

Botrydial, ein Sesquiterpen-Antibiotikum aus der Nährlösung des Pilzes *Botrytis cinerea*

Hans-Wolfram Fehlhaber¹⁾, Renate Geipel²⁾, Hans-Jochen Mercker³⁾,
Rudolf Tschesche* und Karin Welmar

Institut für Organische und Biochemie der Universität Bonn.

D-5300 Bonn, Max-Planck-Straße

und F. Schönbeck

Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn, Nußallee

Eingegangen am 25. Januar 1974

Aus der Nährlösung des Pilzes *Botrytis cinerea* wurden das antibiotisch wirksame Botrydial (3) und sein Dihydroderivat (1) isoliert. Durch eine Folge chemischer Umwandlungen, verbunden mit der Anwendung spektroskopischer Methoden, insbesondere einer detaillierten Analyse der NMR-Spektren, wurden ihre Konstitutionsformeln abgeleitet. Botrydial liegt ein bicyclisch nicht-isoprenoides Sesquiterpenskelett zugrunde.

Botrydial, a Sesquiterpene Antibiotic from the Culture Solution of the Fungus *Botrytis cinerea*

The antibiotic botrydial (3) and its dihydro derivative (1) were isolated from the culture solution of the fungus *Botrytis cinerea*. Their structural formulas were elucidated by means of a series of chemical transformations together with the application of spectroscopic methods, especially a detailed analysis of the n.m.r. spectra. The basic skeleton of botrydial is a bicyclic, non-isoprenoid sesquiterpene system.

1968 wurde über einen aus dem Griffel einer Fuchsie isolierten Stamm des Pilzes *Botrytis cinerea* berichtet, der in Biomalz-Nährlösung ein Antibiotikum mit fungistatischer und antibakterieller (bei Gram-positiven Keimen) Wirkung bildet⁴⁾. Die Erzeugung des Wirkstoffs, der mit Lipoidlösungsmitteln extrahierbar ist, unterliegt allerdings starken Schwankungen⁴⁾. Uns interessierte nun, die chemische Natur dieser Verbindung aufzuklären.

Durch Chromatographie eines aus der Nährlösung gewonnenen Benzolextrakt aus desaktiviertem Kieselgel ließen sich zwei kristalline Verbindungen isolieren: Je Liter Nährlösung erhielt man ca. 10 mg antibiotisch wirksames Material und etwa 80 mg unwirksame Dihydrokomponente. Aufgrund der im folgenden beschriebenen chemischen und spektroskopischen Untersuchungen kommt dem Antibiotikum die Struktur des tetrafunktionellen Sesquiterpens 3 zu; da es zwei Aldehydgruppen besitzt, schlagen wir die Bezeichnung *Botrydial* vor.

¹⁾ Neue Anschrift: Farbwerke Hoechst AG, D-6230 Frankfurt 80.

²⁾ R. Geipel, Chem. und Lebensmitteluntersuchungsamt der Stadt Bonn.

³⁾ Neue Anschrift: BASF, D-6700 Ludwigshafen.

⁴⁾ F. Schönbeck, Phytopath. Z. 63, 193 (1968).

Reines Botrydial hemmt das Wachstum von *Bacillus subtilis* (Trübungstest⁵⁾) bei Konzentrationen ab 400 µg/ml und von *Pythium debaryanum*⁶⁾ bei Konzentrationen ab 100 µg/ml vollständig.

Strukturermittlung

Botrydial (3) besitzt die Summenformel C₁₇H₂₆O₅. Sein NMR-Spektrum zeigt die Anwesenheit von drei tertiären und einer sekundären Methylgruppe, zweier Aldehydfunktionen – eine davon mit einem trisubstituierten, die andere mit einem tetrasubstituierten C-Atom verbunden – sowie, im Einklang mit einer im Massenspektrometer zu beobachtenden Essigsäure-Eliminierung, das Vorliegen einer sekundären Acetoxygruppe. Aus dem Aufspaltungsmuster des zur Acetoxygruppe geminalen Wasserstoffs (zweifache diaxiale Kopplung von 11.5 Hz und eine Kopplung von 4.5 Hz) erkennt man, daß er in axialer Orientierung einem Cyclohexansystem angehört und zwischen einer Methylengruppe und einem weiteren axialen Wasserstoff liegt. Eine OH-Absorption im IR-Spektrum weist, da entsprechende geminale Wasserstoffe im NMR-Spektrum fehlen, auf eine tertiäre Hydroxylfunktion hin.

Zwei Wasserstoffatome mehr als Botrydial lieferte die Elementaranalyse für die antibiotisch inaktive Verbindung 1. Sie enthält nach dem NMR-Spektrum ebenfalls eine sekundäre und drei tertiäre Methylgruppen sowie eine Acetoxygruppe in der gleichen Anordnung wie Botrydial, aber anstelle der Aldehydfunktionen treten Signale für eine an tetrasubstituiertem Kohlenstoff gebundene Oxymethylengruppe (AB-Spektrum bei δ = 3.25 und 4.20 ppm) und einen Acetalwasserstoff auf (verbreitertes Singulett bei 5.36 ppm). Durch Reduktion mit NaBH₄ erhielt man aus 1 ebenso wie aus Botrydial (3) ein identisches Acetoxytriol (2) mit zwei primären Hydroxylen (NMR). Damit war sichergestellt, daß die Dihydroverbindung 1 sich von 3 lediglich durch Ersatz der 15-Aldehyd- durch eine primäre Alkoholgruppe ableitet, die mit der verbliebenen Aldehydgruppe ein Halbacetal bildet⁷⁾. Da 1 wesentlich leichter zu gewinnen ist als 3 (Ausbeuteverhältnis ca. 10:1) und auch eine größere chemische Stabilität aufwies – 3 ist äußerst labil, lichtempfindlich und auch in der Kälte nur sehr begrenzt haltbar –, wurde es für alle weiteren Arbeiten eingesetzt.

Durch Jones-Oxidation⁸⁾ erhielt man aus Dihydrobotrydial (1) das Lacton 5, in dem die vier Methylgruppen, die Acetoxyfunktion und die tertiäre Hydroxygruppe unverändert geblieben sind. Aus der Carbonylbande des Lactons im IR-Spektrum, die zusammen mit der Acetoxyabsorption bei 1735 cm⁻¹ liegt, läßt sich ableiten, daß die Lactongruppierung einem (mindestens) sechsgliedrigen Ring angehört.

Zur Prüfung, ob das Kohlenstoffgerüst des Antibiotikums eine (im NMR-Spektrum nicht erkennbare, tetrasubstituierte) Doppelbindung enthält, wurde 5 einer RuO₄-Oxidation⁹⁾ unterworfen, bei der jedoch keine Umsetzung stattfand. 5 muß also – neben dem Lactonring – ein bicyclisches Grundgerüst besitzen.

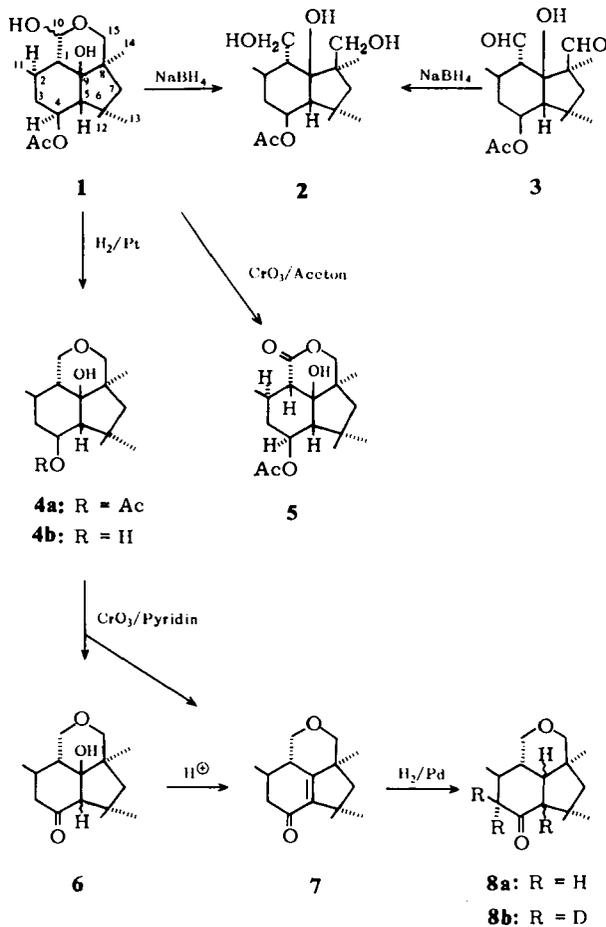
5) H. Köhler, Einführung in die Methoden der pflanzlichen Antibiotikaforschung, Akademie-Verlag, Berlin 1956.

6) F. Schönbeck, Z. Pflanzenkrankheiten 75, 193 (1968).

7) Die Numerierung der C-Atome in Formel 1 wurde in Anlehnung an die bei polycyclischen Terpenoiden, insbesondere Steroiden, übliche Bezifferung vorgenommen.

8) K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones und B. C. L. Weedon, J. Chem. Soc. 1946, 39.

9) G. Snatzke und H.-W. Fehlhaber, Liebig's Ann. Chem. 663, 123 (1963).



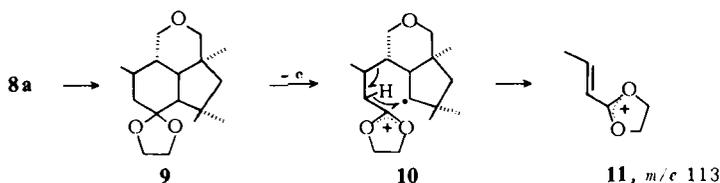
Katalytische Hydrierung von **1** über Platin in Eisessig lieferte neben dem Acetoxytriol **2** in etwa 50proz. Ausbeute den cyclischen Äther **4a** (NMR: 2 CH₂O-Gruppen), bei dem die Acetoxygruppe mit methanolischer KOH glatt verseift wurde (**4b**); entsprechende Versuche mit dem Lacton **5** waren sehr uneinheitlich verlaufen. Oxidation von **4b** mit Chromsäure in Pyridin nach *Sarett*¹⁰ führte zu einem Reaktionsgemisch, aus dem jeweils in etwa 30proz. Ausbeute das Hydroxyketon **6** und das konjugierte Enon **7** isoliert werden konnten. **6** weist im IR-Spektrum die für ein Sechsringketon zu erwartende Carbonylbande bei 1705 cm⁻¹ auf. Die Enon-Gruppierung in **7** absorbiert bei 1660 cm⁻¹ im IR- und bei 254 nm im UV-Spektrum; dieser Wert stimmt genau überein mit der nach den Regeln von *Woodward* und *Fieser*¹¹ für ein trialkylsubstituiertes Enon mit exocyclischer Doppelbindung (zum Ätherring) zu berech-

¹⁰) G. J. Poos, G. E. Arth, R. E. Beyler und L. H. Sarett, J. Amer. Chem. Soc. **75**, 422 (1953); B. Ellis und V. Petrow, J. Chem. Soc. **1956**, 4417.

¹¹) L. Fieser und M. Fieser, Steroide, Verlag Chemie, S. 22, Weinheim/Berstr. 1961.

nenden UV-Absorption. Die Dehydratisierung des Hydroxyketons **6** zu **7** erfolgt sehr leicht, präparativ z. B. mit katalytischen Mengen *p*-Toluolsulfonsäure in Methylencchlorid bei Raumtemperatur; dies beweist, daß die tertiäre OH-Gruppe in β -Stellung zur Carbonylfunktion steht.

Die C=C-Doppelbindung im Enon **7** ist bereits unter milden Bedingungen hydrierbar: Mittels Palladium/Kohle in Essigester und Nachoxidation zur Ketogruppe erhielt man das gesättigte Keton **8a**. Dieses wurde ins Äthylenacetal **9** übergeführt, dessen Massenspektrum wegen der von einer Äthylenacetalgruppierung ausgehenden spezifischen Fragmentierungsreaktionen¹²⁾ weiteren Aufschluß über den Aufbau des Gerüsts geben sollte. Als Basispeak trat ein Fragment mit der Summenformel $C_6H_9O_2$ auf, dem die Struktur **11**, gebildet über **10** nach bekanntem Reaktionsmechanismus¹³⁾, zukommt und das damit die Anwesenheit der sekundären Methylgruppe in 2-Stellung beweist.



Zur vollständigen Klärung der Struktur verhalf eine sorgfältige Analyse der NMR-Spektren von **5** und **8a** (Tabelle). Die beste Auftrennung aller Signale erreichte man durch Verwendung von Hexadeuteriobenzol als Lösungsmittel, beim Lacton **5** unter Zusatz von 0.2 Moläquiv. Tris(dipivaloylmethanato)europium als paramagnetischem Verschiebungsreagenz. Die Zuordnung der Signale erfolgte durch Ermittlung sämtlicher Spin-Spin-Wechselwirkungen mittels Doppelresonanzexperimenten (INDOR, Spin-Spin-Entkopplung). Außerdem wurde zur Signalidentifizierung im Keton **8a** durch alkalikatalysierten H/D-Austausch in Dioxan¹⁴⁾ das Trideuterio-Derivat **8b** dargestellt, in dessen Spektrum die Signale für die Wasserstoffe an C-3 und C-5 fehlten, alle übrigen eindeutig erkennbaren Signale aber das gleiche Aufspaltungsmuster wie bei **8a** zeigten.

Die von den Wasserstoffen an C-2, -3, -4 und der sekundären Methylgruppe C-11 herrührenden Signale entsprechen der für diesen Molekülteil bereits (insbesondere durch das Massenspektrum von **9**) festgelegten Partialstruktur $^{11}CH_3 - ^2CH - ^3CH_2 - ^4CHOAc$ (**5**) bzw. $CH_3 - CH - CH_2 - CO$ (**8a**). Das Proton an C-1 ist nur bei **5** erkennbar, wo es durch die benachbarte Carbonylfunktion paramagnetisch verschoben wird; da es — durch Kopplung mit 2-H — als Dublett erscheint, muß C-9 tetrasubstituiert sein. Für **8a** ist durch die Wasserstoffe an C-9 und C-10 ein stark

¹²⁾ H. Audier, A. Diara, M. de J. Durazo, M. Fétyon, P. Foy und W. Vetter. Bull. Soc. Chim. France **1963**, 2827; G. von Mutzenbecher, Z. Pelah, D. H. Williams, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, Steroids **2**, 475 (1963).

¹³⁾ H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Vol. II, S. 18 f., Holden-Day, San Francisco 1964.

¹⁴⁾ E. Lund, H. Budzikiewicz, J. M. Wilson und C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. **85**, 1528 (1963); J. S. Shannon, Aust. J. Chem. **16**, 683 (1963).

Tabelle. Durch Doppelresonanzmessungen getroffene Zuordnung der NMR-Spektren von **5** und **8a**

Gruppe	(Position)	5 (C_6D_6 + 0.2 Moläquiv. Eu(DPM) ₃) δ (ppm)	Signalstruktur	δ (ppm)	8a (C_6D_6) Signalstruktur
CH	(1)	4.54	d, $J = 11$ Hz	} 1.0–1.5	m, mit 9-H zusammenfallend
CH	(2)	3.5 ^{a)}	mc		
CH ₂	(3)	2.6 ^{b)} + 4.0	je mc		
CHOAc	(4)	8.0	X-Teil in ABCX-Spektrum, $J_{AX} = 4.5$, $J_{BX} = J_{CX} = 11.5$ Hz	1.62 (A) + 2.37 (B) AB-Teil in ABX-Spektrum, $J_{AB} = 17$, $J_{AX} = 10$, $J_{BX} = 5$ Hz	
CH	(5)	3.01	d, $J = 11.5$ Hz	—	
CH ₂	(7)	0.47 + 2.39	AB-Spektrum, $J_{AB} = 12$ Hz	2.64 ^{c)}	d, $J = 5$ Hz
CH	(9)	—		1.04 + 2.10	AB-Spektrum, $J_{AB} = 13$ Hz
CH—CH ₂ O	(10)	—		1.0–1.5	mit 1- und 2-H zusammenfallend
C—CH ₂ O	(15)	4.28 + 5.72	AB-Spektrum, $J_{AB} = 11$ Hz	2.64 (A) ^{c)} + 3.93 (B)	AB-Teil in ABX-Spektrum, $J_{AB} = J_{AX} = 10.5$, $J_{BX} = 3.5$ Hz
CH—CH ₃	(11)	2.61 ^{b)}	d, $J = 6$ Hz	2.99 + 3.57	AB-Spektrum, $J_{AB} = 12$ Hz
C—CH ₃	(12, 13, 14)	0.91, 1.16	je s, 2 bzw. 1 CH ₃	0.51	d, $J = 6$ Hz
OAc		3.44 ^{a)}	s	0.62, 0.98, 1.25	je s

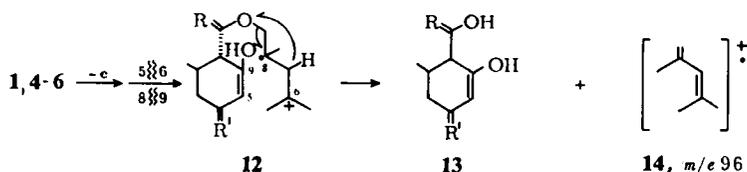
a), b), c) jeweils einander überlagernde Signale.

aufgespaltenes 1-H-Signal zu erwarten, das man daher nicht identifizieren kann; jedoch läßt es sich an der Aufspaltung der Methylenprotonen an C-10 ($J = 10.5$ und 3.5 Hz) erkennen.

Da 5-H in **5** nur mit 4-H koppelt ($J = 11.5$ Hz), sind hier sowohl C-6 als auch C-9 tetrasubstituiert; beide kämen somit als Sitz der – bezüglich 4-H β -ständigen – tertiären Hydroxylgruppe in Frage. Deren Ersatz durch Wasserstoff im 4-Keton **8a** führt dazu, daß 5-H auch hier ein Dublett ergibt ($J = 5$ Hz). Die Methylengruppe in Position 7 liefert jedoch bei beiden Verbindungen ein einfaches AB-Spektrum, ist also stets von zwei quartären C-Atomen, C-6 und C-8, flankiert. Daraus folgt, daß die tertiäre Hydroxylgruppe in **5** nicht an C-6, sondern nur an C-9 haften kann.

Ferner treten bei beiden Verbindungen unverändert die Signale der drei tertiären Methylgruppen und das AB-Spektrum der mit einem tetrasubstituierten C-Atom verbundenen Oxymethylengruppe C-15 auf. Diese vier Reste müssen an den C-Atomen 6 und 8 haften. Da eine Anknüpfung von C-15 an C-6 bei axialer Orientierung von 5-H ($J_{4,5} = 11.5$ Hz in **5**) sterisch nicht möglich ist, verbleibt nur die Verknüpfung mit C-8; C-6 wird dann von zwei und C-8 von der dritten tertiären Methylgruppe besetzt.

Gestützt wird diese Struktur durch die massenspektrometrische Fragmentierung aller tricyclischen Derivate (**1**, **4**–**8**), die durch Spaltungsreaktionen im Fünfring und Eliminierung von Kohlenwasserstoff-Bruchstücken gekennzeichnet ist. Besonders hervorzuheben ist die Bildung eines C_7H_{12} -Ions (m/e 96), das mit Ausnahme von **7** und **8** den Basispeak ergibt. Diese Reaktion dürfte über eine Ringöffnung zu **12** und eine anschließende, mit einer Wasserstoffübertragung gekoppelte Spaltung der Äthergruppierung zum Dien-Ion **14** führen. Das Fragment bestätigt, daß die C-Atome 6, 7 und 8 keine Sauerstofffunktion tragen.



In einigen Fällen kann man auch das Gegenion (**13** als Ladungsträger) beobachten (**4a**; als 13-AcOH bei **5**) oder ähnliche, nach einem modifizierten Reaktionsmechanismus – mit zusätzlichen Wasserstoffverschiebungen – entstandene Ionen ($M - C_7H_{11}$ bei **6**, $M - C_7H_{13}$ bei **4b**). Bei allen 4-Acetoxy-Derivaten tritt neben der üblichen Essigsäure-Eliminierung ($M - 60$) in beträchtlichem Ausmaß auch Abspaltung eines Acetoxy-Radikals ein ($M - 59$); anscheinend beruht dies auf einer gleichzeitigen Aufspaltung der Bindung C-5/C-6 unter Ausbildung einer 4,5-Doppelbindung und eines (tertiären) Carbonium-Ions an C-6.

Ableitung der Stereochemie

Entscheidende Hinweise zur relativen Konfiguration der Substituenten liefern die NMR-Daten des Lactons **5** (Tab.). Vicinale Kopplungen von über 10 Hz zeigen, daß 1-H und 2-H ($J_{1,2} = 11$ Hz) sowie 4-H und 5-H ($J_{4,5} = 11.5$ Hz) jeweils *trans*-diaxial angeordnet sind. Wegen der daraus zwangsläufig folgenden 1,3-diaxialen

ten Sesquiterpen-Typ dar¹⁸⁾. *G. Habermehl* hat inzwischen vom Dihydrobotrydial eine Röntgenstrukturanalyse durchführen lassen und die angenommene Struktur bestätigt¹⁹⁾.

Herrn Prof. Dr. *G. Snatzke*, Ruhruniversität Bochum, danken wir sehr für die Aufnahme und Deutung des Circular dichroismus. Fräulein *Winterfeld* danken wir für die Durchführung der NMR-spektroskopischen Entkopplungs- und INDOR-Messungen. Für die Gewährung von Sachmitteln danken wir dem *Landesamt für Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen* und für die zur Verfügung gestellten analytischen Geräte der *Stiftung Volkswagenwerk* und der *Deutschen Forschungsgemeinschaft*.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Mikroskop-Heiztisch nach *Weygand*, die optischen Drehungen mit dem Perkin-Elmer-Polarimeter 141 bestimmt. Zur Aufnahme der Absorptionsspektren dienten folgende Geräte: Perkin-Elmer 221 (IR), Varian A-60 und Bruker-Spektroskop HX-90 (NMR), Cary 14 (UV) und Dichrographe-2 von Roussel-Jouan (CD). Die Massenspektren wurden mit dem Massenspektrometer MS 9 (A.E.I.) bei einer Ionenquellentemperatur von ca. 200°C und einer Elektronenenergie von 70 eV aufgenommen; die für Molekül- und Fragment-Ionen angeführten Summenformeln wurden durch hochauflösende Massenspektrometrie bei einer Auflösung von etwa 70 ppm ermittelt (Genauigkeit der Massenbestimmungen besser als ± 5 ppm). Elementaranalysen führte das Mikrochemische Laboratorium Dr. *F. Pascher*, Bonn, aus. Zur DC benutzte man Kieselgel-G, -PF₂₅₄ oder -PF₃₆₆ (Merck); die PSC wurde auf 20 × 20-cm-Platten mit Kieselgelschichten, die 1 h bei 130°C aktiviert worden waren, durchgeführt; zur Säulenchromatographie wurde Kieselgel (Gebr. Herrmann, Köln) einheitlicher Korngröße benutzt, das mit Eisessig und anschließend mit Wasser gewaschen und bei 130°C aktiviert worden war.

Isolierung von Botrydial (3) und Dihydrobotrydial (1): Je 1 Liter Nährlösung von *Botrytis cinerea*⁴⁾ wurde dreimal mit je 200 ml Benzol extrahiert, die organische Phase mit Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingedampft (1.6 g Rohprodukt). DC auf Kieselgel mit Petroläther/Aceton (10:3): *R_F* 0.3 (3), 0.35 (1). Zur Trennung benutzte man 200 g mit Wasser imprägniertes Kieselgel, das durch Zugabe von 5 ml Wasser und 2stdg. Erwärmen auf 50°C hergestellt wurde, mit Benzol/Aceton (10:1) als Elutionsmittel. Man erhielt durchschnittlich etwa 80 mg 1 und 10 mg 3. Die Ausbeuten schwanken sehr stark, ein brauchbares Ergebnis erzielte man nur bei raschem Arbeiten, insbesondere bei der Chromatographie und unter Ausschluß von Licht.

1: Schmp. 158–160°C (Petroläther), $[\alpha]_D^{25} = +56^\circ$ ($c = 0.94$ in Petroläther). — IR (CCl₄): 3595, 3535 (OH), 1730, 1235 cm⁻¹ (OAc). — ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 0.98$ (d, $J = 6$ Hz, CH—CH₃), 1.14 (s, CH₃), 1.28 (s, 2 CH₃), 2.03 (s, AcO), 3.25 und 4.20 (AB-Spektrum, $J_{AB} = 10$ Hz, CH₂O), 5.12 (X-Teil eines ABCX-Spektrums, $J_{AX} = 4.5$ Hz, $J_{BX} = J_{CX} = 11.5$ Hz, 4-H), 5.36 ppm (verbreitertes s, 10-H). — MS: *m/e* 294 (26%, M — H₂O), 234 (50%, M — H₂O — AcOH), 175 (77%, C₁₃H₁₉⁺), 96 (100%, 14).

C₁₇H₂₈O₅ (312.3) Ber. C 65.40 H 8.97 O 25.63 Gef. C 65.44 H 8.94 O 25.71

3: Schmp. 108–110°C (Petroläther), $[\alpha]_D^{25} = +34^\circ$ ($c = 0.14$ in Chloroform). — IR (CCl₄): 3465 (in 0.003 M Lösung: 3610; OH), 1735 (OAc), 1717 (CH—O), 1240 cm⁻¹ (OAc). —

¹⁸⁾ Vgl. die Übersicht von *G. Rücker*, *Angew. Chem.* **85**, 895 (1973); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **12**, 793 (1973).

¹⁹⁾ Herr Prof. Dr. *G. Habermehl* (Darmstadt) wird seine Ergebnisse an anderer Stelle veröffentlichen.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.96$ (d, $J = 6$ Hz, $\text{CH}-\text{CH}_3$), 1.10, 1.29, 1.35 (je s, 3 CH_3), 2.05 (s, AcO), 5.08 (X-Teil eines ABCX-Spektrums, $J_{\text{AX}} = 4.5$ Hz, $J_{\text{BX}} = J_{\text{CX}} = 11.5$ Hz, 4-H), 9.62 (s, $\text{CH}=\text{O}$), 9.80 ppm (d, $J = 2.5$ Hz, $\text{CH}-\text{CH}=\text{O}$). — CD (Dioxan): $\Delta\epsilon = +1.2$ (308 nm), -1.1 (220 nm). — MS: m/e 310 (2%, M^+), 250 (14%, $\text{M} - \text{AcOH}$), 204 (87%, $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}^+$), 180 (32%, $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2^+$), 179 (33%, $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_2^+$), 175 (100%, $\text{C}_{13}\text{H}_{19}^+$), 119 (55%, $\text{C}_9\text{H}_{11}^+$), 112 (30%, $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}^+$).

$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_5$ (310.3) Ber. C 65.08 H 8.38 Gef. C 65.14 H 8.48

Antibakterielle Wirkung von 3 im Trübungstest⁵⁾: Eine Verdünnungsreihe von **3** in Pepton-Nährlösung wurde mit einer 18 h alten Kultur von *Bacillus subtilis* beimpft und 24 h bei 35°C inkubiert. Das Bakterienwachstum wurde anhand der aufgetretenen Trübung durch Vergleich mit einem Standard bestimmt. Ab 400 μg **3** pro ml Nährlösung trat totale Wachstumshemmung ein.

Fungistatische Wirkung von 3 gegen *Pythium debaryanum*⁶⁾: Eine Verdünnungsreihe von **3** in Pepton-Nährlösung wurde mit 1 proz. Biomalz-Agar vermischt, in flachen Glasschalen mit *Pythium debaryanum* beimpft und 30 h bei 24°C bebrütet. Zur Auswertung wurde die Pilzwachstumsfläche planimetrisch bestimmt. Ab 100 μg **3** pro ml Nährlösung trat vollständige Wachstumshemmung ein.

NaBH_4 -Reduktion von 1: Zur Lösung von 60 mg **1** in 6 ml Methanol wurden innerhalb 30 min in kleinen Portionen insgesamt 60 mg NaBH_4 gegeben. Die Reaktion wurde nach weiteren 10 min durch Zugabe von 2 N HCl abgestoppt. Man fügte 50 ml Wasser hinzu und zog dreimal mit je 30 ml Chloroform aus. Die Chloroformlösung wurde getrocknet und i. Vak. zur Trockne gebracht. Den Rückstand chromatographierte man an 5 g Kieselgel mit Petroläther/Aceton (5:1). Es resultierten 25 mg Acetoxytriol **2**. Schmp. 175–176°C (Benzol/Aceton), $[\alpha]_D^{20} = +7.4^\circ$ ($c = 1.15$ in Chloroform).

IR (CHCl_3): 3627, 3430 (OH), 1730, 1240 cm^{-1} (OAc). — $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.95$ (d, $J = 6$ Hz, $\text{CH}-\text{CH}_3$), 1.05, 1.10, 1.30 (je s, 3 CH_3), 2.0 (s, OAc), 3.7 (s, CH_2OH), 4.0 (d, $J = 5$ Hz, $\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH}$), 5.1 ppm (X-Teil eines ABCX-Spektrums, $J_{\text{AX}} = 4.5$ Hz, $J_{\text{BX}} = J_{\text{CX}} = 11.5$ Hz, 4-H). — MS: m/e 296 (82%, $\text{M} - \text{H}_2\text{O}$), 237 (92%, 296 – AcO), 236 (80%, $\text{M} - \text{AcOH}$), 200 (80%, 296 – C_7H_{12}), 140 (88%, 237 – C_7H_{13}), 96 (100%, 14).

$\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}_5$ (314.4) Ber. C 64.95 H 9.62 Gef. C 64.93 H 9.46

NaBH_4 -Reduktion von 3: Aus 50 mg **3**, die auf die bei **1** beschriebene Weise reduziert worden waren, erhielt man 15 mg Triol **2**, das mit dem aus **1** gewonnenen Material in allen Eigenschaften (Schmp., DC, IR, NMR) identisch war.

Oxidation von 1 zum Lacton 5: Eine Lösung von 50 mg **1** in 5 ml Aceton wurde mit 10 Tropfen *Kiliani*-Lösung 15 min bei Raumtemp. stehengelassen. Dann fügte man 0.5 ml Methanol hinzu, verdünnte mit 20 ml Wasser und extrahierte erschöpfend mit Chloroform. Die organische Phase wurde getrocknet, i. Vak. eingedampft und der Rückstand an 5 g Kieselgel mit Petroläther/Aceton (10:1) chromatographiert. Ausb. 19 mg **5**, Schmp. 217–219°C (Petroläther).

$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_5$ Mol.-Masse Ber. 310.1780, Gef. 310.1786 (MS). — IR (CCl_4): 3450 (in 0.002 M Lösung: 3610; OH), 1735 cm^{-1} (OAc). — $^1\text{H-NMR}$ siehe Tab. — CD (Acetonitril): $\Delta\epsilon = -1.45$ (218 nm). — MS: m/e 310 (10%, M^+), 251 (30%, $\text{M} - \text{AcO}$), 250 (28%, $\text{M} - \text{AcOH}$), 195 (12%, 251 – C_4H_8), 194 (17%, 250 – C_4H_8), 177 (35%, 195 – H_2O), 154 (12%, 250 – C_7H_{12}), 96 (100%, 14).

RuO_4 -Oxidation⁹⁾ des Lactons 5: Eine Suspension von 5 mg RuO_2 in 2 ml CCl_4 wurde mit 2 ml 5proz. wäbr. NaJO_4 -Lösung kräftig turbiniert, bis eine Gelbfärbung der Lösung die

Bildung von RuO_4 anzeigte²⁰⁾. Dann wurde tropfenweise eine Lösung von 5 mg **5** in 5 ml CCl_4 hinzugefügt und 6 h bei Raumtemp. gerührt. Ein DC im System Benzol/Aceton (8:2) zeigte, daß im wesentlichen unverändertes Ausgangsmaterial vorlag.

Katalytische Hydrierung von 1 zum Äther 4a: 200 mg **1** wurden in 12 ml Eisessig über 85 mg vorhydriertem PtO_2 bei Raumtemp. und Normaldruck hydriert. Nach 24 h wurde wie üblich aufgearbeitet. Das Reaktionsprodukt wurde durch PSC im System Benzol/Aceton (8:1) in drei Zonen aufgetrennt; mit abfallender Polarität waren dies:

- a) 45 mg (22%) Acetoxytriol **2**, identifiziert durch Schmp., IR- und NMR.
- b) 26 mg unverändertes Ausgangsmaterial.

c) 95 mg (48%) **4a** vom Schmp. 130–132°C (Petroläther); $[\alpha]_D^{20} = +19^\circ$ ($c = 0.11$ in Chloroform). – IR (CHCl_3): 3605, 3530 (OH), 1735, 1240 cm^{-1} (OAc). – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.89$ (d, $J = 6$ Hz, $\text{CH}-\text{CH}_3$), 1.11, 1.26 (je s, 1 bzw. 2 CH_3), 2.02 (s, AcO), 3.3–4.0 (m, 2 CH_2O), 5.05 ppm (X-Teil eines ABCX-Spektrums, $J_{\text{AX}} = 4.5$ Hz, $J_{\text{BX}} = J_{\text{CX}} = 11.5$ Hz, 4-H). – MS: m/e 296 (20%, M^+), 237 (82%, $\text{M} - \text{AcO}$), 236 (44%, $\text{M} - \text{AcOH}$), 131 (51%, 237 – C_4H_8), 180 (54%, 236 – C_4H_8), 140 (44%, 236 – C_7H_{12}), 96 (100%, **14**).

$\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_4$ (296.4) Ber. C 68.91 H 9.45 O 21.62 Gef. C 69.05 H 9.36 O 21.59

Verseifung von 4a zum Dihydroxyäther 4b: Eine Lösung von 95 mg **4a** in 10 ml Methanol wurde mit 5 ml 5proz. methanol. KOH 24 h bei Raumtemp. stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung und PSC im System Benzol/Aceton (4:1) erhielt man 80 mg (88%) **4b** vom Schmp. 164°C (Benzol/Aceton); $[\alpha]_D^{20} = -30^\circ$ ($c = 0.03$ in Chloroform). – $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3$ Mol.-Masse Ber. 254.1882, Gef. 254.1879 (MS). – IR (CCl_4): 3610, 3450 cm^{-1} (OH). – MS: m/e 254 (35%, M^+), 198 (14%, $\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8$), 157 (100%, $\text{M} - \text{C}_7\text{H}_{13}$), 96 (98%, **14**).

Sarett-Oxidation von 4b: Zur Lösung von 80 mg **4b** in 2 ml Pyridin gab man tropfenweise eine Lösung von 80 mg CrO_3 in 1.5 ml Pyridin und ließ unter Rühren 5 h bei Raumtemp. stehen. Nach üblicher Aufarbeitung und Chromatographie an 4 g Aluminiumoxid mit Essigester als Elutionsmittel erhielt man:

a) 30 mg (31%) Enon **7** vom Schmp. 122–124°C (Petroläther); $[\alpha]_D^{20} = -91^\circ$ ($c = 0.07$ in Chloroform). – $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$ Mol.-Masse Ber. 234.1620, Gef. 234.1621 (MS). – IR (CHCl_3): 1660 cm^{-1} (Enongruppierung). – UV (Methanol): $\lambda_{\text{max}} = 254$ nm ($\epsilon = 11000$). – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.98$ (d, $J = 7$ Hz, $\text{CH}-\text{CH}_3$), 1.25, 1.35, 1.40 (je s, 3 CH_3), 1.62 (s, CH_2-7), 3.4–4.1 ppm (m, 2 CH_2O). – MS: m/e 234 (100%, M^+).

b) 25 mg (29%) Hydroxyketon **6** vom Schmp. 157–160°C (Petroläther); $[\alpha]_D^{20} = -58^\circ$ ($c = 0.04$ in Chloroform). – $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_3$ Mol.-Masse Ber. 252.1725, Gef. 252.1732 (MS). – IR (CHCl_3): 3585 (OH), 1705 cm^{-1} (C=O). – MS: m/e 252 (41%, M^+), 197 (17%, $\text{M} - \text{C}_4\text{H}_7$), 157 (93%, $\text{M} - \text{C}_7\text{H}_{11}$), 96 (100%, **14**).

Dehydratisierung von 6 zu 7: Eine Lösung von 25 mg Hydroxyketon **6** und 5 mg *p*-Toluolsulfonsäure in 20 ml Methylchlorid wurde 3 h bei Raumtemp. stehengelassen und dann wie üblich aufgearbeitet. Nach PSC im System Benzol/Aceton (4:1) erhielt man 19 mg Enon **7**, identifiziert durch Schmp. und IR-Spektrum.

Katalytische Hydrierung von 7 zu 8a: 49 mg **7** wurden in 10 ml Essigester über 100 mg Pd/C 24 h bei Raumtemp. und Normaldruck hydriert. Man arbeitete wie üblich auf, löste das Reaktionsprodukt in 10 ml Aceton und versetzte unter Eiskühlung mit 5 Tropfen *Kilian*-Lösung. Nach Aufarbeitung erhielt man durch PSC im System Benzol/Aceton (8:1) 12 mg

²⁰⁾ G. Snatzke und W. Nising, Liebigs Ann. Chem. 715, 187 (1968).

unverändertes Ausgangsmaterial und 20 mg (39%) amorphes Ätherketon **8a**. — $C_{15}H_{24}O_2$ Mol.-Masse Ber. 236.1776, Gef. 236.1775 (MS). — IR ($CHCl_3$): 1690 cm^{-1} (C=O). — 1H -NMR siehe Tab. — MS: m/e 236 (100%, M^+), 180 (30%, $M - C_4H_8$), 96 (29%, **14**).

Deuterierung von 8a zu 8b: 20 mg **8a** in 5 ml absol. Dioxan wurden zu einer Mischung von 2.5 ml Dioxan, 2.5 ml D_2O und 100 mg Natrium gegeben. Man erhitzte unter Stickstoffatmosphäre 30 min auf $70^\circ C$, dampfte dann i. Vak. zur Trockne und wiederholte mit dem Eindampfrückstand die obige Prozedur. Der nach dem zweiten H/D-Austausch erhaltene Eindampfrückstand wurde mehrmals mit Äther digeriert, und die vereinigten Ätherauszüge wurden zur Trockne eingedampft. Man erhielt 17 mg Trideuterio-Derivat **8b** mit dem massenspektrometrisch bestimmten Deuterierungsgrad 1% D_1 , 6% D_2 , 93% D_3 . Das 1H -NMR-Spektrum unterschied sich von dem von **8a** lediglich durch das Fehlen der Signale für 3-H (1.62 und 2.37 ppm, je dd) und 5-H (2.64 ppm, d).

Äthylencacetal 9: 15 mg Ätherketon **8a** und 5 mg *p*-Toluolsulfonsäure wurden in 0.1 ml Äthylenglycol und 5 ml Benzol 6 h unter Rückfluß erhitzt. Zum Entfernen des Reaktionswassers wurde in das Reaktionsgefäß eine mit Calciumhydrid gefüllte Extraktionshülse eingehängt. Nach dem Erkalten schüttelte man die Lösung zweimal mit $NaHCO_3$ -Lösung aus, trocknete sie über Na_2SO_4 und zog das Lösungsmittel i. Vak. ab. Aus dem Rückstand wurden durch PSC mit Benzol/Aceton (8:1) 4 mg öliges Acetal **9** erhalten. $[\alpha]_D^{20} = -10^\circ$ ($c = 0.11$ in Chloroform). — $C_{17}H_{28}O_3$ Mol.-Masse Ber. 280.2038, Gef. 280.2033 (MS). — MS: m/e 280 (4%, M^+), 113 (100%, **11**), 87 (8%, $C_4H_7O_2^+$), 86 (7%, $C_4H_6O_2^+$).

[25/74]