

Synthese des 6-Desoxycryptosporins und verwandter Verbindungen

Karsten Krohn*, Gabriele Brückner und Hans-Peter Tietjen

Institut für Organische Chemie und Biochemie, Abt. Biochemie der Universität Hamburg,
Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13

Eingegangen am 22. Juni 1977

Die *cis*-Hydroxylierung des Naphthopyrans **5** liefert als Hauptprodukt das Ketol **9**. Daneben können das epimere Ketol **11** und die hydroxylierten Chinone **2** und **13** isoliert werden. Das Syntheseprodukt **2** ist die 6-Desoxy-Verbindung des Naturstoffs Cryptosporin (**1**). Über die Stereochemie der katalytischen Hydrierung des Ketols **9** und die Reduktion mit Natriumborhydrid und Diisobutylaluminiumhydrid wird berichtet.

Synthesis of 6-Deoxycryptosporin and Related Compounds

The *cis*-hydroxylation of naphthopyran **5** yields the ketol **9** as the main product. Furthermore the epimeric ketol **11** and the hydroxylated quinones **2** and **13** can be isolated. Product **2** is the 6-deoxy compound of naturally occurring cryptosporin (**1**). The stereochemistry of the hydrogenation of the ketol **9** and of the reduction with sodium boron hydride and diisobutylaluminium hydride is reported.

Cryptosporin (**1**), ein Antibiotikum mit schwach gram-positiver Aktivität, wurde von Closse und Sigg¹⁾ aus *Cryptosporium pinicola* isoliert. Die Strukturaufklärung erfolgte durch Abbau und spektroskopische Methoden. Als zusätzliche Stütze für die räumliche Anordnung der Substituenten und um Einblick in die Struktur-Wirkungsbeziehung zu gewinnen, haben wir die Synthese des 6-Desoxycryptosporins (**2**) und einiger ähnlicher Verbindungen unternommen²⁾. Wir berichten hier ausführlich über die synthetischen Arbeiten und die ersten Ergebnisse der biologischen Untersuchungen.

Syntheseplan und Ausgangsmaterial

Die *cis*-Anordnung der Hydroxygruppen an C-3 und C-4 in Cryptosporin (**1**) legt es nahe, diese Substituenten durch *cis*-Hydroxylierung des entsprechenden Olefins **3** einzuführen. Es war dabei von vornherein klar, daß die benachbarte Methylgruppe den Angriff des Osmiumtetroxids von der gleichen Seite behindern würde, so daß als Hauptprodukt der Reaktion die epimere Verbindung resultieren sollte. Von der mechanistisch anders verlaufenden *cis*-Hydroxylierung nach Woodward³⁾ konnte dagegen das Produkt mit der natürlichen Konfiguration erwartet werden.

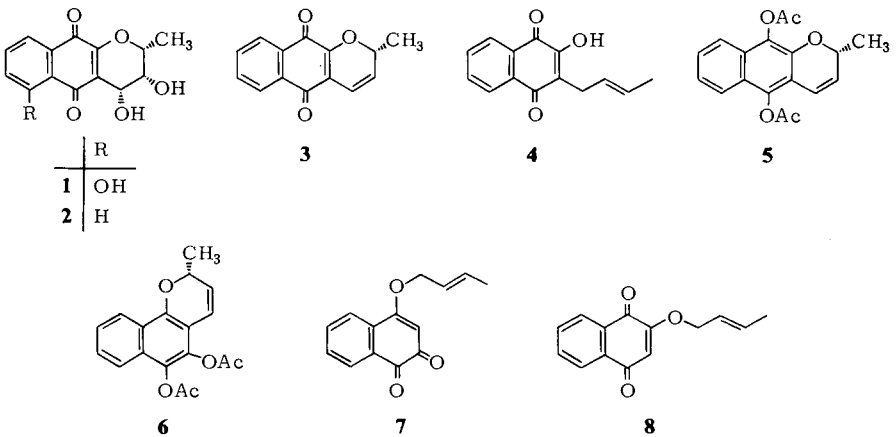
¹⁾ A. Closse und H.-P. Sigg, *Helv. Chim. Acta* **56**, 619 (1973).

²⁾ K. Krohn, G. Brückner und H. P. Tietjen, *Tetrahedron Lett.* **1977**, 1265.

³⁾ R. B. Woodward und F. V. Brutcher jr., *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 209 (1958).

Für die Synthese des Zwischenprodukts **3** haben wir uns die Kenntnis über die lange bekannte⁴⁾ und kürzlich erneut genau untersuchte Cyclisierung des Lapachols⁵⁾ zunutze gemacht. Wir gingen dabei von der Erwartung aus, daß das 2-(2-Butenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthalindion (**4**) durch Erhitzen mit Acetanhydrid/Natriumacetat eine analoge Cyclisierung zu den monomethylierten Naphthopyranen **5** und **6** eingehen sollte.

Eine Synthese des substituierten Naphthochinons **4** war durch die Alkylierung des Silber-salzes des 2-Hydroxy-1,4-naphthalindions mit 2-Butenylbromid bekannt⁶⁾. Das gesuchte C-Alkylierungsprodukt **4** fällt in 32proz. Ausbeute an. Daneben bilden sich noch die Ether **7** und **8** des 1,2-Naphthochinons und des 1,4-Naphthochinons, die in ihrer Konstitution durch die Analyse der ¹H-NMR-Spektren bestätigt werden. Das C-alkylierte Produkt **4** läßt sich als vinyloge Säure durch Ausschütteln mit Base leicht abtrennen.



Bei der Umsetzung von **4** mit Acetanhydrid/Natriumacetat entstehen erwartungsgemäß zwei Cyclisierungsprodukte vom Schmp. 137°C (56%) und 125°C (30%). Die Zuordnung der isomeren Naphthopyrane gelingt durch Vergleich der ¹H-NMR-Spektren. Im Spektrum der niedriger schmelzenden Verbindung ist im Aromatenbereich ein Proton zu tiefem Feld verschoben, und die Signale der Acetatgruppen erscheinen getrennt. Bei der höher schmelzenden Substanz verteilen sich dagegen die aromatischen Protonen auf zwei Multipletts gleicher Intensität um $\delta = 7.67$ und 7.37 , und die Signale der Acetatgruppen fallen bei $\delta = 2.41$ zusammen. Damit können den beiden Verbindungen die Formeln **6** bzw. **5** zugeordnet werden. Um vom Diacetat **5** zum Chinon **3** zu gelangen, ist weder die saure noch die alkalische Verseifung zweckmäßig, da teilweise Zersetzung zu ringoffenen Produkten eintritt.

Burnett und Thomson⁵⁾ haben gezeigt, daß die Überführung der Leucodiacetate zu den entsprechenden Chinonen sehr schonend durch Umsetzung mit überschüssigem Grignard-reagenz vorgenommen werden kann.

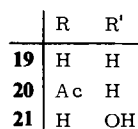
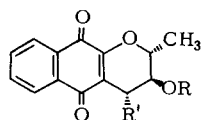
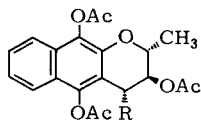
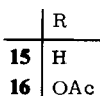
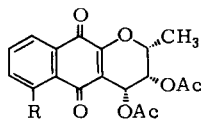
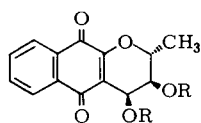
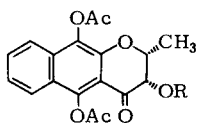
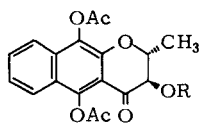
⁴⁾ E. Paterno, Gazz. Chim. Ital. **12**, 337 (1882).

⁵⁾ A. R. Burnett und R. H. Thomson, J. Chem. Soc. C **1967**, 1261.

⁶⁾ L. F. Fieser, J. Am. Chem. Soc. **49**, 857 (1927).

Hydroxylierung von 5

Wir haben die Verbindungen **3** und **5** unter einer Reihe verschiedener Versuchsbedingungen mit *cis*-hydroxylierenden Reagentien umgesetzt. Da sich das Chinon **3** jedoch nach anfänglicher Abreaktion zu hydroxylierten Verbindungen zu einer Vielzahl von Folgeprodukten zersetzt, wurden insbesondere die Reaktionen der Vorstufe **5** genauer untersucht. Die Hydroxylierung des Diacetats **5** in wäßrigem Tetrahydrofuran mit katalytischen Mengen Osmiumtetroxid und überschüssigem Natriumchlorat⁷⁾ ergibt nach DC-Untersuchungen mindestens sechs verschiedene Stoffe. Als Hauptprodukt kann bei zweitägiger Reaktion das Ketol **9** vom Schmp. 206°C isoliert werden. Die Konstitution **9** wird durch das zusätzliche Auftreten der Carbonylschwingung im IR-Spektrum bei 1693 cm⁻¹ sowie durch die Analyse und das Massenspektrum mit *m/e* 344 für M⁺ bestätigt. Chemisch ist das Ketol durch die Überführung in das Triacetat **10** charakterisiert. Das scharfe Dublett bei $\delta = 5.44$ ($J_{2,3} = 11$ Hz) für 3-H im ¹H-NMR-Spektrum von **10** beweist die Oxidation der primär gebildeten benzylichschen Hydroxygruppe zum Keton. Die Kopplungskonstante von 11 Hz stimmt nach Modellbetrachtungen mit der *trans*-Stellung von Acetoxygruppe und Methylgruppe überein, ist jedoch für sich allein sicher nicht strukturbeweisend. Die chromatographische Isolierung des epimeren Ketols **11** in 7proz. Ausbeute stützt jedoch die Annahme, daß das Hauptprodukt der Reaktion durch Angriff des voluminösen Osmiumtetroxids von der weniger behinderten Rückseite zum *trans*-Produkt **9** führt. Die Konstitution der epimeren Verbindung **11** ist durch spektroskopische Daten und Überführung in das Acetat **12** abgesichert. Die Protonen des *trans*-Ketolacetats **10** nehmen bei äquatorialer Lage der Substituenten eine annähernd diaxiale Stellung ein, was zu der großen Kopplungskonstanten von 11 Hz führt. Für das *cis*-Ketolacetat **12** werden für $J_{2,3} = 4.4$ Hz gemessen. Dieser Wert stimmt gut mit dem am Modell ablesbaren Torsionswinkel von etwa 50° überein. Das Gemisch der durch Chelatbildung vergleichsweise hydrophoben Ketole **9** und **11** kann aus dem Reaktionsgemisch durch Ausfällen



⁷⁾ K. Wiesner, K. K. Chai und C. Demerson, *Tetrahedron Lett.* **1965**, 2893.

mit Wasser leicht abgetrennt werden. Durch mehrfache Schichtchromatographie der Extrakte aus der Mutterlauge gelingt es, die epimeren und bereits zum Chinon oxidierten Diole **2** (Schmp. 142°C) und **13** (Schmp. 185°C) in geringer Ausbeute zu isolieren. Die Ausbeute steigt durch mehrtägiges Stehenlassen der wäßrigen Mutterlauge oder durch reduktive Entacetylierung der Extrakte mit Diisobutylaluminiumhydrid.

Das Verhältnis der kristallin isolierten Chinone **13** und **2** entspricht mit 1.8:1 nicht dem der isomeren Ketole **9** und **11** (9.3:1). Das Isomerenverhältnis braucht sich jedoch nicht genau zu entsprechen, weil einerseits die Oxidation der primär gebildeten diastereomeren Diole zu den Ketolen **9** und **11** und andererseits die Verseifung der Acetatreste mit unterschiedlicher Reaktionsgeschwindigkeit ablaufen können. Denkbar ist ferner eine Äquilibrierung der Ketole über die Enolform zum thermodynamischen Gleichgewicht. Ketol **11** ist jedoch in wäßrigem Tetrahydrofuran über mehrere Tage völlig stabil. Dieses Experiment belegt ferner die Stabilität der Ketole gegen Verseifung in wäßrigem Medium. Bei den entsprechenden Diolen wird die Verseifung offenbar durch einen Angriff der benzyli-schen Hydroxygruppe auf den benachbarten Acetatrest eingeleitet.

Die Konstitution der Verbindungen **2** und **13** wird durch die analytischen und spektroskopischen Daten bestätigt. Auskunft über die Stereochemie der Epimeren liefern die ¹H-NMR-Spektren der entsprechenden Diacetate **15** und **14**.

In Tab. 1 sind die Daten des Cryptosporintriacetats **16**¹⁾ den Werten der Syntheseprodukte **14** und **15** gegenüber gestellt. Die große Übereinstimmung der ¹H-NMR-Daten der synthetischen Verbindung **15** mit dem Triacetat des Naturstoffs zeigt, daß es sich um Verbindungen gleicher Stereochemie handelt. Die Kopplungskonstante $J_{2,3} = 2.2$ und 1.7 Hz beweist die *cis*-Anordnung der Substituenten an C-2 und C-3. Da **2** das Produkt der *cis*-Hydroxylierung mit Osmiumtetroxid ist, kann an der *all-cis*-Anordnung der Substituenten kein Zweifel bestehen. Damit wird gleichzeitig der Strukturvorschlag von *Closse* und *Sigg*¹⁾ für Cryptosporin **1** durch die Synthese des 6-Desoxycryptosporins (**2**) bestätigt.

Tab. 1. ¹H-NMR-Daten für **14**, **15** und **16** (CDCl₃, δ in ppm, *J* in Hz)

Verb.	2-H	3-H	4-H	CH ₃	OCOCH ₃
14	4.49 mc	4.99 dd	6.39 d	1.55 d	2.12 s
		$J_{2,3} = 10.7$	$J_{3,4} = 3.5$	$J = 6.2$	
		$J_{3,4} = 3.5$			
15	4.56 mc	5.46 dd	6.34 dd	1.55 d	2.05 s
		$J_{2,3} = 2.2$	$J_{2,4} = 1$	$J = 6.3$	2.09 s
		$J_{3,4} = 5.0$	$J_{3,4} = 5.0$		
16	4.54 mc	5.43 dd	6.3 dd	1.55 d	2.07 s
		$J_{2,3} = 1.7$	$J_{2,4} = 0.8$	$J = 6.5$	2.12 s
		$J_{3,4} = 4.5$	$J_{3,4} = 4.5$		

Durch die Bildung der Ketole wird die Ausbeute an Diolen herabgesetzt. Zur Vermeidung der Ketolbildung bei Hydroxylierungen mit Osmiumtetroxid/Natriumchlorat haben *Van Rheenen*, *Kelly* und *Cha*⁸⁾ kürzlich *N*-Oxide als Oxidationsmittel vorgeschlagen. In der Tat bleibt die Bildung der Ketole **9** und **11** bei der Umsetzung des Naphthopyrans

⁸⁾ *V. Van Rheenen, R. C. Kelly und D. Y. Cha, Tetrahedron Lett. 1976, 1973.*

5 mit Osmiumtetroxid/*N*-Methylmorpholin-*N*-oxid aus. Allerdings gelingt keine Verbesserung der Ausbeute, da sich die Produkte in diesem Reaktionsmedium rasch weiter zersetzen. Auch die Pufferung des Systems mit Eisessig oder die Verwendung von Wasserstoffperoxid verbessern die früheren Ergebnisse nicht.

Es sei an dieser Stelle angemerkt, daß es auch nicht gelang, **5** nach der Methode von Woodward³⁾ mit Iod und Silberacetat zu hydroxylieren.

Reduktion des Ketols **9**

Die Umsetzung des Ketols **9** wie auch des Ketolacetats **10** mit Natriumborhydrid führt nach Acetylierung überraschenderweise zum Triacetat **17** als dem Hauptprodukt (86%). Im ¹H-NMR-Spektrum der Verbindung **17** erscheinen die nichtäquivalenten benzylicischen Protonen jeweils als doppeltes Dublett bei $\delta = 3.22$ und 2.86 . Das Produkt läßt sich nach reduktiver Abspaltung der Acetylgruppen in das Monohydroxychinon **19** umwandeln. Im ¹H-NMR-Spektrum des Acetats **20** erscheinen die Methylenprotonen nunmehr zusammen als Dublett bei $\delta = 2.82$. Die Reduktion der Ketogruppe zur benzylicischen Methylengruppe steht im Einklang mit dem Befund von Conover und Tarbell⁹⁾, die die Hydrogenolyse methoxysubstituierter Benzophenone mit Lithiumaluminiumhydrid beobachtet hatten. Hydrogenolyse erfolgte umso leichter, je besser das benzylicische Carbeniumion durch elektronenliefernde Substituenten stabilisiert war. Beim dreifach donator-substituierten Naphthopyran **5** ist der Aromat offenbar so elektronenreich, daß Hydrogenolyse schon bei 0°C mit Borhydrid erfolgt.

Bei kurzzeitiger Behandlung des Ketols **9** mit Borhydrid bei tiefen Temperaturen (Eis/Kochsalz) kann nach Acetylierung des Reaktionsgemisches noch ein Nebenprodukt in 7 proz. Ausbeute isoliert werden, dem die Konstitution **18** zukommen muß. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigt Signale für vier Acetatgruppen sowie Signale für die Protonen an C-3 und C-4. Die Kopplungskonstanten $J_{2,3} = 5.8$ Hz und $J_{3,4} = 4.4$ Hz lassen sich mit den nach Karplus¹⁰⁾ berechneten Werten für die Konstitution **18** korrelieren.

Bei der Reduktion des Ketolacetats **10** bildet sich ebenfalls das Hydrogenolyseprodukt **17** als Hauptprodukt. Im ¹H-NMR-Spektrum des Rohgemisches findet man neben den Signalen für **18** noch ein Dublett bei $\delta = 6.73$ mit $J = 3.4$ Hz, das einem an C-3 und C-4 *cis*-konfigurierten Diacetat zukommen muß. Es gelingt jedoch nicht, dieses in sehr geringer Menge gebildete Nebenprodukt rein zu isolieren.

Reduktionen mit Diisobutylaluminiumhydrid

Mehr noch als die eingangs erwähnte Umsetzung mit Ethylmagnesiumbromid nach Thomson⁵⁾ hat sich die reduktive Entfernung der Acetatgruppen mit Diisobutylaluminiumhydrid (Dibah) bewährt. So führt die Umsetzung des Tetraacetats **18** mit überschüssigem Dibah in Ethylenglycoldimethylether zu einem Chinon **21** vom Schmp. 137°C, das mit keinem der isolierten Hydroxychinone **2**, **13** oder **19** identisch ist. Auf diese Weise gelingt es, die Konstitution **18** auch chemisch abzusichern. Die Reduktion des Ketols **9** mit diesem weniger nucleophilen Reagenz bei -20°C führt in geringerem Ausmaß zur Hydrogenolyse als beim Borhydrid. Es werden 62% des bereits bekannten Monohydroxy-

⁹⁾ L. H. Conover und D. S. Tarbell, J. Am. Chem. Soc. **72**, 3586 (1950).

¹⁰⁾ M. Karplus, J. Chem. Phys. **30**, 11 (1959).

chinons **19** und 31% des früher durch direkte *cis*-Hydroxylierung erhaltenen 6-Desoxy-2-*epi*-cryptosporins (**13**) isoliert. Damit wird die Verbindung **13** aus dem leicht isolierbaren Ketol **9** gut zugänglich, und gleichzeitig gelingt der chemische Beweis, daß es sich bei dem Ketol **9** und dem Diol **13** um Verbindungen mit gleicher Anordnung der Substituenten an C-2 und C-3 handelt. Es ist ferner von allgemeiner Bedeutung, daß sich bei der Reduktion von Ketolen mit Borhydrid und Dibah offenbar Produkte inverser Stereochemie bilden.

Katalytische Hydrierung

Es überrascht nicht, daß bei der katalytischen Hydrierung des Ketols **9** nach Abspaltung der Acetatgruppen mit Dibah das Monohydroxychinon **19** als Hauptprodukt aufgefunden wird. Neben **19** werden die Dihydroxychinone **13** und **21** chromatographisch identifiziert und in geringer Menge aus dem Reaktionsgemisch isoliert.

Biologische Wirksamkeit¹¹⁾

Die bakteriostatischen Eigenschaften der drei in ausreichender Menge verfügbaren Verbindungen **2**, **13** und **19** wurden jeweils gegen ein gram-positives Bakterium (*Staphylococcus aureus*) und ein gram-negatives (*Echerichia coli*) getestet. Die minimalen Hemmkonzentrationen betragen gegen *Staphylococcus aureus* für das 6-Desoxycryptosporin (**2**) 50 ppm und für die epimere Verbindung **13** 100 ppm. Den gleichen MHK-Wert hatte die Didesoxyverbindung **19**. Gegen *E. coli* sind alle Verbindungen mit MHK-Werten von 500 ppm kaum wirksam. Für Cryptosporin (**1**) beschreiben *Closse* und *Sigg*¹¹⁾ ebenfalls schwach gram-positive Aktivität. Es ist auffallend, daß das synthetische Naturstoffanaloge von allen Verbindungen die beste Wirksamkeit zeigt. Die Voraussetzungen für eine therapeutische Prüfung sind jedoch mit den gefundenen MHK-Werten bei weitem nicht erreicht. Es ist nicht ausgeschlossen, daß dem chinoiden Charakter der getesteten Verbindungen in Analogie zu einigen hydrierten Anthrachinonen wie dem Bostrycin¹²⁾ eine generelle schwach bakteriostatische Wirksamkeit zukommt.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte sind mit dem Apparat von Elektrothermal bestimmt und nicht korrigiert. UV-Spektren in Methanol in nm (lg ϵ): Zeiss Spektralphotometer DMR 10. IR-Spektren als KBr-Preßlinge: Perkin-Elmer 297. ¹H-NMR-Spektren: 100 MHz Varian HA 100, 90 MHz Perkin-Elmer R 32, 60 MHz Varian T 60. Angaben in δ (ppm) mit TMS = 0 als innerem Standard. MS: Varian MAT CH 7 bei 70 eV, *m/e* (% relative Intensität). Bei der Dünnschichtchromatographie diente das System Methylenchlorid/5% Methanol oder Ether/30–40% Petrolether als Laufmittel. Die Analysen verdanken wir Frau. *E. Brennecke* und Frau *I. Stövhase* vom Analytischen Labor des Instituts für Organische Chemie und Biochemie, Universität Hamburg.

2-(2-Butenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthalindion (**4**)⁶⁾: ¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ = 1.64 (d, *J* = 4 Hz; 3H, CH₃), 3.30 (breites d; 2H, CH₂), 5.47–5.70 (m; 2H, Olefin-H), 7.40 (s; 1H, OH, austauschbar), 7.7 und 8.1 (mc; 4H, Aromaten-H).

4-(2-Butenylloxy)-1,2-naphthalindion (**7**): ¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ = 1.73 (d, *J* = 4 Hz; 3H, CH₃), 4.55 (mc; 2H, CH₂), 5.5–6.2 (m; 2H, Olefin-H), 5.95 (s; 1H, 3-H), 7.4–8.2 (m; 4H, Aromaten-H).

¹¹⁾ Für die Durchführung der biologischen Tests danken wir Herrn Dr. *W. Hahn* von der Bacillol-fabrik Dr. Bode und Co., Hamburg.

¹²⁾ *T. Noda, T. Take, T. Watanabe* und *J. Abe*, *Tetrahedron* **26**, 1339 (1970).

2-(2-Butenyloxy)-1,4-naphthalindion (**8**): $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.77$ (d, $J = 5$ Hz; 3 H, CH_3), 4.53 (d; 2 H, CH_2), 5.5–6.1 (m; 2 H, Olefin-H), 6.16 (s; 1 H, 3-H), 7.0 und 8.1 (mc; 4 H, Aromaten-H).

5,10-Diacetoxy-2-methyl-2H-naphtho[2,3-b]pyran (**5**): 8.50 g (37 mmol) **4** werden 15 min lang mit 30 ml Acetanhydrid und 10 g wasserfreiem Natriumacetat unter Rückfluß gekocht. Die erkaltete Mischung wird über Nacht mit 200 ml Wasser gerührt. Es scheidet sich eine dunkelgrüne Kristallmasse ab, die scharf abgesaugt und in Methylenchlorid aufgenommen wird. Die Lösung wird mit wenig Aktivkohle und Natriumsulfat gerührt, filtriert und eingeeengt. Aus 50 ml Ethanol kristallisieren zunächst 5.70 g des linearen Naphthopyrans **5**. Durch Chromatographie der Mutterlauge über Kieselgel (Methylenchlorid) werden weitere 0.30 g **5** gewonnen. Ausb. 6.00 g (56%), Schmp. 137°C.

IR (KBr): 1755 und 1745 ($\text{C}=\text{O}$), 1598 und 1495 cm^{-1} (Aromat). – UV (Methanol): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 253 (4.8), 267 sh, 283 (4.4), 294 (4.4), 305 nm (4.4). – $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.43$ (d, $J = 7.2$ Hz; 3 H, CH_3), 2.41 (s; 6 H, $2 \times \text{OCOCH}_3$), 5.04 (mc; 1 H, 2-H), 5.90 (dd, $J_{2,3} = 2.6$, $J_{3,4} = 10.0$ Hz; 1 H, 3-H), 6.50 (dd, $J_{2,4} = 1.5$, $J_{3,4} = 10.0$ Hz; 1 H, 4-H), 7.37 und 7.67 (mc; je 2 H, Aromaten-H). – MS (50°C, 70 eV): $m/e = 312$ (16%, M^+), 270 (20%), 229 (13%), 228 (100%), 213 (64%).

5,6-Diacetoxy-2-methyl-2H-naphtho[1,2-b]pyran (**6**): Aus den weniger polaren Fraktionen der Chromatographie erhält man 3.20 g (30%) des angulären Cyclisierungsprodukts **6** vom Schmp. 125°C.

IR (KBr): 1770 und 1760 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$). – UV (Methanol): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 219 (4.9), 262 (4.8), 271 nm (4.9). – $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.52$ (d, $J = 6$ Hz; 3 H, CH_3), 2.32 und 2.38 (s; 6 H, $2 \times \text{OCOCH}_3$), 5.17 (mc; 1 H, 2-H), 5.69 (dd, $J_{2,3} = 3.1$ Hz; 1 H, 3-H), 4.40 (dd, $J_{2,4} = 1.7$, $J_{3,4} = 10.0$ Hz; 1 H, 4-H), 7.43 (mc; 2 H, Aromaten-H), 7.65 (mc; 1 H, Aromaten-H), 8.15 (mc; 1 H, Aromaten-H). – MS (50°C, 70 eV): $m/e = 312$ (17%, M^+), 270 (40%), 229 (16%), 228 (100%), 227 (16%), 213 (98%).

$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_5$ (312.3) Ber. C 69.22 H 5.16

6: Gef. C 68.92 H 5.20

5: Gef. C 69.12 H 5.18

2-Methyl-2H-naphtho[2,3-b]pyran-5,10-dion (**3**): Zu einer Lösung von 8 mmol Ethylmagnesiumbromid (aus 8.7 g Ethylbromid) in 100 ml Ether werden langsam 4.33 g Diacetoxy-naphthopyran **5** in 50 ml Tetrahydrofuran gegeben und über Nacht gerührt. Anschließend wird mit eiskalter 0.5 N HCl hydrolysiert und mit Ether ausgeschüttelt. Der Ether wird abgezogen und das Chinon **3** aus wenig Ethanol kristallisiert. Ausb. 2.62 g (81%), Schmp. 84–86°C.

IR (KBr): 1670 und 1640 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$). – UV (Methanol): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 258 (4.2), 275 nm (4.2). – $^1\text{H-NMR}$ (60 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.50$ (d, $J = 6$ Hz; 3 H, CH_3), 5.60 (dd, $J_{2,3} = 3.0$, $J_{3,4} = 10.0$ Hz; 1 H, 3-H), 6.46 (dd, $J_{2,4} = 1.5$, $J_{3,4} = 10.0$ Hz; 1 H, 4-H), 7.4 und 7.9 (mc; je 2 H, Aromaten-H). – MS (80°C, 70 eV): $m/e = 227$ (21%, $\text{M}^+ + 1$), 226 (92%, M^+), 211 (21%), 198 (50%), 197 (40%), 183 (87%), 141 (38%).

$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_3$ (226.2) Ber. C 74.33 H 4.46 Gef. C 74.57 H 4.67

cis-Hydroxylierung des Naphthopyrans **5**: 1.30 g (4.16 mmol) Naphthopyran **5** in 20 ml Tetrahydrofuran werden mit 1 ml 1 proz. wäßriger Osmiumtetroxid-Lösung und 1 g festem Natriumchlorat zwei Tage lang gerührt. Durch Zugabe von 10 ml Wasser werden 1.16 g (81%) der Ketole **9** und **11** ausgefällt. Das reine *trans*-Ketol **9** erhält man durch Umkristallisieren aus Chloroform/Petrolether (0.93 g, 65%). Das *cis*-Ketol **11** wird durch Dickschichtchromatographie der Mutterlauge an Kieselgel (Methylenchlorid/4% Methanol) und Kristallisation aus Petrolether gewonnen (0.10 g, 7%).

5,10-Diacetoxy-3,4-dihydro-3t-hydroxy-2r-methyl-2H-naphtho[2,3-b]pyran-4-on (9): Schmp. 206°C. — IR (KBr): 3475 (OH), 1786, 1775 und 1693 (C=O), 1607 und 1500 cm⁻¹ (Aromat). — UV (Methanol): λ_{max} (lg ε) = 221 (4.7), 252 (4.8), 286 (4.1), 296 (4.2), 306 nm (4.1). — ¹H-NMR (60 MHz, [D₆]DMSO): δ = 1.45 (d, J = 5.0 Hz; 3 H, CH₃), 2.40 und 2.44 (jes; je 3 H, 2 × OCOCH₃), 3.9–4.4 (m; 2 H, 2-H, 3-H), 5.80 (d, J = 5 Hz; 1 H, OH, austauschbar), 7.1–8.0 (m; 4 H, Aromaten-H). — MS (180°C, 70 eV): m/e = 344 (20%, M⁺), 302 (64%), 261 (46%), 260 (100%), 216 (84%), 203 (25%), 202 (56%), 174 (25%), 173 (23%), 146 (32%), 105 (36%).

Acetat 10: Schmp. 215–216°C. — IR (KBr): 1785, 1770 und 1700 cm⁻¹ (C=O). — UV (Methanol): λ_{max} (lg ε) = 221 (4.7), 244 (4.7), 252 (4.7), 284 sh, 294 (4.1), 305 nm (4.0). — ¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ = 1.52 (d, J = 6.2 Hz; 3 H, CH₃), 2.23, 2.45 und 2.51 (s; je 3 H, 3 × OCOCH₃), 4.60 (mc; 1 H, 2-H), 5.44 (d, J_{2,3} = 11 Hz, 1 H, 3-H), 7.3–8.1 (m; 4 H, Aromaten-H).

C₂₀H₁₈O₈ (386.4) Ber. C 62.17 H 4.70 Gef. C 62.06 H 4.74

5,10-Diacetoxy-3,4-dihydro-3c-hydroxy-2r-methyl-2H-naphtho[2,3-b]pyran-4-on (11): Schmp. 179°C (aus Petrolether). — IR (KBr): 3440 (OH), 1772 und 1703 (C=O), 1606 und 1502 cm⁻¹ (Aromat).

C₁₈H₁₆O₇ (344.3) Ber. C 62.79 H 4.68

11: Gef. C 62.32 H 4.62

9: Gef. C 62.67 H 4.65

Acetat 12: Schmp. 180°C. — UV (Methanol): λ_{max} (lg ε) = 221 (4.7), 243 (4.7), 251 (4.7), 283 sh, 294 (4.1), 305 nm (4.0). — ¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ = 1.40 (d, J = 6.8 Hz; 3 H, CH₃), 2.20, 2.45 und 2.51 (s; je 3 H, 3 × OCOCH₃), 4.85 (mc; 1 H, 2-H), 5.79 (d, J_{2,3} = 4.4 Hz; 1 H, 3-H), 7.3–8.1 (m; 4 H, Aromaten-H).

Die wäßrige Mutterlauge nach Abtrennung der isomeren Ketole wird mehrfach mit Methylchlorid extrahiert und das nach Trocknen und Einengen verbleibende Harz (150 mg) durch Dick-schichtchromatographie an Kieselgel (2 mm Plattenstärke, Methylchlorid/4% Methanol, dreifache Entwicklung) aufgetrennt. Aus der weniger polaren Zone werden 40 mg (3.7%) des 6-Desoxy-2-epi-cryptosporins (13) und aus der polarsten Fraktion 23 mg (2.1%) 6-Desoxycryptosporin (2) isoliert.

6-Desoxy-2-epi-cryptosporin (13): Schmp. 185°C (aus Ether). — IR (KBr): 3380 (OH), 1687, 1638 (C=O), 1620 cm⁻¹ (Chinon-C=C). — UV (Methanol): λ_{max} = 238, 244, 275, 328 nm (qualitativ). — MS (100°C, 70 eV): m/e = 260 (4%, M⁺), 247 (11%), 204 (50%), 203 (100%), 175 (48%), 173 (24%), 157 (38%), 146 (32%), 129 (24%), 105 (48%).

6-Desoxycryptosporin (2): Schmp. 142°C (aus Ether). — IR (KBr): 3500 (OH), 1675 und 1645 (C=O), 1620 cm⁻¹ (Chinon-C=C). — UV (Methanol): λ_{max} = 241, 248, 274, 329 nm (qualitativ). — MS (100°C, 70 eV): m/e 260 (1%, M⁺), 204 (15%), 203 (100%), 175 (48%), 173 (24%), 157 (38%), 146 (32%), 129 (24%), 105 (48%).

C₁₄H₁₂O₅ (260.3) Ber. C 64.61 H 4.65

2: Gef. C 64.31 H 4.73

13: Gef. C 64.51 H 4.58

Reduktive Verseifung mit Diisobutylaluminiumhydrid (Dibah): 1 g (3.2 mmol) Naphthopyran 5 werden, wie oben beschrieben, mit Osmiumtetroxid/Natriumchlorat bis zum Verschwinden des Ausgangsmaterials (DC-Kontrolle) umgesetzt und die isomeren Ketole durch Ausfällen mit Wasser abgetrennt (0.72 g, 65%). Anschließend wird die Mutterlauge erschöpfend mit Methylchlorid extrahiert. Der nach Trocknen und Einengen verbleibende Rückstand (370 mg) wird in 10 ml trockenem Ethylenglycoldimethylether gelöst und bei –20°C mit 5 ml einer 20proz. Lösung von Dibah (Hexan) versetzt. Nach 20 min wird auf eiskalte verdünnte Salzsäure gegossen und mehr-

fach mit Methylenchlorid extrahiert. Die chromatographische Trennung des Stoffgemisches (s. o.) liefert 115 mg (14%) **13** und 45 mg (5%) **2**.

In einem ähnlichen Ansatz wird 1 g (3.2 mmol) Naphthopyran **5** hydroxyliert, und nach zwei Tagen werden 0.59 g (53%) des Gemisches der Ketole **9** und **11** abgetrennt. Die wäßrige Mutterlauge wird für 4 Tage in den Kühlschrank gestellt und dann, wie oben beschrieben, extrahiert und chromatographiert. Man erhält 102 mg (12%) **13** und 74 mg (9%) **2**.

Die Acetate werden entweder nach Umsetzung der Diole **13** und **2** mit Pyridin/Acetanhydrid oder durch Chromatographie der acetylierten Mutterlaugen gewonnen.

6-Desoxy-2-epi-cryptosporindiacetat (14): Schmp. 198–200°C (aus Ether). – IR (KBr): 1750, 1694 und 1658 (C=O), 1620 (Chinon-C=C), 1598 cm⁻¹ (Aromat). – UV (Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 218 sh, 243 (4.6), 250 (4.6), 270 (4.4), 280 sh, 327 nm (3.5). – ¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ = 1.55 (d, J = 6.2 Hz; 3H, CH₃), 2.12 (s; 6H, 2 × OCOCH₃), 4.53 (sext, $J_{2,3}$ 10.7, J_{2,CH_3} = 6.2 Hz; 1H, 2-H), 4.99 (dd, $J_{2,3}$ = 10.7, $J_{3,4}$ = 3.5 Hz; 1H, 3-H), 6.39 (d, $J_{3,4}$ = 3.5 Hz; 1H, 4-H), 7.77 und 8.10 (mc; je 2H, Aromaten-H). – MS (90°C, 70 eV): m/e = 302 (33%), 243 (25%), 242 (90%), 241 (45%), 227 (42%), 226 (18%), 225 (26%), 211 (22%), 203 (45%), 199 (25%), 173 (20%), 105 (20%).

6-Desoxycryptosporindiacetat (15): Schmp. 203–205°C (aus Ether). – IR (KBr): 1745, 1687 und 1655 (C=O), 1616 (Chinon-C=C), 1596 cm⁻¹ (Aromat). – ¹H-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 1.55 (d, J = 6.3 Hz; 3H, CH₃), 2.05 und 2.09 (s; je 3H, CH₃), 4.56 (mc; 1H, 2-H), 5.46 (dd, $J_{2,3}$ = 2.2, $J_{3,4}$ = 5.0 Hz; 1H, 3-H), 6.34 (dd, $J_{2,4}$ = 1.0; $J_{3,4}$ = 5.0 Hz; 1H, 4-H), 7.74 und 8.11 (mc; je 2H, Aromaten-H). – MS (100°C, 70 eV): m/e = 302 (29%), 243 (15%), 242 (84%), 241 (31%), 227 (39%), 226 (12%), 211 (17%), 203 (36%), 199 (17%), 173 (23%), 105 (23%).

C₁₈H₁₆O₇ (344.3) Ber. C 62.79 H 4.68

15: Gef. C 62.71 H 4.77

14: Gef. C 62.85 H 4.80

Borhydrid-Reduktion des Ketols 9: 172 mg (0.5 mmol) Ketol **9** in 10 ml Tetrahydrofuran werden portionsweise unter Eiskühlung mit 10 mg Natriumborhydrid versetzt. Nach 10 min wird auf eiskalte verd. Salzsäure gegossen und 5 ml mit Methylenchlorid extrahiert. Die getrocknete Lösung wird i. Vak. eingengt und der verbleibende Rückstand mit 1 ml Acetanhydrid/Pyridin (1:1) versetzt. Nach 3 h wird mit kalter verd. Salzsäure hydrolysiert und erneut mit Methylenchlorid extrahiert. Das Lösungsmittel wird i. Vak. abgezogen und der Rückstand aus wenig Ether kristallisiert. Neben der Hauptmenge nadelförmiger Kristalle werden kugelige Kristallaggregate beobachtet, die mit der Pinzette ausgelesen werden. Erneute Kristallisation der vorgereinigten Produkte ergibt 120 mg (65%) **17** und 15 mg (7%) Tetraacetat **18**.

3t,5,10-Triacetoxyl-3,4-dihydro-2r-methyl-2H-naphtho[2,3-b]pyran (17): Schmp. 150°C. – IR (KBr): 1753 und 1740 cm⁻¹ (C=O). – UV (Methanol): λ_{\max} 231, 270, 281, 284, 318, 333 nm (qualitativ). – ¹H-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 1.37 (d, J = 6.2 Hz; 3H, CH₃), 2.04 (s; 3H, aliph. OCOCH₃), 2.43 (s; 6H, 2 × OCOCH₃), 2.86 (dd, $J_{3,4'}$ = 5.5, $J_{4',4''}$ = 17.2 Hz; 1H, 4''-H), 3.22 (dd, $J_{3,4'}$ = 5.5, $J_{4',4''}$ = 17.2 Hz; 1H, 4'-H), 4.42 (quint, J_{2,CH_3} = 6.2, $J_{2,3}$ = 5.5 Hz; 1H, 2-H), 5.09 (q, $J_{2,3}$ = $J_{3,4'}$ = $J_{3,4''}$ = 5.5 Hz; 1H, 3-H), 7.1–7.9 (m; 4H, Aromaten-H). – MS (150°C, 70 eV): m/e = 372 (8%, M⁺), 330 (25%), 228 (100%), 227 (50%), 212 (41%).

C₂₀H₂₀O₇ (372.4) Ber. C 64.51 H 5.41 Gef. C 64.61 H 5.36

3t,4c,5,10-Tetraacetoxyl-3,4-dihydro-2r-methyl-2H-naphtho[2,3-b]pyran (18): Schmp. 205 bis 206°C. – IR (KBr): 1770 und 1740 (C=O), 1605 und 1502 cm⁻¹ (Aromat). – UV (Methanol): λ_{\max} = 233, 272, 289, 296, 336 nm (qualitativ). – ¹H-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (d, J = 6.6 Hz; 3H, CH₃), 2.03, 2.05 (s; je 3H, 2 × OCOCH₃), 2.40 (s; 6H, 2 × OCOCH₃), 4.4 (mc; 1H, 2-H), 5.13 (dd, $J_{2,3}$ = 5.8, $J_{3,4}$ = 4.4 Hz; 1H, 3-H), 6.26 (d, $J_{3,4}$ = 4.4 Hz; 1H, 4-H), 7.1–7.9 (m; 4H, Aromaten-H).

3,4-Dihydro-3t-hydroxy-2r-methyl-2H-naphtho[2,3-b]pyran (19): 93 mg (0.25 mmol) Triacetat **17** in 10 ml trockenem Ethylenglycoldimethylether werden bei -20°C mit 2 ml einer 20proz. Lösung von Dibah (Hexan) versetzt. Nach 30 min wird auf eiskalte verd. Salzsäure gegossen und mehrfach mit Methylenchlorid extrahiert. Die getrocknete Lösung wird i. Vak. eingengt, und das Chinon **19** kristallisiert in gelben Nadeln vom Schmp. $140-141^{\circ}\text{C}$. Ausb. 51 mg (85%).

IR (KBr): 3460 (OH), 1670 und 1635 (C=O), 1620 cm^{-1} (Chinon-C=C). — UV (Methanol): $\lambda_{\text{max}} = 242, 248, 275, 329\text{ nm}$ (qualitativ).

$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_4$ (244.3) Ber. C 68.85 H 4.95 Gef. C 68.88 H 4.93

Acetat 20: Schmp. $181-182^{\circ}\text{C}$ (aus Ether). — IR (KBr): 1742 (Acetat-C=O), 1672 und 1650 (Chinon-C=O), 1629 cm^{-1} (Chinon-C=C). — $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.42$ (d, $J = 6.7\text{ Hz}$; 3 H, CH_3), 2.06 (s; 3 H, OCOCH_3), 2.82 (d, $J = 4.4\text{ Hz}$; 2 H, 4'-H, 4''-H), 4.7 (mc; 1 H, 2-H), 5.11 (q, $J_{2,3} = J_{3,4'} = J_{3,4''} = 4.4\text{ Hz}$; 1 H, 3-H), 7.70 und 8.01 (mc; je 2 H, Aromaten-H).

Dibah-Reduktion des Ketols 9: 344 mg (1 mmol) Ketol **9** in 15 ml trockenem Ethylenglycoldimethylether werden bei -20°C unter Stickstoff mit 5 ml einer 20proz. Lösung von Dibah (Hexan) versetzt. Nach 30 min wird auf eiskalte Salzsäure gegossen und erschöpfend mit Methylenchlorid extrahiert. Durch schichtchromatographische Trennung an Kieselgel (Methylenchlorid/5% Methanol) werden 80 mg (31%) **13** und 150 mg (62%) **19** isoliert.

Katalytische Hydrierung des Ketols 9: 100 mg (0.3 mmol) Ketol **9** in 10 ml Tetrahydrofuran werden mit 5 ml Ethanol versetzt und bis zum Ende der Wasserstoffaufnahme über Palladium/Kohle (10%) hydriert. Die Lösung wird filtriert, i. Vak. eingengt und, wie oben beschrieben, mit 5 ml Dibah-Lösung (20proz. in Hexan) reduziert. Nach üblicher Aufarbeitung und schichtchromatographischer Trennung werden 35 mg (49%) **19**, 10 mg (13%) **13** und 2 mg (2%) **21** vom Schmp. 137°C isoliert. **21** ist chromatographisch identisch mit dem Dibah-Reduktionsprodukt des Tetraacetats **18**.

[200/77]