

Burchard Franck, Ellen-Marie Gottschalk, Ulrich Ohnsorge und Fritz Hüper

Mutterkorn-Farbstoffe, XII¹⁻³⁾

Trennung, Struktur und absolute Konfiguration der diastereomeren Secalonsäuren A, B und C

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen und dem Institut für Organische Chemie der Universität Kiel

(Eingegangen am 31. Mai 1966)

Aus Roggenmutterkorn wurden drei hellgelbe Farbstoffe, die Secalonsäuren A, B und C isoliert. Sie haben die Summenformel $C_{32}H_{30}O_{14}$ und sind diastereomer. In Verbindung mit früheren Ergebnissen¹⁰⁾ wurden durch Ozonabbau, Massen- und NMR-Spektren sowie Rotationsdispersion die vollständigen Strukturen der drei Farbstoffe einschließlich der absoluten Konfigurationen an ihren sechs Asymmetriezentren zu **4**, **5** und **7** festgelegt.

Systematik der Mutterkorn-Farbstoffe

Der auf Roggenähren wuchernde Mutterkornpilz *Claviceps purpurea* bildet hellgelbe Farbstoffe, deren Strukturen einen neuartigen Biosyntheseweg vermuten lassen. Diese Farbstoffe enthalten das Grundgerüst **3**, welches sich formal vom Anthrachinon (**1**) durch oxydative Ringöffnung (**2**) und anschließenden Xanthon-Ringschluß ableitet und somit ein Seco-anthrachinon (**3**) darstellt. Es ist möglich, daß auch dessen Biosynthese auf diesem Wege aus einem Anthrachinon oder einer ähnlichen Biosynthesestufe erfolgt (**1**—**3**). Hierfür sprechen neuere biogenetische Erkenntnisse⁴⁾ und das Auftreten der Anthrachinon-carbonsäuren Endocrocin⁵⁾ und Clavorubin^{5,6)} im Mutterkorn.

Außer dem von Whalley u. a.⁷⁾ aufgeklärten Ergofflavin (**6**) isolierten wir aus Mutterkorn verschiedener Herkunft erstmalig die drei diastereomeren Hauptfarbstoffe Secalonsäure A, B und C^{8,9,1-3)}, die diastereomeren Ergochrysin A und B¹⁻³⁾,

¹⁾ IX. Mitteil.: B. Franck, G. Baumann und U. Ohnsorge, Tetrahedron Letters [London] 1965, 2031.

²⁾ X. Mitteil.: B. Franck, Angew. Chem. 76, 864 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. 3, 763 (1964).

³⁾ XI. Mitteil.: B. Franck, Festschrift Prof. Dr. K. Mothes, S. 153, Fischer Verlag, Jena 1965.

⁴⁾ B. Franck, F. Hüper, D. Gröger und D. Erge, Angew. Chem. 78, 752 (1966); Angew. Chem. internat. Edit. 5, 728 (1966).

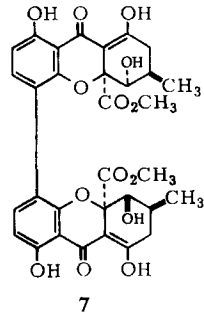
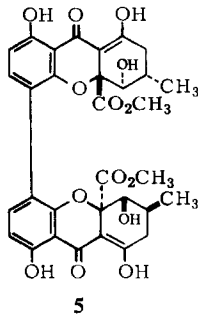
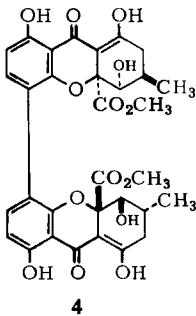
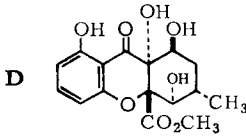
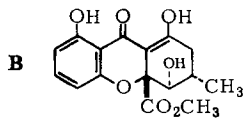
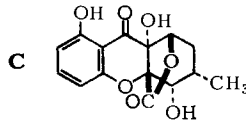
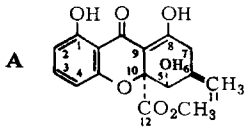
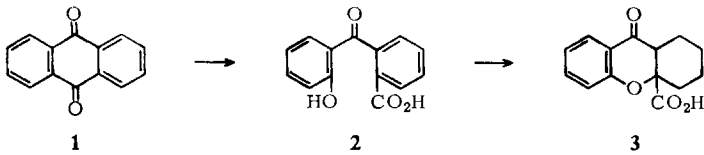
⁵⁾ B. Franck und T. Reschke, Chem. Ber. 93, 347 (1960).

⁶⁾ B. Franck und I. Zimmer, Chem. Ber. 98, 1514 (1965).

⁷⁾ J. W. Apsimon, J. A. Corran, N. G. Creasey, K. Y. Sim und W. B. Whalley, J. chem. Soc. [London] 1965, 4130; Proc. chem. Soc. [London] 1963, 209.

⁸⁾ B. Franck und E. M. Gottschalk, Angew. Chem. 76, 438 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. 3, 441 (1964).

⁹⁾ B. Franck, E. M. Gottschalk, U. Ohnsorge und G. Baumann, Angew. Chem. 76, 438 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. 3, 441 (1964).



4: A-A = Ergochrom AA (4.4')
(Secalonsäure A)

5: B-B = Ergochrom BB (4.4')
(Secalonsäure B)

6: C-C = Ergochrom CC (2.2')
(Ergoflavin)

7: A-B = Ergochrom AB (4.4')
(Secalonsäure C)

8: A-C = Ergochrom AC (2.2')
(Ergochrysin A)

9: B-C = Ergochrom BC (2.2')
(Ergochrysin B)

10: A-D = Ergochrom AD (2.2')

11: B-D = Ergochrom BD (2.2')

12: C-D = Ergochrom CD (2.2')

13: D-D = Ergochrom DD (2.2')

sowie vier weitere, ähnliche Farbstoffe¹⁾ und bestimmten deren Struktur einschließlich der relativen und absoluten Konfiguration zu **4**, **5**, **7–13**^{10,9,1–3}). Für einige dieser reinen Farbstoffe wurden inzwischen auch von *Whalley* u. a.¹¹⁾ und *de Mayo* u. a.¹²⁾ unvollständige Strukturvorschläge mitgeteilt, die mit unseren Ergebnissen

¹⁰⁾ *B. Franck, O. W. Thiele und T. Reschke*, Chem. Ber. **95**, 1328 (1962); Angew. Chem. **73**, 494 (1961).

¹¹⁾ *J. W. Apsimon, J. A. Corran, N. G. Creasey, W. Marlow, W. B. Whalley und K. Y. Sim*, J. chem. Soc. [London] **1965**, 4144.

¹²⁾ *D. J. Aberhart, Y. S. Chen, P. de Mayo und J. B. Stothers*, Tetrahedron [London] **21**, 1417 (1965).

übereinstimmen. Diese Farbstoffe bilden eine ungewöhnlich vollständige Naturstoffgruppe, die alle zehn möglichen Dimerisierungsprodukte A—A bis D—D der vier Xanthon-Derivate A, B, C und D enthält. Darin sind die Xanthonhälften jeweils in 2.2'- oder in 4.4'-Stellung miteinander verknüpft. Für alle Farbstoffe dieses Strukturtyps schlugen wir eine einfache Bezeichnungsweise vor¹⁾, welche die Einführung neuer Einzelnamen vermeidet. Die Farbstoffe werden danach *Ergochrome* genannt und durch zwei Buchstaben und zwei Zahlen gekennzeichnet, welche die monomeren Bausteine und deren Verknüpfung angeben (4—13).

Die in der älteren und neueren Literatur als *Sclererythrin*, *Sclerocrystallin*, *Scleroxanthin*, *Sclerodiodin*, *Ergoxanthin* und *Chrysergonsäure* (s. Zusammenfassungen in l. c.^{5,10,11)}) beschriebenen Farbstoffpräparate erwiesen sich beim Nacharbeiten ihrer Isolierungsvorschriften und chromatographischer Untersuchung als Gemische aus bis zu 13 Komponenten¹³⁾. Diese Namen sollten daher nicht mehr verwendet werden. Wesentlich reiner, jedoch nicht frei von Diastereomeren erwiesen sich die Präparate *Secalonsäure* und *Ergochrysin*^{8,13)}. Unser Vorschlag, die Bezeichnungen *Secalonsäure A, B, C* usw. für Diastereomere des Ergochroms AA (4) sowie *Ergochrysin A, B, C* usw. für Diastereomere des Ergochroms AC (8) zu benutzen^{2,8)}, wurde inzwischen von anderen Arbeitsgruppen^{11,12)} übernommen. In aufeinanderfolgenden Arbeiten berichten wir nachstehend über die vollständige Struktur- und Konfigurationsermittlung der Secalonsäuren A, B und C, der Ergochrysin A und B sowie der Ergochrome AD, BD, CD und DD. Das Ergebnis dieser Untersuchungen wurde in vorläufigen Veröffentlichungen schon kurz mitgeteilt^{1,2,9)}.

Isolierung und Charakterisierung der Secalonsäuren A, B und C

Der Dünnschichtchromatographie ist bei der Untersuchung der hellgelben Mutterkorn-Farbstoffe ein wichtiger Fortschritt zu verdanken. Als wir kristallisierte Farbstoffpräparate, die nach den für Secalonsäure¹⁴⁾ und Chrysergonsäure¹⁵⁾ beschriebenen Isolierungsverfahren gewonnen worden waren, damit untersuchten, trennten sie sich in zwei intensive Zonen und eine sehr schwache Zone auf. Für diese Trennung war das System Chloroform/Pentanon-(2) (9:1) auf Kieselgel G, das mit 6.3% Oxalsäure imprägniert ist⁸⁾, am besten geeignet. Es wurde auch zur säulenchromatographischen Auftrennung eines Secalonsäurengemisches verwendet, das durch Methanol- und Chloroformextraktion eines mit wäßriger Weinsäure vorbehandelten Mutterkorns aus Österreich isoliert worden war. Tab. 1 gibt einen Überblick über das Mengenverhältnis der Komponenten in Farbstoffpräparaten verschiedener Herkunft und ihre wichtigsten Eigenschaften. Wir bezeichneten die im Dünnschichtchromatogramm am langsamsten laufende Hauptkomponente als *Secalonsäure A*, die ihrer Menge nach nächstfolgende Secalonsäure vom R_A -Wert¹⁶⁾ 2.3 mit *B* und die in geringster Menge isolierbare vom R_A -Wert¹⁶⁾ 1.7 mit *C*^{2,8)}. Die Secalonsäuren A, B und C haben dieselben Summenformeln $C_{32}H_{30}O_{14}$, Molekulargewichte, funktionellen Gruppen und Farbreaktionen. Sie stimmen weitgehend in ihren UV-, IR-, NMR-

¹³⁾ E. M. Gottschalk, Dissertat., Univ. Göttingen 1964.

¹⁴⁾ F. Kraft, Arch. Pharmaz. **244**, 336 (1906).

¹⁵⁾ A. Stoll, J. Renz und A. Brack, Helv. chim. Acta **35**, 2022 (1952).

¹⁶⁾ Laufstrecke dividiert durch die von Secalonsäure A im System 1 (s. Versuchsteil).

Tab. 1. Mengenverhältnis und Eigenschaften der diastereomeren Secalonsäuren A, B und C

	A	B	C
Mengenverhältnis, bez. auf Secalonsäure A:			
Österr. Mutterkorn	1.00	0.27	0.07
Kanad. Mutterkorn	1.00	0.01	0.01
Span. Mutterkorn	1.00	1.00	0.05
R_A -Wert ¹⁶⁾	1.00	2.3	1.7
Schmp.	246–248° (Zers.)	259–262° (Zers.)	187–189° (Zers.)
Mol.-Gew. (massenspekt.)	638	638	638
Summenformel	$C_{32}H_{30}O_{14}$	$C_{32}H_{30}O_{14}$	$C_{32}H_{30}O_{14}$
$[M]_{589}^{20}$ (CHCl ₃)	–478°	+919°	+159°
$[M]_{589}^{20}$ (Pyridin)	–1290°	+1290°	–64°
pK_{DMF}	8.7	9.0	8.7
λ_{max} (CH ₃ OH)(m μ)	340, 247	339, 240	339, 236
OCH ₃ -Gruppen	2	2	2
C-CH ₃ -Gruppen	2	2	2
Gibbs-Reaktion	–	–	–
FeCl ₃ -Reaktion	rot	rot	rot

und Massenspektren sowie pK_{DMF} -Werten überein und unterscheiden sich im Schmelzpunkt, R_A -¹⁶⁾ und $[M]_{589}^{20}$ -Werten (Tab. 1). Damit ist es sehr wahrscheinlich, daß es sich um Diastereomere handelt^{2,8)}.

Konstitution der Secalonsäuren A, B und C

Unsere ersten Untersuchungen über das Grundgerüst und die funktionellen Gruppen der Secalonsäuren¹⁰⁾ hatten wir mit der nach bekannten Verfahren^{14,15)} isolierten, durch Umkristallisieren gereinigten und bis dahin für einheitlich gehaltenen Secalonsäure durchgeführt, bevor uns erstmalig deren Auftrennung in 3 Diastereomere gelang^{2,8)}. Später fanden wir, daß dieses Präparat die Secalonsäuren A und B im Verhältnis 3 : 1 und eine Spur Secalonsäure C enthielt. Fast dieselbe Zusammensetzung hatte auch ein von uns nach der für *Chrysergonsäure* angegebenen Vorschrift¹⁵⁾ isoliertes Präparat, das wir daher als identisch mit dem Secalonsäure-Präparat erkannten¹⁰⁾. Da es sich bei den Komponenten des Secalonsäuregemisches um Diastereomere handelt, konnte es für alle Untersuchungen, die nicht die Konfigurationen betreffen, verwendet werden.

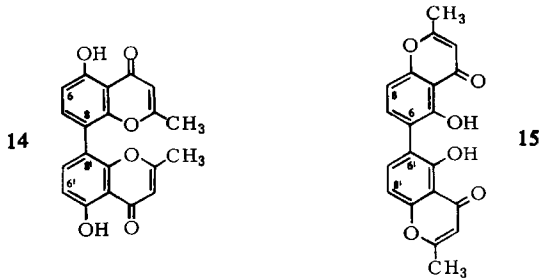
Nachdem wir Isolierung, Struktur und Konfiguration der diastereomeren Secalonsäuren A, B und C mitgeteilt hatten^{2,8,9)}, veröffentlichten *de Mayo* u. a.¹²⁾ ihre Ergebnisse über die Isolierung und Untersuchung der Secalonsäuren B und C. *Whalley* u. a.^{11,17)} berichteten über die Untersuchung eines sicher weitgehend einheitlichen, wenn auch nicht durch Drehungswerte charakterisierten Präparates von Secalonsäure A. Durch die unabhängig gewonnenen Ergebnisse dieser Autoren werden unsere Befunde im wesentlichen bestätigt.

Durch alkalischen Abbau, spektroskopische Untersuchungen, Farbreaktionen sowie Synthese von **14**¹⁸⁾ konnten wir erstmalig nachweisen, daß die Secalonsäuren Derivate des als Naturstoffgrundgerüst neuartigen 5.5'-Dihydroxy-bichromonyls-(8.8')

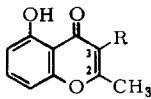
¹⁷⁾ *J. W. Apsimon, J. A. Corran, N. G. Creasey, W. Marlow, W. B. Whalley* und *K. Y. Sim*, Proc. chem. Soc. [London] 1963, 313.

¹⁸⁾ *B. Franck* und *G. Baumann*, Chem. Ber. 96, 3209 (1963).

(14) sind¹⁰). Das ebenfalls von uns synthetisch dargestellte 15 wurde von Whalley u. a.⁷⁾ als Grundgerüst des Ergoflavins (6) erkannt. Zusätzlich hatten wir vier Hydroxygruppen, von denen zwei schwach saure Eigenschaften (pK_{DMF} 8.7–9.0, Verätherung mit Diazomethan) besitzen, sowie je zwei C-Methyl- und Methoxycarbonylgruppen nachgewiesen¹⁰).

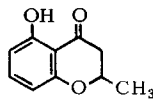


Sie mußten sich, wie das NMR-Spektrum zeigte, auf zwei *gleichartige* Molekülhälften verteilen¹⁰). Wir hatten vermutet, daß sich die beiden phenolischen bzw. enolischen Hydroxygruppen in den 3-Stellungen des 8.8'-Bichromonylsystems befinden könnten. Ein spektroskopischer Vergleich mit 16, 17¹⁹⁾ und 18²⁰⁾ zeigte aber (Abbild. 1), daß diese drei Modellverbindungen mit dem Chromophor der Secalonsäure weitgehend, jedoch nicht ganz übereinstimmten. Da das langwellige Maximum der Secalonsäure A (340 $m\mu$) zwischen denen des 5-Hydroxy-chromons 16 (325 $m\mu$) und des 5-Hydroxy-chromanons 18 (347 $m\mu$) liegt, kam für die Secalonsäure am ehesten ein Chromanon 19 mit *exo*-ständiger Doppelbindung in Betracht. Dessen langwellige Absorptionsbande sollte die gesuchte Zwischenstellung einnehmen, da von seinen beiden C-Atomen in 2- und 3-Stellung nur eines sp^2 -hybridisiert ist.

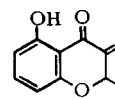


16: R = H

17: R = OH

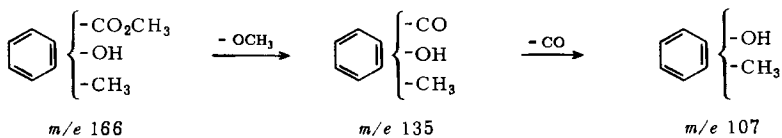


18



19

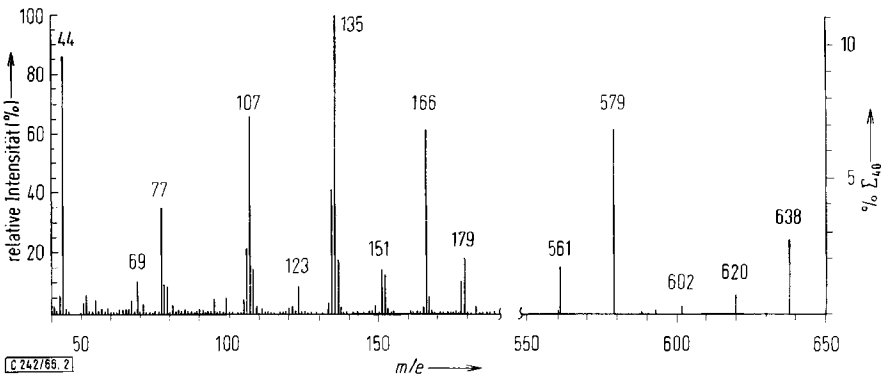
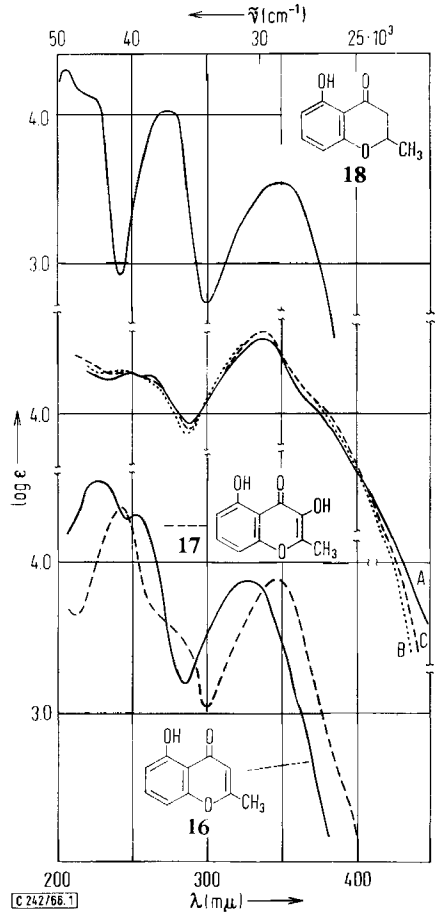
Unsere weiteren Untersuchungen durch Massenspektren und Ozonabbau zeigten tatsächlich, daß dem 8.8'-Bichromonylsystem der Secalonsäuren ein dritter Ring mit einer *exo*-ständigen Enol-Doppelbindung angegliedert ist. Alle drei Secalonsäuren geben beim Elektronenbeschuß (35 eV) im Massenspektrometer (Abbild. 2) u. a. intensive Fragmente bei m/e 166, 135 und 107, die folgendermaßen mit der Abspaltung von Kresotinsäure-methylester und dessen weiterer Fragmentierung gedeutet werden können:



¹⁹⁾ B. Frack und H. Linke, unveröffentlicht.

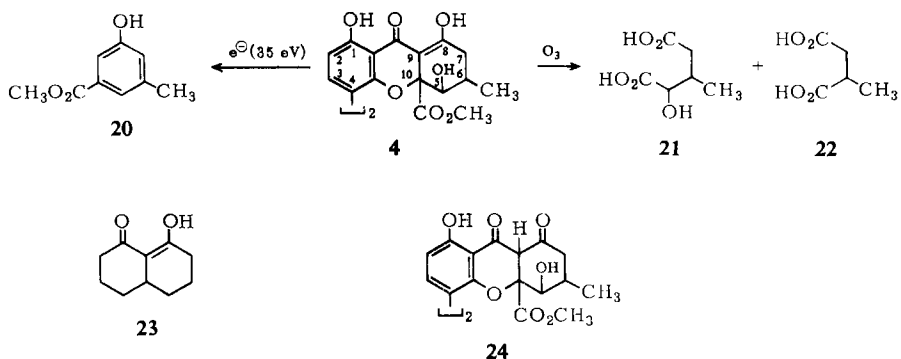
²⁰⁾ G. Baumann, Dissertat., Univ. Göttingen 1965.

Abbild. 1. UV-Spektren der Secalonsäuren A (4), B (5) und C (7) sowie von 5-Hydroxy-2-methyl-chromon (16), 3,5-Dihydroxy-2-methyl-chromon (17) und 5-Hydroxy-2-methyl-chromanon (18) in Methanol



Abbild. 2. Massenspektrum der Secalonsäure A (4)

In Verbindung mit den auch massenspektrometrisch genau festgelegten Summenformeln der Secalonsäuren stand damit fest, daß diese in jeder ihrer Molekülhälften einen weiteren Ring mit den Substituenten OH, CH₃ und CO₂CH₃ enthalten. Dieser Ring C wird leicht aromatisiert und kann dem Chromonsystem nur in 2.3-Stellung angegliedert sein. Einblick in die Anordnung der Substituenten von Ring C erhielten wir durch Abbau von Secalonsäure A mit Ozon in Essigester. Die Auftrennung der Ozonabbausäuren aus 4 g Secalonsäure A an Kieselgur (10–40 μ , Celite, Johns-Manville Corp.) lieferte 130 mg *R*-(+)-Methylbernsteinsäure (**22**) sowie in geringerer Menge α -Hydroxy- β -methyl-glutarsäure (**21**) als γ -Lacton und α -Keto- β -methyl-glutarsäure (**21**, =O statt –OH). Die C₄- bzw. C₅-Ketten der drei Ozonabbausäuren

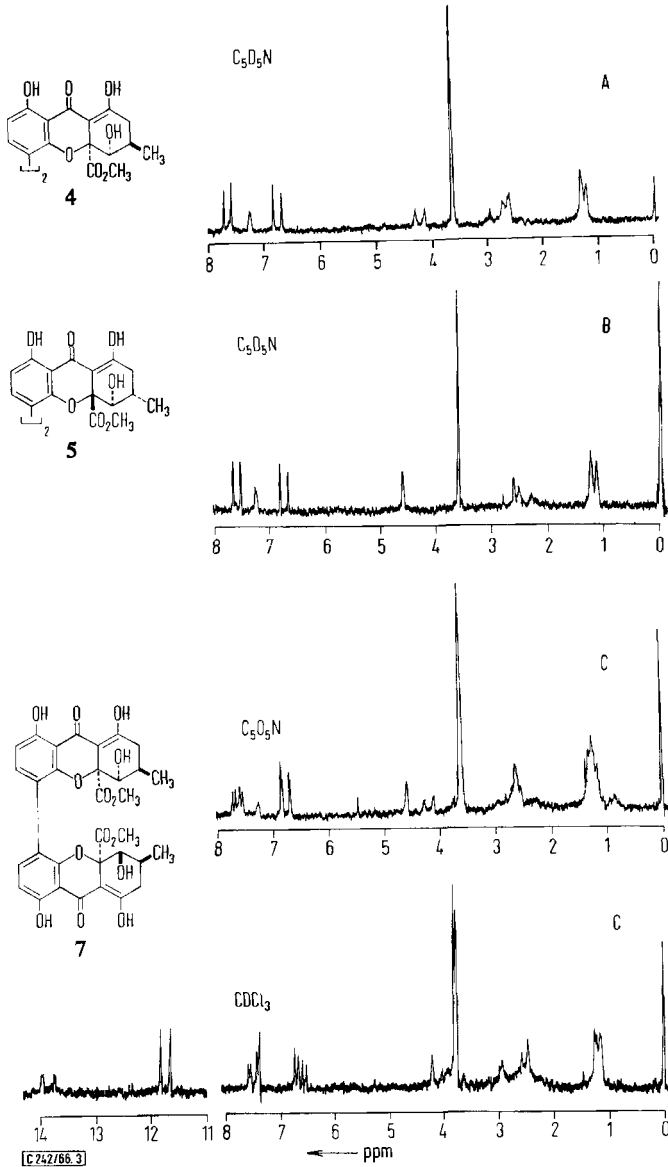


können in der Secalonsäure nur die im Formelschema gezeigte Anordnung haben. Daraus folgt für den Ring C der Secalonsäure A die in **4** gegebene Konstitution, die durch die unten im Zusammenhang mit der Konfiguration diskutierten NMR-Spektren (Abbild. 3) bestätigt wird. Der im Massenspektrometer abgespaltene Kresotinsäure-methylester hat somit die Struktur **20**. In der Secalonsäure A ist das β -Dicarbonylssystem ebenso wie in dem von *Stetter* und *Milbers*²¹⁾ beschriebenen Dekalindion-(1.8) (**23**) vollständig zur vinylogenen Carbonsäure enolisiert. Direkt nachweisen läßt sich die Enolisierung des β -Dicarbonylsystems auch durch das NMR-Spektrum der Secalonsäure C, deren Löslichkeit zur Messung in Deuteriochloroform ausreicht (Abbild. 3). Dieses zeigt bei 13.77 und 13.99 ppm Singulets, die je einem der beiden Enolprotonen der bei Secalonsäure C verschiedenartigen Molekülhälften zuzuordnen sind. Die Protonen der beiden phenolischen Hydroxygruppen an C-1/1' geben sich durch schärfere Singulets bei 11.68 und 11.84 ppm zu erkennen. Im Einklang mit dem aus den UV-Spektren der Modellverbindungen (Abbild. 1) gezogenen Schluß enthält somit die Secalonsäure A ein Chromanon-System mit *exo*-ständiger Doppelbindung an C-3. Den beiden Enolgruppen ist die schwache Acidität der Secalonsäuren und deren Methylierbarkeit mit Diazomethan¹⁰⁾ zuzuschreiben.

Während freie Secalonsäure bei der katalytischen Hydrierung keinen Wasserstoff aufnimmt¹⁰⁾, lassen sich die beiden Enolgruppen nach Acetylierung zum Secalon-

²¹⁾ H. Stetter und U. Milbers, Chem. Ber. **91**, 977 (1958).

säure-hexaacetat mit Platindioxid in Essigester glatt hydrieren. Möglicherweise wird die Secalonsäure am Katalysator in der schwer hydrierbaren Keto-Form adsorbiert, da diese einen besseren Akzeptor für Wasserstoff-Brücken mit den Protonen in der Katalysatoroberfläche darstellt.



Abbild. 3. NMR-Spektren der Secalonsäuren A, B und C in Deutero-Pyridin sowie von Secalonsäure C in Deutero-Chloroform

Unabhängig von uns⁹⁾ leiteten Whalley u. a.¹⁷⁾ für ein Secalonsäurepräparat¹¹⁾ zunächst die Struktur **24** ab, die sich nur durch das nicht enolisierte β -Dicarbonylsystem von **4** unterscheidet, revidierten sie jedoch später¹¹⁾ zu **4**. Ihrem Vorschlag, die Kohlenstoffatome der Secalonsäure als Tetrahydroxanthon-Derivat wie in **4** zu beziffern, haben wir uns angeschlossen.

Die Secalonsäuren B und C haben, da sie, wie oben gezeigt, mit der Secalonsäure A diastereomer sind, ebenfalls die Konstitution **4**. Alle drei Secalonsäuren gaben, wie dies schon für ihre Gemische nachgewiesen wurde, keine positive Gibbs-Reaktion^{10, 17)}. Ihre Molekülhälften sind daher in 4,4'-Stellung miteinander verbunden.

Konfiguration der Secalonsäuren A und B

Die Secalonsäuren (**4**) haben in jeder Molekülhälfte an den C-Atomen 6, 5 und 10 drei Asymmetriezentren, insgesamt also sechs. Innerhalb der Secalonsäuren A und B besteht zwischen den Molekülhälften keine Diastereomerie, d. h. die relativen Konfigurationen sind in beiden Hälften gleich. Dies geht u. a. daraus hervor, daß diejenigen Protonen, deren Resonanzabsorption durch Änderung der relativen Konfiguration verschoben wird (z. B. CH_3 , H und CO_2CH_3 an C-6, C-5 bzw. C-10), im NMR-Spektrum (Abbild. 3) keine Aufspaltung zeigen, die nicht durch Spin-Kopplung verursacht ist. Daher konnten wir bei der Konfigurationsbestimmung der Secalonsäuren A und B so verfahren, als bestünden diese nur aus einer Molekülhälfte mit drei Asymmetriezentren. Da das bei der Secalonsäure C nicht möglich ist, wird die Festlegung ihrer Struktur anschließend gesondert behandelt.

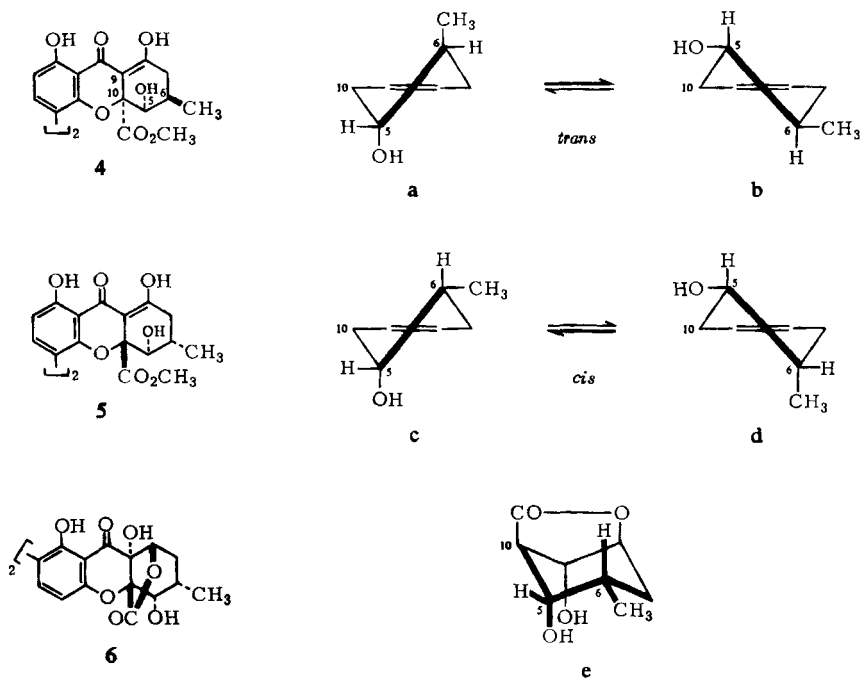
Sowohl beim Abbau mit Ozon als auch mit Kaliumpermanganat ergab Secalonsäure A *R*-(+)-Methylbernsteinsäure (**22**). Das Asymmetriezentrum C-6 der Secalonsäure A hat daher ebenfalls die *R*-Konfiguration mit der Methylgruppe oberhalb der Schreibe ebene in Formel **4**. Da Secalonsäure B beim Kaliumpermanganat-Abbau *S*-(-)-Methylbernsteinsäure lieferte, kommt ihr an C-6 die entgegengesetzte Konfiguration (**5**) zu.

Relativ zu den hiermit festgelegten absoluten Konfigurationen an C-6 der Secalonsäuren A und B konnte die Konfiguration am Carbinolzentrum C-5 aus den in absolutem Pyridin- d_5 gemessenen NMR-Spektren (Abbild. 3) abgeleitet werden. Im Falle der Secalonsäure A ergibt das Proton an C-5 ein Dublett bei 4.18 ppm. Dessen Spinkopplung ($J = 10.5$ Hz) mit dem benachbarten Methinproton von C-6 zeigt an²²⁾, daß beide Protonen *trans*-di axial angeordnet sind. Damit ist die Hydroxygruppe als *trans*-di äquatorial zur Methylgruppe festgelegt (**4**) und von den beiden Konformationen **a** und **b** für Ring C mit *trans*-Konfiguration der Substituenten kommt nur **b** in Betracht.

Das Proton am Carbinolzentrum der Secalonsäure B gibt sich demgegenüber durch ein Singulett bei 4.59 ppm zu erkennen. Da hier keine Spinaufspaltung von mehr als 2 Hz sichtbar ist, kommen für die Protonen an den C-Atomen 5 und 6 die Anordnungen di äquatorial, axial-äquatorial und äquatorial-axial in Frage²²⁾. Davon entfällt

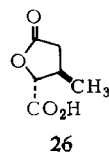
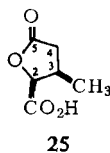
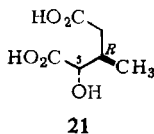
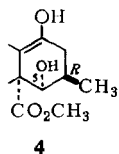
²²⁾ Nach der Gleichung von M. Karplus²³⁾ ist am Cyclohexanring für zwei benachbarte Protonen in di axialer Anordnung (Projektionswinkel 180°) $J = 9.2$ Hz, für die übrigen Anordnungen (Projektionswinkel 60°) $J = 1.5$ Hz.

²³⁾ M. Karplus, J. Amer. chem. Soc. **85**, 2870 (1963).



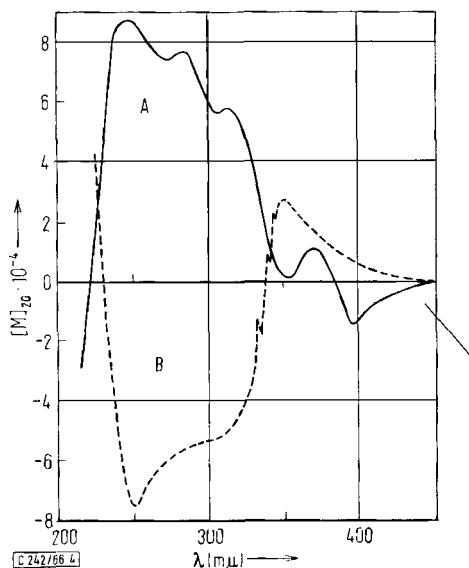
die Anordnung diäquatorial, denn darin hätten die Substituenten an den C-Atomen 5 und 6 die sterisch benachteiligten axialen Stellungen. Sie würde sich daher sofort in das Konformere mit diaxialen Protonen umwandeln (vgl. a und b). In den beiden Konformationen c und d, welche somit der Secalonsäure B verbleiben, steht die Hydroxygruppe am Carbinolzentrum *cis* zur Methylgruppe, so daß deren Anordnung der Konfigurationsformel 5 entsprechend festgelegt ist. Die übereinstimmende Lage der Signale des C-5-Protons von Secalonsäure B (4.59 ppm) und Ergoffavin (4.60 ppm) in Pyridin zeigt weiterhin, daß Ring C von Secalonsäure B in diesem Lösungsmittel die Konformation c hat, in der das Proton an C-5 ebenso wie im Ergoffavin (6, e) äquatorial angeordnet ist.

Für Secalonsäure A konnte die Konfiguration der Hydroxygruppe an C-5 zusätzlich durch den Ozonabbau gesichert werden. Ozonisation von Secalonsäure A ergab, wie schon erwähnt, α -Hydroxy- β -methyl-glutarsäure (21) neben der entsprechenden α -Ketosäure und *R*-(+)-Methylbernsteinsäure (22). Obwohl die Säure 21 nur in kleiner Menge anfiel und noch geringe Verunreinigungen enthielt, ließ sie sich als Natriumsalz und als γ -Lacton (25) durch Analyse, Papierchromatogramm, Hochspannungselektrophorese, NMR-Spektrum, Perjodat oxydation und Alkaliabbau zu Methylbernsteinsäure eindeutig identifizieren. Darauf untersuchten wir die Stereochemie des Abbaulactons (25), um dadurch einen unabhängigen Beweis für die Konfiguration an C-5 der Secalonsäure A zu erhalten. Wir gingen von der Annahme aus, daß an diesem Zentrum beim Übergang in das Abbaulacton keine Konfigurationsänderung eintritt. Hierzu wurden die noch nicht beschriebenen *cis*- (25) und *trans*- α -



Hydroxy- β -methyl-glutarsäurelactone (**26**) dargestellt²⁴). Es zeigte sich, daß beim Abbau lacton wie bei der Reaktionsfolge Secalonsäure \rightarrow **21** \rightarrow **25** zu erwarten, Methyl- und CO_2H -Gruppe die *cis*-Anordnung haben. Dies ging aus dem NMR-Spektrum hervor. Das Proton an C-2 des Abbau lactons (**25**) gab ebenso wie das der synthetischen *cis*-Verbindung ein Dublett bei 4.97 ppm ($J = 7.6$ Hz). Diese Konstante der Spinkopplung des C-2-Protons mit dem an C-3 (**25**) entspricht etwa dem nach der Gleichung von Karplus²³) berechneten Wert von 8.2 Hz für *cis*-ständige Cyclopentanprotonen (Projektionswinkel 0°). Da das Methylzentrum C-3 des Abbau lactons wie in der Secalonsäure A selbst die *R*-Konfiguration haben muß, ist auch die absolute Konfiguration des Abbau lactons entsprechend **25** festgelegt. Somit hat das Carbinol-C-Atom im Abbau lacton und in der Secalonsäure A *S*-Konfiguration. In der Secalonsäure A steht die Hydroxygruppe an C-5 auch nach dieser Untersuchung in *trans*-Stellung zur benachbarten Methylgruppe.

Es verblieb noch die Konfigurationsbestimmung der Methoxycarbonylgruppe an C-10. Sie gelang mit Hilfe von Rotationsdispersion, Zirkulardichroismus und Massen-

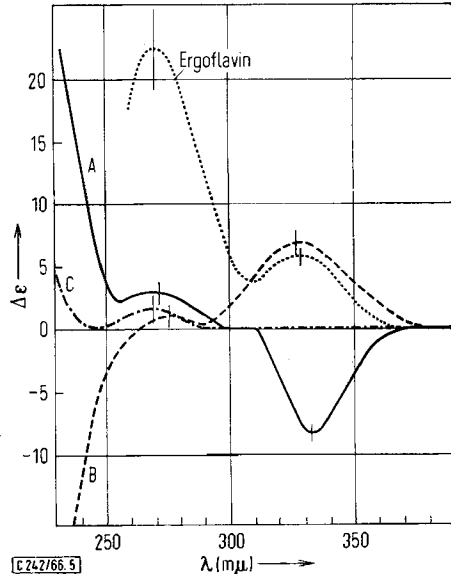


Abbild. 4. Rotationsdispersion der Secalonsäuren A und B in Chloroform

spektren der Secalonsäuren A und B. Die in Chloroform gemessenen Rotationsdispersionskurven (Abbild. 4) zeigen annähernd spiegelbildlichen Verlauf mit starken, einander entgegengerichteten Cotton-Effekten im Bereich der intensiven UV-Absorp-

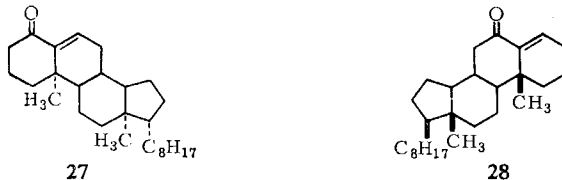
²⁴) F. Hüper, Diplomarb., Univ. Kiel 1965.

tionen bei 340 und 230 $m\mu$. Da es sich bei den Secalonsäuren um optisch aktive Verbindungen mit komplexem Chromophor handelt, sind die Kurven durch Überlagerung kleinerer Cotton-Effekte, z. B. bei 380 und 270 $m\mu$, etwas entstellt. Noch klarer sind die entgegengesetzten Cotton-Effekte bei 330 und etwa 230 $m\mu$ in den Zirkulardichrogrammen der Secalonsäuren A und B zu erkennen (Abbild. 5). Nach



Abbild. 5. Zirkulardichroismus von Secalonsäure A, B, C und Ergoflavine in Dioxan

zahlreichen Untersuchungen an optisch aktiven, α,β -ungesättigten, polycyclischen Ketonen wie z. B. 27 und 28²⁵⁾ folgt daraus²⁶⁾, daß sich die beiden diastereomeren



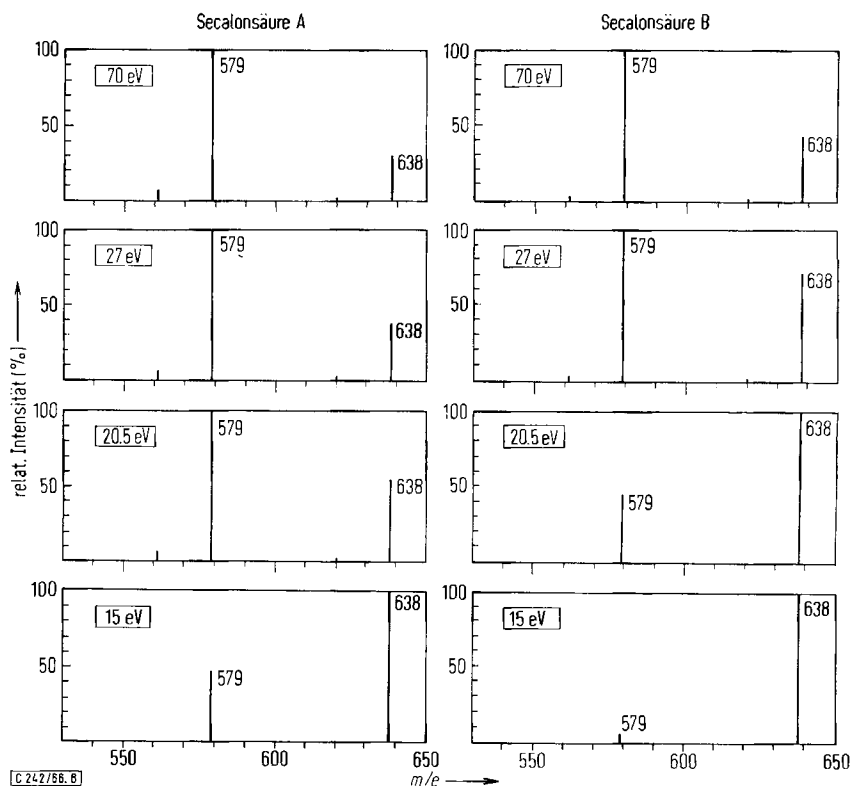
Secalonsäuren A und B in der Konfiguration an einer Ringverknüpfung unterscheiden. Dabei kann es sich nur um das Asymmetriezentrum C-10 mit der Methoxycarbonylgruppe handeln.

Außerdem läßt sich aus den Zirkulardichrogrammen auch die absolute Konfiguration an C-10 ableiten. An diesem Zentrum müssen Secalonsäure B und Ergoflavine gleich konfiguriert sein, denn ihre Zirkulardichrogramme zeigen (Abbild. 5) bei 330 $m\mu$ positive Cotton-Effekte. Da für Ergoflavine die Konfiguration an C-10 der Formel 6 entsprechend durch eine Röntgenstrukturanalyse festgelegt wurde⁷⁾, hat Secalonsäure B an diesem Zentrum die analoge Anordnung (5). Für Secalonsäure A ergibt sich hieraus die absolute Konfigurationsformel 4.

²⁵⁾ C. Djerassi, R. Riniker und B. Riniker, J. Amer. chem. Soc. **78**, 6362 (1956).

²⁶⁾ C. Djerassi, Optical Rotatory Dispersion, S. 64, McGraw-Hill, New York 1960.

Von dem Befund ausgehend, daß bei Secalonsäure A und B die Methoxycarbonylgruppen an C-10 entgegengesetzt konfiguriert sind, konnte deren Konfiguration *relativ* zur benachbarten Hydroxygruppe — und damit *absolut* — auch massenspektrometrisch abgeleitet werden. Die Massenspektren der Secalonsäuren A und B enthalten unterhalb des Molekül-Ions (m/e 638) ein Fragment bei m/e 579, das durch Abspaltung einer CO_2CH_3 -Gruppe entsteht²⁷. Bei Secalonsäure A ist die relative Intensität dieses Fragmentes gegenüber der des Molekül-Ions größer als bei Secalonsäure B (Abbild. 6). Durch Herabsetzen der Elektronenenergie auf 15 eV (Tab. 2) sowie Vergrößerung der Alkoxy-carbonylgruppe durch Umestern der Secalonsäuren A und B mit höheren und sekundären Alkoholen²⁸ ließ sich dieser Unterschied beträchtlich verstärken.



Abbild. 6. Massenspektren der Secalonsäuren A und B bei 70, 27, 20.5 und 15 eV im m/e -Bereich 530–650

Aus den Massenspektren geht somit hervor, daß die Methoxycarbonylgruppe der Secalonsäure A beim Elektronenbeschuß leichter abgespalten wird als die von Secalon-

²⁷) Die Zuordnung des Fragmentes m/e 579 als $638(\text{M}) - \text{CO}_2\text{CH}_3$ ist dadurch gesichert, daß Secalonsäure A nach saurer Äthanolyse zu 4 ($\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ statt CO_2CH_3) ein Fragment von entsprechender Intensität bei $666 - \text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5 = 593$ ergab²⁸).

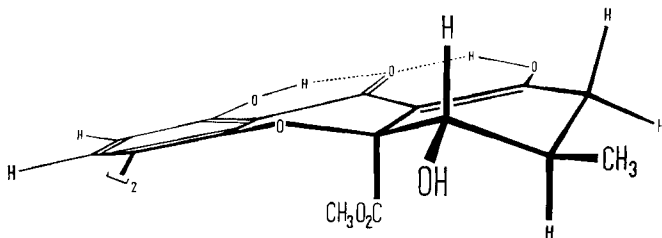
²⁸) O. v. d. Heyde, Diplomarb., Univ. Kiel 1966.

Tab. 2. Intensitätsverhältnis der Peaks 579 (M - CO₂CH₃) und 638 (M) im Massenspektrum der Secalonsäuren A und B bei verschiedenen Elektronenenergien

eV	Intensitätsverhältnis Secalonsäure A	M - CO ₂ CH ₃ /M Secalonsäure B
70	3.2	2.3
27	2.6	1.4
20.5	1.8	0.5
15	0.48	0.1

säure B. Man kann daraus schließen, daß in der Secalonsäure A die CO₂CH₃-Gruppe die weniger stabile *cis*-Anordnung zur benachbarten Hydroxygruppe hat. Demgegenüber hätten OH- und CO₂CH₃-Gruppe in der Secalonsäure B *trans*-Anordnung. Das bestätigt die aus Rotationsdispersion und Zirkulardichroismus abgeleiteten Konfigurationen an C-10 (4, 5). Daß aus Secalonsäure A eine CO₂CH₃-Gruppe leichter abgespalten wird, kann nicht auf einer sterischen Wechselwirkung mit der Methylgruppe an C-6 beruhen, denn hinsichtlich ihrer Struktur an C-6 und C-10 verhalten sich die beiden Secalonsäuren wie Antipoden (vgl. 4 und 5).

Durch die vorstehend beschriebenen stereochemischen Untersuchungen sind für die Secalonsäuren A und B auch die relativen und absoluten Konfigurationen aller sechs Asymmetriezentren den Formeln 4 und 5 entsprechend festgelegt. Zusammen mit der auf S. 3851 abgeleiteten Konformation ergibt sich für Secalonsäure A die folgende räumliche Struktur:



Konfiguration der Secalonsäure C

Secalonsäure C ist mit den Secalonsäuren A und B diastereomer (s. Tab. 1). Die relative und absolute Konfiguration ihrer sechs Asymmetriezentren an den C-Atomen 6, 5, 10, 6', 5' und 10' ergab sich recht einfach durch Vergleich mit den Secalonsäuren A und B. Da Secalonsäure C sich nach Molrotation, Zirkulardichroismus (s. Abbild. 5) und NMR-Spektrum (Abbild. 3) nahezu wie ein Gemisch der Secalonsäuren A und B (4, 5) verhält, muß angenommen werden, daß sie das Kondensationsprodukt 7 aus je einer Molekülhälfte dieser beiden Secalonsäuren ist.

Molrotation und Zirkulardichroismus geben vor allem Auskunft über die Konfigurationen an den C-Atomen 10 und 10'. Da diese sich an Ringverknüpfungen befinden und dem Chromophor am nächsten stehen, beeinflussen sie die optische Drehung der Secalonsäuren am stärksten.

Die Werte (Tab. 3) bzw. die Kurve (Abbild. 5) für Secalonsäure C weichen nur wenig von den Mittelwerten für Secalonsäure A und B ab. Die Abweichung zeigt lediglich an, daß eine schwache Wechselwirkung zwischen den Molekülhälften der

Secalonsäuren besteht. Die Rotation einer Molekülhälfte wird offenbar etwas davon beeinflusst, ob sie mit ihresgleichen oder einer anders konfigurierten Molekülhälfte verbunden ist.

Tab. 3. Molrotationen der Secalonsäuren A, B und C ($[M_A]^{20}$, $[M_B]^{20}$, $[M_C]^{20}$)

(m μ)	$[M_A]^{20}$	$[M_B]^{20}$	$[M_C]^{20}$	$\frac{[M_A]^{20} + [M_B]^{20}}{2}$
a) In Chloroform ($c_A, c_B, c_C = 0.326, 0.329, 0.298$)				
589	-478°	+ 919°	+159°	+221°
578	-537°	+1002°	+166°	+233°
546	-740°	+1310°	+193°	+285°
b) In Pyridin ($c_A, c_B, c_C = 0.465, 0.436, 0.297$)				
589	-1290°	+1290°	-64°	0°
578	-1365°	+1415°	-68°	+25°

In Tab. 4 sind für die drei Secalonsäuren die Protonenresonanzen zusammengestellt, welche konfigurationsabhängig sind und gut definierte Signale liefern. Es handelt sich um die Protonen an der C-Methylgruppe (C-11), am Carbinolkohlenstoffatom (C-5) und — was bemerkenswert ist — an den aromatischen C-Atomen 2 und 3. Hinsichtlich

Tab. 4. Zuordnung der NMR-Signale der Secalonsäuren A, B und C*)

Protonen an	Secalonsäure A	Secalonsäure B	Secalonsäure C
C-2,2'	6.72 (2, d)	6.72 (2, d)	6.75 (2, d)
C-3,3'		7.55 (2, d)	7.60 (1, d)
	7.63 (2, d)		7.65 (1, d)
C-5,5'	4.19 (2, d)		4.20 (1, d)
		4.59 (2, s)	4.60 (1, s)
C-7,7'	2.65 (4, m)	2.63 (4, m)	2.60 (4, m)
C-11,11'	1.26 (6, d)	1.19 (6, d)	1.25 (6, m)
C-12,12'	3.59 (6, s)	3.59 (6, s)	3.59 (6, s)
	$J_{2,3} = 8.5$	$J_{2,3} = 8.5$	$J_{2,3} = 8.5$
	$J_{3,2} = 8.5$	$J_{3,2} = 8.5$	$J_{3,2} = 8.5$
	$J_{5,6} = 10.5$		$J_{5,6} = 10.5$
	$J_{11,6} = 6.0$	$J_{11,6} = 6.0$	

*) δ -Werte (ppm, J in Hz) in Pyridin- d_5 gemessen. Eingeklammert sind Protonenzahl und die Angaben über das Vorliegen von Singulett (s), Dublett (d) oder Multiplett (m).

all dieser Protonenresonanzen verhält sich Secalonsäure C wie eine Mischung der Secalonsäuren A und B, d. h. in ihren NMR-Spektren sind alle Signale der beiden anderen Secalonsäuren mit halber Intensität — einzeln oder überlagert — enthalten. Damit ist auch für die Asymmetriezentren an den C-Atomen 6/6' und 5/5' die Richtigkeit der Konfigurationsformel 7 für Secalonsäure C erwiesen.

Herrn Prof. Dr. S. Shibata, Universität Tokio, danken wir für die Aufnahme von Rotationsdispersionskurven, Herrn Doz. Dr. G. Snatzke, Organisch-Chemisches Institut der Universität Bonn, für Messung und Diskussion der Zirkulardichrogramme. Die Arbeit wurde finanziell von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der Chemischen Industrie und der Stiftung Volkswagenwerk sowie durch Versorgung mit Mutterkorn von der Dr. Schwarz Arzneimittelfabrik, Monheim, großzügig gefördert.

Beschreibung der Versuche

Alle Schmelzpunkte sind im Berl-Block bestimmt und korrigiert. Die Massenspektren wurden mit dem Gerät Atlas CH 4/IV bei 15–70 eV Elektronenenergie und 3 kV Beschleunigungsspannung, die NMR-Spektren im Varian A 60 mit TMS als innerem Standard und die optischen Drehwerte mit dem Perkin-Elmer-Polarimeter 141 aufgenommen. Die Messung der UV-Spektren erfolgte mit dem Zeiss-Spektralphotometer PMQ II.

Zur *Rundfilter- und Dünnschichtchromatographie* wurden die folgenden Lösungsmittelsysteme verwendet:

1. Chloroform/Pentanon-(2) (9 : 1) auf oxalsaurem Kieselgel G (E. Merck). Zum Beschichten von 10 Dünnschichtplatten, 10 × 20 cm, wurden 30 g Kieselgel G in 60 ccm 0.5*n* Oxalsäure suspendiert und die beschichteten Platten 60 Min. bei 110° getrocknet.

2. *n*-Propanol/25% Ammoniak (7 : 3) auf Papier 2043b (Schleicher & Schüll).

3. *n*-Propanol/25% Ammoniak (7 : 3) auf Dünnschicht aus Cellulosepulver 143 (Schleicher & Schüll).

4a. *n*-Propanol/25% Ammoniak/Wasser (6 : 3 : 1) auf Papier 2043b (Schleicher & Schüll), quer zur Faserrichtung.

4b. sek.-Butylalkohol/Ameisensäure/Wasser (6 : 1 : 2) auf Papier 2043b (Schleicher & Schüll) in Faserrichtung.

Auf den Chromatogrammen wurden die Ergochrome durch Besprühen mit diazotierter Sulfanilsäurelösung^{29,10)} deutlicher sichtbar gemacht. Zum Nachweis der Dicarbonsäuren diente das Glucose/Anilin-Reagens nach *Isherwood* und *Haues*³⁰⁾.

Isolierung des Secalonsäuren-Gemisches: Durch Vorbehandlung des Mutterkorns mit Weinsäure konnte die Ausbeute an kristallisiertem Secalonsäuren-Gemisch gegenüber früheren Aufarbeitungsvorschriften^{14,15,10)} wesentlich erhöht werden. 5 kg gemahlenes und mit Petroläther entfettetes *Mutterkorn* österreichischer Herkunft wurden in 15 l 10-proz. wäßr. Weinsäurelösung suspendiert, die sich in einem 25-l-Steinzeugperkolator befanden. Nach 24 Stdn. ließ man den rotbraunen Extrakt ablaufen und wusch mit 40 l Methanol. Die letzten 15 l dieses Methanoleluats waren nur noch schwach rot gefärbt und schieden beim Eindampfen auf 1.5 l 3 g Secalonsäuren-Gemisch in Form gelber Kristalle ab. Nachdem auf diese Weise die basischen und polaren Inhaltsstoffe größtenteils aus dem Mutterkorn abgetrennt waren, kochte man dieses in drei Anteilen zu 1.7 kg in einem Filtertuchbeutel je dreimal mit 6 l Chloroform 10 Stdn. unter Rückfluß und dampfte die vereinigten Chloroformauszüge ein. Es verblieben 0.5 l Öl, das ein gelbes Sediment enthielt. Nach Zusatz von 3 l Petroläther wurde die gelbbraune Fällung (14 g) abfiltriert, dreimal in 60 ccm Eisessig suspendiert, wieder abgesaugt und schließlich mit der zuvor erhaltenen 3-g-Fraktion aus Chloroform umkristallisiert. 14 g hellgelbes, kristallisiertes Secalonsäuren-Gemisch (0.28%, bez. auf Mutterkorn). Es zeigte im Dünnschichtchromatogramm (System 1) die Zonen der drei diastereomeren *Secalonsäuren A, B* und *C* mit folgenden R_A -Werten¹⁶⁾ und Mengenverhältnissen:

R_A 1.00	(75%)	Secalonsäure A
R_A 1.7	(5%)	Secalonsäure C
R_A 2.3	(20%)	Secalonsäure B

5.0 kg kanadisches Mutterkorn ergaben bei gleicher Aufarbeitung 21 g *Secalonsäure A*. Die *Secalonsäuren B* und *C* waren kaum darin nachweisbar.

²⁹⁾ R. L. Hossfeld, J. Amer. chem. Soc. **73**, 853 (1951).

³⁰⁾ F. A. Isherwood und C. S. Haues, Biochem. J. **55**, 824 (1953).

Chromatographische Auftrennung der diastereomeren Secalonsäuren

600 mg des *Secalonsäuren-Gemisches* in 200 ccm Chloroform/Pentanon-(2) (9:1) wurden auf eine mit demselben Lösungsmittelgemisch eingeschlammte Säule (4.5 × 30 cm) aus 300 g oxalsäurem Kieselgel G (E. Merck) gegeben. Zur Imprägnierung mit Oxalsäure verrührte man 1.5 kg Kieselgel G mit einer Lösung von 100 g Oxalsäure in 2.5 l Methanol zu einem homogenen Brei, trocknete diesen in flachen Schalen bei 70° ein, siebte das Pulver und aktivierte es vor dem Gebrauch jeweils 1 Stde. bei 110°. Das Eluat trennte man mit einem Fraktionssammler in 40-ccm-Proben auf, faßte diejenigen zusammen, welche nach ihrem Dünnschichtchromatogramm reine Farbstoffe enthielten, wusch sie mit Wasser neutral, trocknete mit Natriumsulfat und dampfte ein.

Secalonsäure A ergab nach Umkristallisieren aus Dioxan/Petroläther und Chloroform 265 mg (44%, bez. auf *Secalonsäuren-Gemisch*) feine, zitronengelbe, bis zu 4 mm lange Nadeln vom Schmp. 246–248° (Zers.).

Secalonsäure B kristallisierte aus Chloroform bei schneller Abscheidung in Blättchen, bei langsamer in Würfeln, aus Essigester in Quadern. 85 mg (14%, bez. auf *Secalonsäuren-Gemisch*) vom Schmp. 259–262° (Zers.).

Secalonsäure C, die zwischen den *Secalonsäuren A* und *B* eluiert wird, wurde durch erneute Auftrennung der gesammelten Zwischenfraktionen von mehreren Säulen rein dargestellt. Sie kristallisierte aus Benzol/Cyclohexan in sechseckigen Tafeln vom Schmp. 187–189° (Zers.) (2–3%, bez. auf *Secalonsäuren-Gemisch*).

Besser ließ sich die *Secalonsäure C* durch chromatographische Auftrennung eines Rohfarbstoffgemisches aus österreichischem Mutterkorn der Firma *Gebr. Schwarz, Monheim*, gewinnen³¹⁾. Dabei ergaben 1.5 g Rohfarbstoffgemisch 58 mg reine *Secalonsäure C*.

Charakterisierung der Secalonsäuren A, B und C: Die *Secalonsäuren A* und *B* sind gut löslich in Pyridin, Dimethylformamid, Dioxan, verd. Natronlauge und konz. Schwefelsäure und mäßig löslich in Chloroform, Methylenchlorid und Aceton. Demgegenüber ist die *Secalonsäure C* in allen genannten Lösungsmitteln recht gut löslich. Die drei Farbstoffe geben mit 5-proz. methanol. FeCl₃-Lösung eine weinrote, mit diazotierter Sulfanilsäure (Pauli-Reagens) eine gelbrote Farbreaktion. R_A -Werte s. o.

UV-Absorption (Methanol)

Secalonsäure A: 340 (ϵ 31 200), 247 m μ (ϵ 18 140).

Secalonsäure B: 339 (ϵ 34 000), 240 m μ (ϵ 18 500).

Secalonsäure C: 339 (ϵ 33 400), 236 m μ (ϵ 18 730).

IR-Banden (KBr)

Secalonsäure A: 3480 m (OH), 2930 m, 1730 s (aliph. CO₂CH₃), 1605 s (Aryl-CO, cheliert), 1590 s, 1560 m, 1422 s, 1320 s, 1225 s, 1155 m, 1130 m, 1088 s, 1060 s, 1042 m, 985 m, 905 w, 888 m, 866 w, 817 m, 755/cm w.

Secalonsäure B: 3475 m (OH), 2890 m, 1735 s (aliph. CO₂CH₃), 1608 s (Aryl-CO, cheliert), 1580 s, 1430 s, 1345 m, 1320 s, 1253 s, 1232 s, 1134 m, 1083 m, 1045 m, 1000 m, 980 m, 905 m, 886 m, 825 m, 755 m, 728/cm m.

Secalonsäure C: 3530 w (OH), 2930 w, 1730 s (aliph. CO₂CH₃), 1605 s (Aryl-CO, cheliert), 1560 m, 1425 s, 1360 m, 1315 s, 1220 s, 1160 m, 1128 m, 1085 m, 1058 m, 1038 w, 995 m, 883 m, 860 w, 822 m, 760 w, 740/cm w.

NMR-Spektren (Pyridin-d₅, Tetramethylsilan = 0, ppm)

Secalonsäure A: 1.26 (6 H, d, $J = 6.0$ Hz, 2 CH₃), 2.0–3.2 (6 H, m), 3.59 (6 H, s, 2 CH₃O), 4.19 (2 H, d, $J = 10.5$ Hz, >CH—O—), 6.72 (2 H, d, $J = 8.5$ Hz, aromat. H), 7.63 (2 H, d, $J = 8.5$ Hz, aromat. H).

³¹⁾ B. Franck und G. Baumann, Chem. Ber. 99, 3863 (1966), nachstehend.

Secalonsäure B: 1.19 (6 H, d, $J = 6.0$ Hz, 2 CH₃), 2.0–3.0 (6 H, m), 3.59 (6 H, s, 2 CH₃O), 4.59 (2 H, s, >CH–O–), 6.72 (2 H, d, $J = 8.5$ Hz, arom. H), 7.55 (2 H, d, $J = 8.5$ Hz, arom. H).

Secalonsäure C: 1.0–1.5 (6 H, m, CH₃), 2.0–3.0 (6 H, m), 3.59 (6 H, s, 2 CH₃O), 4.20 (1 H, d, $J = 10.5$ Hz, >CH–O–), 4.60 (1 H, s, >CH–O–), 6.75 (2 H, d, $J = 8.5$ Hz, arom. H), 7.60 und 7.65 (zweimal 1 H, d, $J = 8.3$ und 8.5 Hz, arom. H).

Secalonsäure C (Chloroform-d): 1.0–1.5 (6 H, m, 2 CH₃), 2.0–3.2 (6 H, m), 3.71 und 3.73 (zweimal 3 H, 2 s, 2 CH₃O), 3.89 (1 H, d, $J = 11$ Hz, >CH–O–), 4.16 (1 H, s, >CH–O–), 6.52 und 6.57 (zweimal 1 H, 2 d, $J = 8.8$ und 8.5 Hz, arom. H), 7.37 und 7.40 (zweimal 1 H, 2 d, $J = 8.8$ und 8.5 Hz, arom. H), 11.68 und 11.84 (zweimal 1 H, 2 s, Phenol-OH, cheliert), 13.77 und 13.99 (zweimal 1 H, 2 s, Enol-OH, cheliert).

Massenspektren (70 eV) der Secalonsäuren A, B und C: $m/e = 638$ (M⁺), 579 (M – CO₂CH₃), 166 (3-Hydroxy-5-methyl-benzoesäure-methylester), 135 (166 – OCH₃), 107 (166 – CO₂CH₃).

Molrotationen der Secalonsäuren A, B und C s. Tab. 3.

Analysenwerte

C ₃₂ H ₃₀ O ₁₄ (638.6)	Ber.	C 60.19	H 4.74	2 OCH ₃ 9.72	2 C-CH ₃ 4.7
Secalonsäure A ^{*)}					
(aus CHCl ₃)	Gef.	C 60.04	H 4.75	OCH ₃ 9.73	C-CH ₃ 4.2
Secalonsäure B ^{**)}					
(aus Essigester)	Gef.	C 60.06	H 5.03	OCH ₃ 9.67	C-CH ₃ 4.0
Secalonsäure C ^{**)}					
(aus Benzol/Hexan)	Gef.	C 60.01	H 4.99	OCH ₃ 9.77	C-CH ₃ 4.1

^{*)} und ^{**)} 8 Stdn. bei 110 bzw. 135° i. Hochvak. getrocknet.

Potentiometrische Titration

13.46 bzw. 14.95 mg Secalonsäure A verbrauchten in 80-proz. wäbr. Dimethylformamid bis zum Wendepunkt 0.390 bzw. 0.433 ccm 0.104*n* NaOH, den Äquiv.-Geww. 330 bzw. 331 oder zwei sauren Gruppen entsprechend. pK_{DMF} 8.70.

14.44 bzw. 23.37 mg Secalonsäure B verbrauchten, ebenso titriert, 0.41 bzw. 0.67 ccm 0.104*n* NaOH, den Äquiv.-Geww. 339 bzw. 338 oder zwei sauren Gruppen entsprechend. pK_{DMF} 9.05 bzw. 8.95.

10.15 mg Secalonsäure C verbrauchten, ebenso titriert, 0.340 ccm 0.095*n* NaOH, dem Äquiv.-Gew. 322 oder zwei sauren Gruppen entsprechend. pK_{DMF} 8.70.

Gibbs-Reaktion^{32,10)}: Frisch bereitete Lösungen von 1.9 mg Secalonsäure A, 2.3 mg Secalonsäure B und 2.1 mg Secalonsäure C in je 2 ccm Pyridin versetzte man mit jeweils 6 ccm einer unmittelbar vorher bereiteten 0.15-proz. Lösung von 2.6-Dichlor-benzochinon-chlorimid in Pyridin und füllte mit Natriumboratpuffer (pH 9.2) auf 25 ccm auf. Nach 20 Min. wurden 10-ccm-Proben der drei Lösungen mit dem Puffer auf 100 ccm verdünnt und das Absorptionsspektrum im Bereich 500–800 μ bestimmt. In keinem Falle wurde bei 650 μ , dem Absorptionsmaximum der positiven Gibbs-Reaktion, eine Extinktionserhöhung gegenüber der Vergleichslösung ohne Secalonsäure beobachtet.

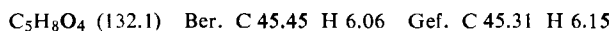
Ozonabbau der Secalonsäure A: In zwei Lösungen von je 2.0 g Secalonsäure A in 300 ccm Essigester leitete man bei 0° jeweils während 12 Stdn. bis zur Blaufärbung der Lösung Ozon (7% in O₂, 20 l/Stde.) ein, das, um ein Eindunsten der Reaktionslösung zu verhindern, mit Essigester-Dampf gesättigt war. Anschließend versetzte man die vereinigten beiden Lösungen zur Zersetzung der Ozonide mit je 3.5 ccm Perhydrol und konz. Ameisensäure, ließ 24 Stdn.

³²⁾ H. D. Gibbs, J. biol. Chemistry 73, 649 (1927); F. E. King, T. J. King und L. C. Manning, J. chem. Soc. [London] 1957, 563.

bei 20° stehen und dampfte die Lösung unter wiederholter Zugabe von 5-proz. *schwefliger Säure* i. Vak. ein. Um Ester- und andere säurelabile Gruppierungen zu spalten, wurde der dunkelbraune, ölige Rückstand in 35 ccm 0.2*n* H₂SO₄ aufgenommen, 5 Stdn. auf dem Wasserbad erhitzt, die schwefelsaure Lösung erschöpfend mit Essigester extrahiert und der Auszug zur Beseitigung von Schwefelsäure mit wenig verd. Bariumchloridlösung gewaschen. Trocknen des Extraktes mit Natriumsulfat und Eindampfen i. Vak. ergab 658 mg Ozonabbau-Säuren als ein braunes Öl, das im Kugelrohr bei 110–150° Badtemperatur und 0.006 Torr destilliert wurde. Im Ringpapierchromatogramm (System 2) ließ es neben Oxalsäure (R_F 0.0–0.1) und *Methylbernsteinsäure* (22) (R_F 0.37) eine intensive Zone bei R_F 0.44 erkennen.

Chromatographische Auftrennung der Ozonabbau-Säuren von Secalonsäure A an Celite: In einem Porzellanmörser wurden 180 g Celite (Johns-Manville Corp., Partikelgröße 10–40 μ) mit 75 ccm 0.2*n* H₂SO₄ gut verrieben, das Pulver in 1500 ccm Chloroform, das mit 0.2*n* H₂SO₄ gesättigt war, suspendiert und portionsweise in drei Säulen (2.5 cm \varnothing) gegossen. Jeder Anteil wurde gleichmäßig angedrückt, um Luftbläschen zu entfernen. Als das Chloroform soweit abgelaufen war, daß es in den drei Säulen nur noch 2 cm hoch über dem Celite stand, verteilte man auf die Säulen eine Aufschlämmung von 600 mg *Ozon-Abbausäuren* und 3 g Celite in 75 ccm Chloroform und drückte sie nach Auflegen einer Schicht Watte an. Zur Entwicklung der Säulen dienten nacheinander Chloroform-Portionen von 100 ccm, die mit 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 und 60 ccm *n*-Butanol versetzt, mit 0.2*n* H₂SO₄ gesättigt und zur Abtrennung von Wassertropfen durch ein trockenes Faltenfilter filtriert worden waren. Die Eluate wurden mit einem Fraktionssammler in 12-ccm-Proben zerlegt, deren Säuren nach Zusatz von 5 ccm kohlendioxidfreiem Wasser mit 0.01*n* NaOH unter Stickstoff gegen Phenolrot titriert und papierchromatographisch untersucht wurden. Die Fraktionen mit Zonen von gleichem R_F -Wert faßte man zusammen, wusch sie neutral und dampfte i. Vak. ein. So wurden 130 mg *Ozonabbau-Säure I* vom R_F -Wert 0.37 (wie *Methylbernsteinsäure*) und 20 mg *Ozonabbau-Säure II* vom R_F -Wert 0.44 isoliert.

Untersuchung der Ozonabbau-Säure I: Sublimation i. Hochvak. bei 90–100° ergab farblose Kristalle vom Schmp. 105–106°, $[\alpha]_D^{20}$: +10.9° ($c = 1.017$ in Methanol). Sie stimmen nach Misch-Schmp., R_F -Wert und spezif. Drehung mit *R-(+)-Methylbernsteinsäure* (22)³³⁾ überein.

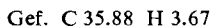
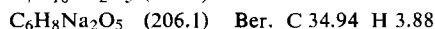
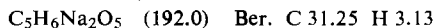


Untersuchung der Ozonabbau-Säure II

a) *Natriumsalz:* Eine Lösung von 20 mg der öligen *Säure II* in 50 ccm heißem Wasser wurde mit etwas Aktivkohle behandelt, die Lösung nach Erkalten mit 0.1*n* NaOH auf pH 8.5 eingestellt, i. Vak. auf 3 ccm eingengt und mit Äthanol versetzt. Das ausgefällte, hygroskopische Natriumsalz trocknete man i. Hochvak. 8 Stdn. bei 110°. 24.3 mg.

IR (KBr): 3450 s, 2964 w, 1700 w, 1639 s, 1575 s, 1408 s, 1388 m, 1055/cm w.

NMR (D₂O, Tetramethylsilan = 0, ppm): 0.95 (3 H, d, $J = 6.0$ Hz, CH₃), 2.25 (2 H unscharf, –CH₂), 2.4 (1 H unscharf, >CH-OH).



b) *Lacton:* 73.2 mg *Ozonabbau-Säure II* wurden im Kugelrohr bei 135° Badtemperatur und 0.005 Torr destilliert. 40.6 mg hellgelbes Öl. Es zeigte im Papierchromatogramm (System 2) zwei intensive Zonen (R_F 0.48 und 0.58), die mit synthetischem α -Hydroxy- β -methyl-glutar-

³³⁾ A. Fredga, Ark. Kem., Mineralog. Geol., Ser. B 15, Nr. 23, 2 (1942).

säure-lacton übereinstimmen, $[\alpha]_D^{20}$: $+1.1^\circ$ ($c = 0.740$ in Wasser). Außerdem ist eine schwächere, langsamer laufende Zone vom R_F -Wert 0.43 zu sehen, die sich durch erneute Destillation, Chromatographie an Celite und Hochspannungselektrophorese (25 V/cm bei pH 6.5) nicht abtrennen ließ.

IR (KBR): γ -Lacton 1740/cm. NMR (D_2O , Tetramethylsilan = 0, ppm): 1.18 (3 H, d, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 2.17–3.15 (m, $-CH_2-$), 4.97 (1 H, d, $J = 7.6$ Hz, >CH-O).

Test auf α -Hydroxysäuren: Je 1 Tropfen einer wäßr. Lösung der Ozonabbau-Säure II und $KJO_4/AgNO_3$ -Reagens³⁴⁾ (Mischung aus je 2 ccm 10-proz. $AgNO_3$, konz. Salpetersäure und 25 ccm 2-proz. Kaliumperjodatlösung) gaben beim Verrühren nach kurzer Zeit einen weißen Niederschlag. Ebenso verhielten sich Äpfelsäure, Ascorbinsäure und Milchsäure, nicht dagegen β -Hydroxy-propionsäure und Brenztraubensäure.

Identifizierung der Begleitzone von Ozonabbau-Säure II als α -Keto- β -methyl-glutarsäure: 13 mg der Abbausäure II wurden auf 3 Ringchromatogrammen (System 2) getrennt. Eines davon besprühte man mit einer 0.05-proz. Lösung von *o*-Phenylendiamin in 10-proz. Trichloressigsäure und entwickelte 3 Min. bei 110° im Trockenschrank. Danach fluoreszierte die Zone (R_F 0.43) der Begleitsäure im UV-Licht intensiv gelbgrün und zeigte an, daß eine α -Ketosäure vorliegt, die in das *Chinoxalinol-Derivat* übergeführt worden war. Aus den übrigen Ringchromatogrammen eluierte man die Zone der Begleitsäure mit 5-proz. Essigsäure, extrahierte das Eluat mit Essigester und dampfte den Auszug ein. Eine Lösung von 5 mg des Rückstandes in 1 ccm 2*n* NaOH versetzte man mit 0.2 ccm *Perhydrol*, säuerte nach 5 Tagen bei 20° mit verd. Salzsäure an und extrahierte mit Essigester. Der Rückstand zeigte im Dünnschichtchromatogramm (System 3) neben einer nur noch schwachen Zone der Ozonabbau-Säure II eine intensive neue Zone vom R_F -Wert 0.34 der *Methylbernsteinsäure*.

Kaliumpermanganat-Oxydation der Secalonsäure A: Eine Lösung von 298 mg *Secalonsäure A* in 20 ccm 2*n* NaOH wurde unter Außenkühlung durch Eis/Kochsalz-Kältemischung mit 40 ccm 4-proz. Kaliumpermanganat-Lösung 12 Stdn. bei 0° stehengelassen. Danach leitete man unter Kühlung bis zur Auflösung des Mangandioxids Schwefeldioxid ein, säuerte mit 5*n* H_2SO_4 an, extrahierte mit Essigester, nahm die Carbonsäuren des Auszuges in gesätt. wäßr. Natriumcarbonatlösung auf, extrahierte nach Ansäuern wieder mit Essigester, trocknete diesen Auszug und dampfte ein. Der ölige Rückstand lieferte i. Hochvak. bei $90-115^\circ$ 9 mg farbloses, kristallisiertes Sublimat, das im Papierchromatogramm (System 2) neben zwei schwachen Begleitzone eine intensive Zone (R_F 0.4) zeigte, die mit *Methylbernsteinsäure* übereinstimmt.

λ (m μ)	589	578	546	436	364
$[\alpha]_\lambda^{30}$ ($c = 0.156$ in H_2O)	+10.0°	+12.0°	+14.0°	+26°	+56°
Lit. ³³⁾ : $[\alpha]_\lambda^{30}$ ($c = 4.35$ in H_2O)	+9.2° = <i>R</i> -(+)- <i>Methylbernsteinsäure</i>				

Kaliumpermanganat-Oxydation der Secalonsäure B: 276 mg *Secalonsäure B* ergaben, wie vorstehend oxydiert, 26.6 mg sublimiertes Oxydationsprodukt, das anschließend durch Hochspannungselektrophorese (20 Volt/cm bei pH 6.5) gereinigt wurde. Dazu ermittelte man im fertigen Pherogramm die Lage der mit *Methylbernsteinsäure* übereinstimmenden Hauptzone durch Entwickeln herausgeschnittener Streifen und eluierte sie mit 10-proz. Essigsäure. Den Eindampfrückstand des Eluates extrahierte man mit Essigester, dampfte wieder ein und sublimierte den Rückstand bei 100° i. Hochvak.: 4.1 mg farbloses, kristallisiertes Sublimat, das nach IR-Spektrum und R_F -Werten im zweidimensionalen Papierchromatogramm (Systeme 4a und 4b) mit *Methylbernsteinsäure* identisch ist.

³⁴⁾ F. Feigl, Spot Tests in Organic Analysis, S. 127, Elsevier Publ. Comp., Amsterdam 1956.

λ (m μ)	589	578	546	436	364	313
$[\alpha]_{\lambda}^{20}$ ($c = 0.195$ in H ₂ O)	-7.5°	-8.0°	-9.0°	-14°	-39°	-130°
Lit. ³³⁾ : $[\alpha]_{\lambda}^{20}$ ($c = 5.08$ in H ₂ O)	-9.2° = <i>S</i> -(-)-Methylbernsteinsäure					

Racemisierung von R-(+)-Methylbernsteinsäure unter den Bedingungen der Alkalischmelze: Entsprechend den von Stoll u. a.¹⁵⁾ zur Alkalischmelze der Secalonsäuren angewandten Bedingungen wurden 46 mg synthetische *R*-(+)-Methylbernsteinsäure mit je 1 g Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid und Wasser im Nickeltiegel 30 Min. auf 200° und weitere 30 Min. auf 250° erhitzt. Danach nahm man die Schmelze in Wasser auf, säuerte mit Salzsäure an und extrahierte die Methylbernsteinsäure mit Essigester. 21 mg, $[\alpha]_{D}^{20}$: -0.095° ($c = 9.5$ in H₂O). Es war somit vollständige Racemisierung eingetreten.

[242/66]