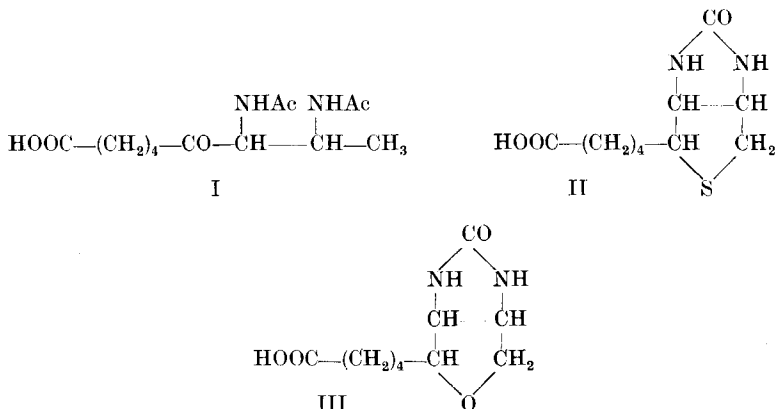


228. Synthesen in der Biotinreihe. II. Derivate der 7,8-Diamino-6-keto-9-oxy-nonansäure und des Oxybiotins

von C. A. Grob und F. Reber.

(30. VIII. 50.)

Wir beschrieben kürzlich die Synthese der beiden diastereomeren 7,8-Bis-acetylamino-6-keto-nonansäuren (I)¹⁾. Wie in jener Mitteilung erwähnt, wurde gleichzeitig auch die Herstellung der analogen ω -substituierten Säuren vom Typus der Verbindung X, welche das Kohlenstoffgerüst des Biotins (II) enthalten, unternommen. Obschon sich diese Verbindungen zum Aufbau von Derivaten des Oxybiotins²⁾ (O-Heterobiotin)³⁾ (III) eignen, gelang uns ihre Überführung in Verbindungen mit der Struktur des Biotins nicht. Es zeigte sich vielmehr, dass die Säuren X, XV und XVII beim Versuche, den Thiophanring über die C-Atome 6 und 9 zu schliessen, in noch undurchsichtiger Weise reagieren. Diese schon längere Zeit zurückliegenden Versuche mussten vorzeitig abgebrochen werden und sind deshalb nicht abgeschlossen. Die wichtigsten Resultate geben wir im folgenden bekannt.



Der Aufbau der substituierten Nonansäuren X, XV und XVII erfolgte nach dem in der 1. Mitteilung eingehend beschriebenen Verfahren, ausgehend von Nitromethyl-cyclohexen (V). Es wurden jedoch an Stelle von Acetaldehyd Äther des Glykolaldehyds, wie Äthoxyacetaldehyd (IVa) bzw. Benzyloxyacetaldehyd (IVb) zur Einführung

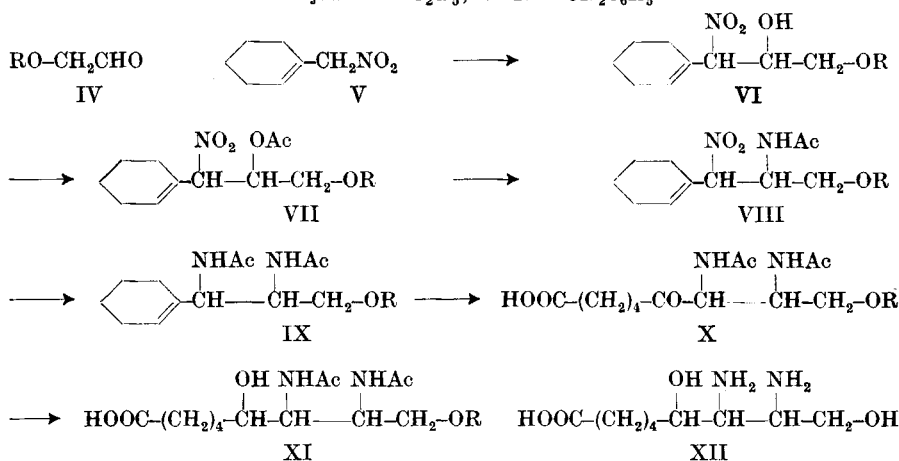
¹⁾ C. A. Grob & W. von Tscharnier, *Helv.* **33**, 1070 (1950).

²⁾ K. Hofmann, *Am. Soc.* **67**, 694, 1459 (1945).

³⁾ R. Duschinsky, L. A. Dolan, D. Flower & S. H. Rubin, *Arch. Biochem.* **6**, 480 (1945).

der Kohlenstoffatome 8 und 9 verwendet. Die einzelnen Stufen (V bis X) sind auf folgendem Schema angegeben:

a: R jeweils = C_2H_5 ; b: R = $CH_2C_6H_5$



Das 1-Nitro-1-cyclohexenyl-2-oxy-3-äthoxy-propan (VIa) lag als Gemisch der beiden Diastereomeren vor und wurde als solches zu VIIa acetyliert und mit Ammoniak in VIIIa übergeführt. Vom Nitro-acetamino-derivat VIIIa wurden beide diastereomeren Formen isoliert, nämlich ein kristallines vom Smp. 80° (A-Reihe) und ein öliges (B-Reihe). Die beiden Racemate, welche wechselseitig ineinander überführbar sind, wurden getrennt weiter verarbeitet. Die Reduktion zu IXa und die oxydative Spaltung des Cyclohexenringes mit Ozon erfolgte auch hier ohne Schwierigkeit. In dieser Weise wurden die beiden diastereomeren Ketosäuren Xa vom Smp. 124° (A-Reihe) und 102° (B-Reihe) erhalten.

Die katalytische Hydrierung der Ketogruppe in Xa erfolgt relativ leicht, was im Gegensatz zu unseren Beobachtungen an der ω -unsubstituierten Verbindung I steht. Wie früher erwähnt¹⁾, liess sich diese Verbindung unter keinen Umständen zur entsprechenden 6-Oxysäure reduzieren. Wir haben zur Zeit keine Erklärung für dieses unterschiedliche Verhalten.

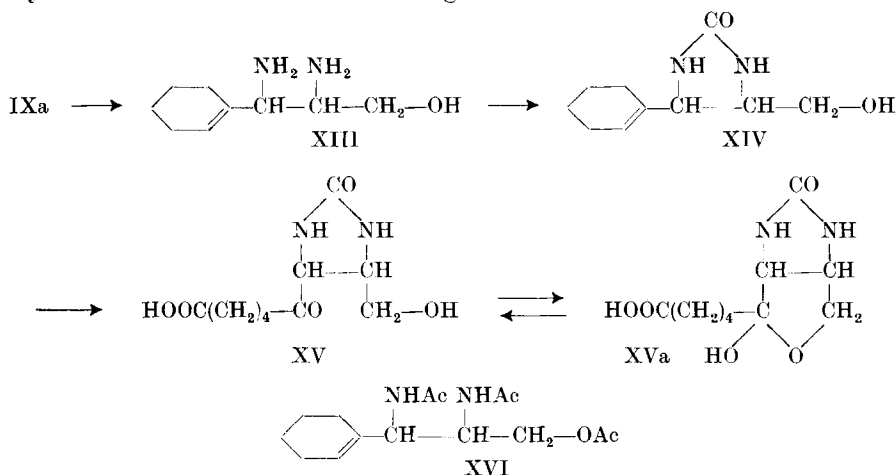
Die Ketosäure Xa (B-Reihe) wurde als Natriumsalz über Raney-Nickel hydriert. Aus dem Reaktionsgemisch konnte nur eine 6-Oxysäure XIa vom Smp. 156° kristallisiert erhalten werden. Bemerkenswerterweise lieferte die isomere Ketosäure Xa (A-Reihe) unter den gleichen Bedingungen dieselbe Oxysäure vom Smp. 156° neben öligen Isomeren. Dieses Resultat kann nur so gedeutet werden, dass unter den alkalischen Bedingungen teilweise Inversion an C-7, welches der Carbonylgruppe benachbart ist, eintritt. Die in der Mutter-

¹⁾ Siehe 1. Mitteilung.

lauge verbliebenen isomeren Oxy Säuren konnten nicht zur Kristallisation gebracht werden.

Die Reduktion des Methylesters der Ketosäure Xa (A-Reihe) über *Raney*-Nickel bei 20 Atm. und 100° lieferte ein kristallisiertes Gemisch isomerer Methylester von XIa. Beim Versuche diese Verbindungen mittels 48-proz. Bromwasserstoffsäure zur 7,8-Diamino-6,9-dioxy-nonansäure (XII) zu hydrolysieren, trat weitgehende Zersetzung der Molekel ein. Offenbar ist die α, δ -Dioxy- β, γ -diamino-Gruppierung empfindlich gegen starke Säure.

Diese Resultate bewogen uns, die analoge Ketosäure XV, in welcher die beiden Aminogruppen in einem Imidazolidonring eingebaut sind, herzustellen. Es wurde daher die Verbindung IXa (B-Reihe) mit 48-proz. Bromwasserstoffsäure zur Diamino-oxy-Verbindung XIII gespalten und der Imidazolidonring mit Phosgen zu XIV geschlossen. Auffallenderweise verläuft auch hier die Ozonisierung der cyclischen Verbindung bedeutend schlechter als die der offenkettigen Verbindung IXa¹). Immerhin konnte das 4-Oxymethyl-5-(ω -carboxy-valeryl)-imidazolidon (XV) vom Smp. 152° in 35-proz. Ausbeute erhalten werden. Diese Verbindung dürfte weitgehend in der Cyclohalbacetal-Form XVa vorliegen.



In diesem Zeitpunkt erhielten wir Kenntnis einer Arbeit von *Duschinsky & Dolan*²⁾, in welcher die Herstellung einer Verbindung derselben Struktur XV vom Smp. 140° (u. Zers.) durch Hydrierung eines entsprechend substituierten Imidazolderivates beschrieben wird. Erstere Verbindung liess sich durch weitere Hydrierung über Platin in Eisessig in biologisch aktives Oxybiotin (O-Heterobiotin) (III) überführen, in welchem die Ringe eis-ständig verknüpft sind.

¹⁾ Siehe 1. Mitteilung.

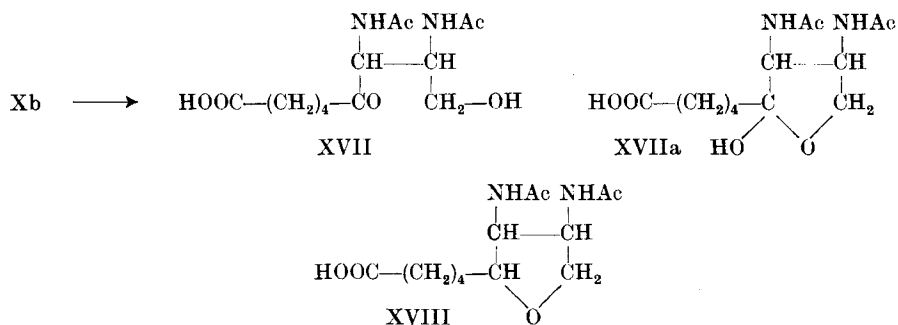
²⁾ *R. Duschinsky & L. A. Dolan*, Festschrift *E. C. Barell*, p. 164, Basel 1946.

Aus diesem Grunde müssen in unserer Verbindung XV (B-Reihe) vom Smp. 152° die beiden Substituenten am Imidazolidonring transständig angeordnet sein. Die Verbindung von *Duschinsky & Dolan* entspricht somit sterisch den Derivaten unserer A-Reihe. Wir haben auf die Durchführung der analogen Reaktionsfolge bei der Verbindung IXa (A-Reihe) in Anbetracht der erwähnten Arbeit verzichtet.

Es hatte sich bisher gezeigt, dass die Verbindungen IXa und XIa die ziemlich drastischen Bedingungen, welche nötig sind, um die Äthoxygruppe abzuspalten, schlecht vertragen. Es wurde deshalb die Reaktionsfolge V bis X unter Verwendung von Benzyloxy-acetaldehyd¹⁾ als Ausgangsmaterial durchgeführt. Bekanntlich werden Benzyläther unter bedeutend milderen Bedingungen sauer hydrolysiert und sind zudem durch katalytische Hydrierung spaltbar. Die einzelnen Reaktionen verliefen glatt. Grosse Schwierigkeiten bot jedoch die Auftrennung der beiden diastereomeren Racemate IXb, was erst durch verlustreiche fraktionierte Kristallisation gelang. Beide Isomere schmolzen bei 166°, gaben zusammen aber eine deutliche Depression. Es wurde grösstenteils mit Isomerengemischen weitergearbeitet.

Bei der Hydrolyse des Isomerengemisches IXb mit 15-proz. Salzsäure wurde die Benzylgruppe abgespalten. Die so erhaltene Diamino-oxy-Verbindung XIII lieferte nach der Acetylierung zwei isomere Triacetyl-derivate XVI vom Smp. 228° und 157°. Erstere war identisch mit der aus IXa (B-Reihe) durch Hydrolyse und Reacetylierung erhaltenen Verbindung.

Die Ozonisierung der Verbindung IXb lieferte die gesuchte Ketosäure Xb, welche aber als Isomerengemisch vorlag und nur schwer aufzutrennen war. Sie lieferte kristallisierte Methylester.



Bei der Reduktion der Ketosäure Xb über Palladium-Kohle wurde schnell ein Mol Wasserstoff aufgenommen unter Abspaltung des Benzylrestes als Toluol und unter Bildung der sirupösen Oxy-ketosäure XVII. Diese dürfte wiederum weitgehend in der tautomeren Form XVIIa vorliegen. Bei der Weiterhydrierung über Palladium-

¹⁾ *S. Sabatay & D. N. Mira*, C. r. **194**, 617 (1932).

Kohle wurde langsam ein zweites Mol Wasserstoff unter Bildung einer Verbindung $C_{13}H_{22}O_5N_2$ aufgenommen, welche nur das Tetrahydrofuran-derivat XVIII sein kann. Dieser Ringschluss findet seine Parallele in der erwähnten Überführung des Imidazolidonderivates XV in Oxybiotin (II). Hier liegt somit ein weiterer Weg zum Aufbau von Verbindungen mit der Struktur des Oxybiotins vor.

Interessant sind die Ergebnisse der mikrobiologischen Prüfung einiger der hergestellten Verbindungen. Folgende Tabelle zeigt die Biotin-Wirkung gemessen an einer Melasse-Brennhefe, an *Lactobacillus arabinosus*, *Lactobacillus helveticus* und *Streptococcus faecalis*. Die Aktivitäten beziehen sich auf Biotin = 1.

	Hefe	Lb. arabino- sus	Lb. helveticus	Str. faecalis
Biotin	1	1	1	1
DL-Desthiobiotin	aktiv ¹⁾	1:500 000	1:100 000	1:500 000
7,8-Bis-acetylamino-6-keto-9-äthoxy-nonansäure (Xa):	A-Reihe. —	— —	— —	— —
7,8-Bis-acetylamino-6-keto-9-benzyloxy-nonansäure (Xb):	vermutlich A-Reihe	1:50 000	1:50 000	1:100 000

Es besitzt also jeweils eine der beiden diastereomeren Ketosäuren Xa bzw. Xb eine nicht unbeträchtliche Biotinwirkung, was möglicherweise mit deren Überführbarkeit in Oxybiotin zusammenhängt. Die Zahlen beziehen sich auf die DL-Verbindungen, in welchen vermutlich nur ein Antipode biologisch aktiv ist.

Die Verbindung XV, für welche, wie bemerkt, trans-Konfiguration folgt, ist erwartungsgemäss völlig unwirksam. Die beiden isomeren Ketosäuren der Struktur I erwiesen sich auch bei allen vier Mikroorganismen als völlig unwirksam. Andere Substanzen konnten leider nicht mehr untersucht werden.

Wir danken der *Haco Gesellschaft AG.*, Gümligen, für die Unterstützung dieser Arbeit. Ferner danken wir Herrn Prof. *T. Reichstein* für das Interesse, das er dieser Arbeit entgegenbrachte, und Herrn Dr. *V. Kocher*, Mikrobiologisches Laboratorium St. Jakob, Basel, für die Durchführung der Biotinbestimmungen.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze $\pm 2^\circ$.

1-Nitro-1-cyclohexenyl-2-oxy-3-äthoxy-propan (VIa). 17 g Äthoxyacetal²⁾ wurden mit 17 cm³ Wasser und 7 Tropfen 2-n. Salzsäure auf dem Dampfbad unter Durchleiten von Stickstoff erhitzt. Nachdem das Gemisch homogen geworden war, wurde noch 20 Minuten weiter erhitzt. Die abgekühlte Lösung des Aldehyds wurde mit

¹⁾ *V. du Vigneaud* und Mitarb., J. Biol. Chem. **146**, 475 (1942).

²⁾ *E. Späth*, M. **36**, 4 (1915).

14,1 g Nitromethylcyclohexen¹) in 16 cm³ 95-proz. Alkohol und dann unter Eiskühlung mit 0,8 cm³ 50-proz. Kalilauge versetzt. Das Gemisch wurde während 50 Stunden bei ca. 35° stehen gelassen und dann unter Eiskühlung mit 0,3 cm³ Eisessig versetzt. Die saure Lösung wurde ausgeäthert, die ätherische Lösung mit verd. KHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das nach Abdestillieren des Äthers verbliebene Öl wurde im Vakuum fraktioniert. Bei 12 mm wurde zunächst Alkohol entfernt. Die weitere Destillation bei 0,3 mm lieferte nach wenig Vorlauf von unverändertem Nitromethylcyclohexen 14 g (58%) Nitroalkohol, Sdp. 125–130°, $n_D^{18} = 1,4918$. Zur Analyse wurde nochmals im Hochvakuum destilliert und ein hellgelbes Öl erhalten, welches teilweise durchkristallisierte und ein Isomergemisch darstellte.

$C_{11}H_{19}O_4N$ Ber. C 57,62 H 8,35 N 6,11%
Gef. „ 57,92 „ 8,38 „ 6,48%

1-Nitro-1-cyclohexenyl-2-acetoxy-3-äthoxy-propan (VIIa). 12,9 g Nitroalkohol wurden tropfenweise mit 6,5 g frisch destilliertem Acetylchlorid unter Feuchtigkeitsausschluss versetzt und zur Einleitung der Reaktion leicht erwärmt. Bis zum Abklingen der Reaktion wurde mit einem Wasserbad von 20° gekühlt. Anschliessend wurde 1 Stunde auf 50° erwärmt. Nach Zusatz von Äther wurde mit Wasser gewaschen, die ätherische Lösung über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Die Destillation des Rückstandes bei 0,03 mm lieferte 14,3 g (95%) eines hellgelben, dickflüssigen Öls, Sdp. 109–112°, $n_D^{23} = 1,4718$.

$C_{13}H_{21}O_5N$ Ber. C 57,55 H 7,80 N 5,16%
Gef. „ 57,37 „ 7,72 „ 5,27%

1-Nitro-1-cyclohexenyl-2-amino-3-äthoxy-propan. 125 cm³ Dioxan wurden bei 20° mit trockenem Ammoniak gesättigt. Unter Einleiten von Ammoniak und mech. Rühren wurden 19,7 g obiger Acetoxyverbindung, gelöst in 95 cm³ Dioxan, innerhalb 1½ Stunden zugetropft. Bei schwachem Ammoniakstrom wurde noch 5 Stunden weitergerührt und darauf vom Ammoniumacetat abgenutscht und überschüssiger Ammoniak durch schwaches Evakuieren abgesaugt.

Acetylderivat VIIIa. Die Dioxanlösung wurde langsam mit 95 cm³ Acetanhydrid versetzt und 15 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei ca. 50° zur Trockne verdampft, der Rückstand in viel Äther aufgenommen, dieser mehrmals mit wenig KHCO₃-Lösung und dann mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (19,4 g) wurde in Äther gelöst und mit Petroläther bis zur Trübung versetzt, wobei sich Stäbchen des höher schmelzenden Isomeren (A-Reihe) (6,92 g), Smp. 67–76°, ausschieden. Kristallisation aus Äther-Petroläther oder Essigester-Petroläther erhöhte den Schmelzpunkt auf 78–80°.

$C_{13}H_{22}O_4N_2$ Ber. C 57,75 H 8,21 N 10,36%
Gef. „ 57,75 „ 8,21 „ 10,24%

Obige ätherische Mutterlauge wurde zur Abtrennung des restlichen Nitro-acetylamins während 1 Stunde mit 60 cm³ 2-n. NaOH geschüttelt. Die alkalische Lösung des Natriumsalzes wurde mit Äther gewaschen und unter Eiskühlung mit 8 cm³ Eisessig neutralisiert. Das ausfallende Öl wurde mit Äther extrahiert und dieser mit verd. KHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdampfen des Äthers hinterblieben 10,73 g eines gelben Öles, das zur Hauptsache das zweite Isomere (B-Reihe) darstellte und auch bei –70° nicht kristallisierte. Totalausbeute 90%.

Hydrochlorid. Eine wie oben beschrieben hergestellte Lösung des Nitroamins in Dioxan wurde bei möglichst tiefer Temperatur zur Trockne verdampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und unter Eiskühlung vorsichtig mit einer ätherischen HCl-Lösung versetzt. Der entstandene Kristallbrei wurde abgenutscht, mit abs. Äther gewaschen und die feinen Nadeln aus Methanol-Äther umkristallisiert. Smp. 146–149° unter Zersetzung.

$C_{11}H_{21}O_3N_2Cl$ Ber. C 49,90 H 7,99 N 10,58%
Gef. „ 49,83 „ 7,84 „ 10,37%

¹) C. A. Grob & W. v. Tschanner, Helv. 33, 1070 (1950).

Benzoylderivat. Das wie oben isolierte Nitroamin wurde mit einem kleinen Überschuss von Benzoylchlorid und Pyridin 4 Stunden auf 40° erwärmt, mit Wasser versetzt und 1 Stunde stehen gelassen. Dann wurde Äther zugegeben, mit KHCO_3 -Lösung, 2-n. HCl und mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und die ätherische Lösung eingedampft. Aus Methanol-Äther wurden Nadeln, Smp. 139—140°, erhalten.

$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{N}_2$	Ber. C 65,04	H 7,28	N 8,43%
	Gef. „ 65,27	„ 7,41	„ 8,10%

1-Cyclohexenyl-1, 2-bis-acetylamino-3-äthoxy-propan (IXa).

A-Reihe. 4 g amalgamiertes Aluminiumgriess wurden mit einer Lösung von 1,3 g des obigen Nitro-acetylamins (Smp. 78—80°) überschichtet. Unter mech. Rühren wurden langsam 8 cm³ Wasser zugetropft und anfänglich mit Wasser gekühlt. Nach 15stündigem Rühren wurde vom Aluminiumhydroxyd abgenutscht und letzteres gründlich mit heissem Methanol extrahiert. Die vereinigten Äther- und Methanollösungen wurden eingedampft, der sirupöse Rückstand (1,0 g) in wenig Äther gelöst und mit 2 cm³ Acetanhydrid übergossen. Es schied sich sofort das kristallisierte Bis-acetylamino-derivat aus. Eindampfen und Kristallisation aus Äther lieferte 1,07 g (79%) Prismen, Smp. 166—168°.

$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{N}_2$	Ber. C 63,80	H 9,28	N 9,92%
	Gef. „ 63,56	„ 9,05	„ 9,81%

B-Reihe. Die analoge Reaktion des öligen Nitroacetylamins, welches ein Isomeren-gemisch darstellt, lieferte ungefähr gleiche Mengen der beiden isomeren Bis-acetylamino-derivate. Aus der Äther-Acetanhydridlösung kristallisierte das höher schmelzende Isomere in Prismen, Smp. 212—214°, welche aus Aceton umkristallisiert wurden.

$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{N}_2$	Ber. C 63,80	H 9,28	N 9,92%
	Gef. „ 64,00	„ 9,34	„ 10,07%

Durch Einengen obiger Acetylierungslösung wird das tiefer schmelzende Isomere (Smp. 166—168°) erhalten. Ein Gemisch beider Isomeren kann leicht durch Kristallisation aus Aceton, in welchem das höher schmelzende Isomere schwerer löslich ist, getrennt werden.

Überführung von VIIIA (A-Reihe) in VIIIA (B-Reihe). 2,78 g Nitroacetylamino (A-Reihe), Smp. 76—79°, wurden durch längeres Schütteln in 13 cm³ 2-n. NaOH gelöst und die hellgelbe Lösung unter Eiskühlung vorsichtig mit 2,3 cm³ Eisessig angesäuert. Das abgeschiedene, farblose Öl wurde in Äther aufgenommen, mit KHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Verdampfen des Äthers hinterblieben 2,73 g öliges Isomeregemisch, welches nicht kristallisierte.

Um den Anteil der beiden Isomeren festzustellen, wurde wie oben mit Aluminiumamalgam reduziert und acetyliert. Aus der ätherischen Acetylierungslösung wurden 850 mg Bis-acetyl-amino-Verbindung der B-Reihe, Smp. 213—214° erhalten. Durch Eindampfen der Mutterlauge und Kristallisation aus Äther wurden 1,47 g Bis-acetyl-amino-Derivat der A-Reihe, Smp. 154—165° erhalten. Totalausbeute 82%.

1-Cyclohexenyl-1, 2-diamino-3-äthoxy-propan-dihydrochlorid.

B-Reihe. Nach 4stündigem Kochen von IXa (Smp. 211—213°) mit konz. Salzsäure unter Rückfluss kristallisierte das Dihydrochlorid aus, welches nach Verdünnen der Lösung mit Äthanol abgenutscht wurde. Durch Kristallisation aus Äthanol wurden Blättchen, Smp. 265—267° Zers. erhalten.

$\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{ON}_2\text{Cl}_2$	Ber. C 48,71	H 8,92	N 10,33%
	Gef. „ 48,50	„ 8,85	„ 10,31%

A-Reihe. Die analoge Hydrolyse des Isomeren vom Smp. 165—167° lieferte ein in Alkohol leichter lösliches Dihydrochlorid, Smp. 246—256° unter Zers.

$\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{ON}_2\text{Cl}_2$	Ber. C 48,71	H 8,92	N 10,33%
	Gef. „ 48,68	„ 8,98	„ 10,34%

1-Cyclohexenyl-1, 2-diamino-3-oxy-propan-dihydrobromid (XIII). 3 g IXa (B-Reihe) Smp. 212–214°, wurden mit 30 cm³ 48-proz. Bromwasserstofflösung während 4½ Stunden im Ölbad auf 140–150° erhitzt. Die braune Lösung wurde zur Trockne verdampft und der Rückstand aus Äthanol umkristallisiert. Die erhaltenen 1,95 g (55%) Kristalle wurden nochmals aus Äther umkristallisiert, Smp. 272–274° Zers.

$C_9H_{20}ON_2Br_2$ Ber. C 32,55 H 6,07 N 8,44 Br 48,13%
Gef. „ 32,53 „ 5,95 „ 8,54 „ 48,13%

Triacetylderivat. Durch Acetylierung der freien Base aus obiger Verbindung mit Acetanhydrid und Pyridin wurde die Triacetyl-Verbindung erhalten, welche nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton bei 227–228° schmolz.

$C_{15}H_{24}O_4N_2$ Ber. C 60,79 H 8,16 N 9,45%
Gef. „ 60,74 „ 7,94 „ 9,20%

7, 8-Bis-acetylamino-6-keto-9-äthoxy-nonansäure (Xa).

A-Reihe. 1 g IXa (Smp. 164–168°) wurde in 22 cm³ alkoholfreiem Chloroform gelöst und unter Kühlung mit Trockeneis-Aceton die berechnete Menge Ozon durchgeleitet, wobei sich das Ozonid kristallin ausschied. Die bei Raumtemperatur klar gewordene Lösung des Ozonids wurde innerhalb 20 Minuten in 5 cm³ Wasser von 95° derart eingetropft, dass das Chloroform laufend verdampfte. Die wässrige Lösung wurde zu einer Suspension von Silberoxyd (aus 6 g AgNO₃) in 5 cm³ Wasser gegossen und unter Rühren tropfenweise mit 3,6 cm³ 1-n. NaOH versetzt. Nach einstündigem Rühren wurde abgenutscht, mit 3,6 cm³ 1-n. HCl versetzt, von wenig AgCl filtriert und zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde 2mal mit heissem Aceton extrahiert. Die Acetonlösungen hinterliessen beim Eindampfen 1,15 g eines hellgelben Sirups, der mit wenig Aceton bei –10° 820 mg (70%) Kristalle, Smp. 92–108°, lieferte. Durch zweimalige Kristallisation aus Aceton wurden Büschel feinsten Nadeln, Smp. 122–124°, erhalten.

$C_{15}H_{26}O_6N_2$ Ber. C 54,53 H 7,93 N 8,48%
Gef. „ 54,24 „ 7,77 „ 8,69%

Methylester (A-Reihe). Obige Ketosäure in Methanol gelöst, wurde mit ätherischer Diazomethanolösung methyliert. Aus Aceton-Äther wurden Kristalle vom Smp. 122–125° erhalten. Kristallisation aus Aceton-Äther lieferte ein mikrokristallines Pulver, Smp. 126–127°.

$C_{16}H_{28}O_6N_2$ Ber. C 55,80 H 8,19 N 8,14%
Gef. „ 55,94 „ 8,14 „ 8,21%

B-Reihe. 1 g IXa (Smp. 211–213°) in 22 cm³ alkoholfreiem Chloroform wurde auf gleiche Weise ozonisiert und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt (1,1 g) wurde aus wenig Aceton umkristallisiert und lieferte 700 mg (60%) Kristalle, Smp. 100–102°. Aus der Mutterlauge kann noch mehr Säure isoliert werden.

$C_{15}H_{26}O_6N_2$ Ber. C 54,53 H 7,93 N 8,48%
Gef. „ 54,62 „ 7,92 „ 8,30%

7, 8-Bis-acetylamino-6-oxy-9-äthoxy-nonansäure (XIa).

A-Reihe. 870 mg Ketosäure Xa (Smp. 121–124°) wurden in 12 cm³ Wasser gelöst und nach Zusatz von 2,7 cm³ 1-n. NaOH mit Raney-Nickel aus 1 g Legierung bei 20° unter Normaldruck hydriert. Nach 3½ Stunden waren 57,7 cm³ (89%) Wasserstoff aufgenommen. Es wurde vom Nickel abgenutscht, mit 2,7 cm³ 1-n. HCl neutralisiert und im Vakuum bei 30° zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde mit Aceton extrahiert und ergab 780 mg eines farblosen Sirups, welcher aus wenig Aceton bei –20° 220 mg Kristalle vom Smp. 152–155° lieferte. Kristallisation aus Aceton-Äther erhöhte den Smp. auf 154–156°.

$C_{15}H_{28}O_6N_2$ Ber. C 54,19 H 8,49 N 8,43%
Gef. „ 53,99 „ 8,37 „ 8,49%

Das in der Mutterlauge verbliebene ölige Isomere konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden.

B-Reihe. 200 mg Ketosäure Xa (Smp. 100—102°) wurden in 4 cm³ Wasser unter Zusatz von 0,65 cm³ 1-n. NaOH mit *Raney*-Nickel aus 200 mg Legierung bei 17° unter Normaldruck hydriert. Innerhalb 3½ Stunden wurden 14,5 cm³ (97%) Wasserstoff aufgenommen. Die analoge Aufarbeitung ergab einen farblosen Sirup, welcher aus wenig Aceton Kristalle vom Smp. 151—154° lieferte. Nach Kristallisation aus Aceton-Äther schmolzen diese bei 154—156° und waren auf Grund des Mischschmelzpunktes identisch mit obiger Substanz.

Reduktion des Methylesters von Xa (A-Reihe). 470 mg des Methylesters (Smp. 126—127°) in 5 cm³ Methanol wurden mit *Raney*-Nickel aus 500 mg Legierung während 1½ Stunden bei 105° und 20 Atm. hydriert. Die Aufarbeitung ergab 430 mg Sirup, aus welchem durch Kristallisation aus Aceton 340 mg feinsten Nadeln, Smp. 104—123°, erhalten wurden. Das Isomerengemisch wurde nicht aufgetrennt.

$C_{16}H_{30}O_6N_2$	Ber. C 55,47	H 8,73	N 8,09%
	Gef. „ 55,46	„ 8,41	„ 8,20%

Obiges Isomerengemisch wurde mit 48-proz. Bromwasserstoffsäure 2 Stunden bei 120°, dann 2 Stunden bei 95° erhitzt. Bei der Aufarbeitung des dunkel gefärbten Reaktionsproduktes konnte nur Ammoniumbromid isoliert werden.

4-Oxymethyl-5-cyclohexenyl-imidazolidon (XIV) (B-Reihe). 2 g Dihydrobromid aus XIII (Smp. 272—274°) wurden in 125 cm³ 10-proz. Sodalösung gelöst und bei 0° Phosgen durchgeleitet, bis die Lösung kongosauer reagierte. Die Lösung wurde neutralisiert, filtriert und stark eingengt. Nach einigem Stehen wurden die ausgeschiedenen Kristalle von XIV abgenutscht und die Mutterlauge zur Trockne verdampft. Durch Extraktion des Rückstandes mit Äthanol wurde noch mehr XIV erhalten. Das Produkt wurde durch Lösen in wenig Methanol und Zusatz von Wasser kristallisiert und lieferte 1,05 g (90%) XIV, Smp. 164—168°. Kristallisation aus Wasser erhöhte den Smp. auf 168—170°.

$C_{10}H_{16}O_2N_2$	Ber. C 61,20	H 8,22	N 14,27%
	Gef. „ 61,38	„ 8,25	„ 14,11%

Acetat von XIV. Obiges Produkt wurde mit Acetanhydrid und Pyridin acetyliert und lieferte ein Acetylderivat, welches nach Kristallisation aus wässrigem Methanol bei 128° schmolz.

$C_{12}H_{18}O_3N_2$	Ber. C 60,48	H 7,61	N 11,76%
	Gef. „ 60,69	„ 7,46	„ 11,85%

4-Oxymethyl-5-(ω -carboxyvaleryl)-imidazolidon (XV) (B-Reihe). 1,2 g XIV (Smp. 166—169°) wurden in 32 cm³ 90-proz. Essigsäure gelöst und unter Eiskühlung mit einem geringen Überschuss an Ozon behandelt. Es wurde bei 60° im Vakuum zur Trockene verdampft und der schaumige Rückstand in 10 cm³ Wasser gelöst und 10 Minuten auf 80° erwärmt. Die abgekühlte Lösung wurde mit Silberoxyd (aus 10 g AgNO₃) versetzt und unter Rühren bei 20° 1-n. NaOH zugetropft bis die alkalische Reaktion auf Phenolphthalein bestehen blieb. Nach 2½ Stunden wurde abgenutscht, mit 2-n. HCl eben kongosauer gemacht, filtriert und das klare Filtrat im Vakuum zur Trockene verdampft. Der Rückstand wurde mit viel heissem Aceton extrahiert und die Lösung eingedampft. Der sirupöse Rückstand (1,5 g) wurde in wenig heissem wässrigem Aceton aufgenommen. Beim Abkühlen schieden sich 530 mg (35%) Nadeln, Smp. 148—152°, aus. Nochmalige Kristallisation aus Wasser erhöhte den Schmelzpunkt nicht. Die Substanz war hygroskopisch und wurde zur Analyse 24 Stunden über Calciumchlorid im Exsikkator getrocknet.

$C_{10}H_{16}O_5N_2$	Ber. C 49,17	H 6,60	N 11,47%
	Gef. „ 49,07	„ 6,74	„ 11,32%

Benzyl-oxy-acetaldehyd-diäthylacetal¹⁾. 25 g unter Xylol zerstäubtes Natrium wurden mit 40 cm³ abs. Äther bedeckt und innert 1 Stunde 210 g Benzylalkohol

¹⁾ In Anlehnung an die Vorschrift von *S. Sabatay & D. N. Mira*, loc. cit., hergestellt.

zugetropft. Darauf wurde der Äther abdestilliert und auf dem Drahtnetz gekocht, bis alles Natrium reagiert hatte. Es wurde mit 165 cm³ Bromacetal versetzt und im Ölbad unter Rückfluss gekocht, bis die Reaktionslösung neutral reagierte (8½ Stunden). Die abgekühlte Lösung wurde in 400 cm³ Wasser gegossen, die wässrige Schicht abgetrennt, ausgeäthert, der ätherische Extrakt mit der oberen Schicht vereinigt und über Natriumsulfat getrocknet. Die Destillation bei 10 mm ergab neben etwas unverändertem Benzylalkohol 150,5 g (62%) Acetal, Sdp. 132–140°, $n_D^{19} = 1,488$.

Benzyloxy-acetaldehyd (IVb). 57,5 g des obigen Acetals wurden mit 142 cm³ Aceton, 57 cm³ Wasser und 1,5 cm³ 2-n. HCl unter Durchleiten von Stickstoff auf dem Dampfbad unter Rückfluss erhitzt. Nachdem die Lösung homogen geworden war (ca. 20 Minuten), wurde das Aceton langsam abdestilliert und dann noch weitere 1½ Stunden erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde zwischen Äther und Wasser verteilt, die ätherische Lösung über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Die Fraktionierung bei 10 mm ergab 25 g (87%) Aldehyd, Sdp. 108–114°, $n_D^{17} = 1,5372$, neben höher siedenden Anteilen und einem dickflüssigen Rückstand.

1-Nitro-1-cyclohexenyl-2-oxy-3-benzyloxy-propan (VIb). 4 g Nitromethylcyclohexen wurden mit einer Lösung von 112 mg Kalium in 5,6 cm³ Äthanol und 1 cm³ Wasser versetzt. Unter Rühren und Aussenkühlung wurden langsam 4,3 g Benzyloxy-acetaldehyd zugetropft. Nach 40stündigem Stehen bei 20° wurde mit Eis und 0,5 cm³ Eisessig versetzt, eingengt und mit Äther ausgeschüttelt. Nach Waschen des Äthers mit KHCO₃-Lösung und Wasser wurde über Natriumsulfat getrocknet, eingedampft und das hintergebliebene Öl in Äther gelöst. Beim Versetzen mit Petroläther schieden sich 2,6 g Kristalle vom Smp. 92–93° aus. Die Mutterlauge, welche das ölige Isomere enthielt, hinterliess nach dem Eindampfen und Trocknen im Hochvakuum bei 110° 3,4 g Öl, welches nicht kristallisierte. Die Ausbeute an kristallisiertem Isomerem betrug zwischen 26 und 39%.

$C_{11}H_{21}O_4N$	Ber. C 65,96	H 7,27	N 4,81%
	Gef. „ 66,09	„ 7,03	„ 4,82%

1-Nitro-1-cyclohexenyl-2-acetamino-3-benzyloxy-propan (VIIIb). 40 g Nitroalkohol VIb (Smp. 92–93°) wurden mit 70 cm³ Acetylchlorid unter Feuchtigkeitsausschluss 1 Stunde auf dem Dampfbad unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Eindampfen im Vakuum hinterblieben 45,7 g Öl, die nicht kristallisierten. Diese wurden in 100 cm³ Dioxan gelöst und unter Rühren und Einleiten von Ammoniak innerhalb 30 Minuten zu 150 cm³ mit Ammoniak gesättigtem Dioxan zugetropft. Nach weiterem Einleiten von Ammoniak während 2½ Stunden wurde abgenutscht, der überschüssige Ammoniak im Vakuum abgesaugt und die Lösung des Nitroamins mit 140 cm³ Acetanhydrid unter Kühlung versetzt. Nach Stehen bei 20° während 15 Stunden wurde im verminderten Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand in Äther aufgenommen. Es schieden sich sofort 41,7 g (91%) feine Nadeln, Smp. 106–115°, ab. Aus der mit KHCO₃-Lösung und Wasser gewaschenen Mutterlauge konnte nach Trocknen über Natriumsulfat noch wenig Material gewonnen werden. Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Essigester-Äther (1:1) kann ein Isomeres vom Smp. 104° rein abgeschieden werden.

$C_{18}H_{24}O_4N_2$	Ber. C 65,05	H 7,28	N 8,43%
	Gef. „ 65,22	„ 7,03	„ 8,25%

1-Cyclohexenyl-1,2-bis-acetyl-amino-3-benzyloxy-propan (IXb). 84 g amalgamiertes Aluminiumgriess unter 100 cm³ Äther wurden mit 25 g VIIIb in 100 cm³ Methanol versetzt. Nach tropfenweiser Zugabe von 170 cm³ Wasser wurde 3 Stunden unter Rückfluss gekocht, über Nacht stehengelassen und vom Aluminiumhydroxyd abfiltriert. Letzteres wurde gründlich mit Methanol ausgekocht und die Auszüge zur Trockne verdampft. Das verbliebene Öl wurde in Äther-Chloroform aufgenommen, wobei etwas Acetamid ungelöst blieb. Dieses wurde durch Ausschütteln mit Wasser entfernt. Die Äther-Chloroform-Schicht wurde mit 20 cm³ Acetanhydrid versetzt und einige Zeit stehengelassen. Nach dem Eindampfen zur Trockne im Vakuum und Behandeln

des Rückstandes mit Äther kristallisierten 11,9 g IXb, Smp. 138—150°. Durch wiederholte Kristallisation aus Essigester kann das Isomergemisch in Prismen vom Smp. 165—166° und Nadeln vom Smp. 164—166° getrennt werden. Der Mischschmelzpunkt beider Isomeren liegt bei 146—161°. Analyse der Prismen:

$C_{20}H_{28}O_3N_2$	Ber. C 69,73	H 8,20	N 8,13%
	Gef. „ 69,46	„ 8,23	„ 8,14%

1-Cyclohexenyl-1,2-bis-acetylamino-3-acetoxy-propan (XVI). 5 g IXb (Isomergemisch vom Smp. 138—150°) wurden mit einem Gemisch von 25 cm³ konz. Salzsäure und 25 cm³ Wasser während 4 Stunden unter Rückfluss gekocht. Die mit Wasser verdünnte Lösung wurde ausgeäthert und im Vakuum zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde mit 10 cm³ Acetanhydrid und 2,6 g wasserfreiem Natriumacetat 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt und im Vakuum wieder zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde zwischen Chloroform und Wasser verteilt, die Chloroformlösung mit KHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das rohe Acetylierungsprodukt wurde in 30 cm³ heissem Aceton gelöst. Beim Erkalten schieden sich 0,75 g Kristalle, Smp. 227—228°, aus, welche mit dem aus IXa (B-Reihe) hergestellten Triacetylderivat identisch waren. Die Mutterlauge lieferte nach Eindampfen und Wiederaufnehmen in Äther 1,3 g Substanz (A-Reihe), welche nach Kristallisation aus Aceton-Äther bei 155—157° schmolz. Durch Nachacetylierung der Mutterlauge konnten noch 200 mg vom Smp. 157—165° erhalten werden.

$C_{15}H_{24}O_4N_2$	Ber. C 60,79	H 8,16%
	Gef. „ 61,05	„ 8,05%

7,8-Bis-acetylamino-6-keto-9-benzyloxy-nonansäure (Xb). 3,3 g IXb wurden in Chloroform wie üblich ozonisiert und aufgearbeitet. Nach der Nachoxydation mit Silberoxyd und Ansäuern mit verd. Salzsäure wurde die Ketosäure aus der wässrigen Lösung mit Chloroform extrahiert. Die getrocknete und eingedampfte Chloroformlösung lieferte 3,6 g eines farblosen Sirups, aus welchem durch Kristallisation aus Essigester 2,9 g (75%) feinste Nadeln vom Smp. 104—110° erhalten wurden. Mehrmaliges Umkristallisieren aus Aceton oder Essigester erhöhte den Smp. auf 124—126°.

$C_{20}H_{28}O_6N_2$	Ber. C 61,21	H 7,19	N 7,14%
	Gef. „ 61,35	„ 7,46	„ 6,89%

Methylester. 690 mg Ketosäure Xb vom Smp. 100—110° in 3 cm³ Methanol wurden mit ätherischer Diazomethanlösung verestert. Aus Aceton-Äther wurden 660 g Nadeln, Smp. 106—124° erhalten. Hieraus konnte durch weitere Kristallisation aus Aceton-Äther das eine Isomere, Smp. 124—125°, isoliert werden.

$C_{21}H_{30}O_6N_2$	Ber. C 62,05	H 7,44	N 6,89%
	Gef. „ 62,16	„ 7,52	„ 6,91%

7,8-Bis-acetylamino-6-keto-9-oxy-nonansäure (XVII). 500 mg Keto-säure Xb, Smp. 104—110°, wurden in 10 cm³ Methanol mit 350 mg vorhydrierter 20-proz. Palladiumkohle bei 20° hydriert. Nach 3½ Stunden war ein Mol. Wasserstoff aufgenommen. Die Aufarbeitung gab die Oxy-ketosäure als farbloses Öl, welches nicht kristallisierte. Die Hydrierung des Natriumsalzes in Wasser über Raney-Nickel bei 70° und 115 Atm. lieferte unter Toluolabspaltung einen wasserlöslichen Sirup, der nicht kristallisierte.

Reduktion des Methylesters von Xb. 610 mg Methylester wurden analog mit 450 mg Palladiumkohle bei 20° hydriert, wobei die theoretische Menge Wasserstoff aufgenommen wurde. Die Aufarbeitung lieferte 390 mg Oxy-ketosäureester als Sirup. Dieser lieferte mit Dinitrophenylhydrazin-sulfat ein Dinitrophenylhydrazon. Aus Methanol gelbe Nadeln, Smp. 206—213°, unter Zers.

$C_{20}H_{28}O_9N_6$	Ber. C 48,38	H 5,89	N 16,93%
	Gef. „ 48,03	„ 6,13	„ 16,53%

2-(ω-Carboxybutyl)-3,4-bis-acetylamino-tetrahydrofuran (XVIII). Bei der Weiterhydrierung der Oxy-ketosäure XVII über Palladiumkohle wurde langsam

ein weiteres Mol Wasserstoff aufgenommen unter Bildung einer Substanz, welche nach Kristallisation aus Aceton bei 136–148° schmolz. Weitere Kristallisation aus Aceton lieferte ein mikrokristallines Pulver, Smp. 150–152°.

$C_{13}H_{22}O_5N_2$	Ber. C 54,54	H 7,75	N 9,78%
	Gef. „ 54,46	„ 7,75	„ 9,62%

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Organ.-chem. Anstalt, Basel (Leitung *E. Thommen*) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Es wird die Synthese von Derivaten der diastereomeren 7,8-Diamino-6-keto-9-oxy-nonansäuren nach dem früher mitgeteilten Verfahren beschrieben.

Diese Verbindungen liessen sich nicht durch Überbrückung der C-Atome 6 und 9 durch Schwefel in Thiophanderivate überführen. Dagegen gelingt die Überführung in Tetrahydro-furanderivate vom Typus des Oxybiotins nach zum Teil bekannten Verfahren.

Die 7,8-Bis-acetylamino-6-keto-9-äthoxy-nonansäure liess sich zur entsprechenden Oxsäure reduzieren.

Die Biotinaktivität einiger der hergestellten Verbindungen wurde gemessen.

Organisch-chemische und Pharmazeutische Anstalten
der Universität Basel.

229. Die Struktur der Acetylderivate des β -Aminocrotonsäure-äthylesters

von C. A. Grob.

(30. VIII. 50.)

Für eine Untersuchung auf einem anderen Gebiete wurde das Ultraviolett-Spektrum des β -Acetylamino-crotonsäure-esters (Ia), welcher theoretisch in einer cis- und in einer trans-Form auftreten kann, benötigt. Die Durchsicht der Literatur ergab, dass bis heute zwei Acetylderivate des β -Aminocrotonsäure-äthylesters (Ib) beschrieben worden sind. Das eine vom Smp. 63° wurde erstmals von *Canzoneri & Spica*¹⁾ aus Acetessigester und Acetamid in Gegenwart von Aluminiumchlorid erhalten und als Ia formuliert. Später erhielt *Collie*²⁾ dieselbe Verbindung aus Aminocrotonsäure-äthylester (Ib) und Acetanhydrid.

¹⁾ *Canzoneri & Spica*, G. **14**, 491 (1884).

²⁾ *J. N. Collie*, A. **226**, 294 (1884).