

Der grosse strukturelle Unterschied zwischen den beiden Peptidhormonen lässt erwarten, dass sie immunologisch nicht gleichwertig sind. Diese wichtige, vorläufig noch strittige Frage [6] wird sich nun beantworten lassen, da auch Calcitonin M in genügender Menge durch Totalsynthese zugänglich geworden ist [7].

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. NEHER, B. RINIKER, R. MAIER, P. G. H. BYFIELD, T. V. GUDMUNDSSON & I. MACINTYRE, *Nature* (Lond.) (1968) im Druck.
- [2] B. RINIKER, R. NEHER, R. MAIER, F. W. KAHNT, P. G. H. BYFIELD, T. V. GUDMUNDSSON, L. GALANTE & I. MACINTYRE, *Helv. 51*, 1738 (1968).
- [3] G. V. FOSTER, I. MACINTYRE & A. G. E. PEARSE, *Nature* (Lond.) *203*, 1029 (1964); A. G. E. PEARSE, *Proc. R. Soc. B. 164*, 478 (1966); G. BUSSOLATI & A. G. E. PEARSE, *J. Endocrinol.* *37*, 205 (1967); A. G. E. PEARSE & A. F. CARVALHEIRA, *Nature* (Lond.) *214*, 929 (1967).
- [4] R. NEHER, B. RINIKER, H. ZUBER, W. RITTEL & F. W. KAHNT, *Helv. 51*, 917 (1968).
- [5] H. ZUBER, *Nature* *201*, 613 (1964).
- [6] A. H. TASHJIAN, JR. & P. L. MUNSON, *Endocrinology* *77*, 520 (1965); L. J. DEFTOS, M. R. LEE & J. T. POTTS, JR., *Proc. nat. Acad. Sci.* *60*, 293 (1968).
- [7] P. SIEBER, M. BRUGGER, B. KAMBER, B. RINIKER & W. RITTEL, *Helv. 51*, 2057 (1968).

221. Substitution der 6-Aminopenicillansäure am Kohlenstoffatom 6

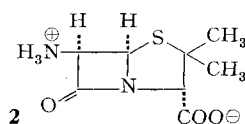
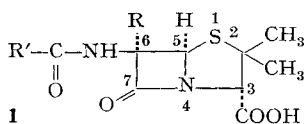
von R. Reiner und P. Zeller

Chemische Forschungsabteilung der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co., A.G., Basel

(5. X. 68)

Summary. The hydroxyalkylation of the penicillin nucleus at C-6 with benzaldehyde and formaldehyde is reported. 6-aminopenicillanic acid (6-APA) (**2**) was used as starting material. Protection of the functional groups and activation of the C-6 position were effected by converting 6-APA successively into the Schiff base **13**, the methyl ester **14** and the copper complex **15**. The latter gave with benzaldehyde the C-6 monosubstituted complex **17**, and with formaldehyde the disubstituted complex **18**. The direct α -hydroxybenzylation of 6-APA at C-6 was also carried out with an excess of benzaldehyde at pH 7,5 leading to the SCHIFF base **19**. Mild hydrolysis of **19** gave 6-amino-6-(α -hydroxybenzyl)-penicillanic acid (**21**). Phenylacetylation of the latter yielded the penicillin G analogue **22**. Direct reaction of 6-APA with formaldehyde took place only in the presence of salicylaldehyde, giving the oxazolidine **24**, from which the amino acid **25** could not be obtained. The new compounds showed only weak antibacterial activity as compared with penicillin G.

Einführung. – Im letzten Jahrzehnt sind α -Alkyl-aminosäuren als potentielle Antimetabolite der entsprechenden nicht alkylierten Aminosäuren intensiv bearbeitet worden [1]. Die interessanten biologischen Eigenschaften solcher Substanzen gaben den Anstoss, dass wir uns mit der Synthese von (C-6)-alkylierten Penicillinen **1** befassten. Der Grundkörper der Penicilline – die 6-Aminopenicillansäure (**2**) – ist als



cyclisches Dipeptid von L-Cystein und D-Valin aufzufassen und somit entspricht die Alkylierung an der Stelle 6 einer α -Alkylierung des Cysteins.

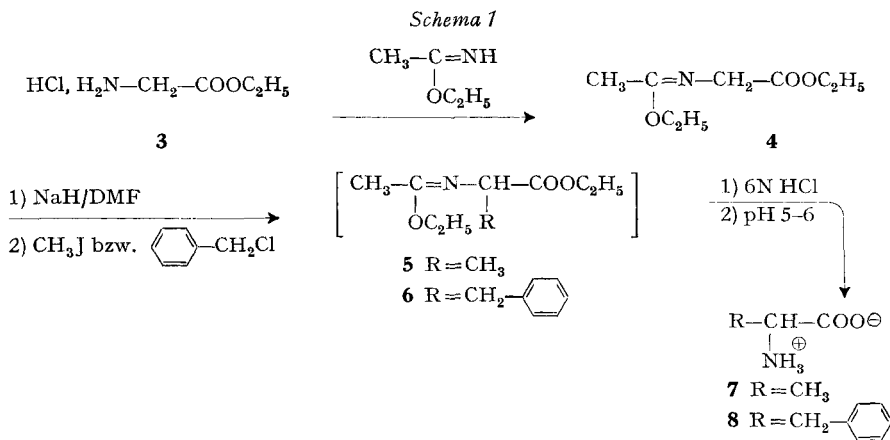
Zu einer solchen Abwandlung des Penicillinkernes wurden wir auch durch eine Hypothese von STROMINGER [2] veranlasst, wonach durch die Einführung einer Methylgruppe am C-6 des Penicillinkernes, mit der *cis*-Konfiguration in bezug auf H-(C-5), eine Verstärkung der antibiotischen Wirksamkeit der Penicilline zu erwarten ist. Nach dieser Theorie besteht einer der letzten Schritte der Zellwandsynthese gewisser Bakterien in der durch eine Transpeptidase vollzogenen Spaltung der Peptidbindung eines acylierten D-Alanyl-D-alanins. Die starre Konformation der Penicilline ist, obwohl das C-6 die L-Konfiguration besitzt, einer bestimmten Konformation des Acyl-D-alanyl-D-alanins sehr ähnlich. Dank dieser Ähnlichkeit und ihrem sehr reaktiven β -Lactamring sollen die Penicilline die Transpeptidase durch irreversible Acylierung hemmen. Die Einführung einer *cis*-Methylgruppe am C-6 würde diese Ähnlichkeit noch steigern und könnte folglich die antibiotische Wirkung verstärken.

Resultate und Diskussion

A. Da ein einfacher totalsynthetischer Zugang zu den Penicillinen noch nicht gefunden wurde, haben wir als Ausgangsmaterial für unsere Versuche zur Synthese von C-6-alkylierten Penicillinen die 6-Aminopenicillansäure (**2**) gewählt. Für eine Alkylierung am C-6 müssen sowohl die Carboxylgruppe als auch die Aminogruppe zweckmässig geschützt sein. Die Aminoschutzgruppe sollte ausserdem befähigt sein, die H-(C-6)-Bindung, im Sinne einer Steigerung der Acidität, zu aktivieren, da die *-I*-Effekte des Lactamcarbonyls und des β -ständigen Schwefelatoms hierfür kaum ausreichen dürften.

Bei Vorversuchen am Glycin hatte sich die Iminoäthergruppierung $\text{CH}_3\text{-C(OC}_2\text{H}_5\text{)=N-}$ als stark aktivierende und unter milden Bedingungen hydrolysierbare Aminoschutzgruppe erwiesen. Durch ihre Einführung – für die Herstellung von **4** vgl. [3] – konnte Glycin zu Alanin bzw. Phenylalanin nach Schema 1 C-alkyliert werden.

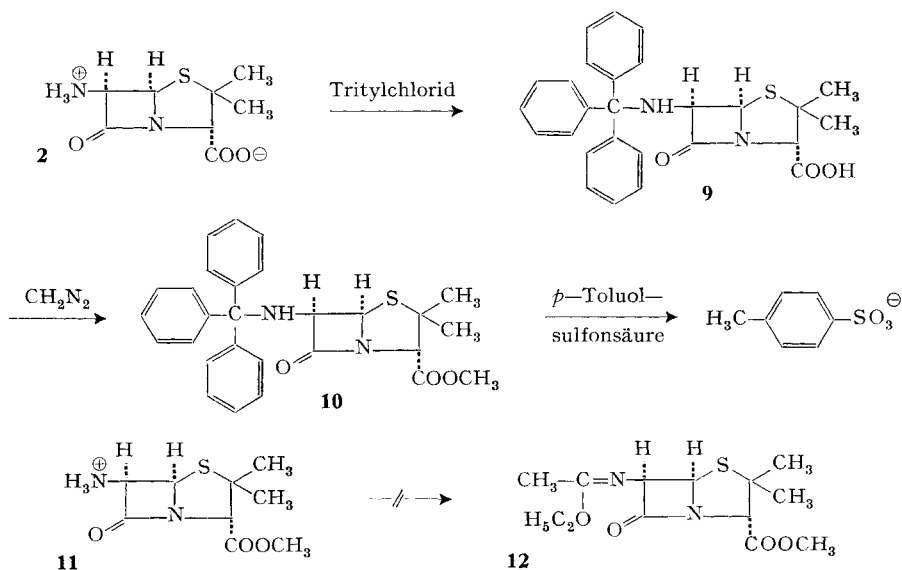
Bei der Übertragung dieses Syntheseweges auf die 6-Aminopenicillansäure (**2**) musste die hohe Empfindlichkeit des β -Lactamsystems gegenüber nucleophilen Agen-



zien berücksichtigt werden. Die dadurch bedingte Schwierigkeit einer direkten Veresterung der Carboxylgruppe wurde über den Weg der Tritylverbindungen **9** und **10** [4] umgangen (Schema 2). Das durch Detritylierung von **10** erhaltene 6-Aminopenicillansäure-methylester-*p*-toluolsulfonat **11** [5] liess sich jedoch nicht mit Acetiminoläther, gemäss Reaktion **3** $\rightarrow$ **4**, Schema 1, in das für eine Alkylierung geeignete Derivat **12** überführen. Dafür könnten die relativ schwach nucleophilen Eigenschaften der Base von **11** verantwortlich sein.

B. Bei der Suche nach einer anderen geeigneten und besonders leicht einföhrbaren N-Schutzgruppe veranlassten uns die aktivierenden Eigenschaften des Azomethin-systems von SCHIFF'schen Basen in der Transaminierung, Decarboxylierung und

Schema 2



Aldoladdition von α -Aminosäuren [6] zum folgenden, in den Schemata 3 und 4 zusammengefassten Syntheseweg über die 6-Salicylidenamino-penicillansäure **13**. Diese SCHIFF'sche Base wurde durch Umsetzung von **2** mit einem 10-mol. Überschuss von Salicylaldehyd in Wasser bei pH 7,5 als hellgelbes Kristallisat in 78-proz. Ausbeute erhalten. Im IR.-Spektrum erscheint die β -Lactambande bei 1778 cm^{-1} . In Lösung ist **13** ziemlich instabil, was auf die Anwesenheit der hydrolyseempfindlichen Imin- und β -Lactamsysteme einerseits und der stark sauren Carboxylgruppe andererseits zurückzuführen sein muss. Wie erwartet gibt **13**, infolge starker Neigung zur Komplexbildung, eine intensive FeCl_3 -Reaktion (blauviolett).

Mit überschüssigem Diazomethan in Äther wurde aus **13** der Methylester **14** rein und praktisch quantitativ als gelbes, nicht kristallisierendes Öl erhalten. (IR.: β -Lactambande bei 1784 cm^{-1} .) Infolge Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Iminstickstoff und der phenolischen Hydroxylgruppe fand dabei keine Verätherung der letzteren statt. Deshalb gibt auch **14** eine intensiv blauviolette FeCl_3 -Reaktion.

Bei der Herstellung von **13** hätte wegen der Aktivierung der H-(C-6)-Bindung durch das Iminsystem eine Racemisierung oder Epimerisierung [7] am C-6 stattfinden können. Dass dies aber nicht der Fall war, geht aus dem gut aufgelösten NMR.-Spektrum (CDCl_3) des Methylesters **14** hervor, welches für H-(C-6) und H-(C-5) Dublette bei 5,17 bzw. 5,61 mit $J = 4,0$ Hz anzeigt. (Das Dublett von H-(C-6) ist wegen Azaallylkopplung mit dem Azomethinproton feinaufgespalten, $J' = 1,5$ Hz.) Der Wert der Kopplungskonstante von 4 Hz ist für die *cis*-Anordnung von H-(C-6) und H-(C-5) charakteristisch; bei der *trans*-Anordnung werden ja Werte von ca. 1,5 Hz gefunden [8].

Die Hydrolyse von **14** mit 3N Salzsäure bei 5° lieferte 6-Aminopenicillansäuremethylester (**11a** = Base von **11**) als schwach gelbes Öl in 69-proz. Ausbeute. (IR.: β -Lactambande bei 1785 cm^{-1} ; NMR.: H-(C-6) und H-(C-5) geben Dublette bei 4,56 bzw. 5,50 ppm mit $J = 4,5$ Hz.) Mit **14** wurden Alkylierungsversuche in Anwesenheit von Natriumhydrid ausgeführt, wobei zur Hauptsache die Spaltung des β -Lactams erfolgte. Die durch die starke intramolekulare Wasserstoffbindung bedingte Stabilität der SCHIFF'schen Base **14** geht bei der Einwirkung von Natriumhydrid verloren. Um folglich die bei der Alkylierung störende phenolische Hydroxylgruppe zu schützen und gleichzeitig auch noch die Aktivierung am C-6 zu verstärken, wurde **14** mit Kupferacetat/Natriumhydrogencarbonat in Chloroform-Wasser bei 0° in den dunkelgrünen, kristallinen Kupferkomplex **15** ($\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{CuN}_4\text{O}_8\text{S}_2$) in 95-proz. Ausbeute übergeführt. Eine Racemisierung oder Epimerisierung an den C-6-Atomen ist bei diesen Reaktionsbedingungen auszuschliessen. Die Kupferliganden weisen sehr wahrscheinlich die *trans*-Anordnung auf, wie bei der RÖNTGEN-Strukturanalyse des Salicylidenimin-kupfer-Komplexes gefunden wurde [9]. **15** ist in den meisten organischen Lösungsmitteln gut löslich. Das IR.-Spektrum zeigt die β -Lactambande bei 1776 cm^{-1} und ist demjenigen von **14** sehr ähnlich.

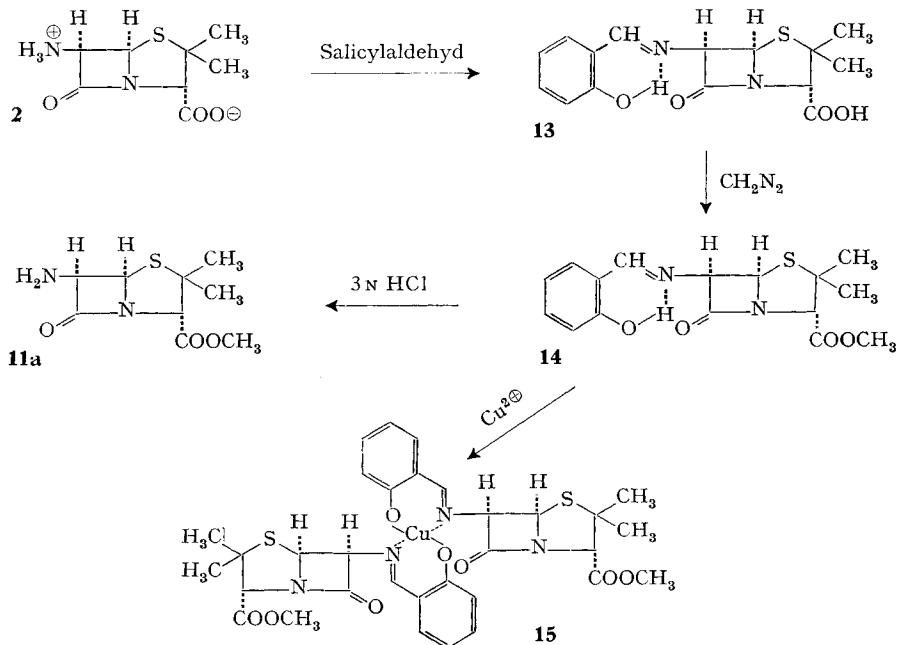
Eine NMR.-Analyse von **15** sowie der im folgenden beschriebenen Kupferkomplexe **16**, **17** und **18** (s. Schema 4) kann wegen den paramagnetischen Eigenschaften der Verbindungen nicht ausgeführt werden.

Obwohl der symmetrische und stabile Kupferkomplex **15** ein für die Alkylierung ideal geschütztes und aktiviertes Derivat der 6-Aminopenicillansäure darstellt, verliefen die Alkylierungsversuche mit Benzylchlorid/Natriumhydrid unbefriedigend. Bei der Verwendung von Benzol als Lösungsmittel fand selbst nach langem Kochen unter Rückfluss keine Umsetzung statt. In Dimethylsulfoxid und Hexamethylphosphorsäuretriimid (Hexametapol) erfolgte auch bei tiefer Temperatur β -Lactamspaltung. Am geeignetsten schien noch Dimethylformamid: es konnte ein C-6-mono- oder ev. dibenzylierter Kupferkomplex **16** isoliert werden, dessen Reinigung jedoch Schwierigkeiten bereitete. Das IR.-Spektrum (KBr) zeigt die β -Lactambande bei 1780 cm^{-1} und ist demjenigen von **15** sehr ähnlich, bis auf die neue Bande des monosubstituierten Benzols der eingeführten Benzylgruppe(n) bei 702 cm^{-1} .

Als Variante der Alkylierung untersuchten wir im folgenden an **15** und später an der 6-Aminopenicillansäure selbst die Hydroxyalkylierung oder Aldoladdition. Diese allgemein unter milden Bedingungen ausführbare Reaktion schien der Empfindlichkeit unserer β -Lactamsysteme angepasst und brachte interessante Resultate.

Mit überschüssigem Benzaldehyd/Natriumhydrid in Benzol bzw. Benzaldehyd/Natriumhydrogencarbonat in Alkohol-Wasser konnte **15** in den C-6-monosubstituier-

Schema 3



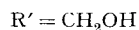
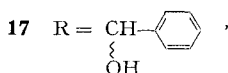
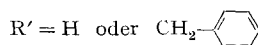
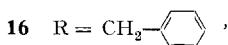
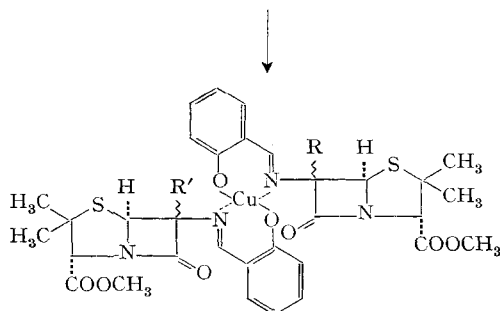
ten, amorphen Kupferkomplex **17** ($\text{C}_{39}\text{H}_{40}\text{CuN}_4\text{O}_9\text{S}_2$) in 61- bzw. 10-proz. Ausbeute übergeführt werden.

Eine Substitution am sterisch gehinderten und nicht aktivierten C-3 ist auszuschliessen. Aus dem DREIDING-Modell von **17** ersieht man, dass aus sterischen Gründen die Einführung einer zweiten α -Hydroxybenzylgruppe am C-6 der zweiten 6-Aminopenicillansäure-Einheit erschwert ist. Die Konfiguration der eingeführten α -Hydroxybenzylgruppe ist nicht bekannt. Wegen Induktion der 6 asymmetrischen Zentren, die im Komplex **15** anwesend sind, könnte es sich hier um eine stereospezifische Reaktion handeln. Ob am zweiten, unsubstituiert gebliebenen C-6 eine Änderung der Konfiguration stattgefunden hat, ist ebenfalls nicht bekannt.

Das IR.-Spektrum (KBr) von **17** ist demjenigen von **15** und **16** sehr ähnlich: die Bande des β -Lactams wird bei 1776 cm^{-1} und die des monosubstituierten Benzols der α -Hydroxybenzylgruppe bei 706 cm^{-1} angezeigt. Auch das IR.-Spektrum in CH_2Cl_2 ist demjenigen von **15** in CH_2Cl_2 sehr ähnlich, bis auf die neue OH-Bande bei 3600 cm^{-1} . Bei der Aufnahme des Massenspektrums erfolgt thermische Zersetzung der Verbindung. Infolge Retroaldoladdition wird dabei Benzaldehyd abgespalten, dessen Pike bei m/e 105 und 106 auftreten.

Die Umsetzung von **15** mit überschüssigem Formaldehyd/Natriumbicarbonat in Tetrahydrofuran-Wasser führte zum C-6-disubstituierten, amorphen Kupferkomplex **18** ($\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{CuN}_4\text{O}_{10}\text{S}_2$) in 22-proz. Ausbeute. Diese Disubstitution ist auf den geringeren Raumanspruch der Hydroxymethyl- gegenüber der α -Hydroxybenzylgruppe zurückzuführen. Die Konfiguration von **18** an C-6 ist nicht bekannt; auch hier dürfte der dirigierende Einfluss der asymmetrischen Zentren eine stereospezifische Substitution begünstigen.

Schema 4

15

Das IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) ist demjenigen von **15** sehr ähnlich, bis auf die neue OH-Bande bei 3610 cm^{-1} ; die β -Lactambande wird bei 1775 cm^{-1} angezeigt.

C. Nachdem alle Versuche, die sehr stabilen Komplexe **17** und **18** zu den entsprechenden C-6-substituierten 6-Aminopenicillansäuren abzubauen, ohne Erfolg geblieben waren, gelang die Aldoladdition mit Benzaldehyd bzw. Formaldehyd – hingegen nicht mit anderen Aldehyden – *direkt* an der 6-Aminopenicillansäure (**2**) (Schemata 5 und 6); dabei erübrigte sich der umständliche Schutz der Carboxylgruppe.

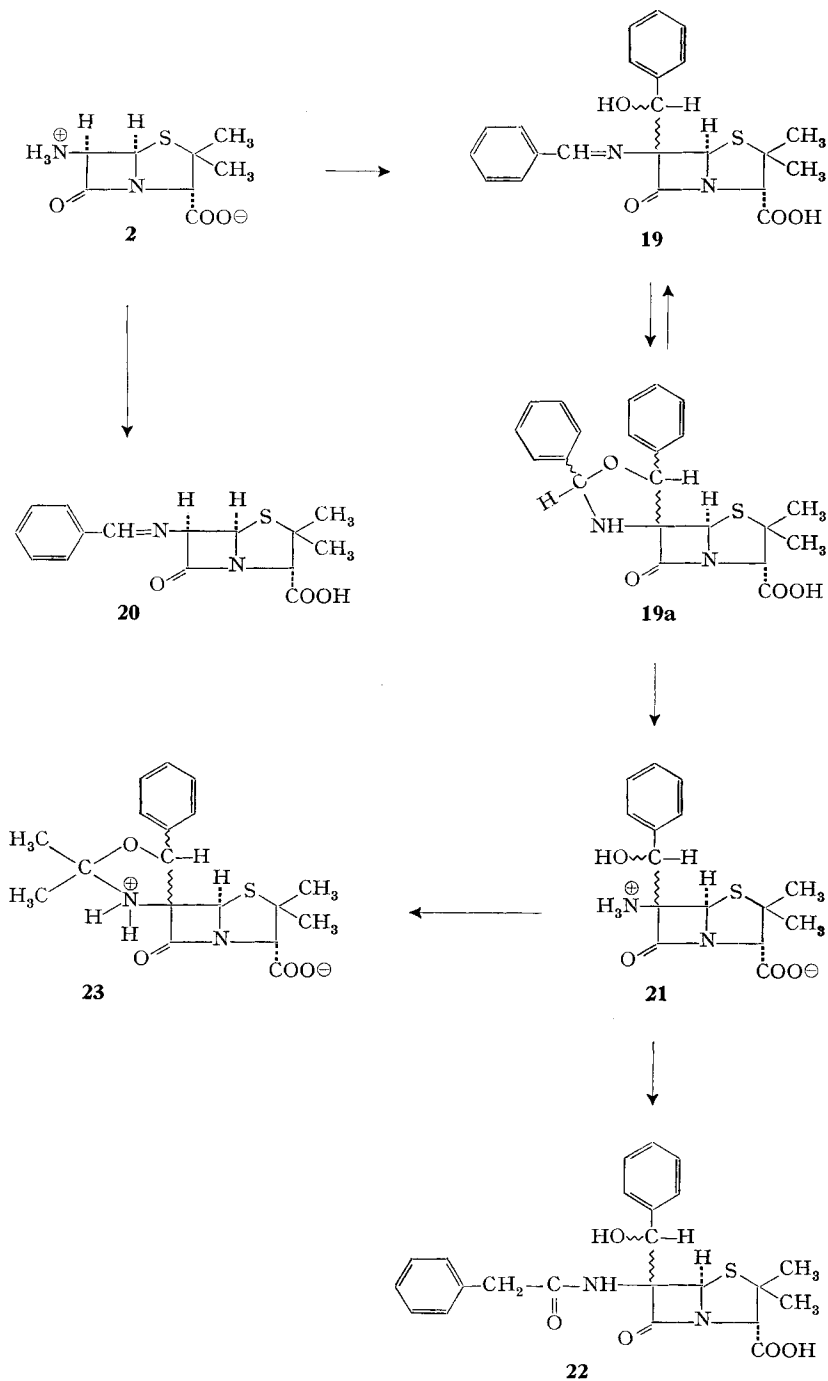
Mit einem 10-mol. Überschuss von Benzaldehyd in Isopropylalkohol-Wasser bei pH 7,5 liess sich **2** in einem Schritt in die C-6-substituierte SCHIFF-Base **19** in 76-proz. Ausbeute überführen. Es ist anzunehmen, dass sich bei dieser Reaktion zuerst die unsubstituierte SCHIFF-Base **20** bildet, welche dann infolge Aktivierung am C-6 die Aldoladdition eingeht. **20** konnte jedoch nicht aus dem Reaktionsgemisch in reiner Form isoliert werden, hingegen liess sich die Verbindung in 90-proz. Ausbeute beim Umsatz von **2** mit einem 6-mol. Überschuss von Benzaldehyd in Äthanol rein herstellen.

Aus den IR.- und NMR.-Spektren geht hervor, dass **19** mit der Oxazolidinform **19a** im Gleichgewicht steht. (Für die Gleichgewichtsverhältnisse von β -Hydroxy-SCHIFF-Basen und Oxazolidinen vgl. [10].) Während das IR.-Spektrum (KBr) mit einer scharfen NH-Bande bei 3290 cm^{-1} und einer sehr schwachen C=N-Bande bei 1640 cm^{-1} für die Oxazolidinstruktur **19a** spricht, ist das NMR.-Spektrum (DMSO-d_6) mit dem Singlett des Azomethinprotons bei 8,32 ppm mit der Iminstruktur **19** im Einklang.

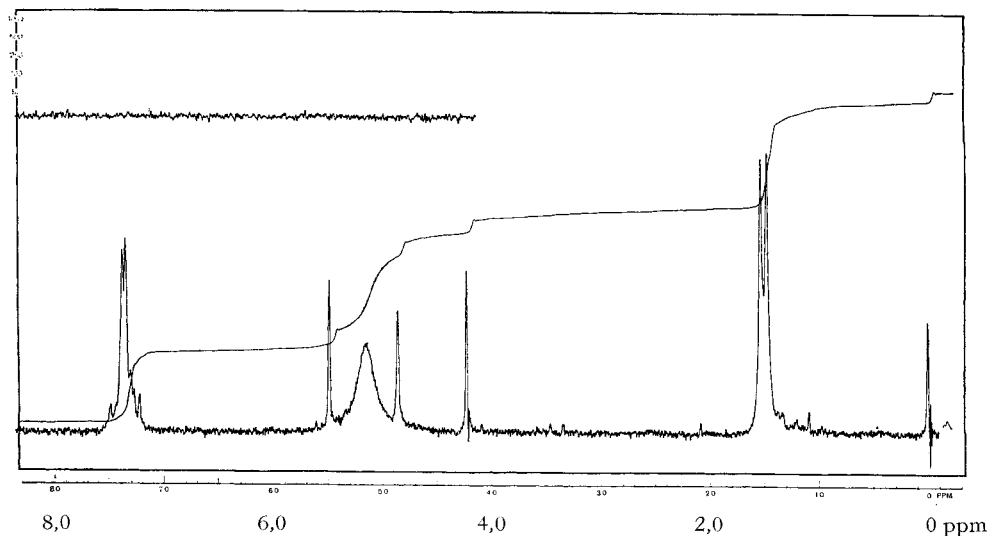
Die zu **19** führende Aldoladdition könnte wegen asymmetrischer Induktion stereospezifisch sein; die Konfiguration am C-6 lässt sich jedoch nicht aus dem NMR.-Spektrum ableiten.

Die Abspaltung der Benzalgruppe von **19** erfolgte durch Hydrolyse mit 2,2 Äquiv. 3N Schwefelsäure in Aceton bei 0° und lieferte in 50-proz. Ausbeute die gut kristalli-

Schema 5



sierte 6-Amino-6-(α -hydroxybenzyl)-penicillansäure (**21**) vom Smp. 130–131° (Zers.) und $[\alpha]_D^{20} = +158^\circ$ ($c = 0,50$ in CH_3OH). Die Aminosäure **21** besitzt eine stark saure Carboxylgruppe [$pK_{\text{MCS}}^*(\text{COOH}) = 3,18$] und eine schwach basische Aminogruppe [$pK_{\text{MCS}}^*(\text{NH}_3^+) = 5,07$]. Im Gegensatz zur 6-Aminopenicillansäure (**2**) ist **21** in Aceton und Alkohol löslich. Das IR.-Spektrum (KBr) weist folgende wichtige Banden auf: 1779 (β -Lactam), 1592 (COO^-), 762 und 703 cm^{-1} (monosub. Benzol). Laut NMR.-Spektrum ($\text{DMSO}-d_6$) (s. Fig.) ist **21** sterisch einheitlich. Die Protonen der geminalen Methylgruppen an C-2 erscheinen als Singlette bei 1,47 und 1,53, H-(C-3) als Singlett bei 4,24, das Methinproton der α -Hydroxybenzylgruppe als Singlett bei 4,85, die NH_3^+ - und OH-Protonen als breites Signal bei 4,9–5,4 (austauschbar mit D_2O), H-(C-5) als Singlett bei 5,48 und die 5 aromatischen Protonen als Multiplett bei 7,2–7,5 ppm.



NMR.-Spektrum von 6-Amino-6-(α -hydroxybenzyl)-penicillansäure (**21**) in $\text{DMSO}-d_6$

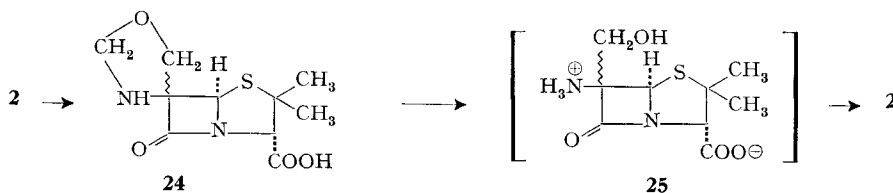
Die N-Acylierung von **21** mit Phenylessigsäurechlorid/Natriumcarbonat in Aceton-Wasser lieferte das Penicillin-G-Analogon **22** in 51-proz. Ausbeute. Im IR.-Spektrum (KBr) treten die β -Lactam- und die Amid-I-Bande bei 1775 bzw. 1646 cm^{-1} auf.

Als weiteres Derivat von **21** konnte mit Aceton/Triäthylamin in Chloroform das Acetonid **23** in 64-proz. Ausbeute hergestellt werden. Die amphotere Oxazolidinstruktur von **23** ergibt sich aus dem IR.-Spektrum (KBr), welches keine C=N- und COOH -Banden, sondern eine COO^- -Bande bei 1572 cm^{-1} aufweist.

Die Aldoladdition mit Formaldehyd konnte nur in Anwesenheit von Salicylaldehyd erzielt werden: **2** lieferte bei der Umsetzung mit einem 20-mol. Überschuss an Formaldehyd und einem 10-mol. Überschuss an Salicylaldehyd in Isopropylalkohol-Wasser bei pH 7,5 eine amorphe Säure ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$) vom Smp. 160–170° (Zers.) in 24-proz. Ausbeute. Auf Grund der spektralen Daten ist ihr die Oxazolidinstruktur **24** zuzuschreiben. Im IR.-Spektrum (KBr) erscheint die β -Lactambande bei 1778 cm^{-1} . Im NMR.-Spektrum ($\text{DMSO}-d_6$) geben die Protonen der Gruppen $\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}$ und

N-CH₂-O etwas breite Signale bei 3,80 bzw. 4,60 ppm, das Proton an C-5 gibt ebenfalls ein etwas breites Signal bei 5,41 ppm. Bei der Behandlung von **24** mit – auch überschüssigem – Dimedon in Alkohol-Wasser wird genau 1 Mol-Äqu. Formaldehyd abgespalten, wobei die interessante 6-Amino-6-hydroxymethyl-penicillansäure (**25**) entstehen muss. Aus dem Reaktionsgemisch konnte jedoch nur 6-Aminopenicillan-

Schema 6



säure (**2**) isoliert werden, was durch Retroaldoladdition der instabilen Aminosäure **25** zu erklären ist.

D. Die beschriebenen C-6-substituierten Derivate der 6-Aminopenicillansäure wurden auf antibakterielle Wirkung *in vitro* und *in vivo* geprüft. Verglichen mit Penicillin G zeigten sie eine geringe Aktivität. Die überraschend schwache Wirkung des Penicillin G-Analogen **22** ist entweder auf eine «falsche» Konfiguration der α -Hydroxybenzylgruppe oder auf deren grossen Raumanspruch zurückzuführen. Es ist nämlich bekannt, dass C-6-epimere Penicilline eine nur schwache antibiotische Aktivität besitzen [7].

Experimenteller Teil

Allgemeines. – Die Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind nicht korrigiert.

Die Spektren wurden in unserer physikalischen Abteilung (Leitung M. KOFLER) aufgenommen: die IR.-Spektren von L. H. CHOPARD-DIT-JEAN mit einem BECKMANN-IR.-9-Gitterspektrophotometer (Banden in cm⁻¹ angegeben), die UV.-Spektren mit einem CARY-Spektrophotometer, Modell 14 (λ_{max} in nm angegeben, ϵ -Wert in Klammern), die Massen-(MS)-Spektren von W. VETTER und P. MEYER mit einem AEI-MS-9-Massenspektrometer, und die NMR.-Spektren von G. ENGLERT und W. ARNOLD mit einem VARIAN-A-60-Spektrometer (60 MHz) (δ in ppm bezogen auf Tetramethylsilan, *s* = Singlett, *d* = Dublett, *t* = Triplet, *q* = Quartett, *m* = Multiplett, *b* = breit, unstrukturiert, *J* = Kopplungskonstante in Hz, Protonenzahl in Klammern angegeben).

Für die Dünnschichtchromatogramme (DC.) diente Kieselgel G (MERCK) als Träger. Die Flecke wurden, wenn nicht anders vermerkt, mit Joddampf entwickelt.

Die Bestimmung der p*K*-Werte von **21** durch potentiometrische Titration verdanken wir M. RANDIN.

Die Mikroanalysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium von A. DIRSCHERL ausgeführt.

Beschreibung der Versuche

N-(1-Äthoxy-äthyliden)-glycin-äthylester (**4**) wurde nach [3] hergestellt. Aus 15,06 g (0,122 Mol) Acetiminöäthyläther-hydrochlorid (Smp. 111–112°, Zers.) und 17,1 g (0,122 Mol) Glycin-äthylester-hydrochlorid wurden 12,0 g (57%) gelbes Öl erhalten. HV.-Destillation lieferte 7,0 g farbloses Öl. Sdp. 35–36°/0,06 Torr. IR. (flüssig): 1748 (Ester), 1679 (C=N). NMR. (CDCl₃): 1,25 (CH₃-CH₂-) (*t*) (3), 1,28 (CH₃-CH₂-) (*t*) (3), 1,87 (CH₃-C=) (*s*) (3), 4,01 (-CH₂-N=) (*s*) (2), 4,08 (-CH₂-CH₃) (*q*) (2), 4,16 (-CH₂-CH₃) (*q*) (2).

C₈H₁₅NO₃ (173,21) Ber. C 55,47 H 8,73 N 8,09% Gef. C 55,47 H 8,81 N 8,11%

DL-Phenylalanin (**8**): 5,0 g (0,0288 Mol) Ester **4** in 10 ml abs. Dimethylformamid wurden bei 0° langsam in eine gerührte Suspension von 0,76 g (0,0316 Mol) Natriumhydrid in 50 ml abs. Dime-

thylformamid getropft. Das sich orangerot verfärbende und schäumende Gemisch wurde 2 Std. bei 0° weitergerührt, anschliessend mit 4,75 g (0,0376 Mol) Benzylchlorid versetzt und über Nacht bei 25° gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch auf Eis gegossen, 4mal mit Äther extrahiert, die Ätherextrakte mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. V. eingedampft. Es verblieben 10,7 g roher Ester **6** als rötliches Öl.

Davon wurden 10,0 g mit 30 ml 6*N* Salzsäure 1 Std. unter Rückfluss gekocht, mit Äther noch vorhandenes, nicht umgesetztes Benzylchlorid extrahiert und die braune salzsaure Lösung i. V. eingedampft. Der Rückstand wurde in 20 ml Wasser aufgenommen, mit Norit entfärbt und mit Anilin auf pH 5,5 gestellt. Beim Abkühlen kristallisierte **8** farblos aus: 0,75 g (16%). Smp. 262° (Zers.). Rf (= 0,53 in *n*-Propanol-konz. NH₃-(7:3); violett mit Ninhydrin) und IR. (KBr) identisch mit denjenigen von authentischem DL-Phenylalanin.

DL-Alanin (**7**) wurde analog wie **8** hergestellt. Die Umsetzung von 5,0 g (0,0288 Mol) Ester **4** mit 0,76 g (0,0316 Mol) Natriumhydrid und 5,3 g (0,0374 Mol) Methyljodid in 60 ml abs. Dimethylformamid lieferte 8,1 g rohen Ester **5** als rötliches Öl. Nach der Hydrolyse mit 6*N* Salzsäure zeigten die DC. in *n*-Butanol-Eisessig-Wasser-(4:1:1) und in *n*-Propanol-konz. NH₃-(7:3) einen violetten Fleck mit Rf 0,32 bzw. 0,51 (Ninhydrin), genau wie bei authentischem DL-Alanin. Das so entstandene DL-Alanin wurde nicht isoliert.

6-Tritylamino-penicillansäure (**9**) wurde nach [4] hergestellt. Aus 32,4 g (0,15 Mol) **2** und 54,4 g (0,195 Mol) Tritylchlorid wurden 25,0 g (36%) ätherlösliche, amorphe Säure **9** erhalten. Rf = 0,76 in Aceton-Methanol-(1:1). IR. (KBr): 1780 (β-Lactam), 1750 (COOH). Zur analytischen Charakterisierung wurde das Diäthylaminsalz hergestellt: Eine Lösung von 0,50 g (0,0011 Mol) **9** in 25 ml Äther wurde mit 0,13 g (0,00175 Mol) Diäthylamin versetzt. Nach einigen Minuten bildeten sich farblose Kristalle: 0,32 g (55%). Smp. 172–174° (Zers.). IR. (KBr): 1779 (β-Lactam), 1599 (COO[⊖]).

C₃₁H₃₇N₃O₃S (531,73) Ber. C 70,03 H 7,02 N 7,90% Gef. C 70,36 N 7,19 N 7,89%

6-Tritylamino-penicillansäure-methylester (**10**): 21,3 g (0,0465 Mol) Säure **9** wurden in 400 ml Äther-Methylechlorid (1:1) gelöst und mit überschüssigem Diazomethan [aus 30,0 g (0,14 Mol) *N*-Nitroso-*p*-toluolsulfomethylamid] in ca. 400 ml Äther versetzt. Nach beendeter Gasentwicklung wurde die gelbe Lösung i. V. eingedampft. Kristallisation des zurückbleibenden Schaumes aus Äther lieferte 14,0 g (64%) schwachgelben Ester **10** vom Smp. 155°. Durch Umkristallisieren aus Äther-tiefs. Petroläther wurde **10** farblos, Smp. 165–166°. IR. (KBr): 1784 (β-Lactam), 1752 (Ester).

C₂₈H₂₈N₂O₃S (472,61) Ber. C 71,17 H 5,97 N 5,93% Gef. C 71,21 H 5,98 N 5,92%

6-Aminopenicillansäure-methylester-*p*-toluolsulfonat (**11**): Eine Suspension von 3,64 g (0,077 Mol) Ester **10** in 10 ml Aceton wurde mit 1,425 g (0,075 Mol) *p*-Toluolsulfonsäure-monohydrat versetzt, wobei eine schwachgelbe Lösung entstand. Nach 1/2 Std. Rühren bei 25° wurde die nun rötliche Lösung mit 100 ml Äther bis zur beginnenden Trübung verdünnt. Beim Abkühlen kristallisierte **11** farblos aus: 1,76 g (57%), Smp. 133–136° (Zers.). Nach Umkristallisation aus Aceton-Äther Smp. 138° (Zers.). Rf = 0,67 in Benzol-Methanol-(3:1). IR. (KBr): 1795 (β-Lactam), 1738 (Ester). NMR. (CDCl₃): 1,37 (gem. -CH₃) (s) (3), 1,46 (gem. -CH₃) (s) (3), 2,34 (CH₃-C≡) (s) (3), 3,70 (-OCH₃) (s) (3), 4,42 (H-(C-3)) (s) (1), 4,97 (H-(C-6)) (d, *J* = 3,5 Hz) (1), 5,41 (H-(C-5)) (d, *J* = 3,5 Hz) (1), 6,9–8,2 (arom. H und -NH₃[⊕]) (*m, b*) (7).

C₁₆H₂₂N₂O₆S₂ Ber. C 47,74 H 5,51 N 6,96 S 15,93%
(402,50) Gef. „ 47,58 „ 5,53 „ 7,08 „ 15,73%

6-Salicylidenamino-penicillansäure (**13**): 20,0 g (0,0925 Mol) **2** wurden in 100 ml Wasser suspendiert und bei 0° durch Neutralisation mit 30,8 ml 3*N* Natronlauge in Lösung gebracht. Die entstandene Lösung mit pH 7,5 wurde mit 113,0 g (0,925 Mol) Salicylaldehyd versetzt und 1/2 Std. bei 25° geschüttelt. Darauf wurde das gelb gewordene Reaktionsgemisch auf 0° gekühlt, mit 3*N* Schwefelsäure bis pH 2–3 angesäuert und sofort 6mal mit Essigester extrahiert. Die vereinigten gelben Essigesterextrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet und bei 20° i. V. eingedampft. Dem öligen Rückstand (bestehend aus **13** und Salicylaldehyd) wurden 400 ml tiefs. Petroläther hinzugegeben, wobei sich ein orangerotes Öl abschied. Durch Abkühlen und kurzes, kräftiges Schütteln kristallisierte das ausgeschiedene Öl. Nach der Zugabe von weiteren 500 ml tiefs. Petroläther und kurzem Schütteln wurde das gelbe Kristallinat abgenutscht, reichlich mit tiefs. Petrol-

äther gewaschen und i. V. bei 25° getrocknet. Ausbeute 34,5 g. Umkristallisation aus Methylenchlorid-tiefs. Petroläther lieferte 26,2 g (78%) hellgelbe SCHIFF-Base **13** vom Smp. 180° (Zers.). Die FeCl₃-Reaktion in Methanol-Wasser ist blaviolett. IR. (KBr): 1778 (β-Lactam), 1757 (COOH), 1623 (C=N), 764 (o-disubst. Benzol). NMR. (CDCl₃): 1,60 (gem. -CH₃) (s) (3), 1,68 (gem. -CH₃) (s) (3), 4,48 (H-(C-3)) (s) (1), 5,21 (H-(C-6)) (d, J = 4,0 Hz) (1), 5,25 (CH₂Cl₂) (s) (1), 5,64 (H-(C-5)) (d, J = 4,0 Hz) (1), 6,7-7,7 (arom. H) (m) (4), 8,55 (-CH=N-) (s) (1), 9,3 (-COOH und chel. -OH) (b) (2).

$C_{15}H_{16}N_2O_4S, \frac{1}{2}CH_2Cl_2$	Ber. C 51,31	H 4,72	N 7,72	S 8,84	Cl 9,77%
(362,83)	Gef. „ 51,47	„ 4,85	„ 7,82	„ 8,89	„ 9,40%

6-Salicylidenamino-penicillansäure-methylester (**14**): 15,0 g (0,0413 Mol) SCHIFF-Base **13** wurden in 300 ml Äther gelöst und mit überschüssigem Diazomethan [aus 30,0 g (0,14 Mol) N-Nitroso-p-toluolsulfomethylamid] in ca. 400 ml Äther versetzt. Nach beendeter Gasentwicklung wurde die gelbe Lösung i. V. bei 20° eingedampft. Es verblieben 13,4 g (97%) eines zähen gelben Öles, welches beim Trocknen i. H.V. bei 20° einen hellgelben Schaum bildete. Der so erhaltene Ester **14** konnte bisher nicht kristallisiert werden. Rf = 0,24 in Benzol-Methanol-(49:1). Die FeCl₃-Reaktion in Methanol-Wasser ist wie bei **13** blaviolett. IR. (flüssig): 1784 (β-Lactam), 1753 (Ester), 1626 (C=N), 759 (o-disubst. Benzol). UV. (Äthanol): λ_{max} = 213 (21600), 265 (13400), 324 (4960). MS.: m/e 334 (M⁺), 178, 174. NMR. (CDCl₃): 1,50 (gem. -CH₃) (s) (3), 1,65 (gem. -CH₃) (s) (3), 3,76 (-OCH₃) (s) (3), 4,46 (H-(C-3)) (s) (1), 5,17 (H-(C-6)) (d/d, J = 4,0 Hz, J' = 1,5 Hz) (1), 5,61 (H-(C-5)) (d, J = 4,0 Hz) (1), 6,7-7,5 (arom. H) (m) (4), 8,55 (-CH=N-) (d, J = 1,5 Hz) (1), 12,50 (chel. -OH) (s) (1).

$C_{16}H_{18}N_2O_4S$	Ber. C 57,47	H 5,42	N 8,37	S 9,59%
(334,40)	Gef. „ 57,48	„ 5,47	„ 8,30	„ 9,62%

6-Aminopenicillansäure-methylester (**11a**): 0,90 g (0,0027 Mol) Ester **14** wurden mit 20 ml 3N Salzsäure 10 Min. bei 5° kräftig geschüttelt. Dabei entstand eine etwas trübe, stark nach Salicylaldehyd riechende Lösung, die zur Entfernung des Salicylaldehyds 2mal mit Äther extrahiert wurde. Darauf wurde die klare wässrige Phase bei 0° mit Natriumhydrogencarbonat schwach alkalisch gestellt und 2mal mit Äther-Methylenchlorid-(1:1) extrahiert. Die organischen Phasen wurden zusammen über Natriumsulfat getrocknet und i. V. bei 20° eingedampft. Es verblieb ein schwach gelbes Öl: 0,43 g (69%). Rf = 0,56 in Benzol-Methanol-(3:1). IR. (flüssig): 1785 (β-Lactam), 1746 (Ester). NMR. (CDCl₃): 1,50 (gem. -CH₃) (s) (3), 1,65 (gem. -CH₃) (s) (3), 3,76 (-OCH₃) (s) (3), 4,40 (H-(C-3)) (s) (1), 4,56 (H-(C-6)) (d, J = 4,5 Hz) (1), 5,50 (H-(C-5)) (d, J = 4,5 Hz) (1).

6-Salicylidenamino-penicillansäure-methylester-kupfer-Komplex (**15**): 16,9 g (0,0505 Mol) Ester **14** wurden in 150 ml Chloroform gelöst, auf 0° gekühlt und mit einer eiskalten Lösung von 10,1 g (0,0505 Mol) Kupfer(II)-acetat-monohydrat in 100 ml Wasser $\frac{1}{2}$ Min. kräftig geschüttelt. Darauf wurde zur Neutralisation der frei gewordenen Essigsäure eine Lösung von 4,25 g (0,0505 Mol) Natriumhydrogencarbonat in 50 ml Wasser zugegeben und weitere 5 Min. bei 0° geschüttelt. Die dunkelgrüne organische Phase wurde von der hellblauen, praktisch neutralen wässrigen Phase abgetrennt. Letztere wurde noch 3mal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroform-extrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet und i. V. bei 20° eingedampft. Kristallisation des Rückstandes aus Benzol-tiefs. Petroläther lieferte 17,5 g (95%) grünen Kupferkomplex **15** vom Smp. 131-134° (Zers.). Rf = 0,60 in Benzol-Äther-(4:1). IR. (KBr): 1776 (β-Lactam), 1758 (Ester), 1615 (C=N), 762 (o-disubst. Benzol). IR. (CH₂Cl₂): 1775 (β-Lactam), 1752 (Ester), 1611 (C=N). UV. (Dioxan): λ_{max} = 246 (33900), 275 (21500), 373 (10700).

$C_{32}H_{34}CuN_4O_8S_2$ (730,33)	Ber. C 52,62	H 4,70	N 7,68%	Gef. C 52,42	H 4,84	N 7,68%
------------------------------------	--------------	--------	---------	--------------	--------	---------

Kupferkomplex **16**: 3,0 g (0,0041 Mol) Kupferkomplex **15** wurden in 10 ml abs. Dimethylformamid gelöst und mit einer Lösung von 1,27 g (0,01 Mol) Benzylchlorid in 10 ml abs. Dimethylformamid versetzt. In das gerührte und auf 0° gekühlte Gemisch wurde eine Suspension von 0,21 g (0,0087 Mol) Natriumhydrid in 10 ml abs. Dimethylformamid getropft, wobei sich das anfangs dunkelgrüne Gemisch unter Schaumentwicklung rotbraun verfärbte. Es wurde darauf 1 Std. bei 0° und über Nacht bei 25° weitergerührt. Dann wurde mit überschüssigem Ammoniumchlorid versetzt, auf Eis gegossen und 5mal mit Benzol extrahiert. Die vereinigten Benzol-extrakte wurden 3mal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. V. bei 20° eingedampft. Der

Rückstand wurde 2mal aus Benzol-tiefs. Petroläther umgefällt: 0,90 g (27%) grünes amorphes Pulver. Smp. $>150^{\circ}$ (Zers.). IR. (KBr): 1780 (β -Lactam), 1731 (Ester), 1614 ($C=N$), 758 (*o*-disubst. Benzol), 702 (monosubst. Benzol).

Kupferkomplex 17. – a) 0,50 g (0,000685 Mol) Kupferkomplex **15** wurden in 10 ml abs. Benzol gelöst und mit 1,0 g (0,0094 Mol) Benzaldehyd versetzt. Das gerührte und auf 0° gekühlte Gemisch wurde mit 0,20 g einer 50-proz. Natriumhydrid-Dispersion in Öl (0,00416 Mol Natriumhydrid) versetzt und 1 Std. bei 0° und über Nacht bei 25° gerührt. Darauf wurde das dunkelgrün gebliebene Gemisch vom Ungelösten filtriert und mit tiefs. Petroläther gefällt: 0,35 g (61%) grünes amorphes Pulver. Zur Analyse wurde aus Benzol-tiefs. Petroläther umgefällt. Smp. $>140^{\circ}$ (Zers.). Rf = 0,42 in Benzol-Äther-(4:1). IR. (KBr): 1776 (β -Lactam), 1756 (Ester), 1611 ($C=N$), 761 (*o*-disubst. Benzol), 706 (monosubst. Benzol). IR. (CH_2Cl_2): 3600 (OH), 1774 (β -Lactam) 1750 (Ester), 1609 ($C=N$). UV. (Dioxan): $\lambda_{max} = 245$ (24400), 272 (21000), 375 (9470). MS. (Pyrolyse): m/e 105, 106 (Benzaldehyd).

$C_{39}H_{40}CuN_4O_9S_2$	Ber. C 56,00	H 4,82	N 6,70	S 7,66%
(836,45)	Gef. „ 55,87	„ 5,39	„ 6,51	„ 7,28%

b) Eine Suspension von 0,50 g (0,000685 Mol) Kupferkomplex **15** in 10 ml Wasser wurde nach[•] einander mit 15 ml Äthanol, 15 ml Benzaldehyd (0,218 Mol) und 0,23 g (0,00278 Mol) Natriumhydrogencarbonat versetzt. Das homogene Gemisch wurde über Nacht bei 25° gerührt. Dann wurde 3mal mit Benzol extrahiert, die vereinigten Benzolphasen mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. V. bei 20° eingengt. Füllen mit tiefs. Petroläther lieferte 0,06 g (10%) grünes amorphes Pulver, identisch mit dem unter a) erhaltenen Kupferkomplex **17**.

Kupferkomplex 18: Eine Lösung von 0,50 g (0,000685 Mol) Kupferkomplex **15** in 50 ml Tetrahydrofuran wurde bei 0° mit 10,0 g (0,117 Mol) einer 35-proz. wässrigen Formaldehydlösung und einer Lösung von 0,234 g (0,00278 Mol) Natriumhydrogencarbonat in 10 ml Wasser versetzt. Darauf wurde 1 Std. bei 0° und über Nacht bei 25° gerührt. Die Aufarbeitung erfolgte wie für Kupferkomplex **17**, b). Es wurden 0,12 g (22%) grünes amorphes Pulver erhalten. Zur Analyse wurde aus Benzol-tiefs. Petroläther umgefällt. Smp. $>152^{\circ}$ (Zers.). Rf = 0,10 in Benzol-Äther (4:1). IR. (KBr): 1775 (β -Lactam), 1755 (Ester), 1610 ($C=N$), 763 (*o*-disubst. Benzol). IR. (CH_2Cl_2): 3610 (OH), 1775 (β -Lactam), 1754 (Ester), 1610 ($C=N$). UV. (Dioxan): $\lambda_{max} = 245$ (35500), 272 (21400), 374 (9800).

$C_{34}H_{38}CuN_4O_{10}S_2$ (790,36)	Ber. C 51,67	H 4,85	N 7,09%	Gef. C 51,11	H 5,24	N 6,81%
---------------------------------------	--------------	--------	---------	--------------	--------	---------

6-Benzylidenamino-6-(α -hydroxybenzyl)-penicillansäure (19): 20,0 g (0,0925 Mol) **2** wurden in 80 ml Wasser suspendiert und bei 0° durch Versetzen mit 30,8 ml 3N Natronlauge in Lösung gebracht (pH 7,5). Darauf wurden 100,0 g (0,944 Mol) Benzaldehyd und 100 ml Isopropylalkohol hinzugegeben. Der pH-Wert sank dabei auf ca. 7 und wurde mit einigen Tropfen 3N Natronlauge wieder auf 7,5 gestellt. Das so erhaltene homogene Gemisch wurde 68 Std. bei 25° stehengelassen. Dann wurde auf 0° gekühlt, mit 25 ml 3N Schwefelsäure bis pH 2–3 angesäuert und 3mal mit Essigester extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. V. bei 20° eingengt. Beim Zugeben von tiefs. Petroläther fiel eine hellgelbe amorphe Verbindung aus, die abgenutscht, reichlich mit tiefs. Petroläther gewaschen und i. V. bei 25° getrocknet wurde: 29,0 g (76%). Smp. $163\text{--}166^{\circ}$ (Zers.). Nach dem Umlösen aus Aceton farblose Kristalle vom Smp. $176\text{--}177^{\circ}$ (Zers.). Rf = 0,62 in Aceton-Methanol (1:1). IR. (KBr): 3290 (NH), 1772 (β -Lactam), 1723 (COOH), 1640 ($C=N$, sehr schwach), 760 und 697 (monosubst. Benzol). NMR. (DMSO- d_6): 1,43 (gem. $-CH_3$) (s) (6), 4,17 ($H-(C-3)$) (s) (1), 5,01 ($H-C-OH$) (s) (1), 5,68 ($H-(C-5)$) (s) (1), 7,1–7,8 (arom. H) (m) (10), 8,32 ($-CH=N-$) (s) (1). MS. (Pyrolyse): m/e 410 (M^+), 260 ($M - 106 - 44 =$ Verlust von Benzaldehyd und CO_2), 195, 159, 117, 106 (Benzaldehyd), 91, 77, 51, 44 (CO_2).

$C_{22}H_{22}N_2O_4S$	Ber. MG. 410,50	Gef. MG. 410 (MS.)
-----------------------	-----------------	--------------------

6-Benzylidenamino-penicillansäure (20): Eine Suspension von 12,0 g (0,0555 Mol) **2** in 250 ml Äthanol wurde mit 35,4 g (0,334 Mol) Benzaldehyd versetzt und über Nacht bei 25° gerührt. Die entstandene hellorange Lösung wurde von sehr wenig Ungelöstem abfiltriert und i. V. bei 20° eingengt. Beim Versetzen mit tiefs. Petroläther, Abkühlen und zeitweiligem Schütteln schied sich ein orange gefärbtes Öl ab, welches nach einigen Min. fest wurde. Die schwachgelbe kristalline

Masse wurde abgenutscht, reichlich mit tiefs. Petroläther gewaschen und i. V. bei 25° getrocknet: 15,1 g (90%), Smp. > 150° (Zers.). Die so erhaltene SCHIFF'sche Base **20** ist in Lösung ziemlich instabil und lässt sich deswegen schlecht umkristallisieren. IR. (KBr): 1775 (β -Lactam), 1754 (COOH), 1633 C=N), 766 und 697 (monosubst. Benzol). NMR. (DMSO- d_6): 1,51 (gem. $-\text{CH}_3$) (s) (3), 1,62 (gem. $-\text{CH}_3$) (s) (3), 4,26 (H-(C-3)) (s) (1), 5,54 (H-(C-6)) (d/d , $J = 4,0$ Hz, $J' = 1,5$ Hz) (1), 5,66 (H-(C-5)) (d , $J = 4,0$ Hz) (1), 7,2–7,9 (arom. H) (m) (5), 8,59 ($-\text{CH}=\text{N}-$) (d , $J' = 1,5$ Hz) (1).

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ (304,37) Ber. N 9,20 S 10,53% Gef. N 9,09 S 10,35%

6-Amino-6-(α -hydroxybenzyl)-penicillansäure (21): 5,0 g (0,0122 Mol) SCHIFF'sche Base **19** wurden in 80 ml Aceton gelöst und von wenig Ungelöstem (0,1 g) abfiltriert. Zur auf 0° gekühlten und gerührten Lösung wurden 9,0 ml (0,027 Äquiv.) 3N Schwefelsäure getropft, dann wurde mit 20 ml Wasser versetzt und 1 Std. bei 0° gerührt. Nach dem Verdampfen des Acetons i. V. bei 10° wurde der bei der Hydrolyse entstandene Benzaldehyd 2mal mit Äther extrahiert und die wässrige Phase bei 0° mit 3N Ammoniak auf pH 3–4 gestellt. Beim Einengen i. V. bei 20° kristallisierte die Aminosäure **21**: 1,9 g (50%) praktisch farblose, hygroskopische Kristalle vom Smp. 131–132° (Zers.). Nach dem Umkristallisieren aus Aceton war der Smp. 130–131° (Zers.). $[\alpha]_D^{20} = +158^\circ$ ($c = 0,50$ in Methanol). Rf = 0,50 in Aceton-Methanol-(1:1). $\text{p}K_{\text{MCS}}^*(\text{COOH}) = 3,18$, $\text{p}K_{\text{MCS}}^*(\text{NH}_3^+) = 5,07$. IR. (KBr): 1779 (β -Lactam), 1592 (COO^-), 762 und 703 (monosubst. Benzol). NMR. (DMSO- d_6) (s. Fig.): 1,47 (gem. $-\text{CH}_3$) (s) (3), 1,53 (gem. $-\text{CH}_3$) (s) (3), 4,24 (H-(C-3)) (s) (1), 4,85 (H- $\text{C}-\text{OH}$) (s) (1), 4,9–5,4 ($-\text{NH}_3^+$, $-\text{OH}$ und H_2O) (b) (5) (austauschbar mit D_2O), 5,48 (H-(C-5)) (s) (1), 7,2–7,5 (arom. H) (m) (5).

$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}, \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ Ber. C 54,37 H 5,78 N 8,45 S 9,68 H_2O 2,72%
(331,39) Gef. „ 54,50 „ 5,72 „ 8,55 „ 10,04 „ 3,11 (K.F.) %

6-(α -Hydroxybenzyl)-6-(2-phenylacetamido)-penicillansäure (22): 0,50 g (0,00155 Mol) Aminosäure **21** wurden bei 0° in 15 ml Aceton suspendiert und mit einer Lösung von 0,52 g (0,0062 Mol) Natriumhydrogencarbonat in 20 ml Wasser langsam versetzt, wobei eine klare Lösung entstand. Zu dieser wurde bei 0° und unter Rühren eine Lösung von 0,34 g (0,0022 Mol) Phenylelessigsäurechlorid in 6 ml Aceton innert 5 Min. getropft. Das Gemisch wurde 1 Std. bei 0° weitergerührt, dann i. V. bei 10° eingengt und zur Entfernung von überschüssigem Phenylelessigsäurechlorid 2mal mit Äther extrahiert. Die wässrige Phase wurde dann bei 0° mit 3N Schwefelsäure auf pH 2,5–3 gestellt und 4mal mit Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherextrakte wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. V. bei 20° eingedampft. Das verbleibende gelbe Öl (0,60 g) lieferte nach dem Aufnehmen in Aceton-Methanol-(1:1) und Fällen mit tiefs. Petroläther 0,35 g (51%) hellgelbes amorphes Pulver. Smp. > 100° (Zers.). IR. (KBr): 1775 (β -Lactam), 1760 (COOH), 1646 (Amid I), 1532 (Amid II), 750 und 701 (monosubst. Benzol).

2,2-Dimethyl-5-phenyl-spiro(oxazolidin-4,6'-penicillansäure) (23): 2,50 g (0,00775 Mol) Aminosäure **21** wurden in 30 ml Chloroform suspendiert und bei 0° durch Versetzen mit 1,57 g (0,0155 Mol) Triäthylamin in Lösung gebracht. Die gekühlte und gerührte Lösung wurde mit 10,0 ml (0,136 Mol) Aceton innert 1 Std. tropfenweise versetzt und über Nacht bei 25° gerührt. Dann wurde i. V. bei 20° eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und die resultierende schwachgelbe Lösung mit 3N Salzsäure bis pH 3 angesäuert, wobei eine farblose Verbindung ausfiel. Diese wurde 4mal mit Äther extrahiert (insgesamt 500 ml). Die vereinigten Ätherextrakte wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. V. bei 20° eingengt. Es wurden 1,80 g (64%) praktisch farbloses Kristallisat vom Smp. 148–152° (Zers.) erhalten. Rf = 0,57 in Aceton-Methanol-(1:1). IR. (KBr): 1781 (β -Lactam), 1572 (COO^-), 770 und 700 (monosubst. Benzol). NMR. (DMSO- d_6): 1,32 (gem. $-\text{CH}_3$) (s) (3), 1,43 (gem. $-\text{CH}_3$) (s) (3), 1,50 (gem. $-\text{CH}_3$) (s) (3), 1,55 (gem. $-\text{CH}_3$) (s) (3), 4,06 (H-(C-3)) (s) (1), 5,30 (H- $\text{C}-\text{O}-$) (s) (1), 5,58 (H-(C-5)) (s) (1), 7,1 bis 7,5 (arom. H) (m) (5).

$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ (362,44) Ber. C 59,66 H 6,12 N 7,73% Gef. C 59,49 H 6,48 N 7,61%

Spiro(oxazolidin-4,6'-penicillansäure) (24): 20,0 g (0,0925 Mol) **2** wurden in 100 ml Wasser suspendiert und bei 0° durch Neutralisation mit 27,0 ml 3N Natronlauge in Lösung gebracht (pH 7,5). Darauf wurde mit 113,0 g (0,925 Mol) Salicylaldehyd versetzt, wobei das Reaktionsgemisch gelb wurde, und $\frac{1}{2}$ Std. bei 0° gerührt. Schliesslich wurden noch 158,5 g (1,850 Mol) 35-proz. wässe-

rige Formaldehydlösung und 200 ml Isopropylalkohol zugegeben. Nachdem der pH-Wert des homogenen Gemisches mit 4,0 ml 3N Natronlauge wieder auf 7,5 gestellt wurde, liess man 72 Std. bei 25° rühren. Dann wurde i. V. bei 20° eingengt, bei 0° mit 26,0 ml 3N Schwefelsäure bis pH 3–3,5 angesäuert und 2mal mit je 200 ml Essigester extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. V. bei 20° eingengt. Bei der Zugabe von Petroläther schied sich ein hellgelbes Öl ab, das abgetrennt wurde. Beim Behandeln dieses Öles mit Äther wurde ein kleiner Teil fest, blieb ungelöst und wurde abfiltriert (1,6 g). Die ätherische Lösung wurde i. V. bei 20° eingedampft, der Rückstand in Essigester gelöst und mit tiefs. Petroläther gefällt. Die resultierende halb feste Verbindung wurde durch Umfällen aus Essigester-Methylenchlorid mit tiefs. Petroläther als farbloses amorphes Pulver erhalten: 5,8 g (24%). Smp. 160–170° (Zers.). IR. (KBr): 1778 (β -Lactam), 1750 (COOH). NMR. (DMSO- d_6): 1,47 (gem. $-CH_3$) (s) (3), 1,58 (gem. $-CH_3$) (s) (3), 3,80 ($\geq C-CH_2-O-$) (b) (2), 4,26 (H-(C-3)) (s) (1), 4,60 ($-NH-CH_2-O-$) (b) (2), 5,41 (H-(C-5)) (b) (1).

$C_{10}H_{14}N_2O_4S$	Ber. C 46,50	H 5,46	N 10,85	S 12,41%
(258,29)	Gef. „ 46,75	„ 5,77	„ 10,53	„ 12,18%

Dimedon-Abbau von 24 zu 6-Amino-penicillansäure (2): Eine Lösung von 0,50 g (0,00193 Mol) Säure **24** in 25 ml Äthanol-Wasser-(1:1) wurde mit 0,54 g (0,00385 Mol) Dimedon versetzt. Nach kurzem Schütteln bei 25° erhielt man eine hellgelbe Lösung, die 1 Min. auf 45° erwärmt wurde. Kurz darauf begann die Kristallisation des Dimedon-Formaldehyd-Adduktes in Form von feinen farblosen Nadeln. Der voluminöse Niederschlag wurde nach 1 Std. Stehen bei 25° abgenutscht: 0,56 g (100%). Smp. 186–188°, identisch mit Smp. einer authentischen Vergleichssubstanz. Einengen des Filtrates i. H. V. bei 5° lieferte 0,18 g schwachgelbes Kristallinat, identisch in Rf (6 Systeme), IR. (KBr) und NMR. (DMSO- d_6) mit 6-Aminopenicillansäure (**2**).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] G. A. STEIN, H. A. BRONNER & K. PFISTER, J. Amer. chem. Soc. 77, 700 (1955); E. W. TRISTRAM, J. TEN BROEKE, D. F. REINHOLD, M. SLETZINGER & D. E. WILLIAMS, J. org. Chemistry 29, 2053 (1964).
- [2] J. L. STROMINGER & D. J. TIPPER, Amer. J. Medicine 39, 708 (1965); J. L. STROMINGER, K. IZAKI, M. MATSUHASHI & D. J. TIPPER, «Topics in Pharmaceutical Sciences», Vol. I, S. 53, Interscience Publishers, New York 1968.
- [3] E. SCHMIDT, Ber. deutsch. chem. Ges. 47, 2545 (1914).
- [4] J. C. SHEEHAN & K. R. HENERY-LOGAN, J. Amer. chem. Soc. 84, 2983 (1962).
- [5] B. K. KOE, Nature 195, 1200 (1962).
- [6] E. E. SNELL, «Vitamins and Hormones», Vol. XVI, S. 77–125, Academic Press Inc., New York 1958.
- [7] D. A. JOHNSON, D. MANIA, C. A. PANETTA & H. H. SILVESTRI, Tetrahedron Letters 1968, 1903.
- [8] D. HAUSER & H. P. SIGG, Helv. 50, 1327 (1967).
- [9] J. M. STEWART & E. C. LINGAFELTER, Acta cryst. 12, 842 (1959).
- [10] E. D. BERGMANN, Chemical Reviews 53, 309 (1953).