

tautomerism the enamine form predominates. This also applies to vinylogous amides capable of intramolecular hydrogen bonding, such as 2-benzylaminomethylene- and 2-phenylaminomethylene-cyclohexanone, **10** and **11**, respectively. Exceptions are only observed in cases where the enolimine form is stabilized by special factors, such as aromaticity.

Institut für Organische Chemie
Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] C. A. GROB & B. FISCHER, *Helv.* **38**, 1794 (1955).
- [2] G. O. DUDEK & R. H. HOLM, *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 2691 (1962); **83**, 2099 (1961).
- [3] J. DABROWSKI & J. TERPINSKI, *Tetrahedron Letters* **1965**, 1363.
- [4] G. O. DUDEK & E. P. DUDEK, *J. Amer. chem. Soc.* **86**, 4283 (1964).
- [5] H. SPECKER & H. GAWROSCHE, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **75**, 1338 (1942); A. ALBERT & J. N. PHILLIS, *J. chem. Soc.* **1956**, 1294.
- [6] C. A. GROB & B. HOFER, *Helv.* **36**, 847 (1953).
- [7] C. A. GROB & H. J. WILKENS, *Helv.* **48**, 808 (1965).
- [8] K. NAKANISHI, *Infrared Absorption Spectroscopy*, Holden-Day, Inc., San Francisco 1962.
- [9] C. A. GROB & H. R. KIEFER, *Helv.* **48**, 799 (1965).
- [10] D. L. OSTERCAMP, *J. org. Chemistry* **30**, 1169 (1965).
- [11] G. H. ALT & A. J. SPEZIALE, *J. org. Chemistry* **30**, 1407 (1965); H. E. A. KRAMER & R. GOMPPER, *Tetrahedron Letters* **1963**, 969; H. E. A. KRAMER, *Liebigs Ann. Chem.* **696**, 15 (1966).
- [12] N. H. CROMWELL, *Chem. Reviews* **38**, 83 (1946); N. H. CROMWELL, F. A. MILLER, A. R. JOHNSON, R. L. FRANK & D. J. WALLACE, *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 3337 (1949).
- [13] J. DABROWSKI & K. KAMIENSKA-TRELA, *Spectrochim. Acta* **22**, 211 (1966).
- [14] G. O. DUDEK & E. P. DUDEK, *Chem. Commun.* **1965**, 464; J. W. LEDBETTER, *J. phys. Chemistry* **70**, 2245 (1966).
- [15] E. LIPPERT, J. MUSZIK & W. VOSS, *J. Chim. phys.* **61**, 228 (1964).

76. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

55. Mitteilung [1]

Über die Konstitution des Borrelidins

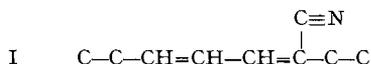
von W. Keller-Schierlein

(1. II. 67)

1. Einleitung. – Das Antibioticum Borrelidin wurde im Jahre 1949 von BERGER, JAMPOLSKY & GOLDBERG [2] erstmals beschrieben als eine farblose, lipophile Säure, $C_{28}H_{48}O_6N$, mit einer spezifischen Wirkung gegen *Borrelia*-Arten und *Sarcina lutea*. Die Carboxylgruppe wurde durch die Bildung eines kristallinen Methylesters und eines *p*-Nitrobenzylesters nachgewiesen. Durch die Bildung eines Diacetylderivates des Methylesters wurde die Anwesenheit von 2 Hydroxylgruppen erkannt.

Im Verlaufe von Untersuchungen über Antiviralantibiotica sind LUMB und Mitarbeiter [3] erneut auf das Borrelidin gestossen, das neben einer guten Aktivität gegen *Corynebacterium xerosis* eine ausgeprägte Wirkung gegen Virusarten *in vitro*, nicht aber *in vivo* zeigte. Das von LUMB isolierte Präparat wurde von ANDERTON &

RICKARDS [4] spektroskopisch untersucht. Durch das Massenspektrum des Methyl-esters wurde dessen Bruttoformel, $C_{29}H_{45}O_6N$, bestätigt, und zu den obigen funktionellen Gruppen konnte eine Ester- oder Lactongruppierung auf Grund des IR.-Absorptionsspektrums hinzugefügt werden. Durch Vergleich der UV.- und IR.-Absorptionsspektren von Borrelidin-methylester, Dihydroborrelidin-methylester und Tetrahydroborrelidin-methylester mit Modellsubstanzen und unter Berücksichtigung des NMR.-Spektrums, das die Abwesenheit von $C=C-CH_3$ -Gruppen zeigte, konnte ferner für den Chromophor, der ein intensives Absorptionsmaximum bei 258 nm besitzt, und dessen nächste Umgebung die Gruppierung I eines Diennitrils abgeleitet werden.



Vor kurzem haben ZÄHNER und Mitarbeiter [5] beobachtet, dass die Kulturen eines Stammes von *Streptomyces parvulus*, ETH 32027 (= Stamm Tü 113), auf synthetischen Nährmedien eine starke Wirkung gegen Gram-positive Bakterien zeigen, während die Wirkung auf komplexen peptonhaltigen Nährböden gegen die gleichen Testorganismen gering ist. Von besonderer Bedeutung ist der Befund, dass das für diese Wirkung verantwortliche Antibioticum ein spezifischer Antagonist des L-Threonins ist [5].

Das von ZÄHNER nachgewiesene Antibioticum wurde in unserem Laboratorium eingehender bearbeitet. Wegen der schon von LUMB [3] für das Borrelidin beschriebenen starken hautreizenden Wirkung haben wir die Hauptmenge in Form roher Säuren in den weniger toxischen Methylester übergeführt, der sich auch leichter reinigen liess als die Säure. Die isolierten Kristalle, Smp. 156–158°, zeigten die charakteristischen Eigenschaften und analytischen Daten des Borrelidin-methylesters [2] [4], und ein direkter Vergleich durch Dünnschichtchromatographie mit einem von Dr. LUMB erhaltenen Präparat bewies die Identität¹⁾.

Die weiteren Untersuchungen führten zur Ableitung der Konstitutionsformel II für das Borrelidin, worüber bereits in einer vorläufigen Mitteilung berichtet worden ist [6]. In dieser Abhandlung sollen anhand der Formel II diejenigen Reaktionen erläutert werden, die für die Konstitutionsaufklärung von Bedeutung waren.

2. Funktionelle Gruppen. – Die analytischen und spektroskopischen Untersuchungen unseres Präparates und seines Diacetylderivates (IV) bestätigten die von BERGER und Mitarbeiter [2] bzw. ANDERTON & RICKARDS [4] abgeleitete Bruttozusammensetzung und die von ihnen gefundenen Gruppen. Das NMR.-Spektrum (100 MHz) in $CDCl_3$ (Fig. 1) zeigt u. a. im Gebiet von $\delta = 0,7$ bis 1,2 ppm eine Gruppe von Signalen, deren Integral ca. 18 Wasserstoffatomen entspricht. Trotzdem besitzt Borrelidin-methylester (III) nicht 6, sondern nur 4 C-Methylgruppen. Der Tetrahydroborrelidin-methylester (VII), der aus Borrelidin-methylester durch Hydrierung mittels eines Palladium-Katalysators leicht zugänglich ist, sowie verschiedene andere Umwandlungsprodukte (s. unten) besitzen nämlich in diesem Gebiet nur noch Signale von ca. 12 Protonen, und auch aus dem weiteren Abbau geht klar hervor, dass nur

¹⁾ Herrn Dr. M. LUMB, BOOTS PURE DRUG CO., Nottingham, danken wir bestens für eine Vergleichsprobe.

4 C-Methylgruppen vorhanden sein können. Es werden offenbar im Borrelidin-methylester (III) die Signale mehrerer Methylenprotonen durch ihre besondere Lage zum Diensystem in die Region der Methylsignale verschoben.

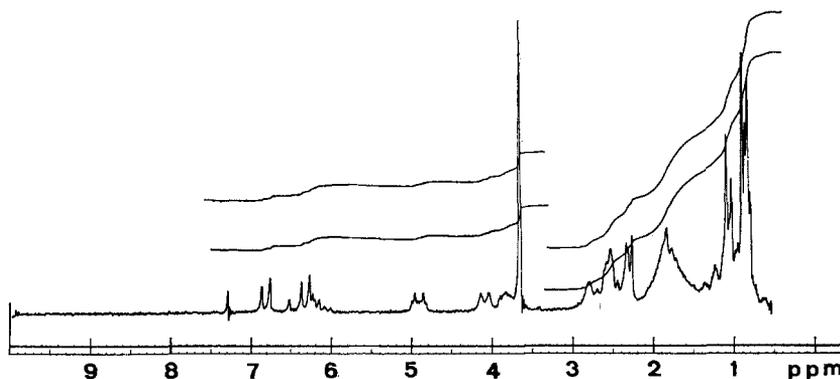


Fig. 1. NMR.-Spektrum von Borrelidin-methylester bei 100 MHz in CDCl_3

Weiter erkennt man im NMR.-Spektrum einen breiten Signalhaufen mit Schwerpunkt bei δ ca. 1,8 ppm, der ca. 10 Protonen entspricht und 5 CH_2 -Gruppen zugeordnet werden kann. Eine Signalgruppe, die zwei Protonen entspricht und die Multiplizität von zwei fast zusammenfallenden Dubletten besitzt, ist gemäss ihrer chemischen Verschiebung, $\delta = 2,3$ ppm, einer CH_2 -Gruppe in α -Stellung zu einem Carbonyl zuzuordnen, die andererseits von einer asymmetrisch substituierten CH-Gruppe flankiert ist. Eine eingehendere Diskussion dieser Signale folgt weiter unten anhand einfacherer Abbauprodukte, die diese Gruppierung noch unverändert enthalten. Die Signalgruppe von $\delta =$ ca. 2,3 bis 3 ppm entspricht ca. 5 Protonen und enthält u. a. die Signale von Hydroxyl- und Methinprotonen. Das Singulett bei $\delta = 3,65$ ppm (3 H) kommt der Methylestergruppe zu, die beiden Signale bei $\delta = 3,8$ und 4,1 ppm (je 1 H) werden Wasserstoffatomen neben zwei sekundären Hydroxylgruppen zugeschrieben, während das Signal bei $\delta = 4,9$ ppm seiner chemischen Verschiebung nach einem Wasserstoffatom neben einer Acyloxygruppe (Lacton) zuzuordnen ist, die demnach ebenfalls sekundär gebunden ist.

Das Gebiet von $\delta = 6,0$ bis 7,0 ppm zeigt die Signale von 3 Protonen an Doppelbindungen, wovon das eine ($\delta = 6,8$ ppm) ein Dublett ist. Die beiden andern zeigen eine komplexe Aufspaltung.

Im IR.-Absorptionsspektrum von Borrelidin-methylester (Fig. 2) ist vor allem die Bande bei 2205 cm^{-1} wichtig, die eine mit einem ungesättigten System konjugierte Nitrilgruppe anzeigt. Bei 1720 cm^{-1} erkennt man eine breite Bande, die den Carbonylgruppen der Methylester- und der Lactongruppierung zuzuordnen ist. Eine eingehendere Diskussion des IR.-Absorptionsspektrums geben ANDERTON & RICKARDS [4].

Den schon von ANDERTON & RICKARDS [4] vermuteten Lactonring im Borrelidin konnten wir auf folgende Art nachweisen: Bei der milden alkalischen Hydrolyse des Methylesters III bildet sich eine Säure, die in rohem Zustand mit Diazomethan verestert wurde. Der chromatographisch gereinigte Borrelidinsäure-dimethylester (V)

erwies sich im Dünnschichtchromatogramm als einheitlich, konnte aber nicht zur Kristallisation gebracht werden. Das NMR.-Spektrum weist 2 Singulette zu 3 Protonen bei $\delta = 3,68$ und $3,70$ ppm auf; es handelt sich demnach um einen Dicarbonsäure-dimethylester. Der gleiche Ester bildet sich auch, wenn Borrelidin-methylester (III) mit absol. methanolischer Salzsäure erhitzt wird. Der neue Ester besitzt 3 Hydroxylgruppen, was aus der leichten Bildung eines Triacetylderivates (VI) mit

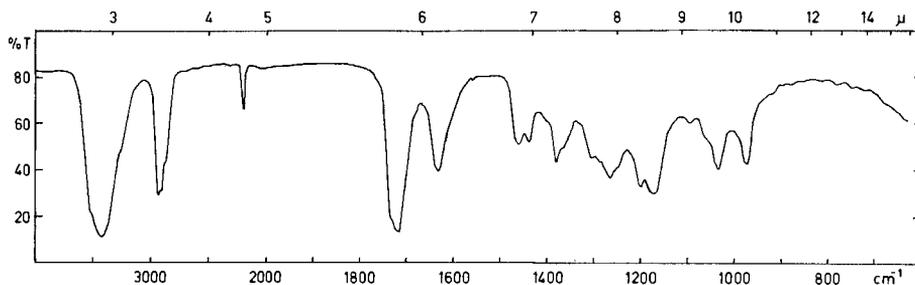
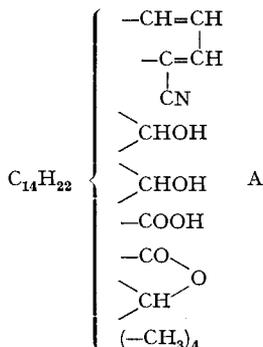


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektrum von Borrelidin-methylester (III) in KBr

Singulett bei $\delta = 2,00$, $2,03$ und $2,10$ ppm im NMR.-Spektrum hervorgeht. Der Dimethylester V und sein Acetylierungsprodukt besitzen gemäss UV.- und IR.-Absorptionsspektren noch den ursprünglichen Diennitril-Chromophor. In den NMR.-Spektren der beiden Verbindungen V und VI sind die Signale aller Wasserstoffatome am Gerüst des Borrelidins wieder erkennbar. Dies zeigt an, dass mit der Öffnung des Lactonrings keine weiteren Reaktionen verknüpft sind. Auf Grund dieser Befunde und der schon von ANDERTON & RICKARDS [4] aufgefundenen Gruppierungen ist die Partialformel A des Borrelidins bewiesen.

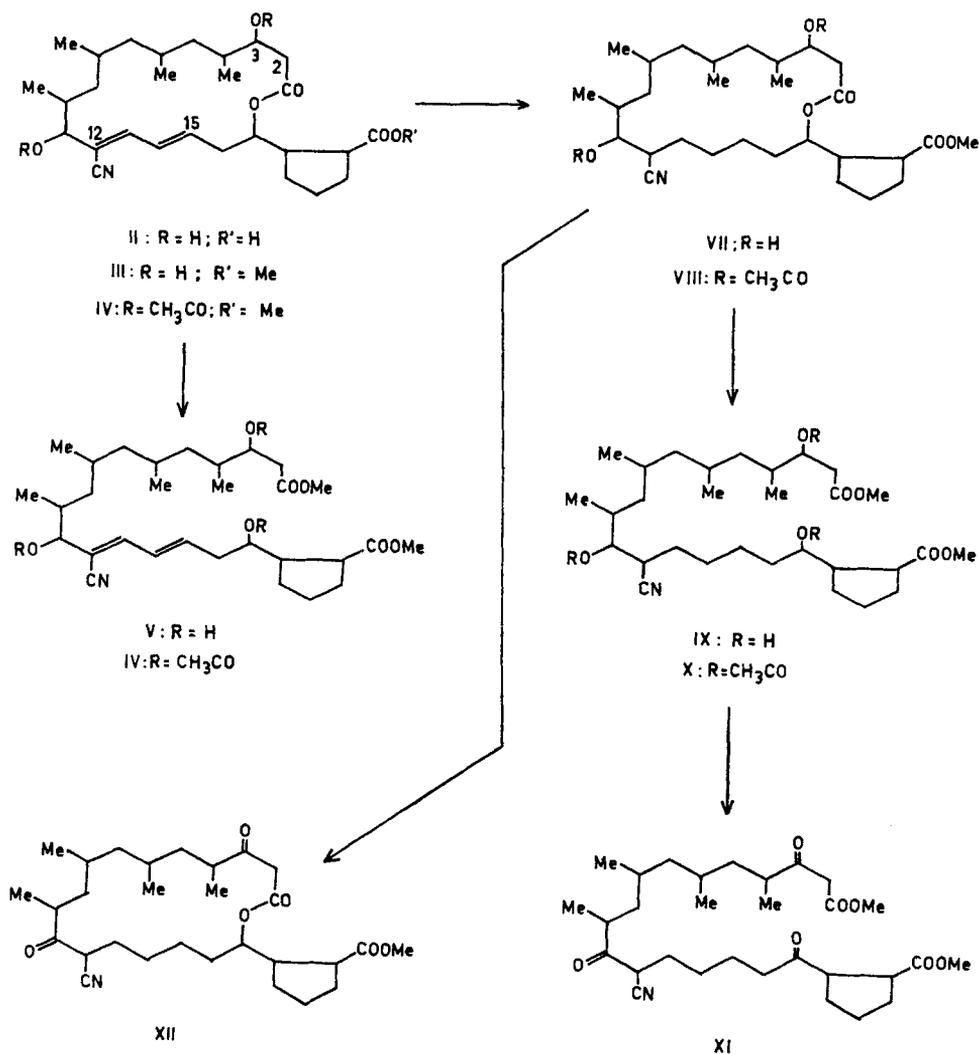


Da im Borrelidin-methylester neben der Diennitril-Gruppe keine weiteren Doppelbindungen nachweisbar sind, muss im Rest $\text{C}_{14}\text{H}_{22}$ noch ein Ring enthalten sein. Einige zusätzliche Beziehungen zwischen den in Formel A angegebenen Gruppen folgen aus einigen einfachen Reaktionen des obenerwähnten Tetrahydroborrelidin-methylesters (VII). Mit Chrom (VI)-oxid in schwefelsaurem Aceton lassen sich die beiden Hydroxylgruppen zu Ketogruppen oxydieren. Das kristalline Diketon XII ist zum Borrelidin-methylester isomer. Im NMR.-Spektrum ist kein Signal einer Methylketongruppierung zu erkennen. Die beiden Hydroxylgruppen in Formel A

können demnach nicht in Methylcarbinol-Gruppierungen vorliegen. Das Diketon XII gibt in methanolischer Lösung mit Eisen (III)-chlorid eine grauviolette Färbung und besitzt im UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit ein Maximum bei 234 nm ($\log \epsilon = 3,70$). Diese Befunde sprechen für das Vorliegen einer enolisierbaren β -Diketon- oder β -Ketoester-Gruppierung. Demnach liegen entweder die beiden Hydroxylgruppen (Formel A) in 1,3-Stellung zueinander, oder mindestens eine der beiden Hydroxylgruppen liegt in β -Stellung zum Carboxyl- oder Lactoncarbonyl.

Das durch milde alkalische Verseifung und Veresterung mit Diazomethan aus Tetrahydroborrelidin (VII) leicht zugängliche Triol IX, dessen drei Hydroxylgruppen aus dem NMR.-Spektrum des Triacetylderivates X leicht abzuleiten sind, ist

Schema 1



mit Chromtrioxid ebenfalls zu einer einheitlichen Verbindung oxydierbar. Da das flüssige Oxydationsprodukt XI im IR.-Spektrum keine Hydroxylbanden zeigt, müssen alle drei Hydroxylgruppen oxydiert worden sein. Das Triketon XI zeigt im UV.-Absorptionsspektrum den gleichen Chromophor wie das Diketon XII (s. oben); und das NMR.-Spektrum zeigt noch immer kein Signal für eine Methylketongruppe. Dadurch wird ausgeschlossen, dass der Lactonring eine Gruppierung $-\text{CO}-\text{O}-\underset{|}{\text{CH}}-\text{CH}_3$ besitzt.

3. Abbau mit Salpetersäure. – Erste Einblicke in den Aufbau des Kohlenstoffgerüsts des Borrelidins lieferte ein Abbau des Methylesters III mit Salpetersäure. Nach der Veresterung mit Diazomethan konnten im Rohabbauprodukt 6 flüchtige Verbindungen nachgewiesen werden, von denen 5 durch präparative Gas-Chromatographie rein isoliert werden konnten. Die beiden am leichtesten eluierbaren Verbindungen wurden durch die Massenspektren, IR.-Absorptionsspektren und durch ihr gas-chromatographisches Verhalten als Bernsteinsäure-dimethylester (XVIII) und Glutarsäure-dimethylester (XVII) identifiziert. Ein drittes Abbauprodukt, XVI, das im Gemisch am stärksten vertreten war, zeigte im Massenspek-

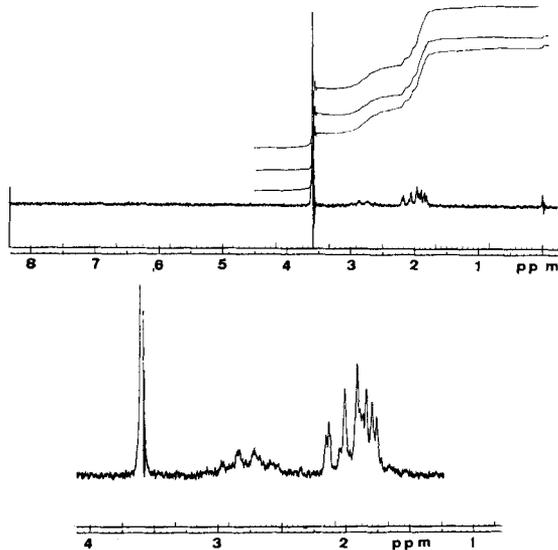


Fig. 3. NMR.-Spektrum von *trans*-Cyclopentan-1,2-dicarbonsäure-dimethylester bei 60 MHz in CDCl_3

trum ein Molekelion mit m/e 186. Ein scharfes Absorptionsmaximum bei 1735 cm^{-1} und das Fehlen von OH-Banden im IR.-Absorptionsspektrum sowie die völlige Transparenz im UV.-Absorptionsspektrum oberhalb 210 nm zeigen an, dass offenbar ausser Carbomethoxygruppen keine funktionellen Gruppen vorhanden sind. Das NMR.-Spektrum (Fig. 3) ist im Zusammenhang mit dem Molekulargewicht von 186 nur plausibel, wenn das intensive Singulett bei $\delta = 3,6\text{ ppm}$ 2 Methoxygruppen zugeordnet wird. Dadurch ergibt sich für das Abbauprodukt XVI die Bruttoformel $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_4$ (Mol.-Gew. 186), und da es sich um einen gesättigten Ester handelt, muss ein carbocyclischer Ring vorhanden sein.

Im NMR.-Spektrum (Fig. 3) sind ausser den Methoxyl-Signalen noch zwei Signalgruppen vorhanden: ein 6 Protonen umfassender stark strukturierter Signalfaufen mit Schwerpunkt bei $\delta = \text{ca. } 2 \text{ ppm}$ wird drei Methylengruppen, eine weitere, 2 Protonen entsprechende Signalgruppe bei $\delta = \text{ca. } 2,8 \text{ ppm}$ zwei Methinprotonen zugeschrieben. C-Methylgruppen sind nicht vorhanden. Alle erwähnten Daten sind nur mit der Struktur eines Cyclopentandicarbonsäure-dimethylesters vereinbar. Die vier möglichen Cyclopentandicarbonsäuren und ihre Methylester wurden nach bekannten Verfahren hergestellt (s. Exper. Teil). Das Abbauprodukt aus Borrelidinmethylester erwies sich als identisch mit dem *trans*-Cyclopentan-1,2-dicarbonsäure-dimethylester (XVI).

Ein vierter Methylester, XIV, gab im Massenspektrum einen Pik bei m/e 199. Da es sich um eine nur aus C, H und O zusammengesetzte Verbindung handelt, kann 199 nicht das Molekulargewicht sein. Bei aliphatischen Dicarbonsäure-estern findet man erfahrungsgemäss häufig kein Molekel-Ion. So haben wir u. a. für Bernsteinsäure-dimethylester und Glutarsäure-dimethylester (s. oben) Fragmente grösster Massen mit m/e 115 bzw. 129 gefunden, was in beiden Fällen einer Masse $M-31$ entspricht, die durch Verlust von OCH_3 zu erklären ist. Ähnliche Erfahrungen haben kürzlich SUZUKI und Mitarbeiter [7] an Abbauprodukten des Piericidins A gemacht. Dass der Pik m/e 199 beim Abbauprodukt XIV tatsächlich einer Masse $M-31$ entspricht, wird erhärtet durch einen starken Pik bei m/e 171, der durch den Zerfall $(\text{R-COOCH}_3)^+ \rightarrow (\text{R-CO})^+ \rightarrow \text{R}^+$ zu erklären ist und somit der Masse $M-59$ entspricht. Das Molekulargewicht des Esters XIV beträgt demnach 230. Wenn man berücksichtigt, dass gemäss der Entstehungsweise keine andern sauerstoffhaltigen Funktionen als Methoxycarbonylgruppen zu erwarten sind, und dass das IR.-Absorptionsspektrum auch keine andern O-Funktionen erkennen lässt, ist die For-

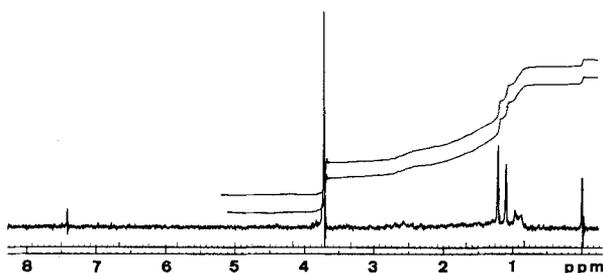


Fig. 4. NMR.-Spektrum von 2,4,6-Trimethylheptandisäure-dimethylester (XIV) bei 60 MHz in CDCl_3

mel $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_4$ eines Dicarbonsäure-dimethylesters die einzige, die mit dem Molekulargewicht von 230 und dem NMR.-Spektrum (Fig. 4) vereinbar ist. Es handelt sich demnach um einen gesättigten aliphatischen Diester. Seine Konstitution ergibt sich weitgehend aus dem NMR.-Spektrum, das neben den beiden Methoxylgruppen (Singulett zu 6 Protonen bei $\delta = 3,75 \text{ ppm}$) noch Signale von 3 weiteren Methylgruppen zeigt. Das scharfe Dublett bei $\delta = 1,17 \text{ ppm}$ ($J = 6,5 \text{ cps}$) entspricht 6 Wasserstoffatomen und ist gemäss seiner chemischen Verschiebung zwei $\text{CH}_3\text{-CH}$ -Gruppen in α -Stellung zu Carbonylgruppen zuzuordnen, während das Signal bei δ ca. 0,9 ppm durch Wechselwirkung höherer Ordnung ein degeneriertes Dublett bil-

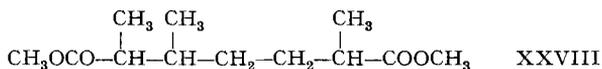
det und einer weiteren $\text{CH}_3\text{-CH}$ -Gruppe zukommt. Insgesamt 7 Methylen- und Methinprotonen geben zu einem schlecht aufgelösten breiten Signalhaufen zwischen $\delta = 1,2$ und $3,0$ ppm Anlass. Die Verbindung XIV ist demnach ein α, α', x -Trimethylpimelinsäure-dimethylester. Zwischen den beiden noch zur Diskussion stehenden Formeln XIV und XXVIII kann auf Grund folgender Beobachtungen entschieden werden:

a) Im NMR.-Spektrum (Fig. 4) geben die beiden OCH_3 -Gruppen ein scharfes Singulett, die beiden α -ständigen C-Methylgruppen ein einziges Dublett. Daraus ist zu schliessen, dass beide Gruppierungen $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-COOCH}_3$ in identischer Umgebung liegen. Dies trifft für die Formel XIV, nicht aber für die Formel XXVIII zu.

b) Im Massenspektrum des Esters XIV sind – durch Fragmentierung zwischen den Kettengliedern – u. a. die Pike mit m/e 87 ($\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2^+$), 101 ($\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_2^+$), 129 ($\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2^+$) und 143 ($\text{C}_8\text{H}_{15}\text{O}_2^+$) zu erwarten, während für den Ester XXVIII – durch Fragmentierung zwischen C-3 und C-4 – zusätzlich Bruchstücke $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_2^+$ mit m/e 115 erwartet werden müssen. Das Massenspektrum zeigt tatsächlich die Pike bei m/e 87, 101, 129 und 143 deutlich, während bei m/e 115 kein den Untergrund überragendes Signal zu erkennen ist.

Der intensivste Pik bei m/e 88 ist durch eine McLAFFERTY-Umlagerung zu erklären. Das Fehlen eines entsprechenden Signals bei m/e 74 bestätigt die aus den NMR.-Spektren gezogene Schlussfolgerung, dass beide α -Stellungen durch je eine Methylgruppe besetzt sind.

c) ANDERTON & RICKARDS [4] haben beobachtet, dass radioaktiv markierte Proionsäure bei der Biosynthese gut ins Borrelidin eingebaut wird. Es ist daher eine Biogenese ähnlich der des Erythromycins [8] und anderer Makrolide [9] zu erwarten, die zu einer regelmässigen 1,3-Verteilung der Methylgruppen führt.



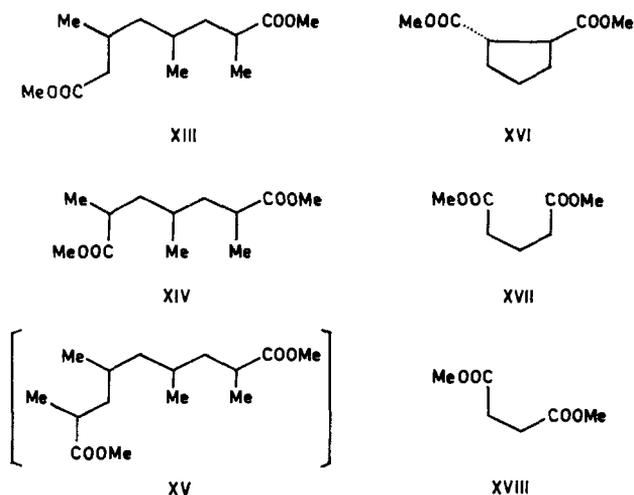
Der nächst höhere Methylester, XIII, der bei der Gas-Chromatographie aus dem Oxydationsgemisch erhalten wurde, gibt im Massenspektrum ein Signal bei m/e 213. Aus den gleichen Überlegungen wie oben muss man annehmen, dass es sich hier wieder um das Fragment M-31 handelt, und dass das Molekulargewicht 244 beträgt. Die einzige Bruttoformel, die sich mit diesem Molekulargewicht und mit dem NMR.-Spektrum verträgt, ist $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_4$. Es handelt sich somit um ein Homologes des oben besprochenen Esters XIV. Das NMR.-Spektrum (s. Exper. Teil) zeigt, dass von den anwesenden drei C-Methylgruppen nur eine in α -Stellung zu einem Ester-carbonyl steht (Dublett bei $\delta = 1,15$ ppm, 3 H), während die beiden andern eine Signalgruppe bei δ ca. 0,9 ppm geben. Die beiden O-Methylgruppen geben zu einem Singulett (6 H) bei $\delta = 3,69$ ppm Anlass.

Das Massenspektrum zeigt neben den oben diskutierten Fragmenten bei m/e 88 ($I = 86\%$, McLAFFERTY-Umlagerung) und m/e 87 (11%, α, β -Fragmentierung) ein entsprechendes Paar bei m/e 74 (16%) und 73 (22%), woraus man schliessen muss, dass neben einer Gruppierung $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-COOCH}_3$ eine Gruppe $-\text{CH}_2\text{-COOCH}_3$ vorkommt. Aus der Tatsache, dass Borrelidin insgesamt nur 4 C-Methylgruppen besitzt, folgt, dass in der Molekel des Esters XIII wesentliche Teile der Struktur

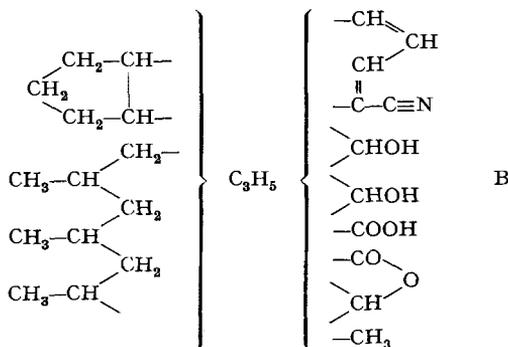
von XIV wieder enthalten sein müssen. Unter der Berücksichtigung aller dieser Befunde ergibt sich für den Ester $C_{13}H_{24}O_4$ als einzige mögliche die Struktur XIII, die durch weitere im Massenspektrum erkennbare Zerfallsprodukte bestätigt wird, nämlich durch Ionen mit m/e 171, 157, 143, 129, 115 und 101, die durch Fragmentierung zwischen den einzelnen Kettengliedern hervorgerufen werden.

Bei der Gas-Chromatographie des rohen Estergemisches wurde noch ein weiteres Abbauprodukt nachgewiesen, das aber so schleppend eluiert wurde, dass es sich unter den angewandten Bedingungen nicht in genügender Menge rein auffangen und spektroskopisch untersuchen liess. Aus der endgültigen Struktur des Borrelidins

Schema 2



darf man annehmen, dass es sich um den Ester XV handelt²⁾. Für die Ableitung der Borrelidinformel werden wir die Struktur XV selbstverständlich nicht in die Argumentierung einbeziehen, da sie nur auf Vermutungen beruht.



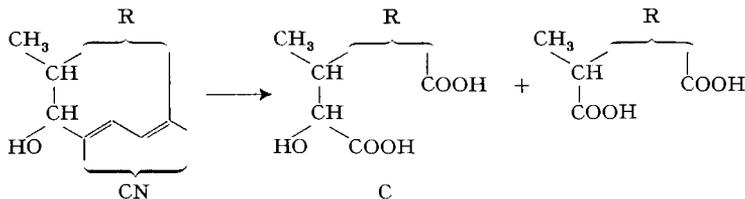
²⁾ Ein von W. RICHLE (Diplomarbeit ETH, Zürich 1966) synthetisch hergestelltes Diastereomeren-gemisch der Konstitution XV zeigte das gleiche gas-chromatographische Verhalten wie der Abbau-Ester.

Von den durch den Salpetersäureabbau erhaltenen Produkten (XIII bis XVIII) können die Bernsteinsäure und die Glutarsäure weitergehende Abbauprodukte der *trans*-Cyclopentan-1,2-dicarbonsäure sein, während die dem Ester XIV zugrunde liegende Säure durch den weiteren Abbau der Säure XIII (COOH statt COOMe) entstanden sein dürfte. Die Produkte repräsentieren daher zwei unabhängige Bezirke der Borrelidin-Struktur und sind beweisend für die Partialformeln B des Borrelidins.

4. Abbau des Borrelidin-methylesters mit Ozon. – Über den Zusammenhang der einzelnen Teile der Partialformel B gab der Abbau des Borrelidin-methylesters mit Ozon weitgehend Aufschluss. Die oxydative Spaltung des rohen Ozonidgemisches mit Wasserstoffperoxid und anschliessende Veresterung mit Diazomethan führte im wesentlichen zu zwei Verbindungen, die sich durch Chromatographie an Kieselgel leicht trennen liessen. Beide Produkte bildeten dickflüssige Öle, die nicht unzersetzt destilliert werden konnten. Auf ihre Einheitlichkeit wurde aus dem Verhalten bei der Dünnschichtchromatographie geschlossen.

Die an Kieselgel schwerer eluierbare Verbindung, für die im Nachfolgenden die Struktur XIX bewiesen werden soll, besitzt 3 Methylestergruppierungen, die sich im NMR.-Spektrum durch Singulette bei $\delta = 3,68$ (6 H) und $3,79$ ppm (3 H) zu erkennen geben. Zwei alkoholische Hydroxylgruppen wurden durch die Bildung eines Diacetylderivates XX erkannt, das im NMR.-Spektrum zwei Singulette bei $\delta = 2,04$ (3 H) und $2,14$ ppm (3 H) zeigt. Die Verbindung XIX besitzt noch alle vier C-Methylgruppen des Ausgangsmaterials, wie aus der Signalgruppe von $\delta = 0,7$ bis $0,95$ ppm (12 H) im NMR.-Spektrum hervorgeht. Ferner muss in ihr noch die ursprüngliche Lactongruppierung (jetzt als Estergruppe, da der Lactonring durch Spaltung von C-C-Bindungen gesprengt worden ist) enthalten sein.

Das Massenspektrum des Diacetylderivates zeigt einen schwachen Pik bei m/e 628, der als Molekelpik zu deuten ist, da stärkere Pike bei m/e 597 (*M*-31) und 569 (*M*-59) durch Abspaltung von CH_3O bzw. $\text{CH}_3\text{O} + \text{CO}$ entstanden sein müssen. Einem Molekulargewicht von 628 entspricht, unter Berücksichtigung der spektroskopisch nachgewiesenen funktionellen Gruppen, eine Formel $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_{12}$ für das Diacetylderivat XX, bzw. $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{O}_{10}$ für die zugrundeliegende Dihydroxy-tricarbonsäure. Beim Abbau sind demnach drei C-Atome verlorengegangen entsprechend der Formulierung im Schema C.



Das leichter eluierbare Abbauprodukt XXI ist ebenfalls ein Trimethylester (Singulett bei $\delta = 3,72$ ppm, 9 H), besitzt aber nur eine acetylierbare Hydroxylgruppe, denn das NMR.-Spektrum des Acetylierungsproduktes XXII weist nur ein einziges Acetylsignal auf ($\delta = 2,03$ ppm, s, 3 H). Das durch Massenspektrometrie bestimmte Molekulargewicht des Acetylderivates XXII, 556, weist unter Berücksichtigung der

funktionellen Gruppen auf eine Formel $C_{29}H_{48}O_{10}$ hin. Die dem Derivat zugrunde liegende Hydroxytricarbonsäure besitzt demnach die Formel $C_{24}H_{40}O_9$ und muss zur C_{25} -Dihydroxytricarbonsäure in der im Schema C angedeuteten Beziehung stehen. Das gleichzeitige Auftreten der beiden Ester XIX und XXI beweist demnach, dass sich in α -Stellung zum Diensystem eine Hydroxylgruppe befindet (s. Partialformel im Schema C).

Während von den vier C-Methylgruppen des Abbauesters XIX keine in α -Stellung zu einem Estercarbonyl steht, da die Signale aller 12 Methylprotonen in einer Signalkette zwischen $\delta = 0,7$ und $0,95$ ppm liegen, enthält der Ester XXI eine α -ständige C-Methylgruppe, die durch ein Dublett bei $\delta = 1,13$ ppm ($J = 6,5$ cps) angezeigt wird. Der oben diskutierten sekundären Hydroxylgruppe liegt demnach eine CH_3 -CH-Gruppe gemäss Partialformel C benachbart. Einer solchen Anordnung entspricht auch das NMR.-Spektrum des Acetylderivates XX, in welchem das Signal von einem der drei Protonen neben Acyloxygruppen ($\delta = 4,92$ ppm) als Dublett mit $J = 3,5$ cps vorliegt (H an C-2), während die beiden andern chemisch analogen Protonen an C-10 und C-3' mit mehreren Nachbarprotonen koppeln und demnach Multiplette in der Gegend von $\delta = 5,0$ bis $5,4$ ppm geben.

Für eine vollständige Ableitung der Strukturen auf Grund der NMR.-Spektren sind die Verbindungen XIX und XXI noch zu kompliziert, denn die Signale zahlreicher Protonen sind in schlecht aufgelösten Signalhaufen enthalten. Aus der ursprünglichen Lactongruppierung des Borrelidins sind nun aber in den beiden Abbauprodukten Estergruppen geworden, die einen weiteren Abbau erleichtern, indem durch eine einfache alkalische Hydrolyse je zwei einfachere Bruchstücke zugänglich sind.

Das rohe Hydrolysegemisch des Acetylderivates XXII wurde mit Diazomethan verestert und liess sich dann chromatographisch in zwei einheitliche Produkte trennen. Der leicht eluierbare Methylester XXIII besitzt nach seinem NMR.-Spektrum (Fig. 5) 2 Methoxygruppen. Andere Sauerstofffunktionen sind nicht nachweisbar.

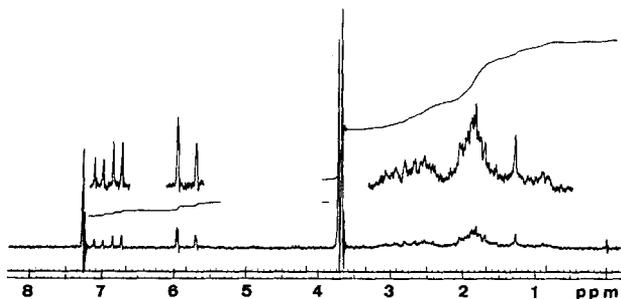


Fig. 5. NMR.-Spektrum von β -(2-Methoxycarbonyl-cyclopentyl)-acrylsäure-methylester (XXIII) bei 60 MHz in $CDCl_3$

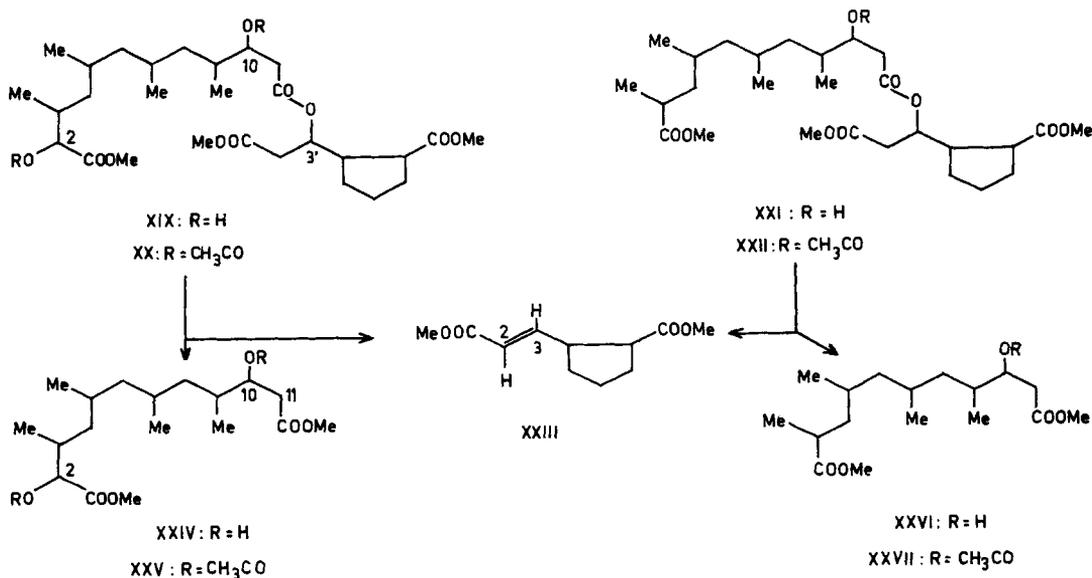
Das Molekulargewicht von 212, das sich aus dem Massenspektrum ergibt, ist unter Einbezug von 4 Sauerstoffatomen ($2 COOCH_3$) nur mit der Formel $C_{11}H_{16}O_4$ im Einklang. Das UV.-Absorptionsspektrum ($\lambda_{max} = 220$ nm, $\log \epsilon = 3,84$ in Feinsprit) weist auf einen α, β -ungesättigten Ester hin, und die Doppelbindung gibt sich auch im NMR.-Spektrum (Fig. 5) durch Signale von zwei Alkenprotonen bei $\delta = 5,8$ und

6,9 ppm zu erkennen. Im IR.-Absorptionsspektrum findet man die charakteristischen Banden für die α,β -ungesättigte Estergruppe bei 1730 und 1660 cm^{-1} ; Hydroxylbanden sind nicht zu erkennen.

Die Vorstufe der alkalischen Spaltung, der Ester XXII, muss noch den durch das Abbauprodukt XVI bewiesenen Cyclopentanring enthalten. Da das zweite Produkt der alkalischen Hydrolyse, XXVI, aliphatisch ist (s. unten), muss der fünfgliedrige Ring im α,β -ungesättigten Ester XXIII enthalten sein. Unter Berücksichtigung aller dieser Tatsachen ergibt sich die Struktur XXIII zwangsläufig aus dem NMR.-Spektrum (Fig. 5). Die Wechselwirkungs-Konstante J_{AB} der Alkenprotonen (J ca. 15,5 cps) zeigt, dass die Doppelbindung *trans*-disubstituiert ist. Das Signal des β -ständigen Protons bei $\delta = 6,9$ ppm zeigt ferner eine Wechselwirkung ($J = 7$ cps) mit dem γ -ständigen Ring-methin, während das α -ständige Proton ($\delta = 5,8$ ppm) mit dem gleichen Methinproton eine «long-range»-Wechselwirkung ($J = 1$ cps) zeigt. Die beiden Methoxygruppen geben Singulette bei $\delta = 3,67$ und 3,72 ppm. Die Signale der beiden Methine findet man in einem komplexen Signalfaufen bei $\delta = 2,2$ bis 3,2 ppm, und die 6 Methylenprotonen geben die Signalgruppe bei $\delta = 1,3$ bis 2,2 ppm.

Der andere Ester, XXVI, aus der alkalischen Spaltung der Verbindung XXII bildet ein chromatographisch einheitliches dickflüssiges Öl, das nur in Form seines Acetylderivates XXVII untersucht wurde. Gemäss dem Massenspektrum besitzt dieses das Molekulargewicht 358. Da spektroskopisch zwei Methoxygruppen und eine Acetoxygruppe nachweisbar sind, kommt daher nur eine Bruttoformel $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_6$ in Frage. Das NMR.-Spektrum (s. Exper. Teil) zeigt, dass noch die vier C-Methylgruppen des Borrelidins vorhanden sind, von denen eine in α -Stellung zu einem Ester-carbonyl liegt. Im übrigen folgt seine Konstitution XXVII aus derjenigen des

Schema 3



unten zu besprechenden Abbauproduktes XXIV und bedarf hier keiner weiteren Erläuterung.

Der Ester XIX gibt bei der analogen alkalischen Spaltung und anschliessenden Veresterung als leicht eluierbares Produkt ebenfalls den β -(2-Methoxycarbonylcyclopentyl)-acrylsäure-methylester (XXIII, s. oben), der durch IR.- und NMR.-Spektroskopie identifiziert wurde. Das andere Spaltstück, XXIV, gibt mit Essigsäureanhydrid in Pyridin ein Diacetylderivat, dessen zwei Acetylgruppen durch das NMR.-Spektrum (Fig. 6) gut zu erkennen sind (2 Singulette zu 3 H bei $\delta = 2,03$ und $2,13$ ppm). Das Diacetat zeigt im NMR.-Spektrum keinen Molekelpik. Aus den oben diskutierten Gründen muss das Signal bei m/e 399 dem Fragment $M-31$ zugeschrieben werden. Die aus dem Molekulargewicht von 430 und den spektroskopisch nachweisbaren funktionellen Gruppen (2 $-\text{COOCH}_3$ und 2 $-\text{OCOCH}_3$) errechnete Bruttoformel $\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{O}_8$ zeigt, dass der Ester XXIV zum Ester XXVI in der gleichen Beziehung steht, wie seine Vorstufe XIX zur Verbindung XXI (s. oben).

Der Ester XXIV besitzt gemäss seinem NMR.-Spektrum noch die 4 C-Methylgruppen des Borrelidins. In ihm muss daher die durch das Oxydationsprodukt XIV bewiesene Partialstruktur enthalten sein. Aus dem NMR.-Spektrum des Acetylderivates XXV (Fig. 6) können wir noch folgende Beziehungen ablesen:

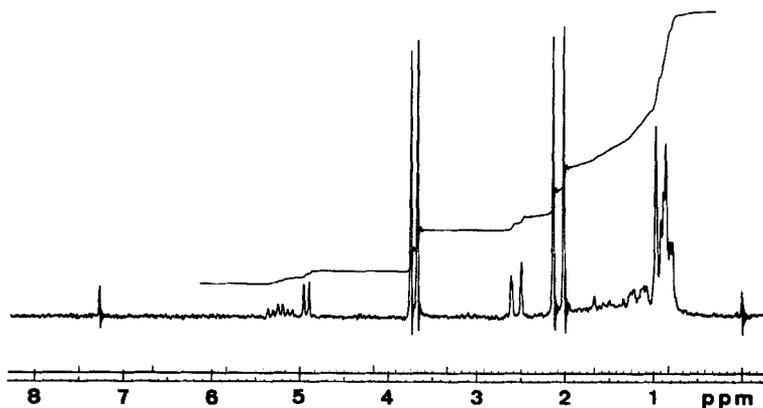
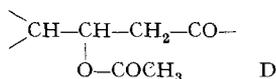


Fig. 6. NMR.-Spektrum des Abbauproduktes XXV bei 60 MHz in CDCl_3

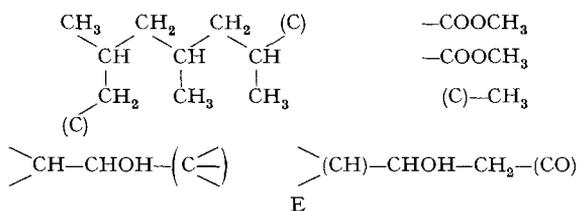
a) Keine der 4 C-Methylgruppen steht in α -Stellung zu einem Ester-Carbonyl, denn die Signale aller 12 Methylprotonen liegen zwischen $\delta = 0,75$ und $\delta = 0,95$ ppm (vgl. im Gegensatz dazu die NMR.-Spektren der Abbauprodukte XXI, XXII, XXVI und XXVII mit je einer α -ständigen (CH_3-CH) -Gruppierung; s. Exper. Teil).

b) Von den Signalen der beiden Protonen neben sekundären Acetoxygruppen (Fig. 6, $\delta = 5,23$ und $4,92$ ppm), bildet das eine ein Dublett ($J = 3,5$ cps) und kommt einer Gruppe zu, die nur ein Methinproton in Nachbarschaft besitzt: >CH-CH(OAc)-C< . Das andere der beiden Signale besitzt die Form eines Doppeltripletts mit $J_t = 6,5$ cps, $J_d = 3,2$ cps. Die grössere der beiden Kopplungskonstanten findet sich wieder beim Signal bei $\delta = 2,54$ ppm (2 H), das gemäss seiner chemischen Verschiebung einer Methylengruppe in α -Stellung zu einem Carbonyl zuzuordnen ist. Das Signal dieser Methylengruppe bildet nahezu ein Dublett mit $J = 6,5$ cps. Die Beziehung zwischen

den Signalen bei $\delta = 5,23$ und $2,54$ ppm konnte durch Spinentkopplungsexperimente bestätigt werden. Diese Signale müssen demnach den Protonen einer Gruppierung D zukommen.



Wegen der Asymmetrie am β -Kohlenstoffatom der Gruppe D ist für die Methylenprotonen eine *ABX*-Multiplizität des Signals zu erwarten. Die chemischen Verschiebungen δ_A und δ_B sind aber nahezu identisch (der Unterschied kann auf etwa 0,3 cps geschätzt werden), und auch die Kopplungskonstanten J_{AX} und J_{BX} unterscheiden sich nur wenig (sie betragen etwa 6,5 und 7,0 cps), so dass ein nur leicht deformiertes Dublett zustande kommt. Die äusseren Spitzen des *AB*-Teils sind sehr schwach und werden durch das Rauschen der Kurve überdeckt. Für den Ester XXIV stehen demnach die in der Partialformel E zusammengefassten Atomgruppierungen fest.



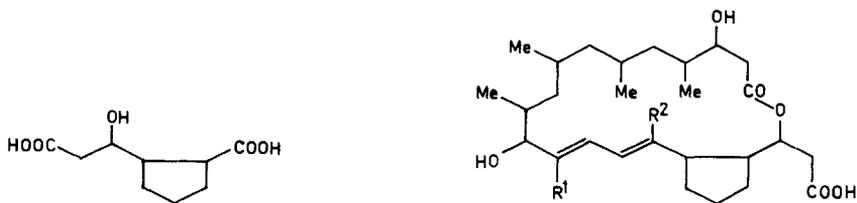
Diese Teile lassen sich einzig gemäss Formel XXIV sinnvoll zu einer Molekel $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_6$ zusammenfügen, die den chemischen und physikalischen Eigenschaften des Borrelidins und seiner Derivate gerecht wird. Damit ist die Formel XXIV für das aliphatische Spaltstück des Esters XIX bewiesen. Für das entsprechende Spaltstück des Esters XXI ergibt sich zwangsläufig die Struktur XXVI, die mit allen Eigenschaften seines Acetylderivates (s. Exper. Teil) im Einklang ist.

5. Die Konstruktion des Borrelidins. – Durch die Abbauprodukte XXIII und XXIV sowie den Chromophor I ist die ganze Molekel des Borrelidins in drei Bruchstücken erfasst worden. Es stellt sich nun die Aufgabe, diese Bruchstücke unter Berücksichtigung der Eigenschaften des Borrelidins, seiner Derivate und derjenigen der Zwischenprodukte des Abbaus in der richtigen Anordnung zusammenzustellen.

a) *Die Konstitution des Esters XIX.* Die Tricarbonsäure, die dem Trimethylester XIX zugrunde liegt, besitzt die Zusammensetzung $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{O}_{10}$, die sich additiv aus den primären Produkten der alkalischen Spaltung (Dicarbonsäure entsprechend dem Ester XXIII, $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_4$, und Dicarbonsäure entsprechend dem Ester XXIV, $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_6$) aufbaut, und die Doppelbindung des Esters XXIII fehlt in der gesättigten Verbindung XIX. Es handelt sich demnach bei der Spaltung des Esters XIX nicht um eine Hydrolyse, sondern um eine Elimination. Dem Ester XIX liegt daher die Verbindung F als «alkoholische Komponente» zugrunde. Dass an der Esterbindung in XIX keine der beiden Hydroxylgruppen des Bruchstücks XXIV beteiligt sein kann, geht auch aus dem NMR.-Spektrum des Diketons XII hervor. Zwei der vier C-Methylgruppen des Diketons geben nämlich zwei Dublette bei $\delta = 1,12$ und $1,18$ ppm und liegen demnach in α -Stellung zu den Ketogruppen. Im Tetrahydroborrelidin und folglich auch im Borrelidin (II) und im Abbauprodukt XIX liegen demzufolge

diejenigen Sauerstoffe als freie Hydroxyle vor, die direkt neben den C-Methylgruppen stehen. Von den beiden Carbomethoxygruppen des Esters XXIV stammt gemäss der im vorangehenden Kapitel (vgl. Schema C) diskutierte Beziehung zwischen

Formel-Schema 4



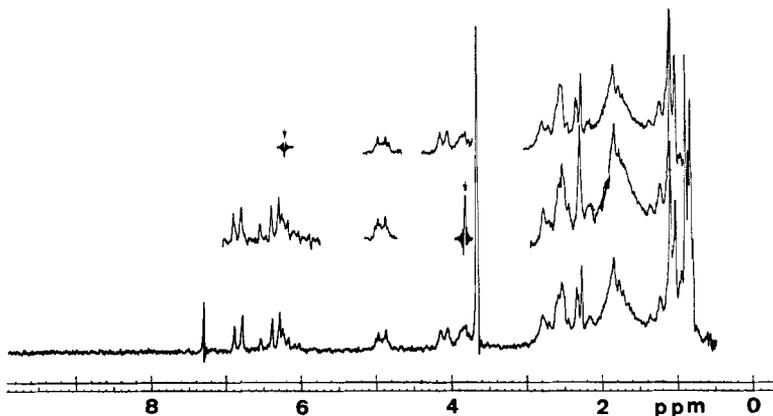
F

G a : $R^1 = \text{CN}; R^2 = \text{H}$ G b : $R^1 = \text{H}; R^2 = \text{CN}$

den Verbindungen XIX und XXI diejenige neben der sek. Hydroxylgruppe aus der Diengruppierung und ist durch den Ozonabbau neu entstanden. Es bleibt daher nur die Carbomethoxygruppe in Stellung 12 (XXIV) als Partner der Esterbindung im Abbauprodukt XIX übrig, dessen Konstitution damit feststeht.

b) *Die Lage des Chromophors.* Den Chromophor können wir formell auf zwei Arten an den Ester XIX anfügen, nämlich einerseits an die Methoxycarbonylgruppe in C-1, andererseits entweder an die längere oder an die kürzere Seitenkette des Cyclopentanteiles. Je nachdem gelangen wir für das Borrelidin zu einem Gerüst mit einem 18gliedrigen Lactonring (entsprechend Formel II) oder mit einem 19gliedrigen Lactonring (entsprechend Formel G a oder b). Formeln des Typus G können auf Grund folgender Beobachtungen ausgeschlossen werden:

a) Aus einer Verbindung G müsste durch Hydrierung, Hydrolyse der Lactongruppe und anschliessende Veresterung und Oxydation ein Triketon (analog XI)

Fig. 7. Spinrentkopplung von Borrelidin-methylester (III) bei 100 MHz in CDCl_3

entstehen, das zweimal die Gruppierung $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{COOCH}_3$ enthält. Eine solche Gruppe ist aber im Triketon XI nach seinem NMR.-Spektrum sicher nur einmal vorhanden.

b) Im Massenspektrum des Borrelidin-methylesters (III) kommt mehrmals – vom Molekel-Ion wie auch von verschiedenen grösseren Fragmenten aus gerechnet – die Differenz 127 vor, die den Verlust eines Methoxycarbonylcyclopentylrestes anzeigt. Die Differenz 73 für einen Rest $-\text{CH}_2-\text{COOCH}_3$, die für einen Ester des Typus G zu erwarten wäre, wird dagegen nicht beobachtet (s. Tab. 1). Die Formeln G a und b sind daher auszuschliessen.

Tabelle 1. Massenspektrum von Borrelidin-methylester (III)

m/e	$M - m/e$	Intensität % des Basispiks	$m/e - 126$ $m/e - 127$ $m/e - 128$	Intensität % des Basispiks
503	–	1,4	377	0,4
			376	1,3
			375	0,6
485	18	4,7	359	0,5
			358	1,2
			357	0,4
467	$2 \cdot 18$	4,5	341	0,5
			340	1,1
			339	0,6
453	50	5,2	327	1,0
			326	1,4
			325	0,5
449	54	2,5	323	0,5
			322	1,0
			321	0,6
444	59	0,45		
443	60	1,2		
435	68	10	309	0,6
			308	1,3
			307	0,75
425	78	9,5	299	1,1
			298	1,3
			297	0,9
417	86	5,5	291	0,9
			290	1,4
			289	3,7
407	96	5,3	281	0,7
			280	1,3
			279	0,65
397	106	4,5	271	5,5
			270	5,7
			269	2,5

Basispik: m/e 43 (100%)

Es stehen damit noch zwei Formeln für das Borrelidin zur Diskussion, nämlich II und eine isomere Verbindung mit der Cyanogruppe in Stellung 15 statt 12. Ein Entscheid zwischen diesen beiden Konstitutionen ergab sich auf Grund von Spinentkopplungsversuchen am Borrelidin-methylester (III). Einstrahlung im Gebiet der Frequenzen der Alkenprotonen ($\delta = 6,25$ ppm) hat eine Entkopplung in der Methylenregion ($\delta = 2,55$ ppm) zur Folge (s. Fig. 7), während die Signale der Protonen neben Sauerstoff ($\delta = 3,82, 4,10$ und $4,95$ ppm) nicht beeinflusst werden. Andererseits konnte eine Vereinfachung der Multiplizität des Signals bei $\delta = 6,25$ ppm erreicht werden durch Einstrahlung bei $\delta = 2,55$ ppm (in Fig. 7 nicht abgebildet), während Einstrahlung bei $\delta = 3,82, 4,10$ und $4,95$ ppm die Signale der Alkenprotonen nicht verändert. In Stellung 12 kann demnach kein Wasserstoff stehen, sondern das C-Atom 12 ist Träger der Cyanidgruppe.

Auf Grund der damit abgeleiteten Konstitution II ist das Borrelidin ein neuer Vertreter der Makrolid-Antibiotica [10], der aber von den bekannten Verbindungen dieser Reihe in verschiedener Hinsicht abweicht. Unter der Annahme, dass die Nitril-Gruppe ein biogenetisch abgewandeltes Methyl darstellt, ist der makrocyclische Lactonring aus 5 Propionat- und 3 bis 4 Acetat-Einheiten aufgebaut, doch lässt sich die Herkunft der Nitril-Gruppe auch anders deuten. Ungewöhnlich für ein Makrolid ist der Cyclopentanring. Es ist unklar, ob er als Fortsetzung der Polyacetatkette aus weiteren Acetyleinheiten aufgebaut wird, oder ob seine Herkunft anders zu erklären ist. Ein Cyclopentanring ist in der Reihe der makrolidartigen Verbindungen bisher erst einmal, nämlich beim Brefeldin A [11], aufgefunden worden.

Von allen bisher aufgeklärten antibakteriellen Makroliden unterscheidet sich das Borrelidin darin, dass es keinen glykosidisch gebundenen Zucker enthält. Es gleicht darin einigen antifungischen Polyen-Makroliden, mit denen es aber hinsichtlich der biologischen Wirkung nichts gemeinsam hat.

Herrn Prof. H. ZÄHNER, Tübingen, und der CIBA AKTIENGESSELLSCHAFT, Basel, danke ich für das Borrelidin. Herrn Dr. J. SEIBL bin ich für die Aufnahme und Diskussion der Massenspektren zu Dank verpflichtet. Die NMR.-Spektren und Spinentkopplungs-Experimente verdanke ich Frau A. VON WARTBURG und Herrn Dr. C. PASCUAL.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Die IR.-Absorptionsspektren wurden mit einem PERKIN-ELMER-Spektrophotometer entweder in KBr-Pastillen mit Modell 21 (M 21) oder in CHCl_3 -Lösung mit Modell Infracord (IC) aufgenommen.

Die NMR.-Spektren wurden in CDCl_3 mit einem VARIAN-Spektrographen, Modell A 60 (60 MHz) bzw. Modell HA 100 (100 MHz), aufgenommen. Chemische Verschiebungen sind in δ -Werten (ppm) gegenüber Tetramethylsilan als internem Standard, Spin-Spin-Wechselwirkungen (J) in Hz angegeben; s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett, b = breite, nicht aufgelöste Anhäufung von Signalen, dd = Doppeldublett, dt = Doppeltriplett.

Für die Aufnahme der Massenspektren diente ein HITACHI-PERKIN-ELMER-Spektrometer RMU 6A. Die UV.-Absorptionsspektren wurden in Feinsprit mit einem PERKIN-ELMER-Spektrophotometer, Modell 137 UV, bestimmt.

Dünnschichtchromatogramme (DS) wurden auf Kieselgel G nach STAHL der Firma MERCK ausgeführt; sie wurden durch Besprühen mit konz. Schwefelsäure und Erhitzen auf 140° oder durch Joddampf bei Zimmertemperatur entwickelt. Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel MERCK, 0,05–0,20 mm verwendet.

Isolierung von Borrelidin (II). 18,9 g rohes Säuregemisch, das durch Ausschütteln von rohen Äthylacetat-Extrakten des *Streptomyces parvulus*-Stammes Tü 113 mit Sodalösung erhalten wor-

den war, wurden nach CRAIG über 200 Stufen verteilt. Lösungsmittelsystem: CHCl_3 -Tetrachlorkohlenstoff-Methanol-Wasser, Volumenverhältnis 2:3:4:1. Die antibiotische Wirkung war in den Stufen 95–125 enthalten ($\nu_{\max} = 110$). Diese wurden vereinigt und mit Wasser verdünnt. Die untere Schicht wurde abgetrennt, die obere dreimal mit Chloroform ausgezogen und die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet. Durch Eindampfen im Vakuum erhielt man 9,21 g bräunlichen, glasigen Rückstand, der nicht kristallisierte. 1 mg des Präparates gab mit Diazomethan Borrelidin-methylester, der gemäss DS nur geringfügige Verunreinigungen enthielt. Das Produkt ist demnach nahezu reines Borrelidin. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{\max} 3550, 3300–2500 (breit), 2220, 1725, 1710, 1650 cm^{-1} . UV.-Absorptionsspektrum: λ_{\max} 257 nm ($\log \epsilon = 4,45$).

Borrelidin-methylester (III). 500 mg Borrelidin in 30 ml Äther wurde mit 50 ml ätherischem Diazomethan verestert. Nach 30 Min. wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand an 50 g Kieselgel chromatographiert. Nach Abtrennung von ca. 30 mg leichter eluierbarer Verunreinigungen wurden mit CHl_3 -Äthylacetat 1:1 395 mg chromatographisch einheitlicher Methylester eluiert; aus Äther-Petroläther farblose Kristalle vom Smp. 156–157°. DS in CHCl_3 -Äthylacetat 1:1; Rf = 0,60, einheitlich. Eine authentische Vergleichsprobe zeigte identisches Verhalten¹⁾. IR.-Absorptionsspektrum (M 21): s. Fig. 2. UV.-Absorptionsspektrum: λ_{\max} 257 nm ($\log \epsilon = 4,36$). NMR.-Spektrum (100 MHz) s. Fig. 1. Spin-Entkopplung (100 MHz): Spin-Spin-Wechselwirkung wurde zwischen folgenden Signalen nachgewiesen: $\delta = 6,2$ und 2,5 ppm; 4,9 und 2,72 ppm; 3,85 und 2,3 ppm.

$\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{O}_6\text{N}$	Ber. C 69,15	H 9,01	N 2,78%	Mol.-Gew. 503
	Gef. „ 69,26	„ 8,98	„ 2,82%	„ 505,4 ³⁾ , 503 ⁴⁾

Das mit Essigsäureanhydrid und Pyridin bei 20° hergestellte *Di-O-acetyl-Derivat IV* schmolz in Übereinstimmung mit der Lit. [2] bei 189–191°. NMR.-Spektrum (60 MHz): u. a. $\delta = 2,01$ ppm (s, 3H), $\delta = 2,09$ ppm (s, 3H), $\delta = 3,66$ ppm (s, 3H).

Borrelidinsäure-dimethylester (V). – a) *Aus III nach alkalischer Hydrolyse*. 500 mg Borrelidin-methylester (III) wurden in 20 ml methanolischer 1N Natronlauge 6 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach dem Verdünnen mit Wasser wurden durch Ausschütteln mit Äther 5 mg neutrale Verunreinigungen entfernt. Nach dem Ansäuern mit Salzsäure liessen sich mittels Äther 527 mg saure Produkte extrahieren, die mit Diazomethan bei 0° verestert wurden. Bei der Chromatographie an 50 g Kieselgel wurden mit CHCl_3 -Äthylacetat 8:2 und 1:1 zuerst ca. 160 mg uneinheitliche Nebenprodukte eluiert. Das ebenfalls mit CHCl_3 -Äthylacetat 1:1 eluierte Hauptprodukt, 331 mg, war chromatographisch einheitlich (DS mit CHCl_3 -Äthylacetat 1:1; Rf = 0,39). Es bildet eine farblose, nicht kristallisierbare Flüssigkeit. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{\max} 3540, 2196, 1715, 1630 cm^{-1} . UV.-Absorptionsspektrum: λ_{\max} 260 nm ($\log \epsilon = 4,41$). Das NMR.-Spektrum (60 MHz) zeigt u. a. Signale bei $\delta = 3,68$ ppm (s, 3H), $\delta = 3,70$ ppm (s, 3H) und $\delta = 2,95$ ppm (breites s, 3OH). Die Signale der Wasserstoffatome am C-Gerüst des Borrelidin-methyläthers sind im Spektrum der Verbindung V alle wieder erkennbar und liegen zur Hauptsache in komplexen Anhäufungen von Signalen.

b) *Aus III durch Methanolyse*. 500 mg Borrelidin-methylester (III) wurden mit ca. 100 ml absolut methanolischer 1N Salzsäure 25 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Eindampfen im Vakuum zeigte eine Probe im DS (CHCl_3 -Äthylacetat 1:1) neben etwas Ausgangsmaterial (Rf = 0,52) und einer geringen Verunreinigung (Rf = 0,57) ein Hauptprodukt (Rf = 0,30), das mit dem Dimethylester V identisch war. Die chromatographische Reinigung an 100 g Kieselgel gab zuerst ca. 200 mg uneinheitliche Nebenfraktionen und anschliessend mit CHCl_3 -Äthylacetat 1:1 180 mg reines Dimethylester V, der nach DS und IR.-Absorptionsspektrum mit dem nach a) erhaltenen Präparat identisch war.

Tri-O-acetylderivat VI. 85 mg Dimethylester V wurden mit 1 ml Essigsäureanhydrid und 1 ml Pyridin bei 20° acetyliert. Das Produkt war nach DS (CHCl_3 -Äthylacetat 1:1; Rf = 0,87) einheitlich. Nach chromatographischer Reinigung an 3 g Kieselgel wurde ein farbloses, nicht unzersetztes destillierbares Öl erhalten. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{\max} 2200, 1730, 1720 und 1640 cm^{-1} . UV.-Absorptionsspektrum: λ_{\max} 260 nm ($\log \epsilon = 4,49$). NMR.-Spektrum (60 MHz):

³⁾ Thermoelektrische Bestimmung in Äthylacetat.

⁴⁾ Massenspektrum; weitere charakteristische Pike siehe Tabelle 1.

$\delta = 2,00$ ppm (s, 3H), $\delta = 2,03$ ppm (s, 3H), $\delta = 2,10$ ppm (s, 3H), $\delta = 3,68$ ppm (s, 3H), $\delta = 3,69$ ppm (s, 3H), $\delta = 4,8\text{--}5,5$ ppm (b, 3H), $\delta = 5,9\text{--}6,8$ ppm (3H). Die Signale von weiteren ca. 34H sind in mehreren nicht aufgelösten Signalhaufen zwischen $\delta = 0,75$ und 2,7 ppm enthalten.

Tetrahydroborrelidin-methylester (VII). 1,5 g Borrelidin-methylester in 60 ml Methanol wurden in Gegenwart von 300 mg 10-proz. Palladiumkohle bei Zimmertemperatur hydriert. Nach ca. 90 Min. und Aufnahme von 152 ml H_2 (0° und 760 Torr; ber. 131 ml) kam die Hydrierung praktisch zum Stillstand. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand von 1,48 g wurde an 100 g Kieselgel chromatographiert. Man erhielt mit $CHCl_3$ -Äthylacetat 8:2 nach Abtrennung von 27 mg einer uneinheitlichen Fraktion 1,37 g chromatographisch reines Hydrierungsprodukt. DS mit $CHCl_3$ -Äthylacetat 8:2; Rf = 0,57 gegenüber Rf = 0,26 für das Ausgangsmaterial. Das farblose dickflüssige Öl liess sich nicht unzersetzt destillieren und konnte nicht kristallisiert werden. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{max} 3500, 2230, 1720 cm^{-1} . UV.-Absorptionsspektrum: kein Maximum oberhalb 210 nm. NMR.-Spektrum (60 MHz): $\delta = 0,8\text{--}1,0$ ppm (b, 12H), $\delta = 1,0\text{--}2,2$ ppm (b, 23H), $\delta = 2,2\text{--}3,0$ ppm (b, 4H), $\delta = 2,42$ ppm (leicht verzerrtes d, J ca. 6 Hz, 2H), $\delta = 2,70$ ppm (breites s, 2H), $\delta = 3,67$ ppm (s, 3H), $\delta = 3,82$ ppm (b, 2H), $\delta = 4,90$ ppm (m, 1H).

Di-O-Acetyl-tetrahydroborrelidin-methylester (VIII). Das aus 170 mg Tetrahydroborrelidin-methylester (VII) mit Essigsäureanhydrid und Pyridin bei 20° hergestellte Acetylderivat gab nach chromatographischer Reinigung an Kieselgel 184 mg farbloses Öl, das sich nicht unzersetzt destillieren liess. DS mit Chlf.-Äthylacetat 9:1, Rf = 0,81, einheitlich. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{max} 2230, 1730 cm^{-1} . Das UV.-Absorptionsspektrum zeigt kein Maximum oberhalb 210 nm. Das NMR.-Spektrum zeigt u.a. Signale bei $\delta = 2,05$ ppm (s, 3H), $\delta = 2,10$ ppm (s, 3H), $\delta = 3,67$ ppm (s, 3H), $\delta = 4,8\text{--}5,3$ ppm (b, 3H). Die bei Verbindung VII bei $\delta = 2,70$ und 3,82 ppm auftretenden Signale fehlen. Die übrigen Signale von VII sind im Spektrum seines Diacetyl-derivates mehr oder weniger unverändert vorhanden.

Tetrahydroborrelidinsäure-dimethylester (IX). 500 mg Tetrahydroborrelidin-methylester wurden in 20 ml methanolischer 1N Natronlauge 18 Std. bei 20° stehengelassen und dann mit Wasser verdünnt. Mit Äther liessen sich 2 mg Neutralkteile ausschütteln. Nach dem Ansäuern der wäss. Phase konnten mit Äther 467 mg saure Anteile extrahiert werden, die direkt mit Diazomethan in ätherischer Lösung verestert wurden. Der Eindampfrückstand von 476 mg war nach DS (Chlf.-Äthylacetat 8:2; Rf = 0,09 gegenüber Rf = 0,48 für Tetrahydroborrelidin-methylester) einheitlich. 104 mg davon wurden für die spektroskopische Untersuchung an 10 g Kieselgel chromatographiert und als farblose Flüssigkeit erhalten. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{max} 3460, 2240, 1720 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (60 MHz): $\delta = 0,75\text{--}1,00$ ppm (b, 12H), $\delta = 1,0\text{--}2,2$ ppm (b, ca. 23H), $\delta = 2,2\text{--}3,2$ ppm (b, ca. 7H), $\delta = 2,50$ ppm (d, J ca. 6 Hz, 1H), $\delta = 2,52$ ppm (d, J ca. 7 Hz, 1H), $\delta = 3,3\text{--}4,3$ ppm (b, 3H), $\delta = 3,76$ ppm (s, 3H), $\delta = 3,78$ ppm (s, 3H).

Tri-O-acetyl-tetrahydroborrelidinsäure-dimethylester (X). Das mit Essigsäureanhydrid und Pyridin hergestellte und an Kieselgel chromatographierte flüssige Derivat zeigte im NMR.-Spektrum u.a. folgende Signale: $\delta = 2,00$ ppm (s, 3H), $\delta = 2,02$ ppm (s, 3H), $\delta = 2,08$ ppm (s, 3H), $\delta = 3,67$ ppm (s, 6H).

Triketon XI. Zu einer Lösung von 476 mg Tetrahydroborrelidinsäure-dimethylester (IX) in 24 ml Aceton (über $KMnO_4$ destilliert) wurden bei Zimmertemperatur unter Umrühren rasch 1,7 ml 7N Chrom(VI)-oxid-Lösung in 30-proz. Schwefelsäure getropft. Das Reaktionsgemisch wurde sofort in Benzol aufgenommen und mehrmals mit Wasser gewaschen. Die mit Natriumsulfat getrocknete Benzollösung gab beim Eindampfen 423 mg rohes Triketon XI. Bei der Chromatographie an 45 g Kieselgel wurden mit $CHCl_3$ -Äthylacetat 9:1 zunächst 20 mg unreines, anschliessend 277 mg chromatographisch einheitliches Triketon erhalten. DS mit absol. Chlf.; Rf = 0,45. Weitere Fraktionen gaben noch 45 mg Triketon, das eine Verunreinigung mit Rf = 0,36 enthält. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{max} 2240, 1725 (breit) cm^{-1} . UV.-Absorptionsspektrum: λ_{max} 236 nm ($\log \epsilon = 3,78$). NMR.-Spektrum (60 MHz): $\delta = 0,75\text{--}1,00$ (b, 6H), $\delta = 1,11$ ppm (d, J = 7 Hz, 3H), $\delta = 1,12$ ppm (d, J = 6,5 Hz, 3H), $\delta = 3,48$ ppm (s, 2H), $\delta = 3,66$ ppm (s, 3H), $\delta = 3,72$ ppm (s, 3H). Signale von weiteren ca. 27 Protonen liegen in nicht aufgelösten Signalhaufen zwischen $\delta = 1,1$ und 3,6 ppm. Das Triketon gibt mit methanolischer Eisen(III)-chlorid-Lösung eine grauviolette Farbreaktion. Die Jodoformreaktion ist positiv.

Diketon XII. Zu 287 mg Tetrahydroborrelidin-methylester (VII) in 10 ml oxydationsbeständigem Aceton wurde rasch bei Zimmertemperatur 0,7 ml einer 7N Chrom(VI)-oxid-Lösung in 30-proz. Schwefelsäure getropft. Nach 1 Min. wurde in Benzol aufgenommen und mehrmals mit Wasser ausgeschüttelt. Die getrocknete Benzollösung gab beim Einengen 265 mg rohes Diketon. Bei der chromatographischen Reinigung an 20 g Kieselgel erhielt man 244 mg einheitliches Produkt. DS in Chlf.-Äthylacetat 9:1; Rf = 0,91 gegenüber 0,16 für Tetrahydroborrelidin-methylester und 0,07 für Borrelidin-methylester. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äther-Petroläther feine farblose Nadelchen vom Smp. 97–98°. Mit Eisen(III)-chlorid in Methanol braunviolette Farbreaktion. IR.-Absorptionsspektrum (M21): ν_{max} 2250, 1730, 1710 cm^{-1} ; (IC in Chlf.): keine Bande im ν (OH)-Gebiet. UV.-Absorptionsspektrum: λ_{max} 234 nm ($\log \epsilon = 3,70$). NMR.-Spektrum (60 MHz): $\delta = 0,7\text{--}1,0$ ppm (*b*, 6H), $\delta = 1,12$ ppm (*d*, $J = 7$ Hz, 3H), $\delta = 1,17$ ppm (*d*, $J = 7$ Hz, 3H), $\delta = 3,45$ ppm (*AB*-Signalgruppe, $J_{A,B} = 15$ Hz, 2H), $\delta = 3,66$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 4,90$ ppm (*m*, 1H). Die Signale von weiteren ca. 27H liegen in mehreren Signalhaufen zwischen $\delta = 1,10$ und 4,20 ppm.

$\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{ON}_6$ Ber. C 69,15 H 9,01 N 2,78% Gef. C 69,30 H 8,86 N 2,98%

Oxydativer Abbau von Borrelidin-methylester (III) mit Salpetersäure. 1,0 g III wurde in 70 ml konz. Salpetersäure-Wasser (1:1) 5 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand in Äther gelöst und mit Diazomethan bei 0° verestert. Das Produkt wurde im Vakuum bei 80–190° Badtemperatur destilliert und gab 566 mg Estergemisch als farblose Flüssigkeit. Eine gas-chromatographische Analyse zeigte die Anwesenheit von ca. 6 Komponenten, die zusammen ca. 91% ausmachen (s. Tabelle 2). Der Rest von ca. 9% verteilt sich auf leichtflüchtige Komponenten mit Retentionszeiten unter 3 Min. und eine Spurenkomponente mit Retentionszeit ca. 7 Min. 30 Sek., die von Glutarsäure-dimethylester nur unvollständig abgetrennt wurde.

Tabelle 2. *Gas-Chromatographie der Methylester aus dem Salpetersäure-Abbau*
Kolonne: Apiezon I., 210°; He-Strom ca. 30 ml/Min.

Ester Nr.	Retentionszeit	rel. Menge	identifiziert als
1	4 Min. 45 Sek.	4%	Bernsteinsäure-dimethylester (XVIII)
2	6 Min. 15 Sek.	9%	Glutarsäure-dimethylester (XVII)
3	11 Min. 30 Sek.	30%	<i>trans</i> -Cyclopentan-1,2-dicarbonsäure-dimethylester (XVI)
4	15 Min. 48 Sek.	16%	Dimethylester XIV
5	23 Min. 20 Sek.	14%	Dimethylester XIII
6	35 Min. 20 Sek.	18%	nicht identifiziert, wahrscheinlich XV

810 mg Estergemisch wurden unter den Bedingungen der Tabelle 2 in Portionen à ca. 100 mg präparativ durch Gas-Chromatographie aufgetrennt. Die aufgefangenen Fraktionen wurden anschliessend im Vakuum (11 Torr.) destilliert und erwiesen sich bei der gas-chromatographischen Kontrolle als einheitlich. Einzig die Glutarsäureester-Fraktion enthielt ca. 3% Verunreinigungen.

Bernsteinsäure-dimethylester (XVIII). Ausbeute 10 mg; durch Vergleich mit einem authentischen Präparat (IR.-Absorptionsspektrum, Gas-Chromatographie) identifiziert. Im Massenspektrum waren u. a. folgende Hauptpeaks zu erkennen (in Klammer die rel. Intensitäten): *m/e* 129 (7%), 115 (100%, *M-31*), 101 (5%), 87 (23%, *M-59*). Mol.-Gew. ber. 146.

Glutarsäure-dimethylester (XVII). Ausbeute 34 mg; durch IR.-Absorptionsspektrum und Gas-Chromatographie identifiziert. Vom isomeren Methylbernsteinsäure-dimethylester ist er nach beiden Methoden leicht zu unterscheiden. Massenspektrum u. a. *m/e* 129 (61%, *M-31*), 101 (52%, *M-59*), 100 (68%), 87 (22%), 85 (73%), 59 (100%). Mol.-Gew. ber. 160.

trans-Cyclopentan-1,2-dicarbonsäure-dimethylester (XVI). Ausbeute 138 mg. NMR.-Spektrum (60 MHz) s. Fig. 3. Massenspektrum u. a. *m/e* 186 (5%, *M*), 155 (73%, *M-31*), 127 (47%, *M-59*), 126 (55%), 113 (50%), 100 (40%), 95 (100%). Mol.-Gew. ber. 186.

Zum Vergleich wurden nach bekannten Methoden die 4 isomeren Cyclopentan-dicarbonsäuren und ihre Methylester hergestellt: *cis*- und *trans*-Cyclopentan-1,2-dicarbonsäure nach BAILEY &

SORENSEN [12]; *cis*- und *trans*-Cyclopentan-1,3-dicarbonsäure nach BIRCH, OLDHAM & JOHNSON [13]. Die Dimethylester zeigten bei der Gas-Chromatographie (Bedingungen ähnlich wie in Tabelle 2) folgende Retentionszeiten: *trans*-Cyclopentan-1,2-dicarbonsäureester 12 Min. 20 Sek., *cis*-Cyclopentan-1,2-dicarbonsäureester 14 Min. 30 Sek., *trans*-Cyclopentan-1,3-dicarbonsäureester 15 Min. 45 Sek. und *cis*-Cyclopentan-1,3-dicarbonsäureester 16 Min. 20 Sek. Die IR.-Absorptionsspektren der 4 Isomeren sind ziemlich ähnlich. Dagegen bildet die ausgeprägte Feinstruktur der CH- und CH₂-Signale im NMR.-Spektrum ein ausgezeichnetes Unterscheidungsmerkmal für die 4 Ester.

Das Abbauprodukt aus Borrelidin stimmt in allen Merkmalen mit dem *trans*-Cyclopentan-1,2-dicarbonsäure-dimethylester überein.

2,4,6-Trimethylheptandisäure-dimethylester (XIV). Ausbeute 55 mg. Massenspektrum u. a. *m/e* 199 (15%, *M*-31), 171 (10%, *M*-59), 166 (8%), 143 (73%, Fragmentierung zwischen α - und β -C-Atom), 139 (12%), 129 (8%, Fragmentierung zwischen β - und γ -C-Atom), 111 (52%), 101 (12%, Fragmentierung zwischen β - und γ -C-Atom), 88 (100%, McLAFFERTY-Umlagerung), 87 (11%, Fragmentierung zwischen α - und β -C-Atom), kein Pik bei *m/e* 115. NMR.-Spektrum (60 MHz) s. Fig. 4. IR.-Absorptionsspektrum (IC in CHCl₃): ν_{max} 1730 cm, keine ν (OH)-Bande.

C₁₂H₂₂O₄ Ber. C 62,88 H 9,63% Gef. C 62,10 H 9,75%

2,4,6-Trimethyloctandisäure-dimethylester (XIII). Ausbeute 37 mg. Massenspektrum u. a. *m/e* 213 (11%, *M*-31), 185 (10%, *M*-59), 180 (9%), 171 (44%, Fragmentierung zwischen C-6 und C-7), 157 (49%, Fragmentierung zwischen C-2 und C-3), 143 (8%, Fragmentierung zwischen C-3 und C-4 bzw. zwischen C-5 und C-6), 139 (29%), 129 (9%, Fragmentierung zwischen C-4 und C-5), 125 (30%), 115 (5%, Fragmentierung zwischen C-4 und C-5), 111 (77%), 101 (25%, Fragmentierung zwischen C-3 und C-4 bzw. zwischen C-5 und C-6), 88 (86%, McLAFFERTY-Umlagerung), 87 (11%, Fragmentierung zwischen C-2 und C-3), 83 (77%), 74 (16%, McLAFFERTY-Umlagerung unter Spaltung der Bindung zwischen C-6 und C-7), 73 (22%, Fragmentierung zwischen C-6 und C-7), 69 (100%). NMR.-Spektrum (60 MHz): δ = 0,8–1,0 ppm (*b*, 6H), δ = 1,15 ppm (*d*, *J* = 6,7 Hz, 3H), δ = 3,69 ppm (*s*, 6H). Die Signale von weiteren ca. 9 Protonen liegen in breiten Signalhaufen zwischen δ = 1,1 und 3,5 ppm. IR.-Absorptionsspektrum (IC in Chlf.): ν_{max} 1725 cm⁻¹, keine (OH)-Bande.

Der Ester XV liess sich wegen der sehr schleppenden Elution bei der Gas-Chromatographie unter den angewandten Bedingungen nicht präparativ gewinnen.

Ozon-Abbau von Borrelidin-methylester. In eine Lösung von 1,0 g Borrelidin-methylester in 200 ml Methylenchlorid wurde bei ca. –70° ein ozonhaltiger Sauerstoffstrom bis zur bleibenden Blaufärbung eingeleitet. Darauf wurde das Lösungsmittel im Vakuum abgetrieben, der Rückstand in 150 ml Eisessig gelöst und mit 10 ml Wasser, 20 ml 30-proz. Wasserstoffsuperoxid und 10 Tropfen konz. Salzsäure versetzt. Nach 15 std. Stehen bei Zimmertemperatur wurde erneut im Vakuum eingedampft und der Rückstand in Äthylacetat gelöst. Darauf wurde mehrmals mit Natriumhydrogencarbonat ausgeschüttelt, die Auszüge mit Salzsäure angesäuert und wieder mit Äthylacetat extrahiert. Die mit Wasser gewaschene und mit Natriumsulfat getrocknete Lösung gab beim Eindampfen 560 mg Säuregemisch, das mit ätherischer Diazomethanolösung verestert wurde. Chromatographie an 50 g Kieselgel gab bei der Elution mit Chloroform-Äthylacetat 8:2 zuerst eine Fraktion von 47 mg, die im IR.-Absorptionsspektrum noch eine starke Nitril-Bande bei 2220 cm⁻¹ zeigte. Die nachfolgenden Fraktionen mit insgesamt 277 mg Substanz zeigten die Nitrilbande nicht mehr und bestanden hauptsächlich aus dem Ester XXI. Die mit Chlf.-Äthylacetat 1:1 eluierten Fraktionen gaben 132 mg des Esters XIX.

Trimethylester XXI. Die diesem Ester entsprechenden 277 mg aus dem obigen Chromatogramm wurden erneut an 20 g Kieselgel gereinigt. Die ersten mit CHCl₃-Äthylacetat 9:1 eluierten Fraktionen (35 mg) zeigten noch schwach die IR.-Absorptionsbande bei 2220 cm⁻¹. Die späteren Fraktionen gaben 160 mg reinen Trimethylester XXI als farbloses dickflüssiges Öl, das nicht kristallisiert werden konnte. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{max} 3500, 1720 cm⁻¹. NMR.-Spektrum (60 MHz): δ = 0,8–1,0 ppm (*b*, 9H), δ = 1,13 ppm (*d*, *J* = 6,5 Hz, 3H), δ = 1,1–2,0 ppm (*b*, ca. 15H), δ = 2,3–3,1 ppm (*b*, ca. 8H), δ = 3,72 ppm (*s*, 9H), δ = 3,99 ppm (*m*, 1H), δ = 5,27 ppm (*m*, 1H).

Acetylderivat XXII. 134 mg Ester XXI wurden mit je 1 ml Essigsäureanhydrid und Pyridin bei Zimmertemperatur während 20 Std. acetyliert. Der Eindampfrückstand wurde an 10 g Kiesel-

gel gereinigt und gab mit Chlf.-Äthylacetat 9:1 als Eluierungsmittel 127 mg einheitliches Acetylderivat als farblose Flüssigkeit, die nicht unzersetzt destilliert werden konnte. Massenspektrum u. a. *m/e* 556 (*M*, sehr geringe Intensität), 525 (*M*-31). Für $C_{20}H_{48}O_{10}$ Mol.-Gew. ber. 556. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{max} 1730 cm^{-1} , keine OH-Bande. NMR.-Spektrum (60 MHz): $\delta = 0,75-1,0$ ppm (*b*, 9H), $\delta = 1,12$ ppm (*d*, $J = 6,5$ Hz, 3H), $\delta = 1,1-2,1$ ppm (*b*, ca. 15H), $\delta = 2,03$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 2,4-2,7$ ppm (stark strukturierter Signalhaufen, ca. 7H), $\delta = 3,66$ ppm (*s*, 6H), $\delta = 3,68$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 5,0-5,4$ ppm (*b*, 2H).

Trimethylester XIX. Die dem Ester XIX entsprechenden 132 mg aus dem Ozonabbau (*s. oben*) waren chromatographisch einheitlich und bildeten ein nicht kristallisierbares farbloses Öl. Keine Absorptionsbande im UV. oberhalb 210 nm. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{max} 3500, 1725 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (60 MHz): $\delta = 0,7-0,95$ ppm (*b*, 12H), $\delta = 1,0-2,25$ ppm (*b*, ca. 17H), $\delta = 2,25-2,85$ ppm (*b*, ca. 7H), $\delta = 3,68$ ppm (*s*, 6H), $\delta = 3,79$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 3,8-4,2$ ppm (*b*, 2H), $\delta = 5,22$ ppm (*m*, 1H).

Acetylderivat XX. 65 mg Ester XIX wurden mit je 1 ml Essigsäureanhydrid und Pyridin über Nacht bei 20° acetyliert und der Eindampfrückstand an 7 g Kieselgel chromatographiert. Das mit Chlf.-Äthylacetat 9:1 erhaltene Eluat, 52 mg, war einheitlich. Massenspektrum u. a. *m/e* 628 (*M*, schwach), 597 (*M*-31), 569 (*M*-59), 568 (*M*-60). Für $C_{32}H_{52}O_{12}$ Mol.-Gew. ber. 628. NMR.-Spektrum (60 MHz): $\delta = 0,7-1,0$ ppm (*b*, 12H), $\delta = 1,0-2,2$ ppm (*b*, ca. 17H), $\delta = 2,04$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 2,14$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 2,4-2,7$ ppm (stark strukturierter Signalhaufen, ca. 5H), $\delta = 3,67$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 3,69$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 3,75$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 4,92$ ppm (*d*, $J = 3,5$ Hz, 1H), $\delta = 5,0-5,4$ ppm (*b*, 2H).

Alkalische Spaltung des Esters XXII. 120 mg des Acetoxy-trimethylesters XXII wurden in 30 ml methanolischer 2*N* Natronlauge 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Reaktionslösung wurde mit Wasser verdünnt und nach Waschen mit Äther angesäuert. Durch Ausschütteln mit Äther wurden 110 mg rohe Säuren erhalten, die man mit Diazomethan verestert. Durch Chromatographie an 14 g Kieselgel wurden mit $CHCl_3$ -Äthylacetat 8:2 folgende Fraktionen erhalten: 47 mg Dimethylester XXIII, 6 mg Mischfraktion und 44 mg Dimethylester XXVI. Geringe Mengen von Nebenprodukten wurden mit $CHCl_3$ -Äthylacetat 1:1 eluiert.

β -(2-Methoxycarbonyl-cyclopentyl)-acrylsäure-methylester (XXIII). Das leichter eluierbare Produkt aus dem obigen Chromatogramm destillierte bei 75–80° Badtemperatur/0,015 Torr. als farblose Flüssigkeit. Massenspektrum u. a. *m/e* 212 (2,5%, *M*), 194 (14%, *M*-31), 180 (78%), 163 (100%), 153 (33%, *M*-59), 152 (92%). $C_{11}H_{16}O_4$ Mol.-Gew. ber. 212. UV.-Absorptionsspektrum: λ_{max} 220 nm ($\log \epsilon = 3,84$). IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{max} 1730, 1660 cm^{-1} , keine ν (OH)-Bande. NMR.-Spektrum (60 MHz) *s. Fig. 5*.

2,4,6,8-Tetramethyl-9-acetoxy-undecandisäure-dimethylester (XXVII). Das schwerer eluierbare Produkt der Alkalisplaltung, 44 mg Dimethylester XXVI, war ein farbloses zähflüssiges Öl und wurde direkt mit 1 ml Essigsäureanhydrid-Pyridingemisch (1:1) 6 Std. lang bei 20° acetyliert. Der Eindampfrückstand wurde an 5 g Kieselgel chromatographiert. Mit Chlf.-Äthylacetat 9:1 wurden 45 mg einheitliches Acetylierungsprodukt XXVII als farblose Flüssigkeit erhalten und bei 0,02 Torr und 120–125° Badtemperatur destilliert. Massenspektrum u. a. *m/e* 358 (0,3%, *M*), 327 (2%, *M*-31), 299 (0,5%, *M*-59), 298 (1,5%, *M*-60), 271 (8,5%, *M*-87, Fragmentierung zwischen C-2 und C-3), 88 (46%, McLAFFERTY-Umlagerung unter Spaltung zwischen C-2 und C-3). $C_{19}H_{34}O_6$ Mol.-Gew. ber. 358. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{max} 1730 cm^{-1} , keine (OH)-Bande. NMR.-Spektrum (60 MHz): $\delta = 0,75-1,0$ ppm (*b*, 9H), $\delta = 1,13$ ppm (*d*, $J = 7$ Hz, 3H), $\delta = 1,1-2,0$ ppm (*b*, 9H), $\delta = 2,02$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 2,54$ ppm (*d*, $J = 6$ Hz, 1H), $\delta = 2,55$ ppm (*d*, $J = 7$ Hz, 1H), $\delta = 2,3-2,6$ ppm (*m*, 1H), $\delta = 3,67$ ppm (*s*, 6H), $\delta = 5,21$ ppm (*dt*, $J_d = 3,3$ Hz, $J_t = 6,5$ Hz, 1H).

Alkalische Spaltung des Esters XX; 2,10-Dihydroxy-3,5,7,9-tetramethyldodecandisäure-dimethylester (XXIV). 241 mg XX wurden mit 90 ml methanolischer 2*N* Natronlauge 4 Std. unter Rückfluss hydrolysiert. Nach Verdünnen mit Wasser wurden mittels Äther 10 mg neutrale Nebenprodukte entfernt. Nach dem Ansäuern der wäss. Phase liessen sich mit Äther 180 mg rohe Säuren extrahieren, die mit ätherischer Diazomethanlösung 198 mg Methylestergemisch lieferten. An einer Säule aus 20 g Kieselgel wurden mit $CHCl_3$ -Äthylacetat 9:1 zunächst 53 mg reiner Dimethylester XXIII eluiert, der nach Destillation im Vakuum durch das NMR.-Spektrum (*s. Fig. 5*) identifiziert wurde. Er war identisch mit dem aus dem Ester XXII erhaltenen Produkt

(s. oben). Weitere 35 mg mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch eluierte Fraktionen enthielten den Ester XXIII neben einer nicht identifizierten Verunreinigung.

CHCl_3 -Äthylacetat 1:1 eluierte 72 mg Dimethylester XXIV als farbloses dickflüssiges Öl. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{\max} 3540, 1725 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (60 MHz): $\delta = 0,75\text{--}0,95$ ppm (stark strukturierter Signalhaufen, 12H), $\delta = 1,0\text{--}2,2$ ppm (*b*, ca. 10H), $\delta = 2,44$ ppm (*d*, $J = 5,5$ Hz, 1H), $\delta = 2,46$ ppm (*d*, $J = 7$ Hz, 1H), $\delta = 2,5\text{--}2,9$ ppm (*b*, 2H), $\delta = 3,72$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 3,79$ ppm (*s*, 3H), $\delta = 3,8\text{--}4,2$ ppm (*b*, 2H).

Acetylderivat XXV. 72 mg Dihydroxyester XXIV wurden mit Essigsäureanhydrid und Pyridin acetyliert und das Derivat an 8 g Kieselgel chromatographiert. Mit CHCl_3 -Äthylacetat 9:1 erhielt man 65 mg einheitliches Acetylierungsprodukt als farblose Flüssigkeit. Massenspektrum u. a. *m/e* 399 (0,3%, *M*-31), 388 (0,8%), 371 (2,5%, *M*-59). $\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{O}_8$ Mol.-Gew. ber. 430. IR.-Absorptionsspektrum (IC): ν_{\max} 1740 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (60 MHz) s. Fig. 6. Spin-Entkopplung (100 MHz): Einstrahlung entsprechend $\delta = 5,2$ ppm: die beiden beinahe zusammenfallenden Dublette bei $\delta = 2,55$ ppm werden zu einem etwas verbreiterten Singulett. Einstrahlung entsprechend $\delta = 2,55$ ppm: Das Doppeltriplett bei $\delta = 5,2$ ppm wird zu einem Dublett ($J = 3,5$ Hz).

Die Mikroanalysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung Herr W. MANSER) ausgeführt. Für die Mitarbeit bei zahlreichen Experimenten bin ich Herrn R. GARTMANN zu Dank verpflichtet.

SUMMARY

By means of chemical degradation, n.m.r. and mass spectrometry structure II has been determined for the antibiotic *borrelidin*.

Laboratorium für organische Chemie
der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 54. Mitteilung: M. BRUFANI & W. KELLER-SCHIERLEIN, *Helv.* 49, 1962 (1966).
- [2] J. BERGER, L. M. JAMPOLSKY & M. W. GOLDBERG, *Arch. Biochemistry Biophysics* 22, 476 (1949).
- [3] M. LUMB, P. E. MACEY, J. SPYVEE, J. M. WHITMARSH & R. D. WRIGHT, *Nature* 206, 263 (1965).
- [4] K. ANDERTON & R. W. RICKARDS, *Nature* 206, 269 (1965).
- [5] R. HÜTTER, K. PORALLA, H. G. ZACHAU & H. ZÄHNER, *Biochem. Z.* 344, 190 (1966).
- [6] W. KELLER-SCHIERLEIN, *Experientia* 22, 355 (1966).
- [7] A. SUZUKI, N. TAKAHASHI & S. TAMURA, *Agr. biol. Chemistry (Tokyo)* 30, 18 (1966).
- [8] H. GRISEBACH, H. ACHENBACH & W. HOFHEINZ, *Z. Naturforsch.* 15b, 560 (1960); H. GRISEBACH, W. HOFHEINZ & H. ACHENBACH, *ibid.* 17b, 64 (1962).
- [9] A. J. BIRCH, C. DJERASSI, J. D. DUTCHER, J. MAJER, D. PERLMAN, E. PRIDE, R. W. RICKARDS & P. J. THOMSON, *J. chem. Soc.* 1964, 5274.
- [10] R. B. WOODWARD, *Angew. Chem.* 69, 50 (1957).
- [11] H. P. SIGG, *Helv.* 47, 1401 (1964).
- [12] W. J. BAILEY & W. R. SORENSON, *J. Amer. chem. Soc.* 76, 5421 (1954); W. H. PERKIN, *J. chem. Soc.* 65, 572 (1894).
- [13] S. F. BIRCH, W. J. OLDHAM & E. A. JOHNSON, *J. chem. Soc.* 1947, 818.