

den, so braucht man sie nicht zu isolieren. Es genügt, die Nitroso-Verbindung z. B. mit Hydrazinhydrochlorid in Gegenwart von Raney-Nickel zu reduzieren, die Lösung nach dem Abtrennen vom Bodenkörper direkt in die saure Lösung des Oxidationsmittels zu gießen und nach 1. weiter zu verfahren.

Eingegangen am 25. Januar 1977,  
in veränderter Form am 10. Februar 1977 [Z 670]

CAS-Registry-Nummern:

(1a): 93-05-0 / (1b): 148-71-0 / (1c): 99-98-9 / (1d): 27746-08-3 /  
(4a): 27822-92-0 / (4b): 27822-93-1 / (4c): 5882-48-4 / (4d): 27982-26-9

- [1] M. Borchardt, W. Jaenicke, G. Loos, U. Nickel, unveröffentlicht; M. Borchardt, Dissertation, Universität Erlangen-Nürnberg 1976.
- [2] U. Nickel, K. Kemnitz, W. Jaenicke, unveröffentlicht; J. F. Corbett, J. Chem. Soc. B 1969, 213.
- [3] A. Tockstein, V. Dlask, Collect. Czech. Chem. Commun. 36, 1090 (1971); M. Schellenberg, H. Mollet, Helv. Chim. Acta 54, 2431 (1971).
- [4] U. Nickel, G. Loos, W. Jaenicke, Ber. Bunsenges. Phys. Chem. 78, 1271 (1974).

## Resynthese von Phalloidin und Phallisin aus den Seco-verbindingen<sup>[1]</sup>

Von Eisuke Munekata, Heinz Faulstich und Theodor Wieland<sup>[\*]</sup>

Im Phalloidin (1a) und Phallisin (1b), zwei Inhaltsstoffen des giftigen grünen Knollenblätterpilzes *Amanita phalloides*<sup>[2]</sup>, lässt sich die Peptidbindung zwischen der Hydroxyaminoäure und dem Alanin infolge des Nachbargruppeneffekts der  $\gamma$ -ständigen Hydroxylgruppe durch relativ milde Protonenkatalyse spezifisch spalten. Dabei entstehen die ungiftigen Seco-verbindingen, die als Lactone (2a) bzw. (2b) auftreten. Mit Hydroxid-Ionen gehen sie in die Anionen (3a) bzw. (3b) über. Die Resynthese der Giftstoffe (1a) und (1b) aus (3a) bzw. (3b) betrachten wir als Schlüsselreaktion, da sie 1. den letzten Schritt der Totalsynthese der natürlichen Phallotoxine bilden könnte und 2. den Zugang zu Analogen eröffnete, wenn man das N-terminale Alanin von (2a) in einem Edman-Abbauschritt entfernen und durch beliebige Aminosäuren ersetzen würde. Die interne Peptidverknüpfung gelingt nicht mit langsam wirkenden Methoden (Azid-, Carbodiimid- und Imidazolid-Methode sowie Methode der aktivierten Ester), weil diese den Lactonring zurückbilden. Aber auch mit der rasch wirkenden Methode der gemischten Anhydride, wie sie beim

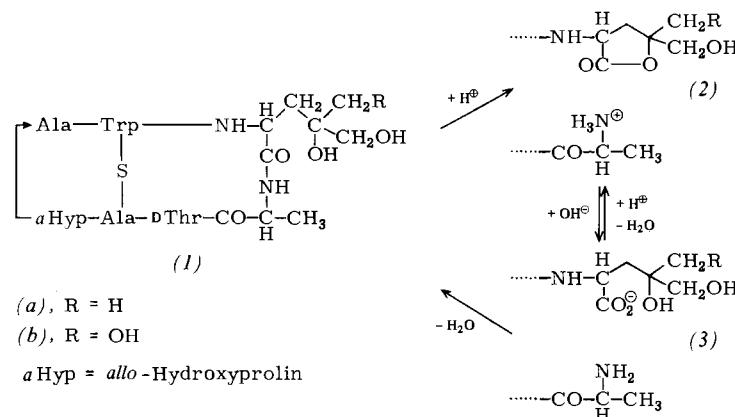
Secoketophalloidin erfolgreich war<sup>[3]</sup>, konnten wir das früher erhaltene (3a) nicht in papierchromatographisch identifizierbare Mengen an (1a) überführen.

Wir fanden jetzt eine besonders milde Methode, um (2a) und (2b) hydrolytisch zu spalten und die Anionen (3a) bzw. (3b) in reinster Form zu gewinnen. Dazu ließen wir (2a) oder (2b) in  $4 \cdot 10^{-3}$  n wäßriger  $\text{NH}_4\text{OH}$  (worin die Hydrolyse nur sehr langsam vor sich geht) durch eine mit Sephadex LH-20 gefüllte Säule laufen. Das als scharfe Fraktion auftretende (3a) bzw. (3b) konnte nach der Methode der gemischten Anhydride (vgl. <sup>[4]</sup>) cyclisiert werden. Aus den Reaktionsgemischen wurden (1a) bzw. (1b) mit etwa 10% Ausbeute isoliert. Beide resynthetischen Toxine waren in allen untersuchten Eigenschaften mit den Ausgangsverbindungen (1a) und (1b) identisch: CD-Spektren wie in <sup>[5]</sup>,  $R_F$  [DC auf Kieselgelplatten Merck 60 F<sub>254</sub> in Chloroform-Methanol-Wasser (65:25:4 v/v)]: (1a)=0.31, (1b)=0.24, UV-Differenzspektren in Gegenwart von Actin wie in <sup>[6]</sup>, Toxizität an der weißen Maus ( $LD_{50}$ ) von (1a): 2 mg/kg, von (1b): 2.5 mg/kg<sup>[2]</sup>.

### Arbeitsvorschriften

Herstellung von (2a) und (3a) aus (1a): Die Lösung von 1.0 g (1.27 mmol) (1a) in 250 ml Trifluoressigsäure + 250 ml Wasser wird 15 h bei 20°C gerührt und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wird an Sephadex G-15 (Säule 5.5 × 184 cm) mit 0.1 N Essigsäure chromatographiert. Von den 27-ml-Fraktionen ergeben Nr. 118–190 nach Abdampfen im Vakuum 780 mg (78%) des Trifluoracetats von (2a). Im Dünnschichtchromatogramm (Bedingungen s.o.) einer konzentriert aufgetragenen Probe ließ sich mit Zimtaldehyd-HCl kein (1a) nachweisen. Zur Umwandlung in (3a) werden 500 mg (2a)-Trifluoracetat (0.63 mmol), gelöst in 0.004 N Ammoniumhydroxid, durch Sephadex LH-20 (Säule 2.2 × 245 cm) geschickt. Beim Eluieren mit dem gleichen Lösungsmittel erscheint (3a) in Nr. 33–80 der 6.5-ml-Fraktionen; nach Abdampfen im Vakuum bleiben 418 mg (82%) (3a) in elektrophoretisch einheitlicher Form zurück.

Cyclisierung von (3a): Die Lösung von 390 mg (0.48 mmol) (3a) in 51 ml Dimethylformamid (DMF) + 38 ml Tetrahydrofuran (THF) wird unter Rühren bei –10°C mit 3.51 ml einer 1proz. Lösung von Trifluoressigsäure in THF und 5 min danach mit 6.63 ml einer 1proz. Lösung von Isobutyloxycarbo-



[\*] Dr. E. Munekata [\*\*], Priv.-Doz. Dr. H. Faulstich, Prof. Dr. Th. Wieland  
[+] Max-Planck-Institut für medizinische Forschung, Abteilung Naturstoff-Chemie  
Jahnstraße 29, D-6900 Heidelberg

[+] Korrespondenzautor.

[\*\*] Alexander-von-Humboldt-Stipendiat (1974–1976).

nylchlorid in THF versetzt. Nach 25 min wird die Lösung rasch in die auf 0°C gekühlte Mischung von 194 ml DMF und 13.3 ml einer 1proz. Lösung von *N*-Methylmorpholin in THF gegossen. Man röhrt 2 h bei 0°C und 12 h bei 20°C. Nach Abdampfen im Vakuum chromatographiert man mit 0.2proz.  $\text{NH}_4\text{OH}$  an Sephadex LH-20 (Säule 2.2 × 245 cm) unter Sammeln von 6.0-ml-Fraktionen. Das letzte Drittel des

ersten UV-absorbierenden Peaks (Nr. 121–170) wird an Sephadex LH-20 (Säule  $1.8 \times 147$  cm) im gleichen Lösungsmittel nochmals chromatographiert. Dabei erscheint in Nr. 38–54 der 7.3-ml-Fraktionen einheitlich (*1a*) (33 mg = 8.7 %), das mit dem ursprünglichen (*1a*) in jeder der oben genannten Eigenschaften identisch ist. – Beide Arbeitsvorschriften lassen sich auf die Phallisin-Reihe übertragen.

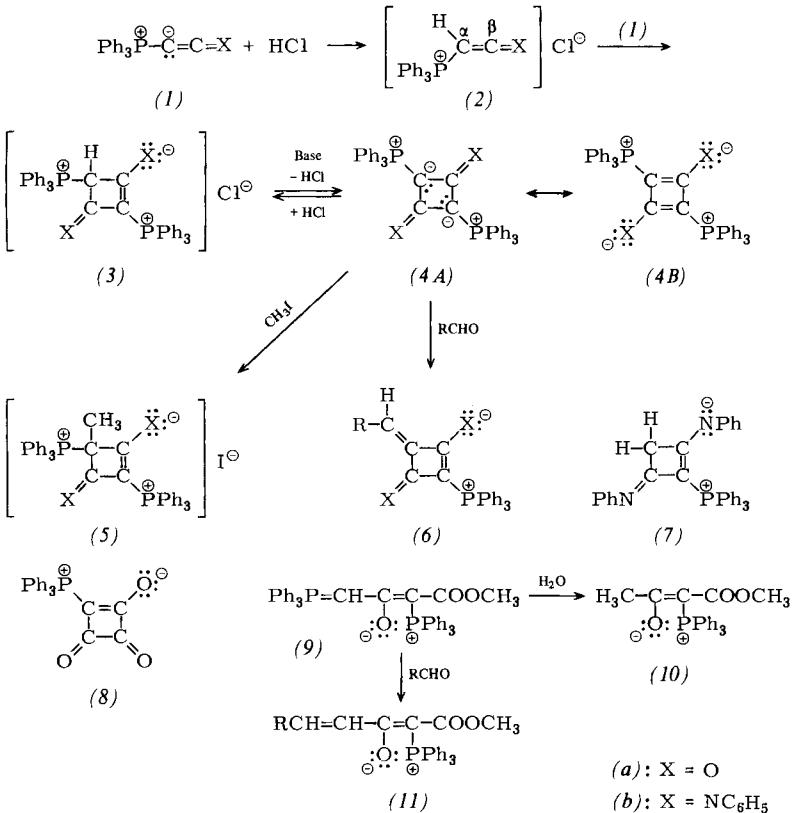
Eingegangen am 15. Februar 1977 [Z 677]

- [1] 52. Mitteilung über die Inhaltsstoffe des grünen Knollenblätterpilzes. – 51. Mitteilung: *A. Gauhe, Th. Wieland*, Justus Liebigs Ann. Chem. 1977, im Druck.
- [2] *Th. Wieland*, Science 159, 946 (1968).
- [3] *Th. Wieland, I. Sangl*, Justus Liebigs Ann. Chem. 671, 160 (1964).
- [4] *F. Fahrenholz, H. Faulstich, Th. Wieland*, Justus Liebigs Ann. Chem. 743, 83 (1971); *H. Faulstich, E. Nebelin, Th. Wieland*, ibid. 1973, 50; *H. Heber, H. Faulstich, Th. Wieland*, Int. J. Pept. Protein Res. 6, 381 (1974).
- [5] *H. Faulstich, Th. Wieland*, Eur. J. Biochem. 22, 79 (1971).
- [6] *Th. Wieland, J. X. deVries, A. Schäfer, H. Faulstich*, FEBS-Lett. 54, 73 (1975).

## Dimere des Ketenyldien- und N-Phenyl-keteniminyldien-triphenylphosphorans

Von Hans Jürgen Bestmann, Günter Schmid, Dieter Sandmeier und Lothar Kisielowski<sup>1\*</sup>

Ketenyliden-triphenylphosphoran (*1a*) sowie das *N*-Phenyl-keteniminyldien-triphenylphosphoran (*1b*) sind monomere<sup>[1]</sup>, stark nucleophile Ketenderivate, die nicht dimerisieren. Ihre Dimere (*4*), die man durch die Grenzformeln (*4A*)  $\leftrightarrow$  (*4B*) beschreiben kann, sind deshalb interessant, weil sie in ihrer mesomeren Form (*4B*) einen weiteren Typ eines „push-pull“-Cyclobutadiens<sup>[2]</sup> repräsentieren. Wir konnten die Verbindungen (*4*) auf dem im Reaktionsschema angegebenen Wege synthetisieren.



[\*] Prof. Dr. H. J. Bestmann, Dr. G. Schmid, Dipl.-Chem. D. Sandmeier, Dipl.-Chem. L. Kisielowski  
Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg  
Henkestraße 42, D-8520 Erlangen

Gibt man zur Lösung der Heterocumulen-Ylide (*1a*) bzw. (*1b*) langsam  $\frac{1}{2}$  Äquivalent  $\text{HCl}$ , so werden sie durch Protonierung am ylidischen C-Atom in die Phosphoniumsalze (*2a*) bzw. (*2b*) umgewandelt, die nunmehr „echte“ Ketene bzw. Ketenimine mit ambidentem dipolaren Charakter, d. h. nucleophil an  $\text{C}_\alpha$  und elektrophil an  $\text{C}_\beta$ , sind<sup>[3]</sup>. Sie gehen eine spontane Cycloaddition mit nicht protoniertem (*1*) unter Bildung der 1,3-Cyclobutandiionderivate (*3a*) bzw. (*3b*)<sup>[4]</sup> ein. (*3a*):  $\text{Fp}=270^\circ\text{C}$  (sintern);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\tau=3.85$  (d,  $\text{J}_{\text{PH}}=8$  Hz,  $\text{P}^\oplus-\text{CH}$ );  $^{31}\text{P-NMR}$ <sup>[5]</sup> ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta=-18.95$  (d,  $\text{P}^\oplus-\text{CH}$ ), +1.36 ppm (d,  $\text{P}^\oplus-\text{C}\leqslant$ ,  $\text{J}_{\text{PP}}=5.72$  Hz); IR: 1760,  $1645\text{ cm}^{-1}$  (CO); Ausb. 96 %. (*3b*):  $\text{Fp}=236$  bis  $238^\circ\text{C}$ ;  $^{31}\text{P-NMR}$ <sup>[5]</sup> ( $\text{d}_6\text{-DMSO}$ ):  $\delta=-22.04$  (d,  $\text{P}^\oplus-\text{CH}$ ,  $\text{J}_{\text{PP}}=5$  Hz), +4.08 ppm (breites s,  $\text{P}^\oplus-\text{C}\leqslant$ ); IR: 1608,  $1572\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{N}$ ); Ausb. 82 %.

Setzt man die Phosphoniumsalze (*3*) mit Basen um, insbesondere mit Natrium-bis(trimethylsilyl)amid<sup>[6]</sup>, so entstehen die als Dimere von (*1*) aufzufassenden Bisylide (*4*). Für eine Beteiligung der Cyclobutadiengrenzformel (*4B*) spricht die Lage der CO-Frequenzen im IR-Spektrum von (*4a*) bei  $1650\text{ cm}^{-1}$  sowie die der  $\text{C}=\text{N}$ -Banden von (*4b*) bei  $1563$  und  $1527\text{ cm}^{-1}$ .

(*4a*): gelbes Kristallpulver,  $\text{Fp}=278$  bis  $280^\circ\text{C}$  (Verkohlung);  $^{31}\text{P-NMR}$ <sup>[5]</sup> ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta=+9.48$  ppm (s); Ausb. 83 %. (*4b*): gelbes Kristallpulver,  $\text{Fp}=178^\circ\text{C}$  (Zers.); MS: m/e = 754 ( $\text{M}^+$ ), 492 [ $\text{M}^+-262(\text{Ph}_3\text{P})$ ]; Ausb. 63 %.

Folgende, zum Teil auch präparativ nutzbare Reaktionen bestätigen die Struktur der Verbindungen (*4*): Mit  $\text{HCl}$  bilden sich die Phosphoniumsalze (*3*) zurück. Mit Methyliodid erhält man aus (*4a*) und (*4b*) die bekannten Phosphoniumsalze (*5a*) und (*5b*)<sup>[7a]</sup>. Bei der Reaktion von (*4a*) und (*4b*) mit *p*-Nitrobenzaldehyd erhält man die Phosphorane (*6a*)<sup>[7a]</sup> und (*6b*)<sup>[7b]</sup> ( $\text{R}=\text{p-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ). Die Hydrolyse von (*4b*)<sup>[8a]</sup> in wäßrigem Methanol ergibt das Monoylid (*7*) [ $\text{Fp}=221^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{d}_5\text{-Pyridin}$ ):  $\tau=8.18$  (s,  $\text{CH}_2$ ); MS: m/e = 494 ( $\text{M}^+$ );

Ausb. 52 %]. Bei der Oxidation von (*4a*) mit dem Addukt von Ozon an Triphenylphosphit<sup>[8b]</sup> bildet sich das Cyclobutantrioniderivat (*8*) [ $\text{Fp}=258^\circ\text{C}$  (Zers.);  $^{31}\text{P-NMR}$ <sup>[5]</sup>