

## 18. Zur Kenntnis des Muscazons

24. Mitteilung über Inhaltsstoffe von Fliegenpilzen<sup>1)</sup>

von R. Reiner<sup>2)</sup> und C. H. Eugster<sup>3)</sup>

(24. XI. 66)

Isolierung und Charakterisierung von Muscazon aus frischen Fruchtkörpern des Fliegenpilzes (*Amanita muscaria* (L. ex FR.) HOOKER) haben wir in der 19. und 20. Mitteilung dieser Reihe beschrieben [5] [4]. Auf Grund von Analysen und physikalischen Daten wurde Struktur **1** postuliert [3]. Demnach ist Muscazon eine neuartige  $\alpha$ -Aminosäure, und zwar ein durch einen 2(3H)-Oxazolone-Rest C-substituiertes Glycin. Nachstehend legen wir die Ergebnisse der *chemischen* Strukturaufklärung vor, welche in vollem Einklang mit **1** stehen und darüberhinaus Einblicke in die Ummwandlungsmöglichkeiten dieses Systems geben.

Muscazon gibt als  $\alpha$ -Aminocarbonsäure einen blauen Kupfer(II)-Komplex ( $C_{10}H_{10}O_8N_4Cu$ , Zers.  $> 230^\circ$ ); die Oxydation mit Ninhydrin liefert 1,02 Moläqu.  $NH_3$  und die VAN-SLYKE-Reaktion 1,2 Moläqu.  $N_2$ . Mit starker Salzsäure kann das kristallisierte Muscazon-monohydrochlorid,  $C_8H_7ClO_4N_2$ , Smp.  $156-158^\circ$ , erhalten werden. Die Aminogruppe des Muscazons lässt sich unter SCHOTTEN-BAUMANN-Bedingungen normal acylieren; so wurden hergestellt: N-Acetylderivat **2a** ( $C_7H_8O_5N_2$ , Smp.  $149-150^\circ$  (Zers.)); N-Benzoylderivat **2b** ( $C_{12}H_{10}O_5N_2$ , Smp.  $182^\circ$  (Zers.)); Methylester (Smp.  $155^\circ$ ) und N-Benzoxycarbonyl-muscazon **2c** ( $C_{13}H_{12}O_6N_2$ , Smp.  $160^\circ$ ; Methyl-ester Smp.  $158-159^\circ$ ). Hingegen verlief die DAKIN-WEST-Reaktion abnormal, unter Umlagerung, über die wir später zu publizieren gedenken.

Die Oxazolondoppelbindung in **1** liess sich unschwer katalytisch hydrieren. Neben einigen noch nicht weiter untersuchten Nebenprodukten bildete sich daher als Hauptprodukt *erythro*-Dihydromuscazon **3**,  $C_8H_8O_4N_2$ , Smp.  $186^\circ$  (Zers.). Es ist in Wasser viel leichter löslich als das Ausgangsmaterial, gibt mit Ninhydrin auf Papier, im Gegensatz zur gelben Reaktion des Muscazons, einen graubraunen Fleck, der nach wenigen Stunden violett wird, und verhält sich auch sonst wie eine normale  $\alpha$ -Aminocarbonsäure: dunkelblauer Kupferkomplex, Smp.  $195-197^\circ$ ; Bildung von 0,96 Moläqu.  $NH_3$  bei der Oxydation mittels Ninhydrin und von 1,03 Moläqu.  $N_2$  bei der VAN-SLYKE-Bestimmung; Bildung der N-Benzoxycarbonyl-Verbindung (**5**),  $C_{13}H_{14}O_6N_2$ , Smp.  $177-178^\circ$ ; sowie *normale* DAKIN-WEST-Reaktion mit Essigsäureanhydrid-Pyridin in der Wärme unter Bildung von **6** ( $C_8H_{12}O_4N_2$ , Smp.  $195^\circ$  (Zers.)), einem Produkt, das sich bei Erhitzen oder Lösen in Trifluoressigsäure bzw. Thionylchlorid zum substituierten Oxazolyl-oxazolone **7** ( $C_8H_{10}O_3N_2$ , Smp.  $195^\circ$ ) cyclisieren lässt.

Als strukturbeweisend für **1** und **3** erwies sich die saure Hydrolyse an **3**: Während im Gegensatz zu seinen N-Acylderivaten Muscazon selbst erstaunlich hydrolysenbeständig ist und erst beim Rückflusskochen mit starker Salzsäure oder mit 2N NaOH

<sup>1)</sup> 23. Mitteilung [1]; 22. Mitteilung [2]; 21. Mitteilung [3]; 20. Mitteilung [4]; 19. Mitteilung [5].

<sup>2)</sup> Auszug aus der Inaugural-Dissertation von ROLAND REINER, Universität Zürich 1966.

<sup>3)</sup> Autor, an den diese Arbeit betreffende Korrespondenz zu richten ist.



$\text{CO}_2$  und  $\text{NH}_3$  (gef. 0,88 Moläqu.) abspaltet, daneben aber keine weiteren, leicht identifizierbaren Hydrolyseprodukte liefert, konnte aus **3** nach saurer Hydrolyse (Bildung von 0,92 Moläqu.  $\text{CO}_2$ ) die racemische *erythro*- $\alpha,\gamma$ -Diamino- $\beta$ -hydroxy-buttersäure als Dihydrochlorid **8** kristallisiert gefasst werden:  $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{O}_3\text{N}_2$ , Smp.  $208^\circ$  (Zers.) (Ninhydrinreaktion auf dem Papier grün  $\rightarrow$  violett), gibt mit Kupfercarbonat einen dunkelblauen Kupfer-Komplex (Smp.  $161^\circ$  (Zers.)). Die Base von **8** verbraucht innert 5 Min. 2,5 Moläqu. Perjodat und nach 6 Std. insgesamt 2,84 Moläqu., wogegen das Ausgangsmaterial **3** 0,26 Moläqu. innert 5 Min. und 0,78 Moläqu. erst nach 24 Std. aufgenommen hatte. Der direkte Vergleich des aus **8** gewonnenen Monopikrates  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{O}_{10}\text{N}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , Smp.  $193\text{--}195^\circ$  (Zers.), des N,N'-Dibenzoylderivates **9a** ( $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2$ , Smp.  $167^\circ$  (Zers.)) und des N,N'-Dibenzoyl-Methylesters **9b** ( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{N}_2$ , Smp.  $160^\circ$  (Zers.)) mit authentischen Präparaten, die uns von J. SICHER (Prag) überlassen worden waren<sup>4)</sup>, stellte Struktur und Konfiguration von **8** und damit auch von **3** sicher.

Somit hat sich bei der Hydrierung von **1** die Wasserstoffanlagerung vorwiegend von der am wenigsten gehinderten Seite her vollzogen<sup>5)</sup>.

Bei der Hydrolyse von papierelektrophoretisch einheitlichem, aber nicht umkristallisiertem Dihydromuscazon konnte aus den Mutterlaugen von **8** auch das isomere Dihydrochlorid **10** der *threo*- $\alpha,\gamma$ -Diamino- $\beta$ -hydroxy-buttersäure in 5–15% Ausbeute isoliert werden [ $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{O}_3\text{N}_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ , Smp.  $170\text{--}180^\circ$  (Zers.); Monopikrat  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{O}_{10}\text{N}_5$ , Smp.  $212\text{--}213^\circ$  (Zers.)], das ebenfalls durch direkten Vergleich mit einem von J. SICHER zur Verfügung gestellten Präparat<sup>4)</sup> eindeutig identifiziert werden konnte. Somit enthielt das rohe Dihydromuscazon **3** etwas isomeres **4**.

Dieser Abbau beweist die für Muscazon postulierte Struktur **1**.

Durch Umsatz des Kupferkomplexes der Base von **8** mit Phosgen in Toluol-Pyridin-KOH konnte Dihydromuscazon **3** in geringer Ausbeute regeneriert werden, so dass unter Berücksichtigung der Arbeiten von SICHER *et al.* [6] eine Totalsynthese von Dihydromuscazon **3** vorliegt.

Bemerkenswert sind einige *Umlagerungen*, die wir bei Acylierungsreaktionen an Muscazon unter nicht SCHOTTEN-BAUMANN-Bedingungen angetroffen haben:

1. Wenn eine Suspension von Muscazon in Eisessig kurz erhitzt und hierauf nach Zusatz von etwas Acetanhydrid 2 Min. unter Rückfluss gekocht wird, so bildet sich die zu **2a** isomere N-Acetyl-Verbindung **11a**,  $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_5\text{N}_2$ ; Smp.  $170\text{--}171^\circ$  (Zers.), die wir nach dem bisher noch nicht dargestellten Grundkörper *N-Acetyl-isomuscazon* nennen. Die Struktur ergibt sich aus der Gegenüberstellung der Eigenschaften der isomeren Acetate **2a** und **11a**, siehe Tabelle.

Das UV.-Spektrum von **11a** liegt genau im Bereich, der für eine  $\beta$ -Alkoxyacrylsäure erwartet werden kann; vgl. [7].

Die Verschiebung in den IR.-Spektren, vor allem der kurzwelligen Carbonylbanden, könnte damit gedeutet werden, dass in **11a** nunmehr ein vinyloges Kohlen-säurederivat vorliegt. Die starke Aciditätsverminderung bei **11a** ist wohl auf den

<sup>4)</sup> Wir danken Herrn Dr. J. SICHER, Tschechische Akademie der Wissenschaften, Prag, auch hier für die lebenswürdige Überlassung (14. 11. 1963) der wertvollen Präparate. Synthese vgl. [6].

<sup>5)</sup> Da Muscazon ein Racemat ist, handelt es sich bei allen hier beschriebenen chiralen Verbindungen ebenfalls um Racemate. Ob **6** *threo*- oder *erythro*-Konfiguration zukommt, ist nicht bestimmt worden.

## Vergleich von N-Acetylmuscazon und N-Acetyl-isomuscazon

|                           | N-Acetylmuscazon <b>2a</b>                                                                                                       | N-Acetyl-isomuscazon <b>11a</b>                                                                                                                            |
|---------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $pK_{MCS}^*$              | 4,51                                                                                                                             | 5,70                                                                                                                                                       |
| $\lambda_{max}$ (Äthanol) | 212 nm, $\epsilon = 9450$                                                                                                        | 242 nm, $\epsilon = 11350$                                                                                                                                 |
| IR. (KBr)                 | 1736, 1706, 1661 $cm^{-1}$                                                                                                       | 1783 ( <i>sh</i> ), 1770, 1715, 1661 $cm^{-1}$                                                                                                             |
| Massenspektrum            |                                                                                                                                  | $m/e$ 156 ( $M - CO_2$ ); 114 ( $M - CH_2CO$ );<br>86 ( $M - CH_2CO - CO$ ); 71 ( $M - CH_2CO$ ,<br>-CO, -NH); 44 ( $CO_2$ ), 43 ( $CH_3CO$ ), 28<br>(CO). |
| NMR.                      |                                                                                                                                  |                                                                                                                                                            |
| (Trifluoressigsäure)      | 2,32 s ( $CH_3$ ); 5,88, d, $J = 8$<br>Hz ( $\geq C-H$ ); 7,11 m ( $=C-H$ );<br>7,94, d, $J = 8$ Hz (NHAc);<br>9,46 s (Ring NH). | 2,43, s ( $CH_3$ ); 4,97, s ( $CH_2$ ), 7,45, s<br>(Ring-NH); 8,20, s (NHAc).                                                                              |

überragenden Einfluss des Sauerstoffs substituenten an der Doppelbindung zurückzuführen<sup>6)</sup>, während die konjugierte Doppelbindung eigentlich eher eine Aciditätssteigerung erwarten liesse.

Bemerkenswert ist die geglückte Rückführung von **11a** in Muscazon durch Hydrolyse mit 4N HCl auf dem Wasserbad, wobei allerdings verschiedene Begleitprodukte entstehen. Damit ist nachgewiesen, dass die exocyclische Doppelbindung von **11a** in die endocyclische Lage zurückverschoben werden kann. Beim Versuch, aus **11a** durch Kochen mit verdünnter Essigsäure **2a** zu erhalten, trat Decarboxylierung (0,55 Mol-äqu.  $CO_2$  nachgewiesen) zu **12** ein,  $C_6H_8O_3N_2$ , Smp. 176–178° (Zers.); eine neutrale Verbindung, deren Massenspektrum mit dem von **11a** – mit Ausnahme des fehlenden Paks bei  $m/e$  44 ( $CO_2$ ) – praktisch übereinstimmt. Im NMR.-Spektrum (Trifluoressigsäure) erscheint das Signal der Ringmethylenprotonen (4,30 ppm) wegen der allylischen Kopplung mit dem neuen Vinylproton (6,20 ppm) nun als Dublett ( $J = 2$  Hz). Das Absorptionsmaximum im UV.-Spektrum ist mit  $\lambda_{max}^{Alkohol}$  239 nm ( $\epsilon = 19500$ ) unerwartet intensiv und langwellig. Es kann mit der vorgeschlagenen Struktur **12** nicht ohne weiteres in Einklang gebracht werden. Vielleicht tritt in verdünnter Lösung eine Enolisierung des Amidcarbonyls zur Iminolform **12a** ein.

Die mässige Ausbeute (40%) bei der Überführung von **1** in **11a** dürfte wahrscheinlich auf die leichte Decarboxylierung von **11a** zurückzuführen sein; zudem kann, wie sich in einem separaten Experiment zeigen liess, der Lactamstickstoff in **11a** durch Kochen mit Essigsäureanhydrid acetyliert werden: **11b**,  $C_6H_{10}O_6N_2$ , farblose Kristalle, Smp. 204° (Zers.). Die Struktur ergibt sich aus den Spektren. Für die Einleitung der Umlagerung der Doppelbindung ist wohl in erster Linie an eine Protonierung der Doppelbindung in  $\beta$ -Stellung zum Sauerstoff zu denken.

2. Beim Versuch, N-Acetylmuscazon **2a** durch Verschieben der endocyclischen Doppelbindung mittels Kochen in Eisessig ins isomere Acetat **11a** überzuführen, trat eine tiefgreifende Umlagerung ein. Als stabiles Endprodukt isolierten wir in etwa 47% Ausbeute die 2-Methylpyrimidin-4-carbonsäure,  $C_6H_6O_2N_2$ , Smp. 204–206° (Zers.)  $pK_{MCS}^*$  4,40;  $\lambda_{max}$  262/300 nm,  $\epsilon = 4510/460$ ; IR.: 1709  $cm^{-1}$  (COOH); NMR.: 3,24 (s,  $CH_3$ ), 8,65 (d,  $J = 6$  Hz, C-5-H), 9,40 ppm (d,  $J = 6$  Hz, C-6-H). Da diese

<sup>6)</sup> Vgl. ein verwandtes Beispiel von PRELOG & GERLACH in [8].

Säure offenbar noch nicht bekannt war, synthetisierten wir ein Vergleichsmuster aus Äthoxymethylen-brenztraubensäure-methylester und Acetamidin-hydrochlorid nach bekannter Methode. Synthese- und Umlagerungsprodukt erwiesen sich als identisch.

Falls es sich bei der Umlagerung zu einem Pyrimidinderivat um eine intramolekulare Reaktion handelt und nicht um eine Resynthese aus Bruchstücken, kann zur Deutung folgende Reaktionsfolge angenommen werden: Öffnung des Oxazonrings, Verschiebung der Doppelbindung, Decarboxylierung der entstehenden Carbonsäure, intramolekulare nucleophile Addition der primären Aminogruppe an die Acetylgruppe und Wasserabspaltungen.

3. Bei der Acetylierung von Muscazon mit Acetanhydrid-Pyridin in der Wärme (90–100°; DAKIN-WEST-Bedingungen) entstand in ca. 50% Ausbeute eine weitere, farblose Carbonsäure,  $C_{10}H_{12}O_5N_2$ , Smp. 230° (Zers.), die ein langwelliges UV.-Spektrum ( $\lambda_{max}$  215/286 nm,  $\epsilon = 17080/9860$ ) aufweist. Wir hoffen später, auf die Struktur dieser Verbindung und ihrer Umwandlungsprodukte zurückzukommen.

Die besondere Reaktivität des 2(3H)-Oxazolonsystems ist auf den ausgesprochen nucleophilen Charakter der O,N-disubstituierten C–C-Doppelbindung zurückzuführen. 2(3H)-Oxazolone stellen ja cyclische Urethane eines Aza-endiol-Systems dar.

Wir danken den Herren Dr. G. F. R. MÜLLER und R. GOOD für die Isolierung des Muscazons. Einige Derivate (**2b**, **2c**, **2d**, **2e**, **3**, **5**) sind zudem von Herrn Dr. MÜLLER bei der ersten Charakterisierung 1962 hergestellt worden. Der Firma J. R. GEIGY danken wir für Mithilfe bei der Beschaffung der Fliegenpilze und bei deren Aufarbeitung.

## Experimenteller Teil

*Vorbemerkung:* Die IR.-Spektren wurden an einem PERKIN-ELMER-Spektrographen, Modell 21 mit NaCl-Optik, die UV.-Spektren an einem UNICAM-Spektrophotometer mit Prisma aus synthetischem Quarz und die NMR.-Spektren an einem VARIAN-A-60-MHz-Spektrometer mit Tetramethylsilan als internem Standard aufgenommen. Resonanzpositionen sind in  $\delta$ -Einheiten (ppm) angegeben. Massenspektren wurden am CH-4-Gerät (ATLAS) von den Herren Dr. M. HESSE und N. BILD aufgenommen. Die Smp. wurden in offenen Kapillaren bestimmt und sind nicht korrigiert. Herrn H. FROHOFER und Mitarbeiterinnen danken wir für Verbrennungsanalysen,  $pK_{MCS}^*$ -Bestimmungen und Infrarotaufnahmen.

Eine eingehende Diskussion von UV.-, IR.-, NMR.- und Massenspektren wird in der Dissertation von R. REINER gegeben.

1. *Reinigung von Rohmuscazon:* 4,8 g Rohmuscazon aus Ernte 1961 [4] [5] wurden in warmem Wasser gelöst und die Lösung hierauf durch eine Säule von 20 g  $Al_2O_3$  (WOELM, neutral) filtriert. Die farblosen, muscazonhaltigen Eluate wurden im Vakuum eingengt und zur Kristallisation gebracht. Ausbeute 3,7 g farbloses Muscazon mit den früher beschriebenen Eigenschaften.

2. *Analytische Bestimmungen am Muscazon 1.* – 2.1. VAN-SLYKE-Bestimmung: Gef. 10,55% N, entspr. 1,2  $NH_2$ ; ber. 8,85% N.

2.2.  $NH_3$ -Bildung bei der Ninhydrinreaktion: 20 mg Muscazon wurden in 6 ml Citratpuffer (pH 2,5) mit 1 g Ninhydrin 15 Min. auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Zugabe von 2 ml  $H_2O_2$  (30-proz.) zur Oxydation von überschüssigem Ninhydrin wurde mit KOH alkalisiert und das Gemisch in der WIESENBERGER-Apparatur destilliert.  $NH_3$  wurde wie üblich durch Titration bestimmt: Gef. 1,82 Moläqu.  $NH_3$ . Da bei der Hydrolyse von Muscazon mit 2N NaOH 0,80 Moläqu.  $NH_3$  entstehen, sind also bei der Ninhydrinreaktion 1,02 Moläqu.  $NH_3$  abgespalten worden.

2.3. *Saure Hydrolyse:* 300 mg **1** wurden in 10 ml 35-proz. HCl 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Die dunkelbraune Lösung wurde eingedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und diese Lösung durch  $Al_2O_3$  (WOELM, sauer) filtriert. Nach Eindampfen und Vakuumsublimation 90 mg (0,88 Moläqu.)  $NH_4Cl$  (IR.-Spektrum, NESSLER-Reaktion).

2.4. *Alkalische Hydrolyse*: 60 mg **1** in 5 ml 2N NaOH wurden 90 Min. in der WIESENBERGER-Apparatur gekocht. Im Destillat wurden 0,80 Moläqu.  $\text{NH}_3$  durch Titration festgestellt. Identifikation erfolgte durch Sublimation des Hydrochlorides wie oben.

3. *Muscasonderivate*. – 3.1. *Kupferkomplex*: durch Erhitzen von **1** mit Kupfercarbonat in Wasser. Auskristallisation aus der filtrierten Lösung als blauviolett Pulver (51% der Theorie), Smp.  $> 230^\circ$  (Zers.). Getrocknet bei  $50^\circ/0,01$  Torr.

$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_8\text{N}_4\text{Cu}$  (377,76) Gef. N 14,78% Ber. N 14,83%

3.2. *Hydrochlorid*: durch Lösen von **1** in konz. HCl und Eindampfen der Lösung i. V. Umkristallisation aus Äthanol-Äther (69%); Smp.  $156\text{--}158^\circ$  (Zers.). Getrocknet bei  $45^\circ/0,01$  Torr.

$\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_4\text{N}_2\text{Cl}$  Ber. C 30,86 H 3,62 N 14,39 Cl 18,22%  
(194,58) Gef. „ 31,13 „ 3,77 „ 14,44 „ 18,13%

3.3. *N-Acetylmuscason 2a*: 0,50 g Muscason wurden unter Eiskühlung in 2,5 ml 2,5N NaOH gelöst und die Lösung unter ständigem Rühren und Kühlen tropfenweise mit 0,50 ml (1,55 Mol) Essigsäureanhydrid und 3,5 ml 2,5N NaOH alternierend versetzt. Nach 3 Std. Rühren folgte Zugabe von konz. HCl bis pH 1, Sättigen mit Salz und erschöpfende Extraktion mit Essigester. Vereinigte Extrakte mit Sole waschen, über  $\text{Mg SO}_4$  trocknen und eindampfen. Der erhaltene Sirup kristallisierte aus Benzol: 225 mg (36%); Smp.  $149\text{--}150^\circ$  (Zers.). Trocknen bei  $25^\circ/0,01$  Torr.  $pK_{\text{MCS}}^* = 4,51$ , gef. Äqu.-Gew. 195.

$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_5\text{N}_2$  (200,15) Ber. C 42,00 H 4,03 N 14,00% Gef. C 42,12 H 4,18 N 14,00%

3.4. *N-Benzoylmuscason 2b*: Aus 0,20 g **1** in 3 ml 2,5N NaOH wurden mit 210 mg Benzoylchlorid nach dem oben beschriebenen Verfahren 254 mg (77%) N-Benzoylderivat erhalten. Umkristallisation aus Äthanol-Wasser, Smp.  $182^\circ$  (Zers.).

$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_5\text{N}_2$  (262,32) Ber. C 54,96 H 3,84 N 10,68% Gef. C 55,14 H 3,87 N 10,76%

3.5. *N-Benzoylmuscason-methylester 2d*: Aus **2b** mit  $\text{CH}_3\text{N}_2$  in Methanol hergestellt. Farblose Kristalle aus Methanol, Smp.  $155^\circ$  (Zers.).

$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_5\text{N}_2$  Ber. C 56,52 H 4,38 N 10,40  $\text{OCH}_3$  11,23%  
(276,25) Gef. „ 56,31 „ 4,50 „ 10,26 „ 11,46%

3.6. *N-Benzoxycarbonyl-muscason 2c*: Aus 100 mg **1** in 0,14 ml 4N NaOH mit 105 mg  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCOCl}$  und 0,17 ml 4N NaOH wurden wie oben beschrieben 45 mg (24%) an umkristallisiertem (Äthanol-Äther) **2c** erhalten; Smp.  $160^\circ$  (Zers.). Getrocknet bei  $70^\circ/0,02$  Torr.

$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{N}_2$  (292,24) Ber. C 53,43 H 4,14 N 9,59% Gef. C 53,23 H 4,35 N 9,43%

3.7. *N-Benzoxycarbonylmethylester 2e*: Aus **2c** hergestellt mit  $\text{CH}_3\text{N}_2$  in Methanol. Kristalle aus Essigester, Smp.  $158\text{--}159^\circ$ ; MG gef. 311,4 (vaporometrisch in Essigester<sup>7)</sup>).

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_6\text{N}_2$  Ber. C 54,90 H 4,61 N 9,15  $\text{OCH}_3$  10,15%  
(306,27) Gef. „ 55,16 „ 4,83 „ 8,92 „ 10,45%

4. *Erythro-Dihydromuscason 3*. – 4.1. *Darstellung*. 1 g Muscason wurde mit 500 mg 10-proz. Pd-Kohle-Katalysator in 250 ml Wasser hydriert. Nach Aufnahme von 1,09 Moläqu.  $\text{H}_2$  (153 Min.) stand die Hydrierung still. Nach Filtration und Eindampfen wurde aus Wasser-Aceton kristallisiert: 910 mg *erythro-Dihydromuscason*, Smp.  $186^\circ$  (Zers.). Getrocknet bei  $60\text{--}80^\circ/0,01$  Torr.

$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4\text{N}_2$  (160,13) Ber. C 37,50 H 5,04 N 17,50% Gef. C 37,35 H 5,29 N 17,59%

VAN-SLYKE-Bestimmung gef. 1,03  $\text{NH}_2$ , ber. 1  $\text{NH}_2$ ; Ninhydrinreaktion gef. 0,96 Moläqu.  $\text{NH}_3$ ; Hydrolyse mit kochender 2N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gab innert 2,5 Std. 0,92 Moläqu.  $\text{CO}_2$  (als  $\text{BaCO}_3$  bestimmt).

4.2. *Kupferkomplex von 3*: Aus 50 mg wurden mit Kupfercarbonat durch Erhitzen in Wasser 42 mg dunkelblaue Kristalle erhalten; Smp.  $195\text{--}197^\circ$  (Zers.). Getrocknet bei  $40^\circ/0,01$  Torr.

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{N}_4\text{Cu}, \text{H}_2\text{O}$  (399,80) Ber. N 14,01% Gef. N 14,22%

4.3. *Benzoxycarbonyl-dihydromuscason 5*: Aus 18 mg **3** in 0,5 ml  $\text{H}_2\text{O}$  mit  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCOCl}$  bei pH 9–10 in üblicher Weise. Nach Extraktion der alkalischen Reaktionslösung mittels Äther

<sup>7)</sup> Wir danken Herrn Prof. W. SIMON, ETH, für diese Bestimmung.

wurde mit 1N HCl angesäuert. Das ausgefallene Derivat gab nach Trocknen aus Äther-Petroläther farblose Kristalle (61%) vom Smp. 177–178° (Zers.).

$C_{13}H_{14}O_6N_2$  (294,26) Ber. C 53,06 H 4,80 N 9,52% Gef. C 53,18 H 4,83 N 9,55%

4.4. *DAKIN-WEST-Produkte 6*: 200 mg Dihydromuscason, 5 ml Essigsäureanhydrid und 5 ml Pyridin wurden 30 Min. auf 70–80° erhitzt. Die gelb gewordene Lösung wurde von unverändertem Dihydromuscason filtriert (20 mg) und das Filtrat i. V. eingedampft. Zur Entfernung von Pyridin und Essigsäureanhydrid wurde mehrmals mit Wasser versetzt und eingedampft. Kristallisation des Rückstandes aus Wasser und aus Aceton ergab 100 mg (44% **6**, Smp. 195° (Zers.). Trocknen bei 25°/0,01 Torr.

$C_8H_{12}O_4N_2$  (200,19) Ber. C 47,99 H 6,04 N 13,99% Gef. C 48,11 H 6,03 N 13,71%

5. *Oxazolyl-oxazon 7*. 60 mg **6** wurden in 4 ml Benzol suspendiert und mit 1 ml  $SOCl_2$  unter Eiskühlung versetzt. Durch Erwärmen wurde eine klare Lösung erzeugt. Nach Verdampfen der Lösungsmittel und Kristallisation des Rückstandes aus Aceton 40 mg (74%) **7**, Smp. 195° (Zers.). Auch durch Lösen von **6** in Trifluoressigsäure kann die Wasserabspaltung erreicht werden. Getrocknet bei 50°/0,01 Torr.

$C_8H_{10}O_3N_2$  (182,18) Ber. C 52,74 H 5,53 N 15,38% Gef. C 52,69 H 5,81 N 15,24%

6.  *$\alpha,\gamma$ -Diamino- $\beta$ -hydroxybuttersäuren und Derivate*. – 6.1. Erythro- $\alpha,\gamma$ -diamino- $\beta$ -hydroxybuttersäure-dihydrochlorid **8**: 600 mg papierelektrophoretisch reines, jedoch nicht umkristallisiertes Dihydromuscason wurden mit 35 ml 6N HCl 16 Std. im Bombenrohr auf 120° erhitzt. Das blassgelbe Hydrolysat wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in 1N Essigsäure durch präparative Elektrophorese (BECKMAN, SPINCO; feed rate 4; 30 mA, wick siphon left 9, right 11,5; overflow 10; Fraktionensammler im 12 Std.-Intervall) aufgearbeitet. Als Hauptprodukt wurde die erythro-Säure (Base von **8**), vermischt mit etwas Base von **10**, aber gut abgetrennt von anderen Nebenprodukten, erhalten. Das aus den betreffenden Fraktionen durch Eindampfen erhaltene gelbliche Öl wurde in konz. HCl gelöst und die Lösung mit Äthanol versetzt. Beim Kühlen farblose Kristalle, 437 mg **8** (56%), bez. auf **3**). Nach Umkristallisieren aus HCl-Äthanol Smp. 208° (Zers.). Getrocknet bei 60°/0,01 Torr.

$C_4H_{12}O_3N_2Cl_2$  Ber. C 23,20 H 5,84 N 13,23 Cl 34,25%  
(207,07) Gef. „ 23,07 „ 5,91 „ 13,41 „ 34,06%

6.2. *Kupferkomplex von 8*: 160 mg **8** wurden in Wasser mit Kupfercarbonat erhitzt. Der gewonnene Kupferkomplex lieferte aus Wasser-Äthanol dunkelblaue Kristalle vom Smp. 161° (Zers.).

6.3. *Monopikrat aus 8*: aus 39 mg **8** in etwas Wasser wurde mit gesättigter, wässriger Pikrinsäurelösung unter Zugabe von Äthanol ein Pikrat gefällt, das aus heissem Wasser 23 mg hellgelbe Kristalle vom Smp. 195° (Zers.) ergab. Getrocknet 5 Std. bei 60°/0,02 Torr.

$C_{10}H_{13}O_{10}N_5 \cdot H_2O$  (381,26) Ber. C 31,50 H 3,96 N 18,37% Gef. C 31,70 H 4,00 N 18,46%

6.4. *N,N'-Dibenzoylderivat 9a*. 30 mg **8** in 1 ml 1N NaOH wurde wie üblich mit 53 mg Benzoylchlorid umgesetzt. Nach Aufarbeitung 44 mg **9** (88%). Aus Aceton-Petroläther Kristalle vom Smp. 167° (Zers.). Getrocknet bei 60°/0,01 Torr.

$C_{18}H_{18}O_5N_2$  (342,36) Ber. C 63,15 H 5,30 N 8,18% Gef. C 62,98 H 5,50 N 8,13%

6.5. *N,N'-Dibenzoyl-methylester 9b*: aus 54 mg **9a** in Methanol mit  $CH_3N_3$  in Äther wurde der Methylester **9b** erhalten. Kristalle aus Petroläther, Smp. 160° (Zers.). Getrocknet bei 60°/0,01 Torr.

$C_{18}H_{20}O_5N_2$  Ber. C 64,03 H 5,66 N 7,86%  
(356,38) Gef. „ 64,20 „ 5,74 „ 7,64%

6.6. *Threo- $\alpha,\gamma$ -diamino- $\beta$ -hydroxybuttersäure-dihydrochlorid 10*. Aus den Mutterlaugen der Erythrosäure **8** kristallisierten beim Kühlen und Stehenlassen 70 mg (8,6% bezogen auf Dihydromuscason) farblose, gut ausgebildete, glänzende Blättchen des Dihydrochlorides **10** der threo-Form. Smp. 170–180° (Zers.). Getrocknet 45°/0,01 Torr.

$C_4H_{12}O_3N_2Cl_2 \cdot \frac{1}{2}H_2O$  Ber. C 22,21 H 6,06 O 25,91 N 12,95 Cl 32,80%  
(216,07) Gef. „ 21,79; 21,95 „ 6,32; 6,46 „ 26,26 „ 12,89 „ 32,75%

6.7. Threo-Säure-Pikrat aus **10**: Wie bei **8** dargestellt. Aus Wasser-Äthanol dunkelgelbe Kristalle, Smp. 212–213° (Zers.). Getrocknet 55°/0,01 Torr.

$C_{10}H_{13}O_{10}N_5$  (363,24) Ber. C 33,06 H 3,61 N 19,28% Gef. C 32,74 H 4,09 N 19,76%

7. Perjodatitrationen von Di hydromuscazon und erythro- $\alpha,\gamma$ -Diamino- $\beta$ -hydroxybuttersäure mit 0,505 M  $NaJO_4$ . Rücktitration mit Arsenit. **8** wurde als Dihydrochlorid eingewogen, die Lösung mit  $Ag_2CO_3$  geschüttelt und abzentrifugiert.

| Dauer der Reaktion                  |                 | 5 Min. | 15 Min. | 35 Min. | 24 Std. |
|-------------------------------------|-----------------|--------|---------|---------|---------|
| Perjodatverbrauch<br>Mol/Mol Subst. | Subst. <b>3</b> | 0,26   | 0,26    | 0,26    | 0,78    |
|                                     | Subst. <b>8</b> | 2,54   | 2,58    | 2,75    | 2,84    |

8. Synthese von Dihydromuscazon. Der Kupferkomplex aus 117 mg erythro- $\alpha,\gamma$ -Diamino- $\beta$ -hydroxybuttersäure-dihydrochlorid **8** wurde in 6 ml Wasser gelöst. Nach Zugabe von 1 g KOH wurde die Lösung mit 6 ml Toluol überschichtet und mit 20-proz. Phosgenlösung in Toluol in vier 2-ml-Portionen unter starkem Rühren innert 10 Std. versetzt. Hierauf wurde i. V. eingedampft, der Rückstand in 5 N  $NH_3$  gelöst und die tiefblaue Lösung an DOWEX 50 WX 12 (50–100 mesh, vorbehandelt mit 5 N  $NH_3$ ) chromatographiert. Die Eluate wurden papierelektrophoretisch (Ninhydrin) untersucht. Es liess sich Dihydromuscazon (graubrauner Fleck) neben unverändertem **8** und Spuren von Nebenprodukten nachweisen. Die durch präparative Papierelektrophorese (BECKMAN, SPINCO, wie unter 6 beschrieben) isolierte Dihydromuscazonfraktion wurde aus Wasser-Äthanol kristallisiert (6 mg). Sie erwies sich im IR.-Spektrum, Smp. und Papierchromatogramm mit **3** identisch.

9. N-Acetyl-isomuscazon **11a**. Eine Suspension von 500 mg Muscazon in 6 ml Eisessig wurde ganz kurz zum Sieden erhitzt. Nach 2 Min. setzte man 2 ml Essigsäureanhydrid zu und erhitze erneut zum Sieden. Nach 2 Min. war fast alles Muscazon gelöst und die Mischung war orange-gelb geworden. Nach Filtration (80 mg Ausgangsmaterial) wurde i. V. eingedampft und der Rückstand in Wasser heiss aufgenommen. Beim Kühlen bildeten sich Kristalle, die aus Wasser 210 mg (40%) farbloses Acetylderivat **11a** vom Smp. 170–171° (Zers.) ergaben. Getrocknet bei 50°/0,01 Torr.  $pK_{MCS}^*$  5,70; MG. 200 (Massenspektrum). Physikalische Daten s. Tabelle S. 131.

$C_7H_9O_5N_2$  (200,15) Ber. C 42,00 H 4,03 N 14,00% Gef. C 42,05 H 4,07 N 13,97%

9.1. Saure Hydrolyse von **11a**: 20 mg **11a** wurden in 2 ml 4 N HCl 1 Std. auf dem Wasserbad erhitzt. Im Elektropherogramm waren dann folgende Flecke sichtbar (Ninhydrin): bei 2,0 cm (gelb) = regeneriertes Muscazon; 5,1 cm (gelb) = unbekannte Substanz; 9,2 cm (gelb) = unbekannte Substanz.

9.2. N,N'-Diacetyl-isomuscazon **11b**: 80 mg **11a** wurden in 5 ml Essigsäureanhydrid 1 Std. unter Rückfluss gekocht (die ursprünglich farblose Lösung war gelb geworden). Nach dem Eindampfen und Entfernen des Essigsäureanhydrids durch Abbrauchen mit Benzol, Wasser und Äthanol erhielt man blassgelbe Kristalle, die aus Äthanol 30 mg (37%) farbloses **11b** vom Smp. 204° (Zers.) ergaben MG. 242 (massenspektroskopisch; ber. 242,19).

10. 5-Acetylamidomethylen-oxazolidon-(2) **12**. 100 mg N-Acetyl-isomuscazon **11a** wurden in 5 ml Eisessig (MERCK) 40 Min. unter Rückfluss gekocht; dabei wurden 0,55 Moläqu.  $CO_2$  (als  $BaCO_3$  bestimmt) abgespalten. Nachher wurde die schwachgelbe Lösung im Vakuum eingedampft und der Rückstand aus Wasser kristallisiert: 35 mg (45%) lange dünne, farblose Nadeln, Smp. 176–178° (Zers.). Getrocknet bei 50°/0,01 Torr. Gef. MG 156 (Massensp.).

$C_8H_9O_3N_2$  (156,14) Ber. C 46,15 H 5,16 N 17,94% Gef. C 46,00 H 5,29 N 18,00%

11. 2-Methyl-pyrimidin-4-carbonsäure **13**. – 11.1. Durch Abbau von **2a**: 170 mg N-Acetyl-muscazon **2a** wurden in 6 ml Eisessig (MERCK) 5 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach 2 Std. waren 0,36 Moläqu.  $CO_2$  (als  $BaCO_3$  bestimmt) abgespalten. Das dunkle Reaktionsgemisch wurde hierauf i. V. eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit Norit aufgehellt. Nach erneutem Eindampfen wurde der gelbe Rückstand im liegenden Rohr bei 100–140°/0,001 Torr sublimiert: 55 mg (47%) farblose Kristalle, Smp. 204–206° (Zers.). Zur Analyse wurden sie noch zweimal aus Wasser umkristallisiert. Getrocknet bei 50°/0,01 Torr.  $pK_{MCS}^*$  4,40; gef. Äqu.-Gew.



131. Identifikation mit synthetischem Produkt durch Smp., Misch-Smp. und IR.- und UV.-Spektrum.

$C_6H_8O_2N_2$  (138,12) Ber. C 52,17 H 4,38 N 20,28% Gef. C 52,19 H 4,40 N 20,26%

11.2. *Synthese.* – a) *Äthoxymethylen-brenztraubensäure*: 9,18 g (0,09 Mol) Brenztraubensäuremethylester wurden mit 13,32 g (0,09 Mol) Orthoameisensäure-äthylester und 27,54 g (0,27 Mol) Essigsäureanhydrid 8 Std. unter Rückfluss bei Feuchtigkeitsausschluss gekocht. Nach Abdestillieren (Wasserstrahlvakuum) der bis 70° leicht flüchtigen Anteile wurde der Rückstand bei ca. 70°/0,001 Torr im Kugelrohr destilliert. Ausbeute 18% an blassgelbem Öl.

$C_7H_{10}O_4$  (158,15) Ber. C 53,16 H 6,37% Gef. C 53,03 H 6,11%

b) *2-Methyl-pyrimidin-4-carbonsäure 13*: Zu Äthylat aus 0,290 g Natrium in 12 ml Äthanol wurden bei 0° 0,60 g Acetamidinhydrochlorid und 1,0 g Äthoxymethylen-brenztraubensäuremethylester gegeben. Nach 30 Min. Stehen wurde das Gemisch 30 Min. gekocht. Hierauf wurde es mit Wasser verdünnt, im Vakuum eingeeengt und mittels Äther vom nicht umgesetzten Ester befreit. Nach Ansäuern mit Essigsäure extrahierte man den Pyrimidincarbonsäureester mit Essigester. Nach Eindampfen der Extrakte wurde der Rückstand mit 2N NaOH unter Rückfluss verseift und die Carbonsäure wie üblich isoliert. Aus Wasser farblose Kristalle, Smp. 203–206° (Zers.).

#### ZUSAMMENFASSUNG

Für die aus *Amanita muscaria* (L. ex Fr.) HOOKER isolierte racemische  $\alpha$ -Aminocarbonsäure *Muscazon* wird die Struktur eines [2(3H)-Oxazolonyl-(5)]-glycins chemisch abgeleitet.

Hydrolyse von Dihydromuscazon mit HCl aq. gab *erythro- $\alpha$ , $\gamma$ -Diamino- $\beta$ -hydroxybuttersäure*, die durch Vergleich mit einem von SICHER *et al.* synthetisierten Präparat identifiziert wurde. Dihydromuscazon wurde daraus resynthetisiert.

Bei Reaktionen mit Muscazon traten leicht Umlagerungen ein.

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich  
Rämistrasse 76, 8001 Zürich

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] A. R. GAGNEUX, F. HÄFLIGER, R. MEIER & C. H. EUGSTER, *Tetrahedron Letters* 25, 2081 (1965).
- [2] A. R. GAGNEUX, F. HÄFLIGER, R. GOOD & C. H. EUGSTER, *Tetrahedron Letters* 25, 2077 (1965).
- [3] H. FRITZ, A. R. GAGNEUX, R. ZBINDEN & C. H. EUGSTER, *Tetrahedron Letters* 25, 2075 (1965).
- [4] C. H. EUGSTER, G. F. R. MÜLLER & R. GOOD, *Tetrahedron Letters* 23, 1813 (1965).
- [5] R. GOOD, G. F. R. MÜLLER & C. H. EUGSTER, *Helv.* 48, 927 (1965).
- [6] J. SICHER, M. RAJŠNER, J. RUDINGER, M. ECKSTEIN & F. ŠORM, *Coll. czechoslov. chem. Commun.* 24, 3719 (1959).
- [7] G. ALBERS-SCHÖNBERG & H. SCHMID, *Helv.* 44, 1447 (1961), und weitere Angaben in früheren Arbeiten.
- [8] P. F. SOMMER & W. SIMON, «Zusammenstellung von scheinbaren Dissoziationskonstanten im Lösungsmittelsystem Methylcellosolve-Wasser», Band II, Juris-Verlag, Zürich 1961, S. 12.