		
39–44	Chf-Me-(97:3)	114	D	28,1	VII; X
45–53	Chf-Me-(95:5)	165	D +		
54–60	Chf-Me-(92:8)	91	kürzer		
61–66	Chf-Me-(88:12)	54			
67–72	Chf-Me-(70:30)	95			

*Saure Hydrolyse der Fraktionen 15–20 (Tab. 3)* (entspr. *Metabolit C*): 239 mg der Fraktionen 15–20, Tab. 3, in 10 ml Alk und 5 ml 2N  $H_2SO_4$  wurden 4½ Std. unter Rückfluss gekocht.

<sup>11)</sup> Aus diesem Hydrolyseprodukt wurde nur Substanz Y präparativ isoliert. Der Nachweis von VII beschränkt sich auf das DC. Die Konstitution der Substanz Y wurde nicht aufgeklärt.

Aufarbeitung nach Methode A lieferte 80 mg neutrale Anteile; 107 mg Basen und 19 mg Säure. Von diesen wurden nur die Basen untersucht, die an 5,5 g Silicagel chromatographiert wurden. Die mit Be-Ae-(6:4) abgelösten Fraktionen, 21 mg, wurden im Molekularkolben bei 0,05 Torr/90° Badtemperatur destilliert; Destillat aus Ae-Hn: 14 mg *Substanz VII* in farblosen Plättchen, Smp. 84–86°.

$C_{11}H_{17}NO_2$  (195,3) Ber. C 67,7 H 8,8 N 7,2% Gef. C 67,7 H 8,9 N 7,2%

*Maleinat von VII*: 4,5 mg krist. Base, Smp. 84–86° mit 2,7 mg Maleinsäure umgesetzt; aus Me-Ae farblose Prismen, Smp. 153–155,5°.

$C_{15}H_{21}NO_6$  (311,3) Ber. C 57,9 H 6,8 N 4,5% Gef. C 57,5 H 7,0 N 4,5%

*N-Acetyl-Verbindung von VII*: 5,1 mg krist. Base, Smp. 84–86°, in 0,1 ml Py und 0,1 ml (Ac)<sub>2</sub>O gelöst wurden 20 Std. auf 50° erwärmt. Aufarbeitung (Methode A) ergab 6 mg neutrales Rohprodukt, aus An-Hn 2,8 mg farblose Platten, Smp. 126–129°.

$C_{13}H_{19}NO_3$  (237,3) Ber. C 65,8 H 8,1 N 5,9% Gef. C 65,5 H 8,9 N 6,4%

Die mit Ac eluierten Fraktionen, 13 mg, wurden im Molekularkolben bei 0,05 Torr/135° Badtemperatur destilliert; aus Ae-Hn farblose Platten, Smp. 132–135° (*Subst. Y*); IR.-Spektrum (KBr) 3220 cm<sup>-1</sup> (NH) 1670 cm<sup>-1</sup>, 1650 cm<sup>-1</sup> (CO aus Amid).

$C_5H_7NO$  (97,1) Ber. C 61,8 H 7,3 N 14,4% Gef. C 61,0 H 8,4 N 14,5%  
 $C_5H_9NO$  (99,1) „ „ 60,6 „ 9,1 „ 14,1%

Aus den mit Ac-Chf-(6:4) sowie (4:6) eluierten Fraktionen, 13 mg, wurden nach Destillation im Molekularkolben weitere 3 mg *Substanz Y*, Smp. 122–125° erhalten.

*Saure Hydrolyse der Fraktion 30* (Tabelle 3) (entspr. *Metabolit D*): 126 mg in 15 ml Alk und 7,5 ml 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurden 8 Std. unter Rückfluss gekocht. Die übliche Aufarbeitung, Methode A, lieferte 61 mg neutrale, 3 mg saure und 54 mg basische Anteile. Diese wurden an 2,5 g Silicagel chromatographiert. Die Eluate der mit Be-Ac-(6:4) abgelösten Fraktionen, 17 mg, lieferten nach Destillation im Molekularkolben (0,05 Torr/Badtemperatur 90°) 15,5 mg farblose zugespitzte Prismen, Smp. 85–87° (VII). Die mit Be-Ae-(2:8), Ae, Ae-Chf-(8:2), Ae-Chf-(6:4), Ae-Chf-(4:6), Ae-Chf-(2:8), Chf und Chf-Me-(98:2) erhaltenen Eluate, 39 mg, lieferten bei der Destillation im Molekularkolben (0,05 Torr/Badtemperatur 120°), 14,7 mg Destillat, aus Ae-Hn farblose Platten, Smp. 87–90,5° (X); Misch-Smp. mit X aus den basischen Hydrolyseprodukten der Fraktionen 32–36 ohne Depression; Misch-Smp. mit VII aus den Fraktionen 10–13: 72–85° (Depression).

*Saure Hydrolyse der Fraktionen 32–36*, Tabelle 3 (entspr. *Metabolit D*): 284 mg Fraktionen 32–36 in 36 ml Alk und 18 ml 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurden hydrolysiert wie bei den Fraktionen 15–20 beschrieben. Dabei wurden erhalten: 115 mg Basen, 5,5 mg Säuren, 75 mg neutrale Anteile. Nach Chromatographie an 6 g Silicagel lieferten die basischen Anteile aus den mit Be-Ae-(4:6) abgelösten Fraktionen 15,7 mg rohe *Base VII* und daraus 9 mg Kristalle, Smp. 82–85°.

Die mit Ae sowie Ae-Chf-(8:2) eluierten Fraktionen (7 mg) wurden im Molekularkolben bei 0,05 Torr/110° Badtemperatur destilliert. Aus dem Destillat (5 mg) konnten aus Ae-Hn 3 mg *Substanz X* in farblosen Platten, Smp. 82–90°, erhalten werden; aus Ae-Hn, Smp. 88–91°. Im DC. (System: Chf-Cyclohexan-Diäthylamin (5:4:1); Kieselgel) zeigt die *Substanz 1/3* der Laufstrecke von VII; NMR.- und IR.-Spektren vgl. theoretischen Teil.

*Maleinat von X*: 5 mg X mit 2,9 mg Maleinsäure, aus Me-Ae 2,7 mg Nadeln Smp. 121–127°.

*Saure Hydrolyse der Fraktionen 39–44*: 119 mg in 15 ml Alk und 7,5 ml 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurden 8 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung (Methode A) lieferte 51 mg neutrale, 3,3 mg saure und 33,5 mg basische Anteile. Diese ergaben nach Chromatographie an 2 g Silicagel 5,2 mg VII. Smp. 87–90° und 3,5 mg X, Smp. 88–91°.

*Saure Hydrolyse von Thiocarlid*: 2,4 g Thiocarlid, Smp. 144–146° in 300 ml Alk und 150 ml 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurden 4,5 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung, Methode A, lieferte 2,11 g neutrale, 452 mg basische und 6,5 mg saure Anteile.

Eine Probe der Basen wurde im Molekularkolben destilliert. Das bei 0,1 Torr und 80° Badtemperatur erhaltene Destillat war im Gas-chromatogramm einheitlich und identisch mit *p-Isoamyloxyanilin (II)*.

$C_{11}H_{17}NO$  Ber. C 73,4 H 9,6 N 7,9 O 9,0%  
 (179,3) Gef. „ 73,7 „ 9,6 „ 7,8 „ 8,9%

*Maleinat von II:* Aus Me-Ae farblose Plättchen, Smp. 126–126,5°

$C_{15}H_{21}NO_5$  (295,3) Ber. C 61,0 H 7,2 N 4,7% Gef. C 61,2 H 7,2 N 9,7%

Die neutralen Anteile lieferten aus An-Hn 0,65 g Thiocarlid, Smp. 140–143°. 600 mg der ML wurden an 30 g Silicagel chromatographiert. Aus den mit Be-Ae-(90:10) eluierten Fraktionen, 254 mg, wurden 180 mg Thiocarlid regeneriert. Die mit Be eluierten Fraktionen, 372 mg, lieferten aus Hn 250 mg *Substanz IV*, Smp. 49–50°; aus Hn Smp. 50–50,5°.

$C_{14}H_{21}NO_3S$  Ber. C 62,9 H 7,9 N 5,2 S 12,0%  
(267,4) Gef. „ 63,1 „ 7,9 „ 5,3 „ 11,9%

*Synthese von IV aus III:* Eine Lösung von 1,0 g Na in 50 ml Alk und 10 g Isothiocyanat III wurde 1 Std. bei 20° stehengelassen. Nach dem Verdünnen mit 500 ml W wurde mit konz. HCl angesäuert und die erhaltenen Kristalle abgenutscht. Aus Hn 9,5 g IV, Smp. 49–50°, identisch mit dem analogen Produkt aus der sauren Hydrolyse von Thiocarlid.

**B. Synthetischer Teil.** – 4-(*p*-Aminophenoxy)-2-methyl-2-butanol (XVI): 195 mg chromatographisch gereinigtes 2-Methyl-4-(*p*-nitrophenoxy)-2-butanon (XV) in 25 ml Feinsprit wurden mit 100 mg 5-proz. Pd-Kohle bei 21° und Normaldruck hydriert; Wasserstoffaufnahme: 71 ml (Theor. 67 ml). Vom Katalysator wurde durch ein mit Hyflo-Super-Cel gedichtetes Filter abgenutscht und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Reinigung des Rückstandes durch Destillation im Molekular Kolben; aus Ae-Hn, 140 mg farblose Prismen, Smp. 83–86°; aus Ae-Hn, Smp. 86–89°.

$C_{11}H_{17}NO_2$  (195,3) Ber. C 67,7 H 8,8 N 7,2% Gef. C 68,1 H 8,8 N 7,3%

*Maleinat von XVI:* Aus Me-Ae farblose Spiesse, Smp. 151–153°.

$C_{15}H_{21}NO_6$  (311,3) Ber. C 57,9 H 6,8 N 4,5% Gef. C 58,2 H 7,0 N 4,7%

*N-Acetyl-Derivat von XVI:* Aus Ae farblose Platten, Smp. 124–126°.

$C_{13}H_{19}NO_3$  (237,3) Ber. C 65,8 H 8,1 N 5,9% Gef. C 65,7 H 8,1 N 6,0%

*p*-(3-Hydroxy-3-methyl-butoxy)-phenylisothiocyanat (XVII): Zu 600 mg Thiophosgen in 2,7 ml Äthylchlorid wurde unter Rühren bei 20° die Lösung von 785 mg XVI in 7,6 ml W und 0,45 ml konz. HCl innerhalb 15 Min. getropft und anschliessend die Mischung 60 Min. bei 20° gerührt. Nach dem Verdünnen mit Ae wurde mit 2N HCl, 10-proz.  $KHCO_3$ -Lösung und W neutral gewaschen; 387 mg neutrales Rohprodukt. 225 mg davon waren im Molekular Kolben bei 0,1 Torr/100° Badtemperatur destillierbar; aus Ae-Hn farblose Blättchen, Smp. 40–43°.

$C_{12}H_{15}NO_2S$  Ber. C 60,7 H 6,4 N 5,9 S 13,5%  
(237,3) Gef. „ 60,9 „ 6,4 „ 5,9 „ 13,4%

3-Cyclohexyl-1-[*p*-(3-hydroxy-3-methyl-butoxy)-phenyl]-2-thioharnstoff (XIX): 210 mg Isothiocyanat XVII und 0,3 ml Cyclohexylamin in 5 ml Ipr 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde in Ae aufgenommen und nach Methode B neutral gewaschen. 290 mg neutrales Rohprodukt lieferten nach chromatographischer Reinigung an 15 g Silicagel 65 mg farblose Plättchen, Smp. 113–116°.

$C_{18}H_{28}N_2O_2S$  Ber. C 64,2 H 8,4 N 8,3 S 9,5%  
(336,5) Gef. „ 63,9 „ 8,4 „ 8,1 „ 9,2%

4,4'-Bis-(3-hydroxy-3-methyl-butoxy)-thiocarbamilid (XVIII): 186,5 mg Isothiocyanat XVII und 170 mg Amin XVI wurden in 4 ml Ipr 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung, Methode B, lieferte 315 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Ae-Hn 140 mg farblose Plättchen, Smp. 137–139°; aus An-Ae-Hn Smp. 139–140°.

$C_{23}H_{32}N_2O_4S$  Ber. C 63,9 H 7,5 N 6,5 S 7,4%  
(432,6) Gef. „ 63,9 „ 7,5 „ 6,5 „ 7,2%

*Isopropyl-p-nitrophenoxy-methyl-ke-ton* (XXVII): 1,8 g Na-*p*-nitrophenolat in 20 ml DMF wurden mit 1,2 g 1-Chlor-3-methyl-butanon-(2) unter Rückfluss mit  $CaCl_2$ -Verschluss 3 Std. auf dem Dampfbad erwärmt. Nach Zusatz von 50 ml W wurde 3mal mit je 200 ml Ae ausgeschüttelt und 10mal mit je 30 ml 2N NaOH und 2mal mit W ausgeschüttelt, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und eingedampft: Rückstand 0,9 g. Durch Destillation im CLAUSEN-Kolben gereinigt; Sdp. 167–169°/0,1 Torr. Aus Ae-Hn gelbliche Plättchen, Smp. 58–61°.

$C_{11}H_{13}NO_4$  (223,2) Ber. C 59,2 H 5,9 N 6,3% Gef. C 59,1 H 6,0 N 6,1%

*Semicarbazon von XXVII*: 60 mg des Destillates wurden mit 120 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 180 mg Na-Acetat-trihydrat in 1 ml Me umgesetzt. Nach 16 Std. bei 20° wurden die ausgefallenen Kristalle abgenutscht; aus Chf-Ae farblose verfilzte Nadeln, Smp. 194–196°.

$C_{12}H_{16}N_4O_4$  (280,3) Ber. C 51,4 H 5,8 N 20,1% Gef. C 51,4 H 5,9 N 20,0%

*p-Aminophenoxy-methyl-isopropyl-ke-ton (XXVII)*: 530 mg Nitroderivat XXVII in 20 ml abs. Alk wurden mit 200 mg 5-proz. Pd-Kohle bei 20° und Normaldruck hydriert. Wasserstoffaufnahme 105 ml. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Ae aufgenommen und durch Ausschütteln mit 2N HCl in basische und neutrale Anteile zerlegt; neutrale Anteile 0,06 g (verworfen); Basen 0,3 g; Reinigung durch Destillation im Molekularkolben bei 0,1 Torr/120° Badtemperatur.

*Maleinat von XXVIII*: Aus Me-Ae farblose Plättchen (an der Luft sich rasch dunkel verfärbend), Smp. 102–106°.

$C_{15}H_{19}NO_6$  (309,3) Ber. C 58,2 H 6,2 N 4,5% Gef. C 58,0 H 6,4 N 4,5%

*Semicarbazon von XXVIII*: 45,2 mg des Destillates wurden mit der Semicarbazidacetat-Lösung aus 120 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 180 mg Na-Acetat-trihydrat in Me umgesetzt. Nach 16 Std. bei 20° wurde im Vakuum eingedampft, mit 3 ml W versetzt, mit Ammoniak alkalisch gestellt und 3mal mit Ae ausgeschüttelt. Der Rückstand der Ae-Lösung, 51 mg, wurde mit 24 mg Maleinsäure umgesetzt. Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 115–120°.

$C_{16}H_{22}N_4O_6$  (366,4) Ber. C 52,5 H 6,1 N 15,3% Gef. C 52,3 H 6,2 N 15,3%

*1-(p-Aminophenoxy)-3-methyl-2-butanol (XXIX)*: 141,7 mg Keton XXVIII in 8 ml abs. Alk wurden mit 56 mg  $NaBH_4$  (2 Mol-Äqu.) versetzt und 16 Std. bei 20° stehengelassen. Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde in 5 ml W gelöst, durch Zusatz von konz. HCl kongosauer gestellt und 2mal mit je 40 ml Ae ausgeschüttelt. Die 3mal mit je 4 ml 2N HCl und W gewaschene Ae-Lösung lieferte 1,6 mg neutrale Anteile. Aus den vereinigten wässrigen Lösungen wurden nach Alkalischstellen und Ausäthern 125,5 mg Basen erhalten. Davon waren im Molekularkolben bei 0,1 Torr/100° Badtemperatur 116 mg destillierbar. Aus Ae-Hn farblose Spiesse, Smp. 39–41°.

$C_{11}H_{17}NO_2$  (195,3) Ber. C 67,7 H 8,8 N 7,2% Gef. C 67,8 H 8,9 N 7,0%

*(2,3-Epoxy-3-methyl-butoxy)-p-nitro-benzol (XX)*: 1200 mg Na-*p*-nitrophenolat und 600 mg 2-Methyl-4-brom-2,3-oxido-butan in 6 ml DMF wurden 10 Std. unter Rückfluss mit  $CaCl_2$ -Verschluss auf dem Dampfbad erwärmt. Nach Zusatz von 50 ml W wurde 3mal mit je 120 ml Ae ausgeschüttelt. Die Ae-Lösungen wurden 6mal mit je 20 ml 2N NaOH und 2mal mit W gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (0,805 g) gab aus Ae-Hn 0,57 g gelbstichige Prismen, Smp. 66–69°; aus Ae-Hn, Smp. 67–69°.

$C_{11}H_{13}NO_4$  (223,2) Ber. C 59,2 H 5,9 N 6,3% Gef. C 59,2 H 6,0 N 6,2%

*3-Methyl-1-(p-nitrophenoxy)-2,3-butandiol (XXV)*: 6,08 g Na-*p*-nitrophenolat in 39 ml DMF und 3,8 g 1-Brom-3-methyl-2,3-dihydroxy-butan wurden unter Rückfluss mit  $CaCl_2$ -Verschluss 10 Std. auf dem Dampfbad erwärmt. Nach Zusatz von 100 ml W wurde 3mal mit je 250 ml Ae ausgeschüttelt und 6mal mit je 30 ml 2N NaOH und 2mal mit W gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und eingedampft. 4,7 g neutrales Rohprodukt lieferten aus Me-W gelbstichige Nadeln, Smp. 52–59°.

$C_{11}H_{15}NO_5$  (241,2) Ber. C 54,8 H 6,3 N 5,8% Gef. C 55,3 H 6,4 N 5,4%

*1-(p-Aminophenoxy)-3-methyl-2,3-butandiol (XXVI)*: 900 mg Nitroderivat XXV in 80 ml abs. Alk wurden mit 400 mg 5-proz. Pd-Kohle bei 20° unter Normaldruck hydriert; Wasserstoffaufnahme 250 ml. Vom Katalysator wurde durch ein mit Hyflo-Super-Cel gedichtetes Filter abgenutscht und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Chf-Ae aufgenommen und durch Ausschütteln mit 2N HCl in basische und neutrale Anteile zerlegt; Basen 0,29 g, Neutrales 0,13 g (nicht untersucht). Basen aus Ae-Hn 124 mg Kristalle, Smp. 88–90°; aus Ae-Hn, Smp. 89–90°. Die Kristalle sind sehr lichtempfindlich und verfärben sich rasch dunkel.

$C_{11}H_{17}NO_3$  (211,3) Ber. C 62,5 H 8,1 N 6,6% Gef. C 62,4 H 8,2 N 6,8%

*4'-[(2-Acetyloxy-3-hydroxy)-isopentyloxy]-acetanilid (XXI)*: 192 mg Dihydroxy-Base XXVI in 1,3 ml Py und 1,0 ml  $(Ac)_2O$  wurden 18 Std. bei 20° stehengelassen. Nach dem Eindampfen wurde in Ae aufgenommen und nach üblicher Methode neutral gewaschen. 165 mg neutrales Rohprodukt; aus Ae-Hn gelbliche Nadeln, Smp. 105–110°; aus An-Hn farblose Nadeln, Smp. 115–117°.

$C_{15}H_{21}NO_5$  (295,3) Ber. C 61,0 H 7,2 N 4,7% Gef. C 61,0 H 7,2 N 4,7%

4-(2,3-Dihydroxy-3-methylbutoxy)-4'-(3-hydroxy-3-methylbutoxy)-thiocarbanilid (XXII): 373 mg Isothiocyanat XVII, Smp. 40–43°, und 346 mg Dihydroxyamin XXVI in 25 ml Ipr wurden 2 Std. unter Rückfluss mit CaCl<sub>2</sub>-Verschluss gekocht. Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde in 200 ml Chf-Ae aufgenommen und nach Methode B aufgearbeitet. Das neutrale Rohprodukt, 0,57 g, wurde an 35 g Silicagel chromatographiert. Aus den mit Chf eluierbaren Fraktionen liessen sich 175 mg nicht umgesetztes Isothiocyanat XVII regenerieren. Aus den mit Chf-Me-(99,7:0,3) eluierten Fraktionen, 90 mg, wurden 25 mg der Dihydroxy-Verbindung XVIII, Smp. 137–140°, erhalten. Die mit Chf-Me-(98,5:1,5) abgelösten Fraktionen, 80 mg, lieferten aus Ipr-Ae 20 mg XXII in farblosen Spiessen, Smp. 118–120°.

$C_{23}H_{32}N_2O_5S$	Ber. C 61,6	H 7,2	N 6,3	S 7,2%
(448,6)	Gef. „ 61,4	„ 7,3	„ 6,4	„ 7,0%

Wir danken Herrn Dr. H. U. GUBLER für die Bestimmungen der tuberkulostatischen Wirkungen.

Die Mikroanalysen wurden im Mikrolabor des Institutes (Leitung Herr H. EGLI) ausgeführt. Die Analysen im Ultramikro-Bereich verdanken wir Herrn Dr. SCHÖNIGER, SANDOZ AG, Basel. Für die Ausführung der zahlreichen DC. danken wir Frau E. SCHRAPE bestens.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] N. P. BUU-HOI & N. DAT XUONG, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. *237*, 498 (1953); N. P. BUU-HOI, P. GLEY, N. DAT XUONG & A. BOUFFANAI, *ibid.* *238*, 2582 (1954); N. P. BUU-HOI, N. DAT XUONG, N. H. NAM, J. M. GAZAVE, J. PILLOT & L. SCHEMBRI, *Experientia* *11*, 97 (1955); R. L. MAYER, P. C. EISMAN & E. A. KONOPKA, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* *82*, 769 (1953).
- [2] G. FAVEZ, *Schweiz. Z. Tuberk.* *18*, 379 (1961); G. FEGIZ & G. RELLINI, *Gazz. intern. Med. Chir.* *66*, Nr. 24 (1961).
- [3] L. EIDUS & E. J. HAMILTON, IIIrd Intern. Congress Chemotherapy, Stuttgart, 1964, Vol. I, S. 177; R. S. MITCHELL, T. L. PETTY, A. J. CROWLE, G. BAKE, D. H. BAEDER, I. KASS & W. E. DYE, nicht publizierte Mitteilung an der 17. Internat. Tuberkulose-Konferenz in Rom, 24. bis 28. 9. 1963; H. U. GUBLER, G. FAVEZ, N. BERGER, J. M. MAILLARD & T. FRIEDRICH, *Beitr. Klin. Tuberk.* *133*, 126 (1966).
- [4] F. RASCHIG, *Chemiker-Ztg.* *30*, 1703 (1909); *Ber. deutsch. chem. Ges.* *48*, 2088 (1915); W. AWE, *Pharmazie* *3*, 492 (1948); W. AWE & E. NAUJOKS, *Österr. Apotheker-Ztg.* *6*, 534 (1952); E. CHARGAFF, C. LEVINE & C. GREEN, *J. biol. Chemistry* *175*, 67 (1948).
- [5] H. J. NESTLER & J. SEYDEL, *Arzneimittelforschung* *16*, 1494 (1962).
- [6] P. L. MUNSON, T. F. GALLAGHER & F. C. KOCH, *Endocrinology* *30*, 1036 (1942).
- [7] N. B. TALBOT, J. RYAN & J. K. WOLFE, *J. biol. Chemistry* *148*, 593 (1943).
- [8] E. W. MAYNERT, J. M. DAWSON & E. WASHBURN, *J. biol. Chemistry* *195*, 397 (1952).
- [9] H. YOSHIMURA, H. TSUIJ, H. TSUKAMOTO, *Chem. pharmaceut. Bull.* *14*, 939 (1966).
- [10] F. STRAUS & R. KÜHNEL, *Ber. deutsch. chem. Ges.* *66*, 1834 (1933).
- [11] S. WINSTEIN & L. GOODMAN, *J. Amer. chem. Soc.* *76*, 4373 (1954).
- [12] M. THIEL, F. ASINGER & G. RECKLING, *Liebigs Ann. Chem.* *611*, 131 (1958).