

Albomycine, IV¹⁾

Isolierung und Totalsynthese von (*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithyl)-(*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithyl)-*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithin

Günter Benz* und Delf Schmidt

Forschungslaboratorien der Bayer AG,
Postfach 101709, D-5600 Wuppertal 1

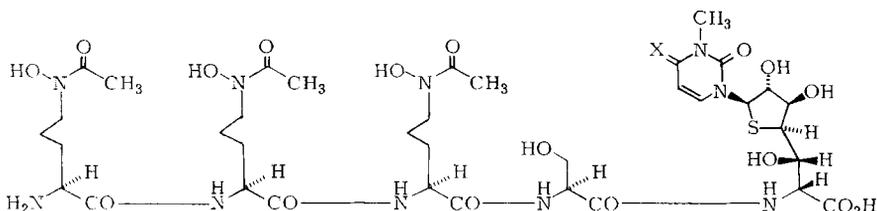
Eingegangen am 9. Dezember 1983

Die Isolierung, Charakterisierung und Synthese von (*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithyl)-(*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithyl)-*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithin (**2**), der Hydroxamsäureseitenkette der Albomycine wird beschrieben.

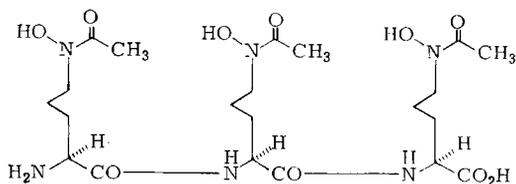
Albomycins, IV¹⁾. – Isolation and Total Synthesis of (*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithyl)-(*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithyl)-*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithine

The isolation, characterization, and synthesis of the oligopeptide (*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithyl)-(*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithyl)-*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithine (**2**), the hydroxamic acid side-chain of the albomycins, is described.

Bei der Isolierung der Albomycine δ_2 , δ_1 und ϵ ^{2,3)} (**1a–c**) sowie bei der enzymatischen Spaltung dieser Antibiotika⁴⁾ fiel ein Wirkungsantagonist auf. Er komplexiert Eisen und zeigt chromatographisch enge Verwandtschaft zu den Albomycinen.



- | | |
|-------------------------------------|----------------------|
| 1a: X = N-CO-NH ₂ | Albomycin δ_2 |
| b: X = O | Albomycin δ_1 |
| c: X = NH | Albomycin ϵ |

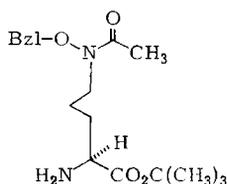


2

Die Aufarbeitung erfolgte nach einem neuen, für Siderochrome spezifischen, sechsstufigen Verfahren, bei dem insbesondere das starke Eisenkomplexierungsvermögen dieser Naturstoffe ausgenutzt wurde:

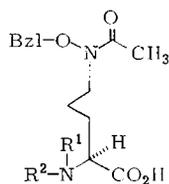
- 1) Adsorption der biologisch aktiven Substanzen an unspezifischen Adsorberharzen (z. B. Amberlite XAD, Lewatit OC 1031^{*)}, Desorption mit Wasser/Methanol-Gemischen.
- 2) „Affinitätschromatographie“ an einem Fe³⁺-beladenen Kationenaustauscher (z. B. SP-Sephadex C-25, Fe³⁺). Elution mit Puffern hoher Ionenstärke (0.5 M) zunächst ohne (Waschen), dann mit Eisenkomplexbildnern wie EDTA (0.05 M) oder Citrat (0.1 M).
- 3) Entsalzung an Adsorberharz; Desorption mit Wasser/Methanol-Gemischen.
- 4) Chromatographie an SP-Sephadex C-25, H⁺; Desorption mit einem linearen Natriumchloridgradienten (0.0–0.1 M NaCl).
- 5) Entsalzung an Adsorberharz; Desorption mit Wasser/Methanol-Gemischen.
- 6) Chromatographie an CM-Cellulose, Elution mit bidest. Wasser, Gefriertrocknung.

Die Konstitution **2** des auf diese Weise isolierten Antagonisten folgt aus den ¹H-, ¹³C-NMR- und FAB-Massenspektren. – Im ¹H-NMR-Spektrum treten drei α -CH-Resonanzen auf ($\delta = 4.40, 4.14, 4.04$). Die Integrale der typischen N⁵-Acetyl-N⁵-hydroxyornithin-Signale³⁾ bei $\delta = 3.64$ (δ -Methylenprotonen), 2.12 (Acetylprotonen) und das Multiplett zwischen $\delta = 1.54$ und 1.96 (β -, γ -Methylenprotonen) weisen auf ein Tripeptid gleicher Aminosäuren hin. – Das ¹³C-NMR-Spektrum zeigt vier unterschiedliche Carbonylresonanzen und jeweils drei Resonanzen für C-2, -3, -4 und -5. Ein Quartett hoher Intensität bei $\delta = 18.8$ wird den drei Acetylgruppen zugeordnet. – Das FAB-Massenspektrum liefert einen Peak mit $m/z = 535$ (M + H).



3

Bzl = CH₂C₆H₅



4: R¹ = R² = CH₂CH=CH₂

5: R¹ = H, R² = CO₂C(CH₃)₃

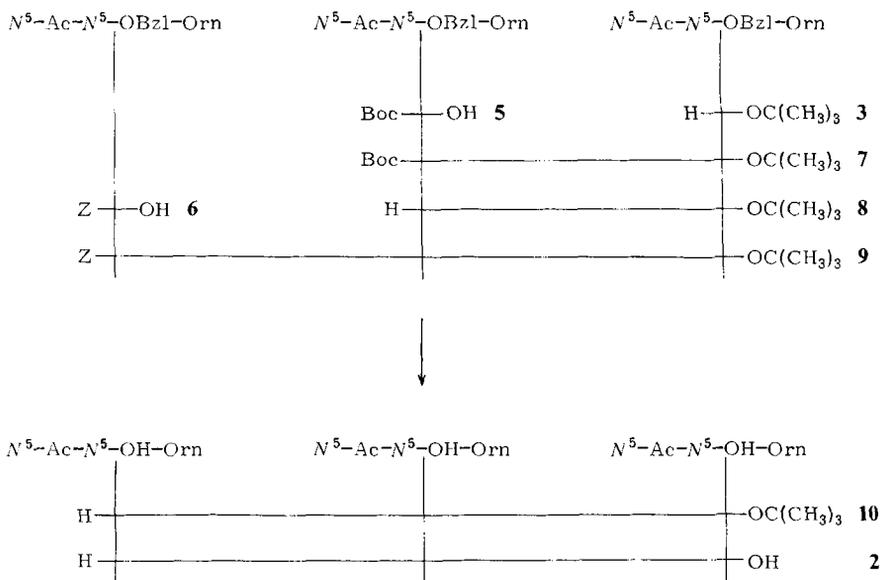
6: R¹ = H, R² = CO₂CH₂C₆H₅

*) Adsorptionsharz der Bayer AG.

Dieses eisenkomplexierende Tripeptid **2** wird ebenfalls bei der enzymatischen Spaltung des Albomycins δ_2 (**1a**) mit Subtilisin oder der Proteinase K erhalten⁴⁾. Die Identität konnte durch DC-Vergleich, ^1H -, ^{13}C -NMR-Spektren und die optische Drehung nachgewiesen werden. Da für das dem Antagonisten **2** zugrundeliegende Ornithin L-Konfiguration abgeleitet wurde⁵⁾, ist auch die absolute Konfiguration von **2** als LLL-Tripeptid gesichert.

Die Totalsynthese konnte nun mit den aus der L-Glutaminsäure erhaltenen Hydroxamsäurederivaten¹⁾ **3–6** durchgeführt werden. In einem ersten Versuch konnte zweimal, ausgehend von der Aminkomponente **3**, mit der *N,N*-diallylgeschützten Aminosäure **4** nach der „Mixed-Anhydride“-Methode⁶⁾ gekoppelt werden. Diese Sequenz erwies sich als unvorteilhaft, da die Ausbeuten bei der Deblockierung der *N*-Allylschutzgruppen mit Tris(triphenylphosphan)rhodium(I)-chlorid^{1,7)} (Wilkinson-Katalysator) mit wachsender Kettenlänge abnahmen. Eine Verbesserung stellte daher die Verwendung der Boc- und *Z*-Aminocarbonsäure **5** bzw. **6** als Kopfkompenten in der Synthesesequenz (Schema 1) dar, die nicht optimiert wurde.

Schema 1



Das *tert*-butyloxycarbonylgeschützte Dipeptid **7** wird in guter Ausbeute nach der „Mixed-Anhydride“-Kopplung von **3** und **5** erhalten. Das Rohprodukt wird selektiv in 10proz. Trifluoressigsäure/Dichlormethan gespalten und nach Flash-Chromatographie⁸⁾ rein isoliert. Die erneute Kopplung mit der *Z*-Aminocarbonsäure **6** führt zum geschützten Tripeptid **9**. Die Benzoyloxycarbonyl- und Benzylschutzgruppen werden in einer Stufe hydrogenolytisch unter Bildung des *tert*-Butylesters **10** abgespalten⁹⁾. Dessen Spaltung zum Tripeptid **2** erfolgt glatt mit Trifluoressigsäure. Nach Ionenaustauscherchromatographie an SP-Sephadex C-25 (H^+) (Elution mit einem Natriumchloridgra-

dienten) und Entsalzung an dem unspezifischen Adsorberharz Lewatit OC 1031 wird nach Gefrierdrying das amorphe Tripeptid **2** erhalten, das laut DC, ^1H -, ^{13}C -NMR- und FAB-Massenspektrum identisch mit dem aus dem Kulturfiltrat isolierten Antagomycin ist.

Experimenteller Teil

^1H -NMR-Spektren: Spektrometer WM 250 der Fa. Bruker (sofern nicht anders angegeben, Tetramethylsilan als interner Standard). – Massenspektren: Gerät MS 30 der Fa. Kratos-AEI und Gerät CH 5 DF der Fa. Varian-MAT [Elektronenstoßionisation 70 eV; Quellentemp. 200 °C; Direktinlaß; Proben temp. 120–180 °C, je nach Flüchtigkeit; Auflösung 1000 bzw. 1200 (10% Tal) bei Hochauflösung mit dem Gerät CH 5 D nach der „Peakmatching“-Methode]. – FAB-MS: Gerät MS 80 der Fa. Kratos. – Optische Drehungen: Polarimeter MC 241 der Fa. Perkin-Elmer. – Dünnschichtchromatographie: DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄ Nr. 5719 (Schichtdicke 0,25 mm; 5 × 10 cm) der Fa. Merck und DC-Fertigplatten OPTI-UP C₁₂ (Schichtdicke 0,25 mm; 20 × 20 cm) der Fa. Tridom Chemical Inc. (vertrieben von der Fa. Fluka).

Isolierung von (N⁵-Acetyl-N⁵-hydroxy-L-ornithyl)-(N⁵-acetyl-N⁵-hydroxy-L-ornithyl)-N⁵-acetyl-N⁵-hydroxy-L-ornithin (2) aus dem Albomycin-Fermentationsansatz: 4000 l Albomycin und Tripeptid enthaltende Kulturbrühe²⁾ (pH = 9,06) werden mit 50 l 1 : 1-verdünnter Salzsäure auf pH = 6,2 eingestellt. Man setzt 400 g FeCl₃ · 6 H₂O hinzu, rührt und gibt dann 25 l verdünnte NaOH bis pH = 7 unter Rühren hinzu. Dann wird mit 200–250 l/h im Westfalia-Separator separiert. Der Überstand wird durch eine 30 × 70-cm-Säule aus Lewatit OC 1031 (unspezifisches Adsorptionsharz der Bayer AG) gegeben. Die Säule wird nacheinander mit 1000 l entionisiertem Wasser und 1000 l 15proz. Methanol gewaschen. Die Siderochrome werden mit 50proz. Methanol von der Säule eluiert und in 100 l Fraktionen gesammelt. Tripeptidhaltige Fraktionen werden vereinigt, im Dünnschichtverdampfer auf ca. 20 l eingeengt und anschließend gefriergetrocknet. Die erhaltenen 342 g Rohprodukt werden anschließend in 6 l Wasser gelöst und unter Rühren mit 25 ml 50proz. FeCl₃-Lösung versetzt. Der sich bildende Niederschlag wird nach 15 min. Rühren abzentrifugiert (Hettich-Rota-Magna-Zentrifuge, 1,5 l Becher, 30 min, 4000 Upm). Der Überstand wird mit Schwerkraft über eine 8 × 45-cm-Säule aus SP-Sephadex C-25 (Fe⁺⁺⁺) gegeben. Die Fließrate beträgt 4 l/h. Man wäscht die schwarz gefärbte Säule mit 5 l dest. Wasser und danach mit 10 l 0,2-M-NaH₂PO₄/0,3-M-NaCl-Puffer. Die jetzt nur noch hellbraun gefärbte Säule wird nun mit 0,2 M NaH₂PO₄/0,3 M NaCl/0,05 M EDTA eluiert (Fließrate 2–3 l/h) und das Säuleneluat fraktioniert in 500-ml-Portionen aufgefangen. Die siderochromenthaltenden Fraktionen 6–14 werden vereinigt und über eine mit Lewatit OC 1031 gefüllte 5 × 40-cm-Säule gegeben. Die Fließrate beträgt 2 l/h. Man wäscht anschließend mit destilliertem Wasser bis mit AgNO₃ keine Chlorid-Ionen im Säuleneluat nachzuweisen sind (ca. 6 l, Fließrate 5 l/h). Anschließend eluiert man die Säule mit 3 l 90proz. Methanol, das gesamte Eluat wird aufgefangen, eingeengt und lyophilisiert; Ausbeute 6,74 g.

Das so erhaltene Produkt wird in 100 ml Wasser gelöst und auf eine 2,5 × 30-cm-Säule aus SP-Sephadex C-25 (H⁺) aufgetragen. Man wäscht mit 1 l dest. Wasser nach und entwickelt anschließend mit 4 l eines linearen Gradienten (0,0–0,1 M NaCl). Das Säuleneluat wird durch Zudosieren von 0,5 M Sörensen-Puffer (pH = 6,5) sofort neutralisiert und in Portionen zu 20 ml fraktioniert. Aliquots der Fraktionen werden mit 0,1 M FeCl₃ auf Eisenkomplexbildung (Rotfärbung) geprüft. Man erhält zwei eisenkomplexierende Hauptkomponenten, deren Fraktionen zusammengefaßt und wie oben beschrieben über je eine Lewatit-OC-1031-Säule (2,5 × 30 cm) entsalzt werden. Man erhält Fraktion I mit 620 mg und Fraktion II mit 2,3 g.

Fraktion I wird in 5 ml Wasser gelöst und auf eine 0.9×100 -cm-Säule aus Carboxymethylcellulose (Fa. Wathman, Typ CM 52) in der H^+ -Form gegeben. Man entwickelt mit destilliertem Wasser. Es werden 3 mit Eisen komplexierende Fraktionen erhalten, deren Einzelfraktionen zusammengefaßt und lyophilisiert werden. Die zuletzt eluierte Fraktion enthält das Tripeptid **2** und ergibt 120 mg Lyophilisat. – 1H -NMR (D_2O , 250 MHz): $\delta = 1.54 - 1.96$ (m; 12H, β -, γ - CH_2), 2.12 (s; 9H, $NCOCH_3$), 3.64 (mc; 6H, NCH_2), 4.04 (t, $J = 7$ Hz; 1H, $NHCH$), 4.14 (mc; 1H, $NHCH$) 4.40 (mc; 1H, $NHCH$). – ^{13}C -NMR (D_2O , 62.83 MHz): $\delta = 18.8$ [3] (q), 20.9 (t), 21.8 (t), 22.1 (t), 27.5 [2] (t), 28.3 (t), 46.6 (t), 46.7 (t), 47.1 (t), 52.1 (d), 53.1 (d), 54.5 (d), 168.9 (s), 171.7 (s), 173.5 [3] (s), 177.6 (s). – FAB-MS: $m/z = 535$ (M + H). – Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -8.57$ ($c = 0.567$, 1 N HCl).

$C_{21}H_{38}N_6O_{10} \times H_2O$ (552.6) Ber. C 45.65 H 7.30 N 15.21 Gef. C 45.7 H 7.3 N 15.0

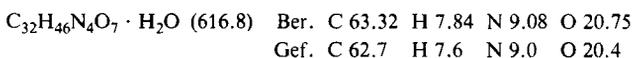
*Isolierung von (N^5 -Acetyl- N^5 -hydroxy-L-ornithyl)-(N^5 -acetyl- N^5 -hydroxy-L-ornithyl)- N^5 -acetyl- N^5 -hydroxy-L-ornithin (**2**) nach enzymatischer Spaltung⁴⁾ von Albomycin δ_2 (**1a**) mit Proteinase K:* Man löst 10 g Albomycin δ_2 (**1a**) in 100 ml (100 mg/ml) 0.1 M Ammoniumcarbonat-Puffer (pH = 7.5) und korrigiert den pH-Wert auf 7.5. Zur Lösung setzt man 100 mg Proteinase K (Proteinase K aus Pilzen, 20 mAnson-E/mg; Fa. Merck, Nr. 140799) hinzu. Man inkubiert ca. 12 h bei 37°C. Anschließend wird das Hydrolysat 3mal im Rotationsverdampfer schonend zur Trockne eingengt, in wenig dest. Wasser rückgelöst, in einen Dialyseschlauch gefüllt und gegen 2mal 1 l dest. Wasser bei 4°C für 2mal 12 h dialysiert (pro 1 g Ausgangssubstanz je 100 ml dest. Wasser). Die Dialysate werden vereinigt, konzentriert und lyophilisiert. Über eine gut gepackte 0.5×100 -cm-Pharmacia-Säule, gefüllt mit Biogel P-2 (200–400 mesh; Bio-Rad), wird mit einer Fließrate von 200 ml/h eine Lösung von 3 g des Lyophilisats in 25 ml dest. Wasser aufgetragen. Eluiert wird die Säule mit dest. Wasser mit einer Fließrate von 200 ml/h. Es werden 200 Gläser mit 8-min-Fractionen (je ca. 25 ml) aufgefangen. 20 μ l der Fractionen werden auf einer DC-Fertigplatte (OPTI-UP C_{12}) aufgetragen und mit dem Laufmittel Citronensäure-Puffer (pH = 5)/Acetonitril/5proz. wäßrige $FeCl_3$ -Lösung, 85:15:0.1, entwickelt. Die tripeptidhaltigen Fractionen werden vereinigt, konzentriert und lyophilisiert. Es werden 700 mg Tripeptid **2** erhalten, das laut DC, 1H - und ^{13}C -NMR-Spektren identisch mit dem aus der Kulturbrühe isolierten ist; optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -8.63$ ($c = 1.008$, 1 N HCl).

*[N^5 -Acetyl- N^5 -benzyloxy- N^2 -(tert-butoxycarbonyl)-L-ornithyl]- N^5 -acetyl- N^5 -benzyloxy-L-ornithin-tert-butylester (**7**):* 1.41 g (3.71 mmol) N^5 -Acetyl- N^5 -benzyloxy- N^2 -(tert-butoxycarbonyl)-L-ornithin¹⁾ (**5**) und 0.82 ml (7.42 mmol) *N*-Methylmorpholin werden in 30 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran auf $-21^\circ C$ gekühlt. Bei dieser Temperatur werden 0.53 ml (4.08 mmol) Chlorameisensäure-isobutylester in 5 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran zugetropft und die entstandene Suspension bei $-15^\circ C$ 15 min gerührt. Anschließend werden 1.25 g (3.71 mmol) N^5 -Acetyl- N^5 -benzyloxy-L-ornithin-tert-butylester¹⁾ (**3**) in 5 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran bei $-15^\circ C$ zugetropft und 30 min bei dieser Temperatur gehalten. Nach 4stdg. Reaktion unter Erwärmen auf $25^\circ C$ wird der Ansatz eingengt, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und nacheinander mit 0.2 M Citronensäure-, gesättigter Hydrogencarbonat- und Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknen i. Ölpumpenvak. werden 2.32 g (90%) **7** erhalten. – 1H -NMR (DMSO, 250 MHz): $\delta = 1.35$ [s; 9H, $C(CH_3)_3$], 1.37 [s; 9H, $C(CH_3)_3$] 1.45–1.70 (m; 8H, β -, γ - CH_2), 2.01 (s; 3H, $COCH_3$), 2.02 (s; 3H, $COCH_3$), 3.60 (mc; 4H, NCH_2), 3.96 (mc; 1H, NCH), 4.10 (mc; 1H, NCH), 4.85 (s; 4H, OCH_2), 6.85 (d, $J = 8$ Hz; 1H, NH), 7.40 (mc; 10H, Aromat), 8.01 (d, $J = 8$ Hz; 1H, NH).

$C_{37}H_{54}N_4O_9$ (698.9) Ber. C 63.59 H 7.79 N 8.02 Gef. C 63.1 H 7.8 N 7.7

*(N^5 -Acetyl- N^5 -benzyloxy-L-ornithyl)- N^5 -acetyl- N^5 -benzyloxy-L-ornithin-tert-butylester (**8**):* 4.54 g (6.50 mmol) Dipeptid **7** werden in 50 ml Dichlormethan/Trifluoressigsäure (9:1) gelöst

und 20 h bei 0°C gerührt. Der Ansatz wird im Rotationsverdampfer eingeengt (Temp. unter 40°C). Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und 2mal mit gesättigter Hydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase mit Magnesiumsulfat und nachfolgender Flash-Chromatographie⁸⁾ (Säulendurchmesser 4 cm; Laufmittel Dichlormethan/Methanol, 9:1; Fließgeschwindigkeit 9.5 ml/min) werden 2.12 g (55%) **8** erhalten. – ¹H-NMR (DMSO, 250 MHz): δ = 1.35 [s; 9H, C(CH₃)₃], 1.46–1.72 (m; 8H, β-, γ-CH₂), 1.99 (s; 3H, COCH₃), 2.01 (s; 3H, COCH₃), 3.14–3.26 (m; 1H, NCH), 3.61 (mc; 4H, NCH₂), 4.09–4.20 (m; 1H, NCH), 4.86 (s; 4H, OCH₂), 7.42 (mc; 10H, Aromat), 8.12 (d, *J* = 8 Hz; 1H, CONH). – MS (70 eV): *m/z* = 598 (3.5%, M⁺), 91 (100%), 56 (28%).



[*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-benzyloxy-*N*²-(benzyloxycarbonyl)-*L*-ornithyl]-[*N*⁵-acetyl-*N*⁵-benzyloxy-*L*-ornithyl]-*N*⁵-acetyl-*N*⁵-benzyloxy-*L*-ornithin-*tert*-butylester (**9**): Er wird analog **7** aus 321.7 mg (0.54 mmol) Dipeptid **8** und 223.6 mg (0.54 mmol) *N*⁵-Acetyl-*N*⁵-benzyloxy-*N*²-(benzyloxycarbonyl)-*L*-ornithin¹⁾ (**6**) hergestellt. Nach zweimaliger Flash-Chromatographie⁸⁾ (Säulendurchmesser 2 cm; Laufmittel 1, Dichlormethan/Methanol, 9:1; Laufmittel 2, Dichlormethan/Methanol, 95:5; Fließgeschwindigkeit 10 ml/min) werden 192 mg (36%) Tripeptid **9** erhalten. – ¹H-NMR (DMSO, 250 MHz): δ = 1.32 [s; 9H, C(CH₃)₃], 1.43–1.70 (m; 12H, β-, γ-CH₂), 1.98 (s; 6H, COCH₃), 1.99 (s; 3H, COCH₃), 3.59 (mc; 6H, NCH₂), 4.05 (mc; 2H, NHCH), 4.32 (mc; 1H, NHCH), 4.84 (s, breit; 6H, OCH₂), 4.98 (s; 2H, OCH₂), 7.26–7.48 (m; 20H, Aromat), 7.92 (d, *J* = 8 Hz; 1H, CONH), 8.18 (d, *J* = 7 Hz, 1H, CONH).

(*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-hydroxy-*L*-ornithyl)-(*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-*L*-ornithyl)-*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-*L*-ornithin-*tert*-butylester (**10**): 192.6 g (0.193 mmol) Tripeptid **9** werden in 15 ml Ethanol über 91.3 mg Palladium/Kohle (10% Pd) bei durchperlendem Wasserstoff hydriert. Nach 8 h werden erneut 46 mg Palladium/Kohle zugegeben, und es wird 4 h hydriert. Der Katalysator wird abfiltriert, mit heißem Ethanol gewaschen und das Filtrat eingeengt. Es werden 86.4 mg (76%) des partiell deblockierten Tripeptids **10** erhalten. – ¹H-NMR (D₂O + DMSO, 250 MHz): δ = 1.46 [s; 9H, C(CH₃)₃], 1.57–1.91 (m; 12H, β-, γ-CH₂), 2.14 (s; 9H, COCH₃), 3.57 (mc; 1H, NHCH), 3.65 (mc; 6H, NCH₂), 4.25 (mc; 1H, NHCH), 4.37 (mc; 1H, –NHCH–).

(*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-hydroxy-*L*-ornithyl)-(*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-*L*-ornithyl)-*N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-*L*-ornithin (**2**) aus **10**: 86.4 mg (0.15 mmol) Tripeptid-*tert*-butylester **10** werden mit 2 ml Trifluoressigsäure versetzt und 16 h bei 0°C gerührt. Nach Eindampfen wird der Rückstand an 20 ml SP-Sephadex C-25 chromatographiert [Säule 1 cm Ø; Laufmittel 50 ml H₂O, dann Gradient 0.1 M NaCl/H₂O (1:9–5:5); Fraktionsgröße 3 ml]. Nach Gefriertrocknung der reinen Fraktionen wird an 10 ml Lewatit OC 1031 entsalzt. Nach Gefriertrocknung werden 23.5 mg (29%) amorphes Tripeptid **2** erhalten. – ¹H-NMR (D₂O, 250 MHz): δ = 1.54–1.95 (m; 12H, β-, γ-CH₂), 2.13 (s; 9H, COCH₃), 3.66 (mc; 6H, NCH₂), 4.03 (t, *J* = 7 Hz; 1H, NHCH), 4.16 (mc; 1H, NHCH), 4.41 (mc; 1H, NHCH). – ¹³C-NMR (D₂O, 62.83 MHz, Dioxan als Standard): δ = 19.3 [3] (q), 21.4 (t), 22.2 (t), 22.5 (t), 28.0 [2] (t), 28.8 (t), 47.0 (t), 47.2 (t), 47.5 (t), 52.6 (d), 53.7 (d), 54.8 (d), 169.3 (s), 172.1 (s), 173.7 (s), 173.8 (s), 174.0 (s), 177.8 (s). – FAB-MS: *m/z* = 535 (M + H⁺).

¹⁾ III. Mitteilung: G. Benz, Liebigs Ann. Chem. **1984**, 1424, voranstehend.

²⁾ Bayer AG (Erf. K. G. Metzger, J. Pfitzner, D. Schmidt, H. Weyland, G. Benz und T. Schröder), D. O. S. 3 102 137 (23. Jan. 1981) [Chem. Abstr. **97**, P 196810 j; (1982)]. Bayer AG (Erf. K. G. Metzger, J. Pfitzner, D. Schmidt, H. Weyland, G. Benz und T. Schröder), D. O. S. 3 102 136 (23. Jan. 1981) [Chem. Abstr. **97**, P 196811 k (1982)].

- ³⁾ G. Benz, T. Schröder, J. Kurz, C. Wünsche, W. Karl, G. Steffens, J. Pfitzner und D. Schmidt, *Angew. Chem.* **94**, 552 (1982); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **21**, 527 (1982); *Angew. Chem. Suppl.* **1982**, 1322.
- ⁴⁾ I. Mitteilung: G. Benz, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1399.
- ⁵⁾ II. Mitteilung: G. Benz, L. Born, M. Brieden, R. Grosser, J. Kurz, H. Paulsen, V. Sinnwell und B. Weber, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1408.
- ⁶⁾ G. W. Anderson, J. E. Zimmermann und F. M. Callahan, *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 5012 (1967).
- ⁷⁾ B. C. Laguzza und B. Ganem, *Tetrahedron Lett.* **22**, 1483 (1981).
- ⁸⁾ W. C. Still, M. Kahn und M. Mitra, *J. Org. Chem.* **43**, 2923 (1978).
- ⁹⁾ T. Fujii und Y. Hatanaka, *Tetrahedron* **29**, 3825 (1973).

[281/83]