Lösungsmittels im Vakuum wurde der ölige Rückstand durch Erhitzen in Ligroin gelöst und filtriert. Bereits nach kurzem Stehen kristallisierte das Azin (9,7 g) in Form feiner gelber Nadeln vom Schmp. 127–129° aus. Dieses Präparat ergab mit dem oben erhaltenen keine Schmelzpunktsdepression.

Das Ketazin ließ sich durch mehrstdg. Kochen in Methanol und halbkonz. HCl unter N₂-Abgabe zur Acetylverbindung verseifen, die durch Wasserdampfdestillation aus dem Reaktionsmedium isoliert werden konnte.

Phenyl-[methyl-(x-methyl-cyclopentadienyl)-mangan-tricarbonyl]-azimethylen
(Tab. 1, lfd. Nr. 10)

2,7 g (0,01 Mol) [(x-Acetyl-1-methyl-cyclopentadienyl)-mangan-tricarbonyl]-hydrazon wurden zusammen mit 1,1 g (0,01 Mol) Benzaldehyd 5 Std. unter Stickstoff in einem Ölbad auf 135° erhitzt. Danach wurde das Umsetzungsprodukt in der Siedehitze in Ligroin gelöst und filtriert. Nach mehrstdg. Aufbewahren im Kühlschrank kristallisierte das „gemischte“ Ketazin und schmolz nach weiterem Umkristallisieren bei 87–88°, gelbe prismenartige Kristalle (2,2 g).

Die übrigen in Tab. 1 aufgeführten Verbindungen wurden nach analogen Vorschriften hergestellt.

N,N-Bis-[(methyl-[(x-methyl-cyclopentadienyl)-mangan-tricarbonyl]-methylen}-imidyl-succinamid
(Tab. 1, lfd. Nr. 17)

4,1 g (0,015 Mol) des durch Umsetzung von x-Acetyl-II mit Hydrazin erhaltenen Hydrazons und 1,9 g (0,019 Mol) Triäthylamin wurden in 100 cm³ Äther gelöst und tropfenweise unter Kühlung und Rühren mit

1,24 g (0,008 Mol) Bernsteinsäuredichlorid versetzt, wobei sich unter spontaner Erwärmung sofort ein gelblicher Niederschlag bildete. Es wurde dann noch eine Stde. unter Rühren am Rückfluß gekocht und nach dem Abkühlen im Scheidetrichter mit 100 cm³ Wasser durchgeschüttelt. Die gelbe ätherische Phase wurde abgetrennt und die wäßrige Schicht mehrmals ausgeäthert. Die Ätherlösung wurde zunächst mit verd. Schwefelsäure, dann mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen und der Äther nach dem Trocknen mit Na₂SO₄ abdestilliert. Der braune, zähflüssige Rückstand wurde mit Chloroform versetzt und nunmehr bis zur völligen Kristallisation an der Wasserstrahlpumpe belassen. 4,0 g vom Schmp. 215–220°. Nach 2-maligem Umkristallisieren aus Propanol lag der Schmp. bei 231 bis 233°: gelbe Kristalle, die in Ligroin sehr schwer, in Methanol und Äthanol schwer löslich sind; leicht löslich in Aceton, Tetrachlorkohlenstoff und Chloroform.

[(x-Acetyl-1-methyl-cyclopentadienyl)-mangan-tricarbonyl]-N-benzylhydrazon
(Tab. 1, lfd. Nr. 18)

4,1 g (0,015 Mol) [(x-Acetyl-1-methyl-cyclopentadienyl)-mangan-tricarbonyl]-hydrazon, gelöst in 60 cm³ Ligroin, wurden mit 3,55 g (0,035 Mol) Triäthylamin sowie 4,3 g (0,034 Mol) Benzylchlorid versetzt und 16 Std. am Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wurde von dem ausgefallenen farblosen Niederschlag abgesaugt, dieser mit Äther gewaschen und die vereinigten Filtrate im Vakuum bis zum Öl eingeeengt. Danach wurde unter Stickstoff im Hochvakuum destilliert. Es wurden 1,9 g eines orangegelben Öles vom Sdp. 111–129°/0,8 Torr erhalten, das bei nochmaliger Destillation bei 119–121° unter einem Druck von 0,7 Torr siedete, n_D²⁰: 1,5900.

Sterische Zuordnung der Prephensäure

Von H. PLIENINGER und G. KEILICH

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Heidelberg

(Z. Naturforsch. 16 b, 81–84 [1961]; eingegangen am 6. Oktober 1960)

Ba-Prephenat wird in Gegenwart von Palladium/Bariumsulfat hydriert. Beim papierchromatographischen Vergleich des 2,4-Dinitrophenylhydrazons des Reduktionsprodukts mit den Dinitrophenylhydrazonen der beiden stereoisomeren synthetischen Tetrahydroprephensäuren III und IV zeigte sich Identität mit III. Daraus folgt Struktur X für Prephensäure.

Die Prephensäure (I) nimmt eine zentrale Stellung bei der Biosynthese aromatischer Aminosäuren ein^{1–4}. Sehr wahrscheinlich ist sie ebenfalls eine

Zwischenstufe bei der Biosynthese des Cumarins⁵ und des Lignins⁶. Ihre Bedeutung als Vorläufer zahlreicher Alkaloide wird diskutiert⁷.

¹ B. D. DAVIS, Science [Washington] 118, 251 [1953].

² M. KATAGIRI u. R. SATO, Science [Washington] 118, 250 [1953].

³ U. WEISS, C. GILVARG, E. S. MINGIOLI u. B. D. DAVIS, Science [Washington] 119, 774 [1954].

⁴ B. D. DAVIS, A Symposium on Amino Acid Metabolism.

W. D. McElroy and H. S. Glass, Editors, John Hopkins Press, Baltimore 1955, S. 799.

⁵ F. WEYGAND u. H. WENDT, Z. Naturforsch. 14 b, 421 [1959].

⁶ K. KRATZL u. H. FAIGLE, Z. Naturforsch. 15 b, 4 [1960].

⁷ E. WENKERT, Experientia [Basel] XV, 165 [1959].

Die Aufstellung der Strukturformel I durch WEISS, GILVARG, MINGIOLI und DAVIS³ ergab sich aus folgendem: Die Analyse des Bariumsalses spricht für eine Dicarbonsäure der Formel $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_6\text{Ba} \cdot \text{H}_2\text{O}$. Nach Reduktion der Ketogruppe ist bei $260 \text{ m}\mu$ keine Absorption vorhanden, so daß eine aromatische Struktur ausscheidet. Bei Gegenwart von Platin werden 3–4 Mole Wasserstoff aufgenommen. In saurem Medium erfolgt schneller Übergang in Phenylbrenztraubensäure (II) unter Entwicklung von CO_2 .

Nachdem kürzlich die beiden stereoisomeren Tetrahydroprephenensäuren III und IV synthetisch erhalten und ihre sterische Struktur ermittelt werden konnte^{8,9}, lag es nahe, natürliche Prephenensäure zu hydrieren und das Reaktionsprodukt III oder IV zuzuordnen. Bei der Empfindlichkeit der Prephenensäure mußte allerdings besondere Vorsicht am Platz sein. Einmal ist Aromatisierung am Katalysator zu befürchten, außerdem Hydrogenolyse der durch doppelte Allylstellung aktivierten Hydroxylgruppe.

Zur Auffindung geeigneter Reaktionsbedingungen haben wir als Modell die Hydrierung des schon früher¹⁰ dargestellten 1-Methyl-1-dichlormethyl-cyclohexadien-(2.5)-ols-(4) V untersucht.

In Gegenwart von Palladium auf Kohle in Methanol werden 3 Moleküle Wasserstoff aufgenommen; unter reduktiver Abspaltung der Hydroxylgruppe entsteht 1-Methyl-1-dichlormethyl-cyclohexan VI. Beim gleichen Versuch mit Palladium auf Bariumsulfat in Methanol mit etwas Triäthylamin wird die für zwei Doppelbindungen berechnete Menge Wasserstoff aufgenommen. Man erhält ohne Hydrogenolyse 1-Methyl-1-dichlormethyl-4-hydroxy-cyclohexan VII in guter Ausbeute. Ohne Hydrogenolyse verlief die Hydrierung mit Raney-Nickel in alkalischer Lösung beim 1-Methyl-1-trichlormethyl-cyclohexadien-(2.5)-ol-(4). In diesem Fall werden auch die Halogenatome durch Wasserstoff ersetzt. Man erhält 4.4-Dimethyl-cyclohexanol.

Danach schien Palladium auf Bariumsulfat ein günstiger Katalysator zu sein.

Aus einer *Neurospora*-Mutante* haben wir 500 mg Ba-Prephenat gewonnen, das nach der kolorimetrischen Bestimmung (Umwandlung in Phenylbrenztraubensäure und Reaktion mit Eisen(III)-chlorid) etwa 70-proz. war. Bei der Hydrierung mit Palladium/Bariumsulfat in wäßriger Lösung bei pH 9,5 bis 10 werden bei 20°C 55 cm^3 Wasserstoff aufgenommen. Das Reaktionsprodukt wird mit salzsaurer 2.4-Dinitrophenylhydrazin-Lösung gefällt und durch Lösen in Alkohol und Fällen mit Wasser gereinigt. Da die Schmelzpunkte und IR-Spektren der Dinitrophenylhydrazone von III und IV nicht charakteristisch sind, wurde eine papierchromatographische Trennung ausgearbeitet. Es wurde absteigend im Durchlaufchromatogramm entwickelt. Mit einem Gemisch Butanol/Eisessig/Wasser/Heptan 20 : 5 : 20 : 5 auf Schleicher & Schüll-Papier Gl 2043 läßt sich zeigen, daß im Hydrierungsprodukt der Prephenensäure keine Phenylbrenztraubensäure enthalten ist. Die Ketosäure läßt sich mit diesem Gemisch gut entwickeln, während die Verbindungen

⁸ H. PLIENINGER u. H. J. GRASSHOFF, Chem. Ber. **90**, 1973 [1957].

⁹ H. PLIENINGER u. G. KEILICH, Chem. Ber. **92**, 2897 [1959].

¹⁰ H. PLIENINGER u. G. KEILICH, Chem. Ber. **91**, 1891 [1958].

* R. L. METZENBERG u. H. K. MITCHELL, Arch. Biochem. Biophysics **64**, 51 [1956]. Die Kultur haben wir dankenswerterweise von Dr. H. K. MITCHELL erhalten.

III und IV sowie das Hydrierungsprodukt der Prephensäure am Startfleck haften bleiben.

Größere Schwierigkeiten macht die Auftrennung von III und IV (immer als Dinitrophenylhydrazon). Mit normalen Laufmitteln und Papieren konnte keine Trennung erzielt werden. Erst nach Imprägnierung des oben genannten Papiers mit 5-proz. Boraxlösung und Trocknen des Papiers an der Luft, lassen sich mit einem Gemisch Butanol/Äthanol/Wasser 4:1:5 die Stereoisomeren gut trennen. Offenbar bewirkt die Borsäure eine Komplexbindung zwischen der Hydroxylgruppe und dem Dinitrophenylhydrazon-Rest, so daß sich die Isomeren besser unterscheiden*.

Abb. 1. Papierchromatographischer Vergleich der hydrierten natürlichen Prephensäure P mit den beiden synthetischen isomeren Tetrahydroprephensäuren III und IV (als Dinitrophenylhydrazone).

Die Abb. 1 zeigt die Chromatogramme. Ganz links sieht man die Verbindungen III und IV, dazwischen die Auftrennung eines Gemischs aus III und IV. Das mittlere Chromatogramm zeigt das gleiche, nur daß rechts das Dinitrophenylhydrazon der hydrierten Prephensäure [P] mitläuft. Der Fleck tendiert deutlich nach III. Im rechten Chromatogramm sieht man links reines III; in der Mitte ein aufgetrenntes Gemisch von III und IV und rechts ein Gemisch von III mit P. Hier zeigt sich eindeutige Identität von P mit III, womit bewiesen ist, daß der Prephensäure die Struktur X zukommt. Außerdem wird durch diese Versuche die bisher angenommene Struktur der Prephensäure eindeutig bewiesen, da

ihre Hydrierungsprodukte mit einer eindeutig synthetisierten Verbindung übereinstimmt.

Schließlich wurde noch die Verbindung VIII synthetisiert und zu den Vergleichen mit herangezogen. Diese Verbindung wäre zu erwarten, wenn bei der Hydrierung der Prephensäure Hydrogenolyse eingetreten wäre. Das Dinitrophenylhydrazon von VIII läuft unter den oben beschriebenen Bedingungen sehr viel schneller als III oder IV und bleibt beim Durchlaufchromatogramm meist nicht auf dem Papier. Bei der Hydrierung des Ba-Prephenats unter den von uns gewählten Bedingungen tritt demnach weder Aromatisierung noch Hydrogenolyse ein.

Die sterischen Befunde stehen in guter Übereinstimmung mit einer Untersuchung von SPRINSON¹¹, wonach Prephensäure offenbar aus 3-Enolpyruvylshikimisäure-5-phosphat (IX) nach Art einer *para*-Claisen-Umlagerung entsteht. Der letzte Reaktionsschritt vor der Prephensäure ist demnach der folgende:

Beschreibung der Versuche

Hydrierung von 1-Methyl-dichlormethyl-cyclohexadien-(2.5)-ol-(4) (V) in Gegenwart von Pd/Kohle zu 1-Methyl-1-dichlormethyl-cyclohexan VI

1,92 g (0,01 Mol) V werden in 100 cm³ Methanol in Gegenwart von Pd/Kohle bei Atmosphärendruck und Zimmertemperatur hydriert. Die aufgenommene Wasserstoffmenge entspricht der Hydrierung der Doppelbindungen und Hydrogenolyse der OH-Gruppe (0,03 Mol). Man saugt vom Katalysator ab, destilliert das Lösungsmittel i. Vak. ab und erhält ein helles, fast farbloses Öl, das Chlor enthält. Ausbeute 93,5% der Theorie.

Das IR-Spektrum zeigt, daß es sich bei dem Öl um ein Cyclohexanderivat ohne Hydroxylgruppe handelt.

Hydrierung von 1-Methyl-1-dichlormethyl-cyclohexadien-(2.5)-ol-(4) (V) in Gegenwart von Pd/BaSO₄ zu 4-Methyl-4-dichlormethylcyclohexanol VII

1,92 g (0,01 Mol) V werden in 100 cm³ Methanol und 2 cm³ Triäthylamin in Gegenwart von Pd/BaSO₄ bei Atmosphärendruck und Zimmertemperatur unter

* Den Vorschlag, boratgepuffertes Papier zu verwenden, verdanke ich Herrn Prof. Dr. Th. WIELAND.

¹¹ D. SPRINSON, Biochem. Biophys. Res. Communications, im Druck.

Schütteln hydriert. Die Wasserstoffaufnahme entspricht der für zwei Doppelbindungen berechneten Menge. Nach dem Absaugen des Katalysators wird das Lösungsmittel zuletzt i. Vak. abdestilliert; es bleibt ein öliges Rückstand, der beim Stehen in Eis kristallisiert. Durch Umkristallisieren aus Petroläther erhält man weiße Spieße vom Schmp. 79–80 °C. Der Mischschmelzpunkt mit dem Ausgangsmaterial (Schmp. 82 °C) liegt bei 55–60 °C. Ausbeute 90% der Theorie.

$C_8H_{14}Cl_2O$ (197,1) Ber. C 48,80 H 7,16 Cl 36,00.
Gef. C 48,96 H 7,41 Cl 35,76.

Hydrierung von 1-Methyl-1-trichlormethyl-cyclohexadien-(2.5)-ol-(4) in Gegenwart von Raney-Nickel zu 4,4-Dimethyl-cyclohexanol

2,26 g (0,01 Mol) 1-Methyl-1-trichlormethyl-cyclohexadien-(2.5)-ol-(4) werden in 100 cm³ 5-proz. methanolischer Kalilauge in Gegenwart von Raney-Nickel hydriert. Die aufgenommene Wasserstoffmenge entspricht 2 Doppelbindungen und dem Ersatz von 3 Cl-Atomen durch Wasserstoff. Man saugt vom Katalysator und dem teilweise ausgefallenen KCl ab und destilliert das Lösungsmittel i. Vak. ab. Der Rückstand wird in Benzol aufgenommen, vom KCl abfiltriert und die benzolische Lösung getrocknet. Das Benzol wird i. Vak. eingedampft, es bleibt ein helles, chlorfreies Öl, zurück. Ausbeute 1,1 g (61% d. Th.).

p-Nitrobenzylester des 1,1-Dimethyl-cyclohexanols-(4)

500 mg des oben erhaltenen Öles werden mit 800 mg *p*-Nitrobenzoylchlorid in 25 cm³ Pyridin (über KOH getrocknet und destilliert) 15 Min. unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen gießt man das Reaktionsgemisch in Eiswasser, äthert den abgeschiedenen Ester aus, wäscht die ätherische Lösung gut mit 2-n. NaOH, um die entstandene *p*-Nitrobenzoesäure zu entfernen, dann mit verd. Säure und Wasser. Die Ätherlösung wird über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und der Äther i. Vak. abdestilliert. Der feste, z. T. kristalline Rückstand wird aus Petroläther oder Äthanol umkristallisiert. Schmp. 160–163 °C. Ausbeute 980,5 mg (90% d. Th.).

$C_{15}H_{19}O_4N$ (277,3) Ber. N 5,05, Gef. N 4,97.

[1-Cyan-cyclohexyl-(1)]-cyanbrenztraubensäureäthylester

4 g (0,1 Mol) Kalium werden in einem Gemisch aus 15 cm³ abs. Äthanol und 70 cm³ abs. Äther, zuletzt unter Erwärmen, gelöst. Die erhaltene Lösung wird

unter Eiskühlung mit 15 g Oxalsäurediäthylester versetzt, wobei sich die Mischung gelb färbt. Man läßt das Gemisch 15 Min. bei 20° stehen und tropft es innerhalb einer Stde. zu einer Lösung von 8,35 g Cyclohexancarbonsäure-(1)-essigsäure-(1)-dinitril in 400 cm³ abs. Benzol bei 40°. Nach 24 Stdn. wird der entstandene gelbliche Niederschlag abgesaugt und mit Äther gewaschen. Der Niederschlag wird in 50 cm³ Wasser gelöst und nach dem Filtrieren bei 0° mit 5 cm³ konz. Salzsäure versetzt, wobei das Enol ölig ausfällt. Es wird in Äther aufgenommen, mit Wasser gewaschen, und der Äther nach dem Trocknen i. Vak. eingedampft. Der erhaltene ölige Rückstand kristallisiert beim Anreiben mit wenig Äther. Durch Umkristallisieren aus Äther/Petroläther erhält man 6 g einer farblosen Verbindung vom Schmp. 103–105°, die sich bei längerem Stehenlassen zersetzt. Ausbeute 43% der Theorie.

$C_{13}H_{16}O_3N_2$ (248,3)

Ber. C 62,85 H 6,50 N 11,28 OC_2H_5 18,12.

Gef. C 62,84 H 6,12 N 11,22 OC_2H_5 18,36.

[1-Carboxy-cyclohexyl-(1)]-brenztraubensäure VIII

5 g der im letzten Versuch beschriebenen Verbindung werden mit einer Mischung aus 50 cm³ 2-n. H_2SO_4 und 10 cm³ Eisessig 2 Stdn. mit Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wird dreimal mit Äther extrahiert, der Äther mit $MgSO_4$ getrocknet und eingedampft. Beim Abdampfen des Äthers bleiben 3 g eines Syrups zurück. Ausbeute 70% der Theorie.

Mit der wäßrigen Lösung dieser rohen Ketosäure werden einige Derivate hergestellt.

1. Das Dinitrophenylhydrazon. Aus Äthanol/Wasser umkristallisiert: gelbe Nadeln, Schmp. 225–226° Zers.

$C_{16}H_{18}N_4O_8$ (394,3) Ber. C 48,75 H 4,59 N 14,19.
Gef. C 48,80 H 4,85 N 13,56.

2. Ba-Salz durch Versetzen mit Ba-Acetat-Lösung und Zusatz von Äthanol.

$C_{10}H_{12}O_5Ba$ (349,5) Ber. C 34,45 H 3,45 Ba 39,30.
Gef. C 33,76 H 3,94 Ba 38,93.

Der Diäthylester siedet bei 0,1 115–18°.

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft sowie der Fonds der Chemischen Industrie hat diese Arbeit großzügig unterstützt. Der Badischen Anilin- und Sodafabrik haben wir für die Überlassung von Chemikalien zu danken.

Herrn Dr. U. WEISS, Bethesda (USA) danken wir besonders für anregende Diskussionen.