

Hans Brockmann, Ernst Meyer, Klaus Schrempp, Fritz Reiners und Till Reschke

Resistomycin, IV¹⁾

Die Konstitution des Resistomycins

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

(Eingegangen am 12. September 1968)

Durch Zinkstaubreduktion, katalytische Hydrierung, oxydativen Abbau, Halogenierung und NMR-Spektrometrie wird die Konstitution des gelben Antibioticums Resistomycin (**21a**) bewiesen. — Resistomycin wird nacheinander an C-4, C-11 und C-8 bromiert und deuteriert. — Jod reagiert nur mit C-4. — Bayer-Villiger-Oxydation von Resistomycin-tetramethyläther (**18a**) liefert den Tetramethyläther **23a** von Resistomycinsäure-lacton.

Untersuchungen¹⁻⁵⁾ des zuerst aus *Streptomyces resistomycificus*⁶⁾ isolierten gelben Antibioticums Resistomycin^{7,8,9)} haben für Resistomycin-tetramethyläther zu Formel **18a** geführt^{1,4)} und für Resistomycin zu den tautomeren Formeln **20**, **21a** und **22**, von denen **21a** gilt¹⁰⁾ und nicht **20**, wie bisher angenommen^{1,4,11)}. Im folgenden bringen wir die Beweise.

Nach Abschluß unserer Untersuchungen berichteten zwei Arbeitsgruppen¹²⁾ ohne experimentelle Angaben über Versuche zur Strukturermittlung eines Antibioticum X-340, das sie als Resistomycin identifizierten. Ihre Ergebnisse bestätigten unsere Befunde.

Bei Beginn der vorliegenden Arbeit war bekannt: Resistomycin hat vier aktive Wasserstoffatome und drei in Äthylendiamin mit Natriumcolaminat potentiometrisch titrierbare Hydroxyle¹³⁾, bildet ein kristallisiertes, rotes Mononatriumsalz, enthält mindestens ein che-

1) III. Mitteil.: H. Brockmann und T. Reschke, Tetrahedron Letters [London] 1968, 3167.

2) E. Meyer, Dissertat., Univ. Göttingen 1954.

3) K. Schrempp, Dissertat., Univ. Göttingen 1959.

4) F. Reiners, Dissertat., Univ. Göttingen 1962. Die hier angegebene Formel **20** wurde zuerst veröffentlicht in M. W. Miller, „The Pfizer Handbook of Microbial Metabolites“, S. 266, McGraw-Hill Book Comp. Inc. 1961.

5) T. Reschke, unveröffentlicht.

6) W. Lindenbein, Arch. Mikrobiol. 17, 361 (1952).

7) H. Brockmann und G. Schmidt-Kastner, Naturwissenschaften 38, 479 (1951).

8) H. Brockmann und G. Schmidt-Kastner, Chem. Ber. 87, 1460 (1954).

9) Unter dem Namen „Resistomycin“ haben die Farbenfabriken Bayer AG, Leverkusen, Kanamycin im Handel, das mit unserem Antibioticum nicht identisch ist.

10) H. Brockmann und T. Reschke, Naturwissenschaften 55, 544 (1968).

11) H. Brockmann, Angew. Chem. 76, 863 (1964).

12) N. A. Bailey, C. P. Falshaw, W. D. Ollis und M. Watanabe sowie M. M. Dhar, A. W. Khan und V. C. Vora, Chem. Commun. 1968, 374.

13) H. Brockmann und E. Meyer, Chem. Ber. 86, 1514 (1953).

liertes Carbonyl, jedoch keine Alkoxy-, Acyloxy- oder Carboxy-Gruppe, liefert bei Kuhn-Roth-Oxydation 1.5 Mol Essigsäure, gibt mit 3–4 Mol Wasserstoff ein rotes Hydrierungsprodukt und ist kein Chinon.

Die funktionellen Gruppen

Nach verbessertem Verfahren isoliertes und gereinigtes Resistomycin und ebenso verschiedene Derivate gaben Analysenzahlen, die besser auf $C_{22}H_{16}O_6$ paßten als auf die zuerst angenommene Formel $C_{23}H_{18}O_6$ ⁸⁾. Endgültig gesichert wurde $C_{22}H_{16}O_6$ durch das Massenspektrum.

Darstellung des Tetrabenzoates und Tetraacetates zeigte, daß vier Sauerstoffatome des Resistomycons zu phenolischen bzw. enolischen Hydroxylen gehören. Methylierung in siedendem Aceton mit großem Überschuß an Dimethylsulfat/Kaliumcarbonat gab zu 70% kristallisierten Resistomycin-tetramethyläther und zu 20% eine Fraktion, die präparative Dünnschichtchromatographie in zwei kristallisierte Trimethyläther auftrennte; einen roten vom Schmp. 280° und einen gelben, in Lösung gelb fluoreszierenden mit Schmp. 264° und kleinerem R_F -Wert (Mengenverhältnis 2 : 3).

Drei Methoxyle des Tetramethyläthers werden bereits durch siedende konz. Salzsäure hydrolysiert. Der resultierende Monomethyläther ist identisch mit dem, der aus Resistomycin und Diazomethan entsteht.

Wie die IR-Absorption der Methyläther bei 1580–1700/cm zeigt (Tab. 2), gehören die beiden restlichen Sauerstoffatome von $C_{22}H_{16}O_6$ zu zwei Carbonylen, von denen das eine im roten Trimethyläther und das andere im gelben mit einem *peri*-Hydroxyl cheliiert ist. Chemisch geben sie sich dadurch zu erkennen, daß sie bei katalytischer Hydrierung des Tetramethyläthers zu Methylengruppen reduziert werden.

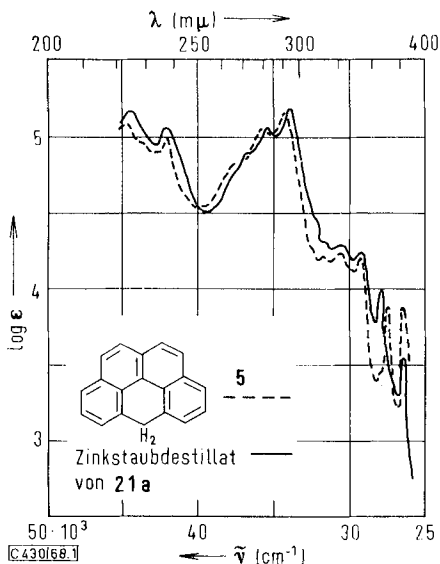
Resistomycin-tetramethyläther ist basisch, löst sich gelbrot in konz. Salzsäure und bildet ein kristallisiertes, rotes Perchlorat und Hydrochlorid. Die Basizität des Resistomycons ist erwartungsgemäß geringer; sein kristallisiertes rotes Hydrochlorid zersetzt sich bereits im festen Zustand.

60 MHz- und 100 MHz-NMR-Spektren des Resistomycons in verschiedenen Lösungsmitteln (Tab. 3) zeigen an: Drei nicht koppelnde Aromat/Olefin-Protonen, in Deuterioschwefelsäure gegen Deuterium austauschbar und demnach *o*-ständig zu Hydroxylen¹⁾; ein Aromat-Methyl; zwei Aliphath-Methyle, die — wie nach der Essigsäureausbeute (1.5 Mol) der Kuhn-Roth-Oxydation zu erwarten war — geminal sind. Denn Permanganat-Abbau des Resistomycons lieferte Dimethylmalonsäure (1a) und als deren Folgeprodukte α -Hydroxy-isobuttersäure (2a) und Isoäpfelsäure (3)⁴⁾. Da die geminalen Methyle ein scharfes Singulett geben, sind sie äquidistant zur Ringebene des Resistomycons.

Das Kohlenstoffgerüst des Resistomycons

Zinkstaubreduktion des Resistomycons in 5 mg-Ansätzen gab bei 280–300° zu 0.1% farbloses, blau fluoreszierendes Destillat, dessen charakteristisches Elektronenspektrum dem von 2.3-Trimethylen-pyren (4) glich. Zinkstaubdestillation im Wasserstoffstrom bei 360° dagegen lieferte zu 17% gelbes Öl und dieses nach Chromatogra-

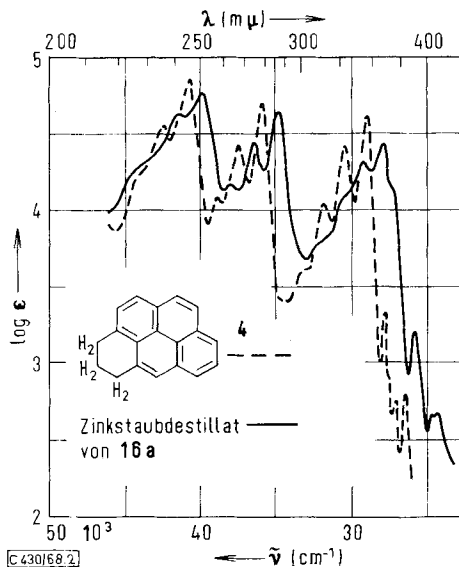
phie einen farblosen, kristallisierten Kohlenwasserstoff vom Schmp. 126°, mit ähnlicher Absorptionskurve (Abbild. 1) wie Naphthanthren (5) und Analysenzahlen, die auf ein Dimethylderivat von 5 paßten. Da Aromat-Methyle im allgemeinen bathochrom wirken, ist verständlich, daß die Kurve gegen die von 5 nach Rot verschoben ist.



Abbild. 1. Absorptionskurven des Zinkstaubdestillats von Resistomycin (21a) — in Hexan und von Naphthanthren (5) - - - in Äthanol

In der Erwartung, daß das Resistomycinderivat 16a — weil sauerstoffärmer und leichter flüchtig — bessere Ausbeuten liefern würde als Resistomycin, haben wir 16a in Milligrammansätzen mit Zinkstaub auf 390–400° erhitzt. Das zu 22% angefallene, auch nach chromatographischer Reinigung nicht kristallisierende Destillat ähnelte in der Absorptionskurve (Abbild. 2) 2.3-Trimethylen-pyren (4), bildete mit Trinitrobenzol eine rote Molekülverbindung und paßte in den Analysenzahlen annähernd auf ein Trimethylderivat von 4. Gaschromatographie und die Massenspektren der dabei erhaltenen Fraktionen zeigten, daß ein Gemisch aus Di-, Tri- und Tetramethylderivaten von 4 vorlag und demnach die Aromatisierung des Ringes, der die geminalen Methylene trägt, mit intermolekularer Methylwanderung verbunden ist. Da bei Methylpyrenen der bathochrome Effekt der Methylene von ihrer Zahl und Stellung abhängt, überrascht nicht, daß die Maxima des Zinkstaubdestillates weniger ausgeprägt sind als bei 4.

Mit dem Nachweis, daß bei der Zinkstaubdestillation Methylderivate von 4 bzw. 5 entstehen, war gesichert, daß Resistomycin das Ringsystem von 6a enthält. Und aus der Summenformel $\text{C}_{19}\text{H}_{14}$ des Resistomycin-Stammkohlenwasserstoffes ließ sich entnehmen, daß dieser drei Methylgruppen besitzt und demnach Resistomycin ein Derivat des Pyrens (4) oder eines Dihydro-naphthanthrens sein mußte. Damit ergab sich für Resistomycin die Teilformel 6a.



Abbild. 2. Absorptionskurven des Zinkstaubdestillats von 7-Desoxy-2.6-desoxy-8.9-dihydro-7H-resistomycin-trimethyläther (**16a**) ——— und von 2.3-Trimethylen-pyren (**4**) - - - in Hexan

2-Desoxo-resistomycin

In Eisessig mit der gleichen Menge Platinkatalysator hydriert, verbraucht Resistomycin insgesamt vier Moläquiv. Wasserstoff; davon zwei innerhalb weniger Min. und das vierte nur sehr langsam. Nach Aufnahme von 3.2 Mol Wasserstoff isolierten wir zu 95 % ein kristallisiertes, rotes, i. Hochvak. sublimierbares Reduktionsprodukt, das durch Summenformel $C_{22}H_{18}O_5$, Bildung eines kristallisierten Tetraacetates und NMR-Spektrum (Tab. 3; CH_2 -Singulett bei $\delta = 2.89$ ppm) als Desoxo-resistomycin der Teilformel **6b** charakterisiert war. Die neu entstandene Methylengruppe ist den geminalen Methylen benachbart. Denn Permanganat-Abbau lieferte 2.2-Dimethylbernsteinsäure (**14a**) und wenig Dimethylmalonsäure (**1a**), die wir durch R_F -Werte identifizierten, als Methylester gaschromatographisch trennten und durch IR- und NMR-Spektren charakterisierten.

In siedendem Aceton gab Desoxo-resistomycin mit großem Überschuss an Dimethylsulfat/Kaliumcarbonat nach 12 Stdn. zu 20 % kristallisierten, gelben Tetramethyläther und zu 75 % orangefarbenen Trimethyläther, die chromatographisch an neutralem Kieselgel getrennt wurden. Aus Desoxo-resistomycin und äther. Diazomethan entstand quantitativ ein Dimethyläther. Laut IR- und NMR-Spektrum (Tabb. 2 und 3) ist die Carbonylgruppe des Trimethyläthers mit einem und die des Desoxo-resistomycins und seines Dimethyläthers mit zwei Hydroxylen cheliert.

Wie der Tetra- und die Trimethyläther des Resistomycins sind auch die Methyläther von Desoxo-resistomycin basisch (Tab. 1).

Tab. 1. Farbe von Resistomycin (**21a**), 2-Desoxo-resistomycin (**13a**), 3,6,8-Trihydroxy-benzanthron-(7) (**12a**) und ihren Methyläthern in konz. Säuren und basischen Solvenzien*)

	konz. Schwefel-säure	konz. Salz-säure	methanol. Natron-lauge	a) Pyridin/Piperidin (10:1) b) desgl. + wenig H ₂ O c) Äthylendiamin d) desgl. + Na-Colaminat
Resistomycin (21a)	gelb **)	unlöslich	orange	a) orange b) orange
Resistomycin-monomethyläther (18e)	gelb **)	unlöslich	gelb ***)	a) orange b) orange
roter Resistomycin-trimethyläther (18b)	gelb **)	unlöslich	blaußgelb ***)	a) gelb b) gelb
gelber Resistomycin-trimethyläther (18c oder 18d)	gelb	orange	grüngelb ***)	a) grünlich gelb b) blaßgrün
Resistomycin-tetramethyläther (18a)	gelb	orange	unlöslich	a) gelb b) grünlich gelb
2-Desoxo-resistomycin (13a)	blaßrot, dann rot	unlöslich	rot	a) rot b) blaurot
3,6,8-Trihydroxy-benzanthron-(7) (12a)	rot	unlöslich	rot	a) blauviolett b) blau
2-Desoxo-resistomycin-dimethyläther (13d)	gelb	unlöslich	gelb ***)	c) orange d) rot
2-Desoxo-resistomycin-trimethyläther (13c)	gelb	blau	unlöslich	c) gelb d) rot
3,6,8-Trihydroxy-benzanthron-(7)-dimethyläther (12c oder 12d)	violett	violett	unlöslich	c) gelb d) violett
2-Desoxo-resistomycin-tetramethyläther (13b)	gelb	rot	unlöslich	c) gelb d) gelb
3,6,8-Trimethoxy-benzanthron-(7) (12b)	violett	rot	unlöslich	c) gelb d) gelb

*) Keine ausgeprägten Absorptionsmaxima.

**) Intensive grüne Fluoreszenz.

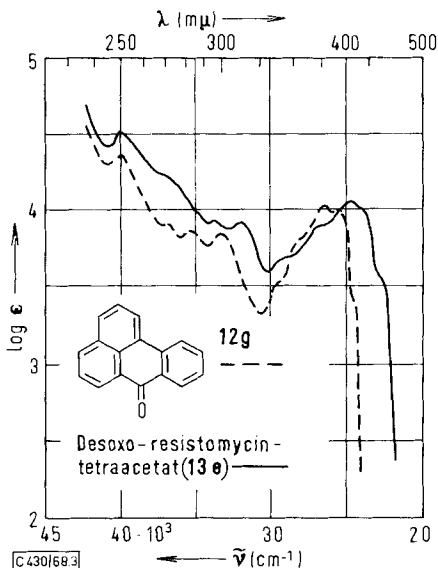
***) Spärlich gelöst.

In einem Desoxo-resistomycin **6b** kann eine Carbonylgruppe nur dann von zwei mit ihr chelierten *peri*-Hydroxylen flankiert sein, wenn vier Ringe zu einem Molekülteil mit 6,8-Dihydroxy-benzanthron-(7)-Struktur (**12f**) gehören, d. h., wenn Desoxo-resistomycin ein 5.7.x.y-Tetrahydroxy-trimethyl-1.2-dihydro-naphthantron-(6)-Derivat der Teilformel **7** ist, in dem die geminalen Methylgruppen an C-1 oder C-2 stehen.

Spektroskopisch bestätigt wurde die Benzanthron-Struktur von Desoxo-resistomycin zunächst durch die Absorptionskurve seines Tetraacetates, die — nach Erfahrungen bei peracetylierten mehrkernigen Chinonen¹⁴⁾ — in ihrer Gestalt der Absorptionskurve von Benzanthron (**12g**) ähnelt, jedoch längerwellig liegen sollte als diese. Nach Abbild. 3 trifft dies zu.

Einen Hinweis auf die Stellung der beiden nicht chelierten Hydroxyle und der Aromat-Methylgruppe von **7** gaben Überlegungen zur Biogenese des Resistomycins. Verläuft sie der Acetathypothese entsprechend, so gibt es für ein aus zehn Acetat-einheiten entstandenes Polyketon zwei durch **8** und **9** angedeutete Kondensationsrichtungen, die zu einem Ringsystem mit 5,7-Dihydroxy-naphthantron-(6)-Struktur wie in **7** führen. Entsteht Resistomycin über **9**, so würde es ein Desoxo-resistomycin **10** und bei Biogenese über **8** das Desoxoderivat **11a** liefern. **10** konnten wir ausschließen, wie im nächsten Abschnitt erläutert. Ob das Ringsystem des Desoxo-resistomycins nach

14) H. Brockmann und W. Müller, Chem. Ber. **92**, 1164 (1959).

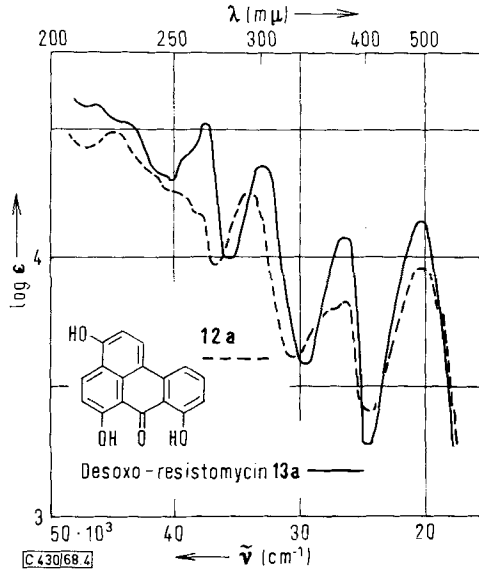


Abbild. 3. Absorptionskurven von Desoxo-resistomycin-tetraacetat (**13e**) ——— und Benzanthron (**12g**) - - - in Cyclohexan

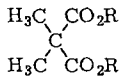
11a zu formulieren war, mußte sich durch spektroskopischen Vergleich mit dem Tetrahydroxy-benzanthron **12e** entscheiden lassen. Da dieses noch nicht bekannt war und seine Synthese aufwendig ist, haben wir zunächst das ebenfalls noch nicht beschriebene 3.6.8-Trihydroxy-benzanthron-(7) (**12a**) nebst Methyläthern **12b**, **12c**, **12d** synthetisiert^{4, 15)} und sie mit Desoxo-resistomycin und dessen Methyläthern verglichen. Die Absorptionskurve von Desoxo-resistomycin ist der von **12a** ähnlich (Abbild. 4). Das gleiche gilt für Desoxo-resistomycin-tetramethyläther (**13b**) und 3.6.8-Trimethoxy-benzanthron-(7) (**12b**)¹⁵⁾ sowie Desoxo-resistomycin-trimethyläther und die Dimethyläther **12c** und **12d**¹⁵⁾. Ähnlich sind auch die Basizität und die Farben in konz. Säuren und basischen Solvenzien (Tab. 1).

Auf Grund dieser Befunde hielten wir es für vertretbar, **7** zur Desoxo-resistomycin-Teilformel **11b** zu erweitern. Die Stellung des vierten Hydroxyls und der Methylgruppen ergab sich dann daraus, daß: 1. Die drei Aromat-Protonen von Desoxo-resistomycin, laut NMR-Spektrum, Hydroxylen benachbart sind und nicht koppeln und 2. eines seiner Hydroxyle *peri*-ständig zur Methylengruppe sein muß, weil diese durch Reduktion eines *chelierten* Resistomycin-Carbonyls entsteht. Beides ist bei **11b** nur möglich, wenn das vierte Hydroxyl an C-3, die geminalen Methylen an C-1 und das Aromat-Methyl an C-8 oder C-9 stehen. Da die Alternative C-8/C-9 eindeutig und dem Biogeneschema (**8**) entsprechend zugunsten von C-9 entschieden wurde¹⁾ (s. unten), ist Desoxo-resistomycin demnach 3.5.7.10-Tetrahydroxy-1.1.9-trimethyl-1.2-dihydro-naphthanthron-(6) (**13a**)¹⁰⁾ und wird von uns nunmehr als 2-Desoxo-resistomycin bezeichnet.

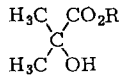
¹⁵⁾ W. Schramm, Diplomarb., Univ. Göttingen 1964.



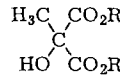
Abbild. 4. Absorptionskurven von 2-Desoxo-resistomycin (13a) ——— und 3.6.8-Trihydroxybenzanthron-(7) (12a) - - - in Methanol



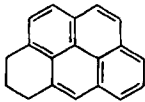
1a: R = H
b: R = CH₃



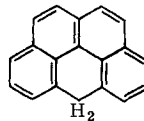
2a: R = H
b: R = CH₃



3a: R = H
b: R = CH₃



4



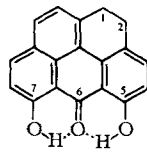
5



6a

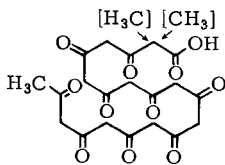
b: 2H statt 1 = O

$\left. \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \\ -\text{CH}_3 \\ 2 = \text{O} \\ 4 - \text{OH} \\ 3 \text{ Aromat/} \\ \text{Olefin-} \\ \text{Protonen} \end{array} \right\}$

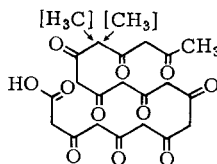


7

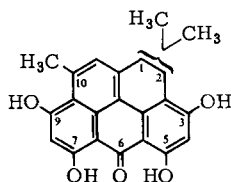
$\left. \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \\ -\text{CH}_3 \\ 2 - \text{OH} \\ 1 - \text{CH}_2- \\ 3 \text{ Aromat/} \\ \text{Olefin-} \\ \text{Protonen} \end{array} \right\}$



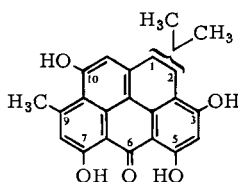
8



9

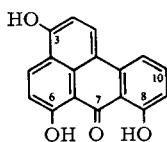


10

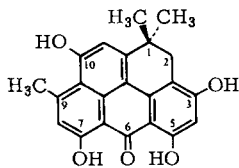


11a

b: CH₃ und OH an C-9
bzw. C-3 nicht bewiesen



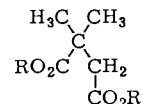
12a



13a



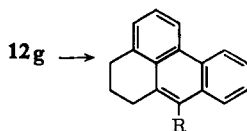
1a



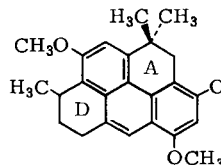
14a: R = H
b: R = CH₃

b: CH₃O statt OH
c: CH₃O statt OH an C-3, C-6
d: CH₃O statt OH an C-3, C-8
e: OH statt H an C-10
f: H statt OH an C-3
g: H statt OH

b: CH₃O statt OH
c: CH₃O statt OH an C-3, C-7, C-10
d: CH₃O statt OH an C-3, C-10
e: CH₃CO₂ statt OH

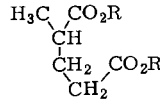


15a: R = OH
b: R = H



16a

b: OH statt CH₃O
an C-5
c: CH₃ statt CH₃O an C-10,
H statt CH₃ an C-9



17a: R = H
b: R = CH₃

Für den Tetramethyläther gilt dann **13b** und für den Trimethyläther, der laut IR-Spektrum (Tab. 1) ein cheliertes Hydroxyl enthält, wurde **13c** dadurch bewiesen, daß seine Hydrierung (s. unten) zum Reduktionsprodukt **16b** führte. Der mit Diazomethan gewonnene 2-Desoxy-resistomycin-dimethyläther hat erwartungsgemäß zwei chelierte Hydroxyle (Tab. 1) und demnach die Konstitution **13d**.

Die Konstitution des Resistomycins

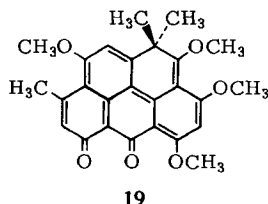
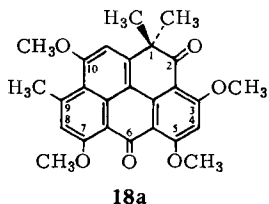
Der 2-Desoxo-resistomycin-Formel **13a** nach konnte Resistomycin die Konstitution **21a** haben, oder — falls dieses stabiler — eines der formal möglichen dreizehn Tautomeren von **21a** sein. Gegen **21a** und zugunsten von **20** schien uns zunächst zu sprechen, daß das gelbe Resistomycin im Gegensatz zum roten 2-Desoxo-resistomycin (**13a**) 1. in neutralen und basischen Solvenzien sowie in konz. Schwefelsäure kürzerwellig absorbiert [Tab. 1; längstwelliges Maximum (für beide $\log \epsilon$ 4.15, Methanol) um 20 $m\mu$ kürzerwellig]. 2. in Dimethylformamid/Methanol (3 : 2) 1 Äquival. Alkali-hydroxid verbraucht und 3. in wäbr. Alkali-hydroxid an der Luft nicht verändert wird.

Daß aus Resistomycin mit Dimethylsulfat/Kaliumcarbonat der Tetramethyläther von **21a** entsteht, ergab sich zugleich mit dem Beweis für die 9-Stellung des Aromat-Methyls aus folgendem:

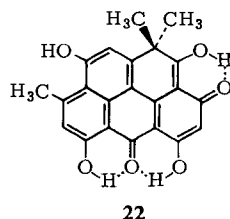
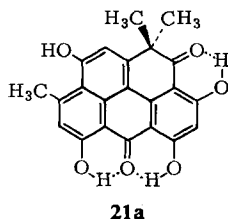
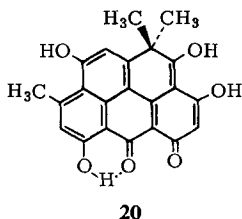
Hydrierung von Resistomycin-tetramethyläther in Eisessig mit Platin-Katalysator bis zur Sättigung (6 Moläquiv. Wasserstoff) lieferte über rote und blaue Zwischenstufen zu 70% ein farbloses, kristallisiertes, im UV-Licht blau fluoreszierendes, bei 200° i. Hochvak. destillierbares Hydrierungsprodukt $C_{25}H_{28}O_3$ mit drei Methoxylen. Demnach waren beide Carbonylsauerstoffatome sowie ein Methoxyl durch Wasserstoff ersetzt worden. Das gleiche Reduktionsprodukt erhielten wir aus 2-Desoxo-resistomycin-tetramethyläther (**13b**), während aus Desoxo-resistomycin-trimethyläther (**13c**) eine Verbindung $C_{24}H_{26}O_3$ mit nur noch zwei Methoxylen entstand.

Benzanthron (**12g**) wird bei Druckhydrierung mit Nickel-Katalysator zu 9-Hydroxy-1.10-trimethylen-phenanthren (**15a**) und durch Jodwasserstoffsäure zu 1.10-Tri-methylen-phenanthren (**15b**) reduziert. Danach war anzunehmen, daß **13b** und damit auch Resistomycin-tetramethyläther analog reagieren und das Reduktionsprodukt $C_{25}H_{28}O_3$ die Konstitution **16a** hat, die mit dem Elektronen- und NMR-Spektrum in Einklang steht. Bewiesen wurde **16a** und damit auch die 9-Stellung des Aromat-Methyls im Resistomycin durch Ozonabbau von $C_{25}H_{28}O_3$; denn dabei erhielten wir neben Dimethylmalonsäure (**1a**) und 2.2-Dimethyl-bernsteinsäure (**14a**) (beide aus Ring A entstanden) die 2-Methyl-glutarsäure (**17a**) (Mengenverhältnis 1 : 4 : 5), die als Dimethylester **1b**, **14b** und **17b** gaschromatographisch getrennt und durch IR- und NMR-Spektren identifiziert wurden. Bei 8-Stellung des Aromat-Methyls wäre statt **17a** die 3-Methyl-glutarsäure entstanden, deren Methylester sich im NMR-Spektrum charakteristisch von **17b** unterscheidet¹⁾; und bei 10-Stellung (wie in **10**) hätte die Hydrierung zu **16c** geführt, das ein Methoxyl weniger enthält als **16a** und bei Ozonabbau Glutarsäure liefern würde.

Von den Tetramethyläthern der vierzehn Resistomycin-Tautomeren können ihrer Struktur nach nur **18a** und **19** ein Reduktionsprodukt **16a** geben. Da bei der Bayer-Villiger-Oxydation des Resistomycin-tetramethyläthers (s. unten) das Lacton **23a** entsteht, das sich aus **19** nicht bilden kann, war für den Resistomycin-tetramethyläther Formel **18a** bewiesen. Sie wurde kürzlich durch Röntgenstrukturanalyse bestätigt¹²⁾.



- b:** OH statt CH_3O an C-3
c: OH statt CH_3O an C-5
d: OH statt CH_3O an C-7
e: OH statt CH_3O an C-3, C-5, C-7



- b:** $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}_2$ statt OH
c: CH_3CO_2 statt OH

Vergleich der IR-Spektren von **18a** und **13b** zeigt: Die 1695/cm-Bande von **18a** ist die des 2-Carbonyls. Da sie im gelben Resistomycin-trimethyläther die gleiche Wellenzahl hat, die andere dagegen bei 1625/cm liegt — statt wie in **18a** bei 1650/cm — ist das 6-Carbonyl cheliert; und zwar mit dem 5- oder 7-Hydroxyl, so daß dem gelben Trimethyläther Formel **18c** oder **18d** zukommt.

Tab. 2. IR-Banden (KBr, cm^{-1}) von Resistomycin (**21a**), 3.6.8-Trihydroxy-benzanthron-(7) (**12a**) und Derivaten bei 1580—1700/cm

	C-6	C-2
Resistomycin (21a)	1600	Schulter 1620 *)
Resistomycin-monomethyläther (18e)	1600	Schulter 1620 *)
gelber Resistomycin-trimethyläther (18c oder 18d)	1625	1690
roter Resistomycin-trimethyläther (18b)	1655	1630
Resistomycin-tetramethyläther (18a)	1650	1695
2-Desoxo-resistomycin (13a)	1595	Schulter 1615 *)
2-Desoxo-resistomycin-dimethyläther (13d)	1600	Schulter 1625 *)
2-Desoxo-resistomycin-trimethyläther (13c)	1623	
2-Desoxo-resistomycin-tetramethyläther (13b)	1655	
3.6.8-Trihydroxy-benzanthron-(7) (12a)	1620	
3.6.8-Trihydroxy-benzanthron-(7)-dimethyläther (12c oder 12d)	1632	
3.6.8-Trimethoxy-benzanthron-(7) (12b)	1650	
Benzanthron-(7) (12g)	1650	
Resistomycinsäure-lacton-tetramethyläther (23a)	1650	1735
Resistorubon-trimethyläther (26a)	1632	

*) Sehr breit.

Im roten Trimethyläther hat die Bande des 6-Carbonyls die gleiche Lage wie in **18a**, während man statt der 1695/cm-Bande von **18a** eine bei 1630/cm findet; d. h. das 2-Carbonyl ist cheliert, und es gilt **18b**. Der Monomethyläther gleicht bei 1580 bis 1700/cm dem Resistomycin, gibt NMR-Signale von drei chelierten Hydroxylen und ist demnach **18e**.

Aus **18a** ergab sich für Resistomycin nicht zwingend **21a**; denn da die Methylierung kinetisch kontrolliert ist, war möglich, daß **18a** nicht der Methyläther des in Lösung stabilsten Resistomycin-Tautomeren ist. Dieser Einwand wurde jedoch durch das 100 MHz-NMR-Spektrum widerlegt, das, weil Resistomycin schwer löslich, in Deuteroacetone (mit CAT 40fache Summation) und in Heptadeutero-dimethylformamid bei 65° aufgenommen wurde. In beiden Solvenzien sind drei Resistomycin-Hydroxyle cheliert (Tab. 3). Da von den vierzehn denkbaren Tautomeren nur **21a** und **22** drei chelierte Hydroxyle enthalten und **22** zweifellos das instabilere ist, muß Resistomycin nach **21a** formuliert werden¹¹⁾.

21a macht verständlich, daß mit Diazomethan nur der Monomethyläther **18e** entsteht. Die mit dem Ringsystem koplanare 2-Carbonylgruppe erhöht — analog dem Carbonyl vinyloger Carboxygruppen — die Acidität des 3-Hydroxyls so, daß **21a** im Gegensatz zu **13a** in Dimethylformamid/Methanol als einbasische Säure titrierbar ist. Der gleiche Mesomerie-Effekt der Carbonyle führt dazu, daß die in 3-, 5- und 7-Stellung stehenden Methoxyle von **18a** sowie die entsprechenden Acyloxygruppen des Tetraacetates und Tetrabenzoates relativ leicht hydrolysiert werden. Mesomerie mit dem 2-Carbonyl erhöht die Stabilität des Ringsystems, verglichen mit **13a**, und erklärt die größere Beständigkeit von **21a** in wäßr. Alkalihydroxid sowie konz. Schwefelsäure und — wenn der stabilisierende Effekt des 2-Carbonyls im Grundzustand größer ist als im ersten Anregungszustand — auch, daß **21a** kürzerwellig absorbiert als **13a**.

Bromierung und Jodierung des Resistomycins

Die drei Aromat-H-Atome des Resistomycins (**21a**) lassen sich nacheinander durch Brom ersetzen. In Eisessig oder *symm.*-Tetrachloräthan erhält man auch bei großem Bromüberschuß und Siedehitze nur 4-Brom-resistomycin. Es bildet mit dem entstehenden Bromwasserstoff ein Hydrobromid¹⁾, das wegen geringer Nucleophilie nicht weiterreagiert und kristallisiert anfällt¹⁶⁾. Das daraus bei 130° erhaltene 4-Brom-resistomycin lieferte mit 1.5 Moläquiv. Brom bei 80° in *symm.*-Tetrachloräthan — nicht dagegen in Eisessig — 4.11-Dibrom-resistomycin, das aus dem auskristallisierten Hydrobromid bei 130° i. Hochvak. freigesetzt wurde. Seinem NMR-Spektrum (D₂SO₄; Tab. 3) fehlen die Aromat/Olefin-Protonensignale von **21a** bei $\delta = 7.16$ und 7.80 ppm. Während das Singulett des Aromat-Methyls die gleiche Lage hat wie in **21a**, ist das der *gem.*-Methyle um 0.3 ppm paramagnetisch verschoben und beweist damit die 11-Stellung des zweiten Bromatoms.

¹⁶⁾ W. Rosenbrook jr., J. org. Chemistry **32**, 2924 (1967), hat bei der Darstellung von 4-Brom-resistomycin das Hydrobromid nicht beobachtet, weil das Reaktionsprodukt vor der Analyse mit Wasser gewaschen, mit Aceton digeriert und dadurch der Bromwasserstoff abgespalten wurde.

Das Dibromderivat gab in *symm.*-Tetrachloräthan mit 1.5 Moläquiv. Brom bei 80° zu 90% kristallisiertes 4.8.11-Tribrom-resistomycin-hydrobromid, das bei 130° i. Hochvak. vom Bromwasserstoff befreit wurde. Das Brom an C-8 verschiebt den δ -Wert der 9-Methylgruppe paramagnetisch um 0.42 ppm (Tab. 3, D₂SO₄).

In einem Arbeitsgang und fast quantitativ erhielten wir das gleiche Tribromderivat aus **21a** und 4 Moläquiv. Brom in Dimethylformamid bei 80°; Bedingungen, unter denen mit 2 Moläquiv. Brom nicht, wie erwartet, das 4.11-Dibromderivat entstand, sondern zu 74% 4.8-Dibrom-resistomycin, dessen NMR-Spektrum (Tab. 3, D₂SO₄) die Resistomycin-Signale bei $\delta = 7.16$ und 7.66 ppm fehlen. Gleicher δ -Wert der geminalen Methylene wie in **21a** und Verschiebung des 9-Methyl-Signals um 0.25 ppm feldabwärts zeigt die 8-Stellung des zweiten Bromatoms an.

Unter den gleichen Bedingungen, unter denen **21a** in Dimethylformamid tribromiert wird, erhielten wir mit 4 Moläquiv. Jod zu 96% kristallisiertes, hellbraunes 4-Jod-resistomycin.

In Deuterioschwefelsäure tauscht **21a** zunächst rasch H⁴ gegen Deuterium aus, dann H¹¹ und am langsamsten H⁸.

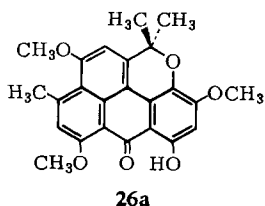
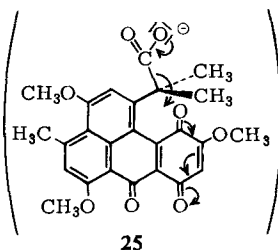
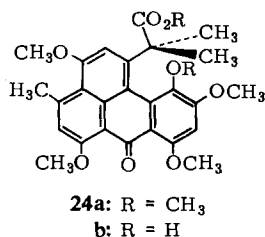
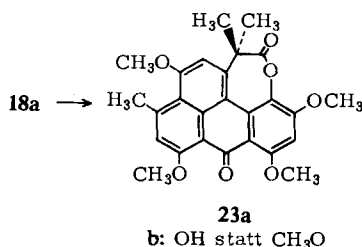
Ebenso wird 4-Brom-resistomycin an C-11 schneller als an C-8 deuteriert, an dem bei zu hoher Farbstoff-Konzentration oder nicht absolut wasserfreier Deuterioschwefelsäure der Austausch unvollständig bleibt¹⁾.

Bayer-Villiger-Oxydation des Resistomycin-tetramethyläthers (**18a**)

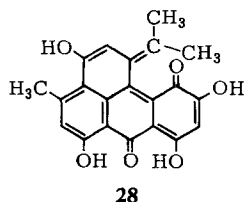
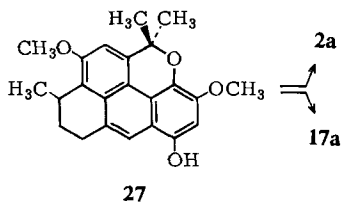
Aus **18a** entsteht in Ameisensäure/30proz. Wasserstoffperoxid bei Raumtemp. zu 60% eine kristallisierte, gelbe Verbindung C₂₆H₂₄O₇ mit vier Methoxylen und IR-CO-Banden bei 1650/cm (wie **18a**) und 1735/cm (Lacton-CO). In wäßr. Alkalihydroxid unlöslich, wird sie von methanol. Alkalihydroxid mit roter Farbe langsam aufgenommen, verbraucht bei Lactontitration unter Stickstoff ein Äquiv. Base und läßt sich nach Ansäuern zu 80% zurückgewinnen. Oxydation mit Permanganat lieferte Dimethylmalonsäure (**1a**). Demnach lag das Lacton **23a** vor, das wir Resistomycinsäure-lacton-tetramethyläther genannt haben.

Den kristallisierten Pentamethyläther (**24a**) des Resistomycinsäure-methylesters erhielten wir zu 70%, als der in 5proz. methanol. Alkalihydroxid aus **23a** entstandene Resistomycinsäure-tetramethyläther (**24b**) in situ unter Stickstoff mit großem Überschuß an Dimethylsulfat umgesetzt wurde. Bei Methylierung unter Luftzutritt fanden wir neben wenig **24a** zu 12% eine dunkelrote, kristallisierte, in wäßr. Alkalihydroxid unlösliche Verbindung C₂₄H₂₂O₆ mit nur noch drei Methoxylen. Sie löst sich in konz. Salzsäure oder Schwefelsäure blau und enthält laut IR- und NMR-Spektrum (Tabb. 2 und 3) eine mit einem Hydroxyl chelierte Carbonylgruppe. Zu 47% isolierten wir dieses „Rote Umwandlungsprodukt“⁽³⁾ aus einer 8 Stdn. unter Luftzutritt bei 20° gerührten Lösung von **23a** in 10proz. methanol. Kaliumhydroxid.

Das rote Umwandlungsprodukt entsteht aus **23a** formal durch Verlust des Lacton-carbonyls und Ersatz eines *peri*-Methoxyls durch eine Hydroxygruppe und ist kein Chinon. Als Formeln kamen daher nur **26a** und **26b** in Betracht, zwischen denen wie bei **13c** durch Hydrierung entschieden wurde. Denn dabei erhielten wir nach Ver-



b: OH statt CH₃O an C-7,
CH₃O statt OH an C-5
c: OH statt CH₃O



brauch von 4 Moläquivv. Wasserstoff eine farblose, kristallisierte Verbindung C₂₃H₂₄O₄ mit zwei Methoxylen, die beim Ozonabbau α -Hydroxy-isobuttersäure (**2a**) sowie 2-Methyl-glutarsäure (**17a**) lieferte und demnach die Konstitution **27** hat. Die Hydrierung verläuft erwartungsgemäß wie bei **18a** → **16a**, und nach **27** hat die rote Verbindung die Konstitution **26a**.

Wie den Formeln nach zu erwarten, wird das durch Lactonspaltung aus **23a** entstandene Anion von **24b** nur bei Gegenwart von Oxydationsmitteln unter Decarboxylierung zu **26a** cyclisiert. Da **24b** in Alkalihydroxid unter Stickstoff weder decarboxyliert noch entmethyliert wird, nehmen wir an, daß es — analog der in alkalischer Lösung leicht eintretenden Luftoxydation von Anthrahydrochinon-monomethyläther zu Anthrachinon¹⁷⁾ — zunächst zum Chinon **25** oxydiert wird und dieses synchron mit der Decarboxylierung zu **26a** recycelisiert.

Ollis und Mitarbb.¹²⁾ haben aus Resistomycin durch Dakin-Oxydation Resistomycinsäure-lacton (**23b**) — von ihnen Resistomycinolid genannt — gewonnen und als

¹⁷⁾ K. H. Meyer, Liebigs Ann. Chem. **379**, 47 (1911).

Nebenprodukt eine rote Verbindung „Resistorubon“ (**26c**), deren Vorstufe sie nach **28** formulieren. Unser rotes Umwandlungsprodukt **26a** ist demnach Resistorubon-3.7.10-trimethyläther.

Herrn Prof. Dr. G. *Spiteller* danken wir für die Massenspektren, Herrn Dr. H. *Lackner* für die Messung der NMR-Spektren.

Der *Research Corporation*, New York, und den *Farbenfabriken Bayer AG, Werk Elberfeld*, sind wir für die Förderung unserer Arbeit zu Dank verpflichtet.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte sind im Berl-Block bestimmt und korrigiert.

Kieselgel (Korngröße <0.08 mm) wurde mit Methanol gewaschen und 3 Stdn. auf 120° erhitzt.

Resistomycin (21a): 1 kg gefriergetrocknetes, gemahlenes, 50 Stdn. im Umlaufextraktor mit Petroläther (40°) entfettetes Mycel (*Str. species* „Geis 785“) extrahierte man in gleicher Weise mit 2l Aceton, aus dem 64 g **21a** und nach Einengen auf 200 ccm weitere 3 g auskristallisierten.

Den öligen, braunen Mutterlaugenrückstand, nach Digerieren mit Petroläther ein braunes Pulver, gab man – suspendiert in der Oberphase des Systems Xylol/Eisessig/Wasser (10:8:2) – auf eine 75×5 cm-Cellulosesäule (Schleicher & Schüll Nr. 123; mit Unterphase ins Chromatogrammrohr eingeschlämmt), wusch mit Oberphase die gelbrote, breite Hauptzone ins Filtrat, verdampfte das Eluat und erhielt bei Extraktion des Rückstandes mit 50 ccm Aceton weitere 6.5 g **21a**.

$C_{22}H_{16}O_6$ (376.4) Ber. C 70.21 H 4.29 1C-CH₃ 4.0 4akt. H 1.06

Gef. *) C 70.15 H 4.29 C-CH₃ 5.3 H 1.06 **) Mol.-Gew. 376 ***)

*) Zweimal aus Aceton, einmal aus Dimethylformamid umkristallisiert und i. Hochvak. bei 220° sublimiert.

**) In Pyridin bei 28° .

***) Aus dem Massenspektrum.

*Resistomycin-tetrabenzoat (21b)*²⁾: 0.5 g **21a** in 10 ccm *Pyridin/Benzoylchlorid* (8:2) hielt man 30 Min. auf 60° , gab die Mischung in 50 ccm trockenes Methanol, kristallisierte das in gelben Nadeln ausgefallene **21b** aus Benzol/Petroläther um, chromatographierte aus Benzol an Calciumsulfat und erhielt aus Methanol hellgelbe Nadeln vom Schmp. 244° .

$C_{50}H_{32}O_{10}$ (792.8) Ber. $4C_6H_5CO$ 53.1 Gef. C_6H_5CO 52.7

*Resistomycin-tetraacetat (21c)*³⁾: Die tiefrote, kurz erwärmte Lösung von 100 mg **21a** in 7.5 ccm *Pyridin/Acetanhydrid* (3:2) gab man nach 24 Stdn. (Lichtabschluß, Farbumschlag nach Gelb) auf 40 g gemahlenes Eis, suspendierte den abfiltrierten Niederschlag in Eiswasser und wusch nach Absaugen dreimal mit 50 ccm Eiswasser und einmal mit 3 ccm eiskaltem Methanol nach. Ausb. 142 mg amorphes **21c** vom Schmp. $204-206^{\circ}$ (Zers.), das mit Eisen(III)-chlorid in Methanol keine Rotfärbung gab und bei Chromatographie sowie Kristallisations-Versuchen partiell verseift wurde.

$C_{30}H_{24}O_{10}$ (544.5) Ber. $4CH_3CO$ 30.9 Gef. CH_3CO 28.6 *) , 29.0 **)

*) Sauer verseift.

**) Alkalisch verseift.

*Resistomycin-tetramethyläther (18a)*³⁾: Zur siedenden Lösung von 4.0 g **21a** in 1.5l Aceton gab man 80 g feingepulvertes *Kaliumcarbonat*, nach 15 Min. 20 ccm, nach 3, 6 und 10 Stdn. je 10 ccm *Dimethylsulfat*, hielt noch 24 Stdn. am Sieden und goß das auf 150 ccm eingengte Reaktionsgemisch in 1l Eiswasser. Das abfiltrierte, mit 0.01 n HCl gewaschene Rohprodukt

Tab. 3. NMR-Spektren von Resistomycin (21a), 2-Desoxo-resistomycin (13a) und Derivaten

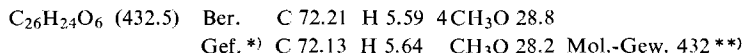
	OH chel.	H-Aromat	--CH ₂ --	CH ₃ -Aromat	>C(CH ₃) ₂	CH ₃ O
Resistomycin (21a) (D-Aceton, 100 MHz, CAT 40fach)	13.96 14.28 14.59	H ⁴ 6.37 H ⁸ 7.13 H ¹¹ 7.42		2.96		1.66
2-Desoxo-resistomycin (13a) (D-Aceton, 100 MHz)	12.94 15.00	H ⁴ 6.51 H ⁸ 6.89 (<i>J</i> = 1 Hz) H ¹¹ 7.19*	2.89	2.94 (<i>J</i> = 1 Hz)		1.29
Resistomycin (21a) (D-Dimethylformamid, 100 MHz, 65°)	13.94 14.32 14.50	H ⁴ 6.28 H ⁸ 6.98 (<i>J</i> = 1 Hz) H ¹¹ 7.46*		2.94 (<i>J</i> = 1 Hz)		1.62
2-Desoxo-resistomycin (13a) (D-Dimethylformamid, 100 MHz)	12.88 15.01	H ⁴ 6.52 H ⁸ 6.98 (<i>J</i> = 1 Hz) H ¹¹ 7.26*	2.88	2.95 (<i>J</i> = 1 Hz)		1.31
Resistomycin (21a) (D-Pyridin, 60 MHz)		H ⁴ 6.66 H ⁸ 7.12 (<i>J</i> = 1 Hz) H ¹¹ 7.38		3.15 (<i>J</i> = 1 Hz)		1.65
2-Desoxo-resistomycin (13a) (D-Pyridin, 60 MHz)		H ⁴ 6.98 H ⁸ 7.18 (<i>J</i> = 1 Hz) H ¹¹ 7.40	3.25	3.17 (<i>J</i> = 1 Hz)		1.37
Resistomycin (21a) (D ₂ SO ₄ , 60 MHz)		H ⁴ 7.16 H ⁸ 7.66 H ¹¹ 7.80		3.35		2.08
4-Brom-resistomycin (D ₂ SO ₄ , 60 MHz)		H ⁸ 7.66 H ¹¹ 7.80		3.35		2.08
4.8-Dibrom-resistomycin (D ₂ SO ₄ , 60 MHz)		H ¹¹ 7.80		3.59		2.08
4.11-Dibrom-resistomycin (D ₂ SO ₄ , 60 MHz)		H ⁸ 7.66		3.35		2.40
4.8.11-Tribrom-resistomycin (D ₂ SO ₄ , 60 MHz)		H ¹¹ 7.80		3.59		2.42

Resistomycin-tetramethyläther (18a) (CDCl ₃ , 60 MHz)	H ⁴ 6.56 H ¹¹ 6.89 H ⁸ 7.11 (<i>J</i> = 1 Hz)	2.96 (<i>J</i> = 1 Hz)	1.63	4.03 4.04 4.08 4.12
2-Desoxo-resistomycin-tetramethyläther (13b) (CDCl ₃ , 60 MHz)	H ⁴ 6.54 H ¹¹ 6.90 H ⁸ 7.07 (<i>J</i> = 1 Hz)	2.90 (<i>J</i> = 1 Hz)	1.35	3.96 4.04 (6H) 4.10
gelber Resistomycin-trimethyläther (18c oder 18d) (CDCl ₃ , 60 MHz)	H ⁴ 6.65 H ⁸ 6.95 (<i>J</i> = 1 Hz) H ¹¹ 6.99	2.85 (<i>J</i> = 1 Hz)	1.59	4.08 4.13 4.22
roter Resistomycin-trimethyläther (18b) (CDCl ₃ , 60 MHz)	H ⁴ 6.55 H ¹¹ 7.04 H ⁸ 7.17 (<i>J</i> = 1 Hz)	2.98 (<i>J</i> = 1 Hz)	1.62	4.05 4.12 4.23
2-Desoxo-resistomycin-trimethyläther (13c) (CDCl ₃ , 60 MHz)	H ⁴ 6.56 H ¹¹ 7.00 H ⁸ 7.13 (<i>J</i> = 1 Hz)	2.95 (<i>J</i> = 1 Hz)	1.33	3.95 4.05 4.20
2-Desoxo-resistomycin-dimethyläther (13d) (CDCl ₃ , 60 MHz)	H ⁴ 6.51 6.93 6.99	2.85	1.32	3.97 4.05
Resistomycin-monomethyläther (18e) (D-Aceton, 100 MHz, 40fach CAT)	H ⁴ 6.32 H ⁸ 7.09 H ¹¹ 7.44	2.95	1.64	4.17
Resistomycinsäure-lactontetramethyläther (23a) (CDCl ₃ , 60 MHz)	H ⁴ 6.73 H ¹¹ 7.02 H ⁸ 7.18 (<i>J</i> = 1 Hz)	2.91 (<i>J</i> = 1 Hz)	1.61 (breit)	4.03 4.05 4.08 4.13
Resistorubon-trimethyläther (26a) (CDCl ₃ , 60 MHz)	H ⁴ 6.54 H ¹¹ 6.70 H ⁸ 7.08 (<i>J</i> = 1 Hz)	2.88 (<i>J</i> = 1 Hz)	1.73	4.00 (6H) 4.18

*): Zugordnet durch Nuclear Overhauser-Effekt mit den geminalen Methylen.

(4.6 g) wurde in Anteilen von 250 mg aus Chloroform an 35 × 4 cm-Kieselgelsäulen chromatographiert. Dabei ging die gelbe, grünfluoreszierende Trimethyläther-Zone vor der breiten, **18a** enthaltenden Hauptzone ins Filtrat.

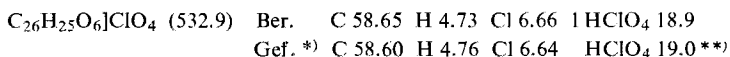
Das eingeeigte **18a**-Eluat filtrierte man über 100 g Aluminiumoxid I, um Reste nicht ausmethylierter Anteile zu entfernen und sublimierte nach Verdampfen des Chloroforms bei 220° i. Hochvak.; Ausb. 176 mg (70%) **18a**, aus Dioxan oder Methanol hellgelbe Nadeln vom Schmp. 278° (Zers.), in konz. Schwefelsäure gelb, mit grüner Fluoreszenz und aus konz. *Salzsäure* als tiefrotes *Hydrochlorid* auskristallisierend. Es löst sich gut in Chloroform, Eisessig, Aceton und wenig in Benzol und Äther.



*) Bei 220° i. Hochvak. sublimiert.

**) Aus dem Massenspektrum.

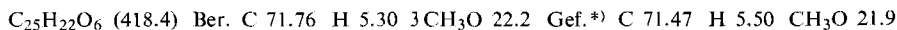
*Resistomycin-tetramethyläther-perchlorat*³⁾: Zu einer auf 100° erhitzten Lösung von 360 mg **18a** in 40 ccm Eisessig gab man 0.9 ccm 70proz. *Perchlorsäure* und kristallisierte das in feinen, hellroten Nadeln ausgefallene Perchlorat (465 mg) aus Eisessig um.



*) Getrocknet bei 105°/15 Torr über KOH/CaCl₂ und anschließend über P₂O₅.

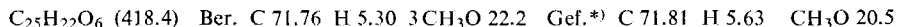
**) 15 Min. mit 0.04*n* NaOH geschüttelt und konduktometrisch zurücktitriert.

*Resistomycin-5.7.10-trimethyläther (18b)*⁵⁾: Den Inhaltsstoff der Trimethyläther-Zone (vgl. Isolierung von **18a**) chromatographierte man aus Chloroform auf einer Kieselgel PF-Dickschichtplatte (200 × 200 × 1.5 mm) und sublimierte die mit Methanol eluierten Inhaltsstoffe der beiden Zonen i. Hochvak. bei 220–230°. **18b** aus der schneller wandernden Zone kristallisierte aus Methanol in roten Prismen (21 mg, 7.5%) vom Schmp. 280°.



*) Bei 220° i. Hochvak. sublimiert.

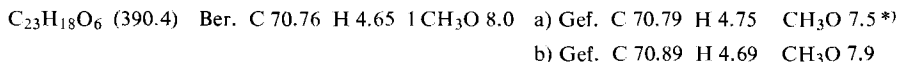
*Resistomycin-3.5(oder 7).10-trimethyläther (18d oder 18c)*⁵⁾, aus der langsamer wandernden Zone des Dickschicht-Chromatogrammes, kristallisierte aus Methanol in gelben Nadeln (32 mg, 11.5%) vom Schmp. 264°.



*) Bei 230° i. Hochvak. sublimiert.

Resistomycin-monomethyläther (18e)

a) *Aus 18a*²⁾: Eine Lösung von 200 mg **18a** in 20 ccm konz. *Salzsäure* wurde 3 Stdn. gekocht. Das ausgefallene **18e** kristallisierte aus Dioxan in gelbroten Nadeln (125 mg, 70%) vom Schmp. 277°, war im Papierchromatogramm (Benzol/Formamid/Wasser, 2 : 1 : 1) einheitlich und löste sich gelb in wäbr. Alkalihydroxid. Mit Eisen(III)-chlorid in Methanol rotbraune Lösung.



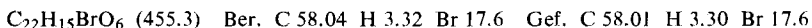
*) Verseift in der fünffachen der üblichen Phenolmenge mit Acetanhydrid/Jodwasserstoffsäure (*d* 1.9).

b) *Aus 21a*⁵⁾: 30 mg **21a** versetzte man in Dioxan mit äther. *Diazomethan*-Lösung, verdampfte nach 10 Min. i. Vak., gab den Rückstand in Äthylacetat/Dioxan (1 : 1) auf eine 10 × 3 cm-Kieselgelsäule und wusch die Hauptzone mit Äthylacetat ins Filtrat. Dessen Eindampfrückstand gab, i. Hochvak. bei 220° sublimiert, 26 mg (84%) **18e** vom Schmp. 277°; Misch-Schmp. mit **18e** aus **18a** 277°.

*4-Brom-resistomycin*⁵⁾: Eine Suspension von 500 mg **21 a** in 500 ccm Eisessig erwärmte man mit 650 mg (3.1 Moläquivv.) *Brom* 3 Stdn. auf 80°, entfernte überschüss. *Brom* durch einen kräftigen N₂-Strom und erhielt in gelben Nadeln kristallisierendes *4-Brom-resistomycin-hydrobromid* (504 mg, 71%), aus dem i. Hochvak. bei 130° *4-Brom-resistomycin* entstand.



*) Getrocknet bei 20°/15 Torr über konz. Schwefelsäure und festem KOH.

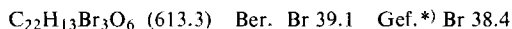


*4.11-Dibrom-resistomycin*⁵⁾: Aus 235 mg *4-Brom-resistomycin* und 115 mg *Brom* (1.5 Moläquivv.) in 250 ccm *symm.*-Tetrachloräthan erhielt man nach 3 Stdn. bei 80° und Einengen auf 50 ccm kristallisiertes *4.11-Dibrom-resistomycin-hydrobromid* (205 mg, 75%), aus dem i. Hochvak. bei 130° *4.11-Dibrom-resistomycin* entstand.



*4.8.11-Tribrom-resistomycin*⁵⁾

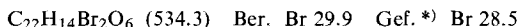
a) 150 mg *4.11-Dibrom-resistomycin* wurden wie vorstehend mit 1.5 Moläquivv. *Brom* in *symm.*-Tetrachloräthan behandelt und ergaben nach Kristallisation und Entfernen von HBr i. Hochvak. bei 130° *4.8.11-Tribrom-resistomycin* (156 mg, 90%) in bräunlichen Nadeln, die sich oberhalb 300° zersetzen, ohne zu schmelzen.



*) 5 Stdn. bei 130° i. Hochvak. getrocknet.

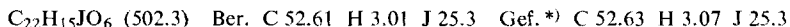
b) Eine mit 0.8 g (4 Moläquivv.) *Brom* versetzte Lösung von 500 mg *Resistomycin (21 a)* in 100 ccm Dimethylformamid hielt man 2 Stdn. bei 80° und 12 Stdn. bei 0°. kristallisierte das äthergewaschene Kristallisat aus 10 ccm Dimethylformamid um und erhielt 600 mg *4.8.11-Tribrom-resistomycin*, das mit dem nach a) gewonnenem Präparat übereinstimmt.

*4.8-Dibrom-resistomycin*⁵⁾: 500 mg **21 a** in 50 ccm Dimethylformamid setzte man wie vorstehend mit 2 Moläquivv. *Brom* um und erhielt nach zweimaligem Umkristallisieren aus 5 ccm Dimethylformamid gelbbraune Nadeln (535 mg, 74%), die sich oberhalb 280° zersetzen.



*) 5 Stdn. bei 130° i. Hochvak. getrocknet.

*4-Jod-resistomycin*⁵⁾: 400 mg **21 a** mit 1.15 g (4 Moläquivv.) *Jod* in 100 ccm Dimethylformamid wie vorstehend umgesetzt und aufgearbeitet, gaben 515 mg (96%) hellbraune Nadeln, die sich bei 281–284° unter Erweichen zersetzen.



*) 5 Stdn. bei 130° i. Hochvak. getrocknet.

*Permanganat-Abbau von Resistomycin (21 a)*⁴⁾: Zu 2.14 g **21 a** in 200 ccm 2*n* NaOH gab man anteilweise 20 g Kaliumpermanganat, schüttelte 10 Stdn., kochte kurz auf und filtrierte das Mangandioxid ab. Das mit 10 ccm Methanol versetzte grüne Filtrat hielt man 20 Min. am Sieden, filtrierte vom Mangandioxid ab, kochte das gesammelte Mangandioxid viermal mit 400 ccm Wasser aus, destillierte aus den vereinigten, alkalischen Filtraten 50 ccm ab (Destillat reagierte nicht mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin) und engte i. Vak. auf 400 ccm ein. Zur Entfernung der Alkali-Ionen verrührte man 2 Stdn. mit 350 ccm Dowex 50×4 (H⁺-Form), filtrierte über ein Wattepolster ab und verdampfte das saure Filtrat i. Vak. Die Lösung des kristallinen Rückstandes in 45 ccm Wasser gab man auf eine Säule aus 120 ccm Dowex 1×8 (Formiatform), wusch mit Ameisensäure steigender Konzentration (0–10*n*, linearer Gradient) und schließlich mit reiner Ameisensäure nach und sammelte das Eluat in 400 Fraktionen zu 3.5 ccm.

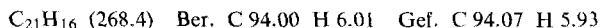
Die kristallisierten Abbausäuren wurden durch Misch-Schmp., IR- sowie NMR-Spektren charakterisiert.

Fractionen	mg	Schmp.	Abbausäure
24–31	38	79°	α -Hydroxy-isobuttersäure (2a)
97–102	17	143°	Isoäpfelsäure (3a)
116–130	86	189°	Dimethylmalonsäure (1a)
350–400	3000	187°	Oxalsäure

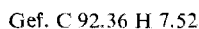
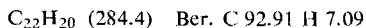
Zinkstaub-Destillation von **21a**)²⁾

a) Eine Mischung von 250 mg **21a** und 2,5 g *Elektrolyt-Zinkstaub* verteilte man auf 50 Glühröhrchen (100×4 mm), gab auf die Füllung eine 4-mm-Schicht von Zinkstaub und zog die offenen Enden der Röhrchen zu 10 cm langen Kapillaren aus. Die Röhrchen wurden waagrecht in einem Messingblock auf 280–300° erhitzt, wobei sich in den herausragenden, kalten Kapillaren ein gelber, kristalliner Beschlag sammelte. Man löste ihn in Petroläther, filtrierte über Aluminiumoxid I, verdampfte in einem Glühröhrchen, zog dessen offenes Ende zur Kapillare aus, sublimierte den Rückstand i. Hochvak. in die Kapillare und erhielt farblose, im UV-Licht blau fluoreszierende Kristalle (0,3 mg, 0,1%).

b) Eine heiß gesättigte, mit 5 g *Zinkstaub* versetzte Lösung von 500 mg **21a** in Dioxan brachte man unter Rühren i. Vak. zur Trockene und erhitzte 1 Stde. i. Vak. auf 80°. Das so mit **21a** beladene Zink verteilte man in lockerer, 6 cm langer Schicht auf Glasrohre (30×1 cm), schichtete auf einer Seite eine 2 cm breite Zinkstaub-Asbest-Mischung daneben und versah beide Seiten der Füllung mit Asbestpfropfen. In der Nähe der Zinkstaubschicht zog man das Rohr zu einer dicken Kapillare aus, leitete vom anderen Ende her *Wasserstoff* über die Füllung und erhitzte sie im Metallblock langsam auf 360°. Das gelbe Öl, das sich in den aus dem Block herausragenden Kapillaren sammelte, nahm man in Benzol auf und filtrierte durch eine 10×2 cm-Aluminiumoxid I-Säule. Beim Eindampfen des im UV-Licht blau fluoreszierenden Eluates hinterblieb ein farbloses Öl (60 mg, 17%), das aus Hexan in Blättchen kristallisierte. Umkristallisieren aus Hexan gab eine Fraktion, aus deren eutektischer Schmelze farblose Blättchen vom Schmp. 126° abgetrennt wurden.



Zinkstaub-Destillation von 16a)³⁾: Ein Gemisch von 32 g *Zinkstaub* und 320 mg **16a** erhitzte man, verteilt auf 50 zugeschmolzene Glühröhrchen (10×0,8 cm), im Metallbad 30 Min. auf 390–400°, zog die Röhrchen 1 cm aus dem Bad heraus und erhitzte weiter, bis sich im kalten Ende kein gelbes Öl mehr sammelte. Destillat und Zinkstaub extrahierte man im Kreisprozeß mit Benzin (80°), entfärbte den Auszug an einer 10×2 cm-Aluminiumoxid I-Säule und erhielt nach Abdampfen des Lösungsmittels aus dem verbleibenden Öl bei 125°/0,01 Torr ein farbloses Destillat (22%), das sich in konz. Schwefelsäure rot mit grüner Fluoreszenz löste und aus einer konz. äthanol. Lösung auf Zugabe von Trinitrobenzol als rotes Mono-trinitrobenzolat kristallisierte.



Gaschromatographie (Säule 180×0,4 cm, 2% Silikone GESE 30 auf Chromosorb W säuregewaschen, HMDS, 60/80 mesh; 195°) zeigte, daß das Destillat nicht einheitlich war. Laut Massenspektrum waren die Hauptkomponenten Kohlenwasserstoffe mit dem Mol.-Gew. 270, 284 und 298, entsprechend di-, tri- bzw. tetramethyliertem 2,3-Trimethylen-pyren (**4**).

2-Desoxo-resistomycin (13a)^{2,4,5)}: Eine 50° warme Lösung von 1.0 g **21a** in 800 ccm 95-proz. Essigsäure hydrierte man mit 1 g *Platin* (aus PtO₂) und 3.2 Moläquivv. *Wasserstoff* und schüttelte die gelbrote Lösung an der Luft, bis sie tiefrot war. Den Verdampfungsrückstand der vom Katalysator befreiten Lösung brachte man aus Dioxan an 5 g Cellulosepulver i. Vak. zur Trockne, gab ihn so, suspendiert in Oberphase des Systems Cyclohexan/Benzol/Formamid/Dimethylformamid (5:5:10:1), auf eine mit Unterphase eingeschlammte 75 × 4.5 cm-Cellulosesäule und eluierte mit Oberphase eine schmale **21a**-Zone und dann die breite, rote **13a**-Zone. Den Verdampfungsrückstand ihres Eluates nahm man in Äthylacetat auf und schüttelte mehrfach mit Wasser durch, um Reste von Dimethylformamid zu entfernen. Das nach Verdampfen des Äthylacetates hinterbleibende **13a** kristallisierte aus Methanol in tiefroten Nadeln (915 mg, 95%). Zers. ab 280°. **13a** löst sich gut in Äther, Aceton, Eisessig und heißem Methanol, wenig in Chloroform und Benzol. Die karminrote Lösung in wäßr. Alkalihydroxid verblaßt an der Luft schnell. Die bräunliche Pyridinlösung wird mit Triäthylamin rot und nach Zusatz von Wasser violett. Die anfangs blaße, schnell karminrot werdende Lösung in konz. Schwefelsäure fluoresziert rot.

C₂₂H₁₈O₅ (362.4) Ber. C 72.92 H 5.01 1C-CH₃ 4.1

Gef. *) C 72.92 H 5.05 C-CH₃ 5.8 Mol.-Gew. 362 **)

*) Bei 230° i. Hochvak. sublimiert.

***) Aus dem Massenspektrum.

*2-Desoxo-resistomycin-tetraacetat (13e)*⁵⁾: Die tiefrote, kurz erwärmte Lösung von 50 mg **13a** in 6 ccm *Pyridin*/*Acetanhydrid* (2:1) gab man nach 24 Stdn. (Lichtabschluß, Farbumschlag nach Gelb) auf 50 g Eis. Nach 5 Min. saugte man die Fällung ab, löste sie nach Trocknen in Methylchlorid und filtrierte durch eine 1 × 1 cm-Aluminiumoxid V-Säule. Aus dem weitgehend eingeeengten, mit heißem Cyclohexan versetzten Filtrat kristallisierte **13e** (38 mg, 52%) aus. Schmp. 195° (Zers.). Mit Eisen(III)-chlorid in Methanol keine Farbreaktion.

C₃₀H₂₆O₉ (530.5) Ber. 4CH₃CO 32.5 Gef. *) CH₃CO 30.7

*) Bei 210° i. Hochvak. destilliert, alkalisch verseift.

*2-Desoxo-resistomycin-3.7.10-trimethyläther (13c)*³⁾: Zur siedenden Lösung von 750 mg **13a** in 100 ccm Aceton gab man 25 g feingepulvertes *Kaliumcarbonat* und nach 30 Min. unter Rühren innerhalb 2 Stdn. 8 ccm *Dimethylsulfat*, hielt 10 Stdn. am Sieden, dampfte das Aceton weitgehend ab und goß die Suspension in 500 ccm Wasser. Das nach kurzer Zeit abfiltrierte, braungelbe Methylierungsprodukt wurde aus Chloroform an Kieselgel chromatographiert und die rote, **13c** enthaltende Hauptzone ins Filtrat gewaschen. **13c** kristallisierte aus Methanol in roten Prismen (650 mg, 75%) vom Schmp. 280–281° und sublimierte i. Hochvak. ab 220°.

C₂₅H₂₄O₅ (404.5) Ber. C 74.24 H 5.98 3CH₃O 23.0 Gef. C 74.24 H 5.96 CH₃O 22.9

*2-Desoxo-resistomycin-tetramethyläther (13b)*³⁾: Das beim Eluieren von **13c** (vorst. Abschnitt) als gelbrote Zone an der Säule verbleibende **13b** wurde mit Chloroform/Methanol (50:1) eluiert, kristallisierte aus Methanol in gelbroten Nadeln vom Schmp. 232° und sublimierte i. Hochvak. ab 220°. Ausb. 174 mg (20%).

C₂₆H₂₆O₅ (418.5) Ber. C 74.62 H 6.26 4CH₃O 29.6 Gef. C 74.45 H 6.24 CH₃O 29.1

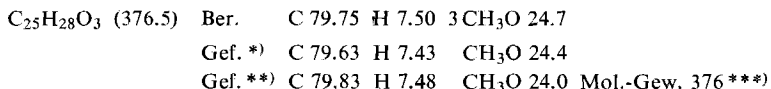
*2-Desoxo-resistomycin-3.10-dimethyläther (13d)*⁵⁾: 174 mg **13a** in 50 ccm Aceton behandelte man mit äther. *Diazomethan*-Lösung, verdampfte nach 10 Min. i. Vak., chromatographierte den Rückstand aus Chloroform an 150 g grobem Kieselgel und sublimierte den Eindampfrückstand der schnell wandernden **13d**-Zone bei 220° i. Hochvak.: 164 mg (87%) rote Nadelchen vom Schmp. 198°.

C₂₄H₂₂O₅ (390.4) Ber. C 73.82 H 5.68 2CH₃O 15.9 Gef. C 74.01 H 5.91 CH₃O 14.9

*Permanganat-Abbau von 2-Desoxy-resistomycin (13a)*⁵⁾: Zur Lösung von 510 mg **13a** in 100 ccm Aceton (über KMnO_4 dest.) und 100 ccm $2n \text{H}_2\text{SO}_4$ gab man unter Rühren und Wasserkühlung 6.7 g *Kaliumpermanganat* in 20 ccm Wasser, rührte bis zur Entfärbung, versetzte mit so viel Oxalsäure, daß sich das Mangandioxid löste und verdampfte i. Vak. zur Trockne. Den kristallinen Rückstand nahm man in 50 ccm $2n \text{H}_2\text{SO}_4$ auf, extrahierte erschöpfend mit Äther und erhielt bei Destillation des Ätherrückstandes farblose Kristalle (154 mg), deren Papierchromatogramme [a) Propanol/25proz. Ammoniak (7:3); b) Xylol/Phenol/85proz. Ameisensäure (8:3:1, v: g: v)] zwei Zonen mit den R_F -Werten von *Dimethylmalonsäure (1a)* und *2,2-Dimethyl-bernsteinsäure (14a)* zeigten (nach Besprühen mit einer Lösung von 1 g Glucose und 1 g Anilin in 50 ccm Butanol/50proz. Methanol (3:2) und 10 Min. Erhitzen auf 120° braune Flecken). Die Säuren wurden mit *Diazomethan* in ihre *Methylester* übergeführt, gaschromatographisch (Säule 360×0.4 cm, 10% Polypropylenglykol 20000/Chromosorb W; 190°) getrennt (Flächenverhältnis der Peaks von **1b** und **14b** = 1:3) und durch IR- und NMR-Spektren charakterisiert.

7-Desoxy-2,6-didesoxy-8,9-dihydro-7H-resistomycin-3,5,10-trimethyläther (16a)

a) Aus **18a**³⁾: 150 mg **18a** in 30 ccm 95proz. Essigsäure mit 50 mg *Platin* (aus PtO_2) hydriert, verbrauchten bis zur Sättigung 6 Moläquiv. *Wasserstoff*, wobei die anfangs gelbe Lösung über rot, grün und blau farblos wurde. Man goß in 150 ccm Wasser, nahm die Fällung in Chloroform auf, wusch mit wäßr. Natriumhydrogencarbonat, verd. Salzsäure und Wasser und chromatographierte den Verdampfungsrückstand unter Lichtabschluß aus Benzol an einer 50×4 cm-Aluminiumoxid I-Säule, wobei der Hauptanteil als farblose, im UV-Licht intensiv blau fluoreszierende Zone ins Filtrat ging. Eindampfen unter Lichtabschluß und Hochvak.-Destillation im Sublimationsrohr bei 200° lieferte **16a** in farblosen Blättchen (102 mg = 70%) vom Schmp. 162° , die sich aus Methanol unter Lichtabschluß umkristallisieren ließen. In fester Form ist **16a** lichtbeständig, die Lösungen werden im Licht schnell gelb, in der Sonne rot.



*) I. Hochvak. sublimiert.

**): Aus Methanol.

***): Aus dem Massenspektrum.

b) Aus **13b**⁵⁾: 42 mg **13b** in 10 ccm 95proz. Essigsäure nahmen mit 50 mg *Platin* (aus PtO_2) 4 Moläquiv. *Wasserstoff* auf und lieferten, wie vorstehend aufgearbeitet, kristallisiertes **16a** (26 mg, 70%) vom Schmp. 161° , Misch-Schmp. mit **16a** aus **18a** 162° .

*Ozonabbau von 16a*⁵⁾: Durch eine Lösung von 1.0 g **16a** in 100 ccm Methylenchlorid/Methanol (9:1) leitete man bei -20° Sauerstoff, 10% *Ozon* enthaltend, bis zur bleibenden Blaufärbung, vertrieb überschüss. *Ozon* mit Sauerstoff, versetzte mit 2 ccm Ameisensäure und 2 ccm 30proz. *Wasserstoffperoxid*, zerstörte nach 24 Stdn. Peroxide mit *Platin*/Aktivkohle-Katalysator und verdampfte i. Vak. zur Trockne. Den Rückstand behandelte man mit äther. *Diazomethan*-Lösung und erhielt bei Gaschromatographie (Säule 360×0.4 cm, 10% Polypropylenglykol 20000/Chromosorb W; 190°): *Dimethylmalonsäure-dimethylester (1b)*, *2,2-Dimethyl-bernsteinsäure-dimethylester (14b)* und *2-Methyl-glutarsäure-dimethylester (17b)* (Flächenverhältnis der Peaks 1:4:5), die durch IR- und NMR-Spektren charakterisiert wurden.

*7-Desoxy-2,6-didesoxy-8,9-dihydro-7H-resistomycin-3,10-dimethyläther (16b)*⁵⁾: 200 mg **13c** in 30 ccm 95proz. Essigsäure verbrauchten, mit 50 mg *Platin* (aus PtO_2) hydriert, bis zur Sättigung 4 Moläquiv. *Wasserstoff*. Man goß in Wasser, nahm die Fällung in Chloroform

auf und chromatographierte den säurefrei gewaschenen, eingeengten Extrakt unter Lichtabschluß aus Chloroform an einer 35×5 cm-Kieselgel-Säule. Das blaßblau fluoreszierende **16b** der Hauptzone destillierte i. Hochvak. bei 200° ; farblose Blättchen vom Schmp. 151° (124 mg, 69%).

$C_{24}H_{26}O_3$ (362.5) Ber. C 79.51 H 7.23 $2CH_3O$ 17.1 Gef. C 79.48 H 7.29 CH_3O 16.5

*Resistomycinsäure-lacton-tetramethyläther (23a)*³⁾: Zu 2.5 g **18a** in 250 ccm 98proz. Ameisensäure gab man 25 ccm 30proz. Wasserstoffperoxid, verdampfte nach 2.5 Stdn. die rote Lösung zur Trockne und kristallisierte den Rückstand aus heißem Methanol um. Gelbe Nadeln (1.6 g, 60%) vom Schmp. 280° . Nach Filtration aus Chloroform über Aluminiumoxid I und Sublimation i. Hochvak. bei 220° Schmp. 286° .

$C_{26}H_{24}O_7$ (448.6) Ber. C 69.63 H 5.39 $4CH_3O$ 27.6

Gef. C 69.59 H 5.52 CH_3O 27.4 Mol.-Gew. 448 (massenspektrometr.)

Lactontitration: Verseifung in 0.01 n methanol. NaOH unter N_2 6 Stdn. bei 40° . Ber. 1 Äquiv. NaOH, Gef. 0.93 Äquiv. NaOH.

Die Titrationslösungen goß man in 2 n HCl, nahm die gelbe Fällung in Chloroform auf, filtrierte durch Aluminiumoxid I, sublimierte den Rückstand des gelben Filtrates und erhielt zu 81% chromatographisch einheitliches analysenreines **23a**.

*Permanganat-Abbau von 23a*⁵⁾: Beim Abbau von 1.0 g **23a** in 200 ccm Aceton/2 n H_2SO_4 mit 10.5 g Kaliumpermanganat erhielt man als einzige Dicarbonsäure **1a** (191 mg), die durch Mischschmp. und IR-Spektrum sowie gaschromatographisch als Methylester identifiziert wurde.

*Resistomycinsäure-methylester-pentamethyläther (24a)*³⁾: In die eiskalte Lösung von 225 mg **23a** in 60 ccm 5proz. methanol. NaOH-Lösung, durch die langsam Stickstoff strömte, gab man bei 0° unter Rühren 3.5 ccm Dimethylsulfat und bei 20° nach 3, 5 und 7 Stdn. abermals je 2 ccm und versetzte mit 10 ccm methanol. NaOH-Lösung. Die nach 24 Stdn. mit verd. Salzsäure angesäuerte Lösung extrahierte man mit Chloroform, verdampfte den gewaschenen Chloroformauszug und erhielt beim Umkristallisieren des Rückstandes aus 2 ccm heißem Methanol **24a** in gelben Nadeln (175 mg, 70%) vom Schmp. 218° . Leicht löslich in Aceton und Eisessig, spärlich in Benzol und Äther. Von verd. methanol. Natriumhydroxid wird **24a** rot, von konz. Schwefelsäure gelb mit grüner Fluoreszenz und von konz. Salzsäure rot gelöst.

$C_{28}H_{30}O_8$ (494.5) Ber. C 68.00 H 6.12 $6CH_3O$ 37.6 Gef. *) C 67.90 H 6.14 CH_3O 37.2

*) 4 Stdn. bei 120° i. Hochvak. getrocknet.

Resistorubon-3.7.10-trimethyläther („Rotes Umwandlungsprodukt“ (26a)^{3,5)}): Eine Lösung von 500 mg **23a** in 150 ccm 10proz. methanol. Kaliumhydroxid goß man nach 8 stdg. Rühren in verd. Salzsäure, nahm die rote Fällung in Chloroform auf und chromatographierte den mit wäßr. Natriumhydrogencarbonat gewaschenen Extrakt an einer 75×4 cm-Kieselgel-Säule. Das mit Chloroform/Methanol (50 : 1) eluierte **26a** der tiefroten Hauptzone kristallisierte aus heißem Methanol in derben, roten Nadeln (190 mg, 47%) vom Schmp. 231° .

$C_{24}H_{22}O_6$ (406.4) Ber. C 70.92 H 5.46 $3CH_3O$ 22.9

Gef. *) C 70.92 H 5.53 CH_3O 22.5

Mol.-Gew. 406 (massenspektrometr.)

*) Bei 200° i. Hochvak. sublimiert.

*7-Desoxy-6-desoxo-8,9-dihydro-7H-resistorubon-3,10-dimethyläther (27)*⁵⁾: 80 mg **26a**, in 10 ccm 95proz. Essigsäure mit Platinkatalysator hydriert, verbrauchten in 3 Stdn. 4 Mol-

äquiv. *Wasserstoff*. Das Hydrierungsprodukt chromatographierte man unter Lichtabschluß aus Benzol an Kieselgel und destillierte das Produkt der blaßblau fluoreszierenden Hauptzone i. Hochvak. bei 200°. Farblose Blättchen vom Schmp. 143°. Ausb. 63 mg (89%). $C_{23}H_{24}O_4$ (364.5) Ber. C 75.79 H 6.36 $2CH_3O$ 17.0 Gef. C 75.65 H 6.41 CH_3O 16.8

Ozonabbau von 27⁵⁾: Durch eine Lösung von 500 mg **27** in 50 ccm Methylenchlorid/Methanol leitete man *ozonhaltigen Sauerstoff* und arbeitete auf wie bei **16a**. Die mit äther. *Diazomethan*-Lösung methylierten Abbausäuren trennte man gaschromatographisch (Säule wie vorher) und erhielt *α-Hydroxy-isobuttersäure-methylester (2b)* und *2-Methyl-glutarsäure-dimethylester (17b)* (Flächenverhältnis der Peaks etwa 4 : 5), die durch IR- und NMR-Spektren charakterisiert wurden.

[430/68]