

156. Isolierung und Strukturaufklärung von Ovalicin

von H. P. Sigg und H. P. Weber

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien, SANDOZ AG, Basel

(22. VI. 68)

Summary: The structure of ovalicin, a metabolite of the fungus *Pseudoeurotium ovalis* with immunosuppressive activity, has been determined to be **11**.

Aus dem Kulturfiltrat des Pilzes *Pseudoeurotium ovalis* STOLK¹⁾ (Ascomycet) haben wir durch Extraktion mit Äthylenchlorid und Chromatographie des Extraktes an Kieselgel als Hauptprodukt Ovalicin isoliert²⁾. Ovalicin zeigt eine interessante Aktivität als Immunsuppressivum, worüber an anderer Stelle berichtet wird [1]. Es ist ein optisch aktives Neutralprodukt ($[\alpha]_D^{20} = -117^\circ$) mit dem Schmelzpunkt 95–96° und besitzt auf Grund von Mikroanalyse und Massenspektrum die Summenformel $C_{16}H_{24}O_5$. Ovalicin absorbiert bei 285 nm ($\log \epsilon = 1,63$) und zeigt im IR. u. a. Banden bei 3500, 1735, 1110 cm^{-1} (vgl. Fig. 1). Konjugierte Systeme dürften auf Grund dieser Daten auszuschliessen sein, während die Bande bei 1735 cm^{-1} einer Ketonfunktion zugeordnet werden kann, was auch mit der UV.-Absorption vereinbar ist und durch Bildung eines kristallinen 2,4-Dinitrophenylhydrazons (im IR. u. a. Banden bei 3500, 3300, 1620, 1590, 1340 cm^{-1}) bestätigt werden konnte.

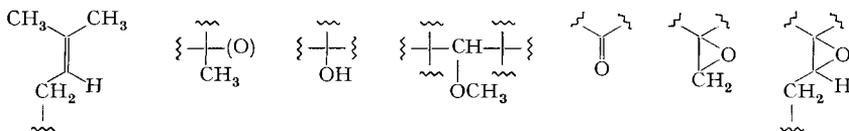
Das NMR.-Spektrum³⁾ von Ovalicin (vgl. Fig. 2) zeigt die Signale einer Isopropylidengruppe ($\delta = 1,68 D$ und $\delta = 1,77 D$, $J = 0,5$, sowie $\delta = 5,25 T$ mit Feinstruktur für ein Vinylproton), einer O-Methylgruppe ($\delta = 3,60 S$) und einer Methylgruppe ($\delta = 1,38 S$) die an einem wasserstofffreien Kohlenstoffatom, vermutlich mit Sauerstofffunktion, sitzt. Das Singulett bei $\delta = 3,18$ ist mit D_2O austauschbar und wird einer tertiären Hydroxylgruppe zugeordnet, da Ovalicin unter milden Bedingungen nicht acylierbar ist. Ein weiteres Singulett bei $\delta = 4,28$ wird der Methingruppe mit O-Methyl-Substitution zugeschrieben. Die beiden restlichen Sauerstoffatome müssen ätherartig gebunden sein: ein AB -Kopplungssystem bei $\delta = 2,75 D$ und $\delta = 3,12 D$ ($J_{AB} = 4,5$) ist typisch für ein geminal disubstituiertes Äthylenoxid [2]. Andererseits ist bei $\delta = 2,95$ der X -Teil ($J = 6 + 7$) eines ABX -Kopplungssystems erkennbar. Die chemische Verschiebung spricht für ein trisubstituiertes Epoxid [3] mit benachbarter Methylengruppe.

1) Die mikrobiologischen Arbeiten verdanken wir den Herren Dres. E. HÄRRI, CH. STOLL und G. POIREL.

2) Die Isolierung und Reinigung grösserer Mengen Ovalicin erfolgte unter der Leitung von Herrn P. FÜRGER.

3) Die chemischen Verschiebungen werden in δ -Werten (ppm relativ zu Tetramethylsilan, $\delta = 0$, als internem Standard) angegeben, die Kopplungskonstante J in Hz. S = Singulett, D = Dublett, T = Triplett, M = Multiplett. Wo nicht anders bemerkt, wurden die Spektren in $CDCl_3$ -Lösungen aufgenommen.

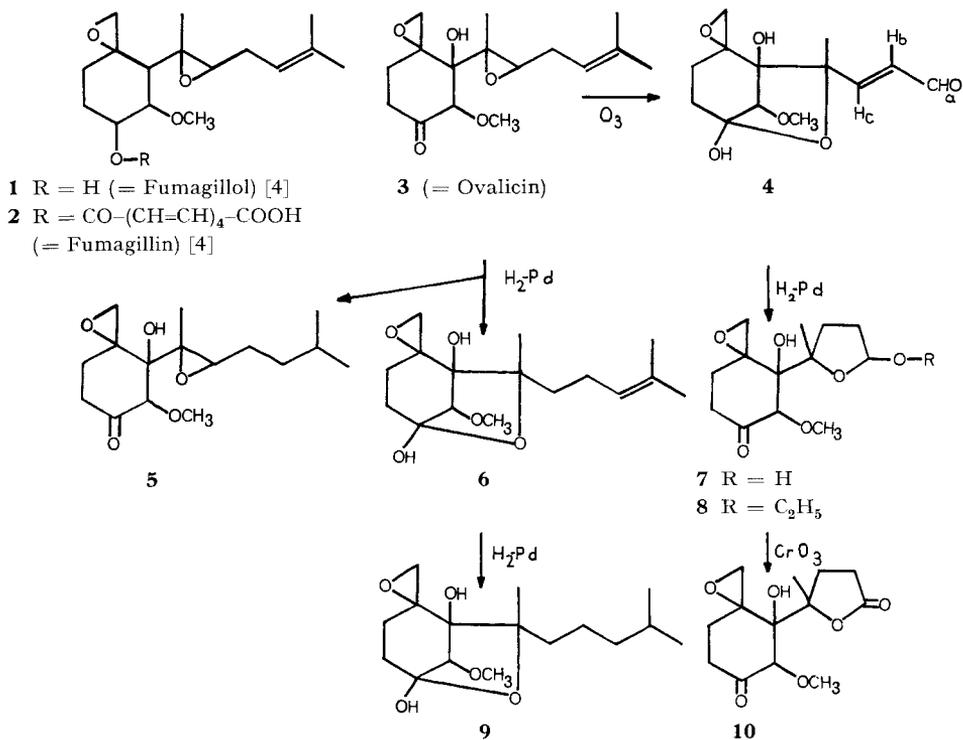
Die bisher beschriebenen Gruppierungen können wie folgt dargestellt werden:

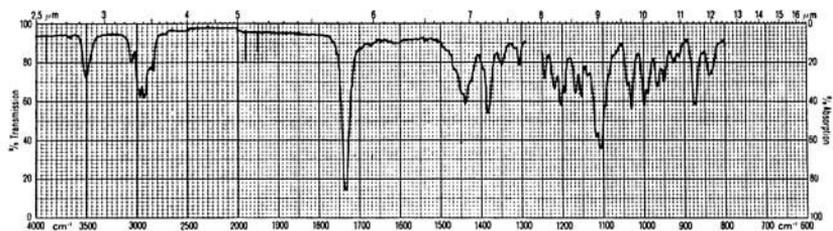
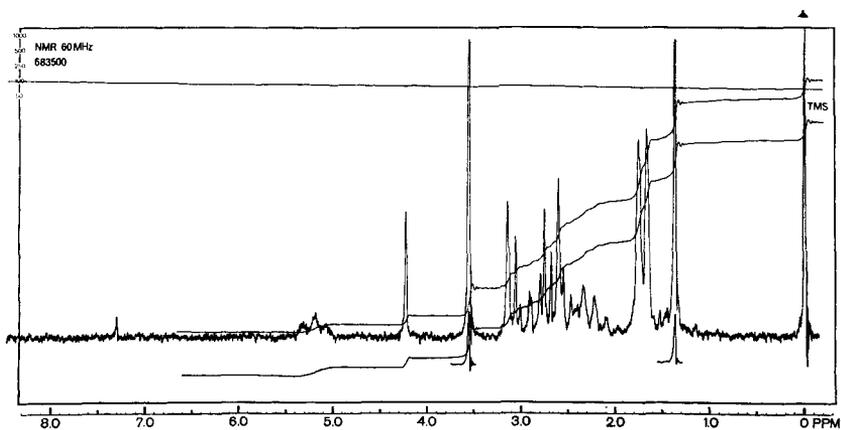
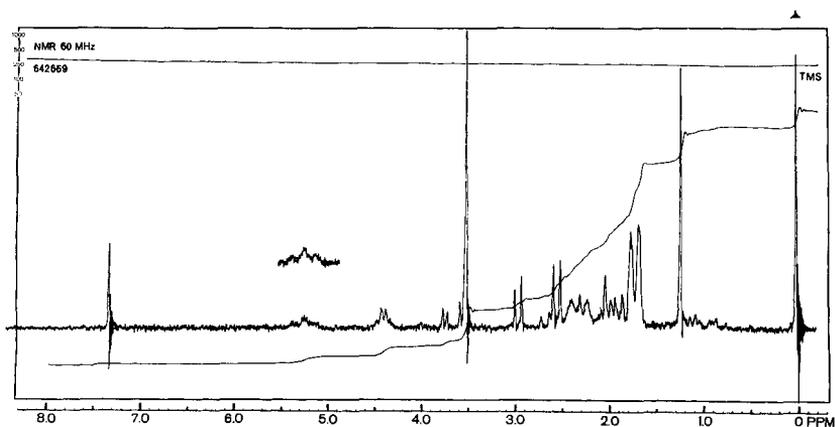


Nimmt man an, dass keine weiteren Doppelbindungen vorliegen, so muss Ovalicin auf Grund der Summenformel und der oben zusammengestellten Strukturmerkmale eine tricyclische Struktur aufweisen. Da alle Sauerstofffunktionen festgelegt worden sind, kommt neben den beiden Epoxiden nur noch ein carbocyclischer Ring in Frage.

Die Summenformel zusammen mit der Isopropylidengruppe, der Methylgruppe und einer potentiellen Methylgruppe (Äthylenoxid) erregten bald den Verdacht, dass wir es mit einem Sesquiterpen zu tun haben könnten. Ein Sesquiterpen mit analogen Strukturmerkmalen ist das Fumagillol (1), das Verseifungsprodukt des Pilzmetaboliten Fumagillin (2) [4]. Im NMR.-Spektrum von Fumagillol (vgl. Fig. 3) liegen die Signale der Isopropylidengruppe bei $\delta = 1,75$ mit einer Kopplungskonstante von ca. 0,5 cps und für das Vinylproton bei $\delta = 5,25$, für die O-Methylgruppe bei $\delta = 3,50$ und die Methylgruppe am Oxiranring bei $\delta = 1,22$. Das AB-Kopplungssystem der Methylengruppe des exocyclischen Oxiranringes gibt Signale bei $\delta = 2,55 D$ und $\delta = 2,95 D$, $J_{AB} = 4,5$ cps. Das hydroxylsubstituierte Methinproton gibt ein Multi-

Formelschema 1




 Fig. 1. IR.-Absorptionsspektrum von Ovalicin (**11**) in CH_2Cl_2

 Fig. 2. NMR.-Spektrum von Ovalicin (**11**) in CDCl_3

 Fig. 3. NMR.-Spektrum von Fumagillol (**1**) in CDCl_3

plett bei $\delta = 4,4$ und das methoxylsubstituierte Methinproton ein Signal bei $\delta = 3,66$ DD ($J = 3 + 11$). In Analogie zu Fumagillol und unter Berücksichtigung der Differenzen können wir für Ovalicin die Struktur **3** postulieren. Für das methoxylsubstituierte Methin in **3** ist im Vergleich zu **1** erwartungsgemäss ein Singulett bei tieferem Feld zu erwarten ($\delta = 4,28$). Die tertiäre Hydroxylgruppe dürfte für die Ver-

schiebung der Signale der Methylgruppe am Oxiranring (von $\delta = 1,22$ nach $\delta = 1,38$) und der Methylengruppe des zweiten Oxiranrings nach tieferem Feld verantwortlich sein.

Zur Sicherstellung der Struktur **3** für Ovalicin wurde vorerst die Seitenkette abgebaut. Die Ozonolyse mit reduktiver Aufarbeitung (Dimethylsulfid [5]) ergab erwartungsgemäss Aceton, das als 2,4-Dinitrophenylhydrazon identifiziert wurde, sowie einen α,β -ungesättigten Aldehyd $C_{13}H_{18}O_6$ ($\lambda_{max}^{CH_2OH} = 218$ nm ($\log \epsilon = 3,97$), Schulter bei 320 nm ($\log \epsilon = 1,79$); $\nu_{max}^{CH_2Cl_2} =$ u. a. 3600, 1690, 1630, 1020 cm^{-1} ; NMR. in Dimethylsulfoxid: $\delta = 9,63$ D ($J = 8, H_a$), $\delta = 6,40$ DD ($J = 8 + 15, H_b$), $\delta = 7,10$ D ($J = 15, H_c$)), dem wir Struktur **4** zuordnen möchten. Bei der Reduktion des Ozonids ist offensichtlich der β,γ -ständige Oxiranring unter Bildung einer Doppelbindung geöffnet worden und die Formulierung als Hemiketal folgt aus der Abwesenheit einer Carbonylaborption oberhalb 1700 cm^{-1} im IR.-Spektrum und der Resistenz gegen HJO_4 . Die Hydrierung von **4** mit Pd-Kohle in Äthanol gab das Hemiacetal **7** ($\nu_{max}^{CH_2Cl_2} =$ u. a. 3600, 1720, 1090, 1010 cm^{-1} , und im NMR. in DMSO ein Signal bei $\delta = 5,08$ M für das Proton der Acetalfunktion), sowie als Nebenprodukt den entsprechenden Äthyläther **8**, $C_{15}H_{24}O_6$. Nach Oxydation des Hemiacetals **7** mit Chromtrioxid konnte in guter Ausbeute das γ -Lacton **10**, $C_{13}H_{18}O_6$ ($\nu_{max}^{CH_2Cl_2} =$ u. a. 3550, 1780, 1720, 1090 cm^{-1}), isoliert werden. Bei der katalytischen Hydrierung von **3** wird neben Dihydro-ovalicin (**5**) das Hemiketal **6** erhalten, das zu **9**, $C_{16}H_{28}O_5$ ($\nu_{max}^{CH_2Cl_2} =$ u. a. 3600, 3500, 1090, 1060 cm^{-1}), weiterhydriert werden kann.

Weitere Beweise für die Struktur und Stereochemie ergaben die folgenden Reaktionen: Behandlung von Ovalicin (**3** bzw. **11**) (der besseren Verständlichkeit wegen haben wir in **11** die noch abzuleitende Stereochemie vorweggenommen) mit HBr-Eisessig führt zu einem sehr komplexen Substanzgemisch, aus dem in geringer Ausbeute als einziges einheitliches Produkt **12**, $C_{16}H_{25}BrO_5$, isoliert werden konnte. Im NMR.-Spektrum von **12** fallen beim Vergleich mit demjenigen von Ovalicin sofort folgende Veränderungen auf: Die Signale der Dimethylgruppe und der Methylgruppe sind nach höherem Feld (drei Singulette bei ca. 1,2 ppm) verschoben, und das AB -Kopplungssystem der exocyclischen Oxirangruppe ist verschwunden. Dafür ist eines bei $\delta = 3,5$ D und $\delta = 4,25$ D ($J_{AB} = 11,5$) sichtbar. Das Dublett bei $\delta = 4,25$ weist zudem eine Feinaufspaltung auf, welche auf einer Weitbereichskopplung beruhen dürfte. Ein Singulett bei $\delta = 5,0$ konnte vorerst nicht zugeordnet werden. Eine röntgenographische Analyse ergab für dieses Produkt die Struktur **12**, dessen absolute Konfiguration auf Grund der anomalen Dispersion von Brom bestimmt wurde. Das asymmetrische Zentrum mit dem tertiären Alkohol hat [*R*]-Chiralität und dasjenige mit der Methoxylgruppe [*S*]-Chiralität. Fig. 4 zeigt **12** in der absoluten Konfiguration (die Analyse ist im experimentellen Teil beschrieben). Bei der Entstehung von **12** ist eine Umlagerung der Kohlenstoffkette beteiligt, die formal über **A** und **B** ablaufen könnte. Die NMR.-Daten lassen sich nun zwanglos interpretieren, insbesondere kann das Singulett bei $\delta = 5,0$ dem Proton der Acetalgruppe zugeordnet werden und das AB -Kopplungssystem bei $\delta = 3,5$ und $4,25$ der Methylenbromidgruppe. Mit den absoluten Konfigurationen der Methoxyl- bzw. Hydroxylgruppe von **11** sind auch der positive COTTON-Effekt im Zirkulardichroismus bzw. in der Rotationsdispersion vereinbar. Auf Grund der relativ hohen $\nu_{C=O}$ -Schwingung (1735 cm^{-1}) und der Ab-

wesenheit einer bathochromen Verschiebung im UV. (285 nm), dürfte man für die Methoxylgruppe eine äquatoriale Konfiguration annehmen. Zusammen mit der relativen Konfiguration der Seitenkette muss in der Tat ein positiver COTTON-Effekt erwartet werden.

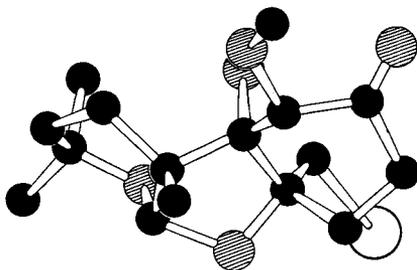


Fig. 4. *Parallelperspektive Ansicht von 12*

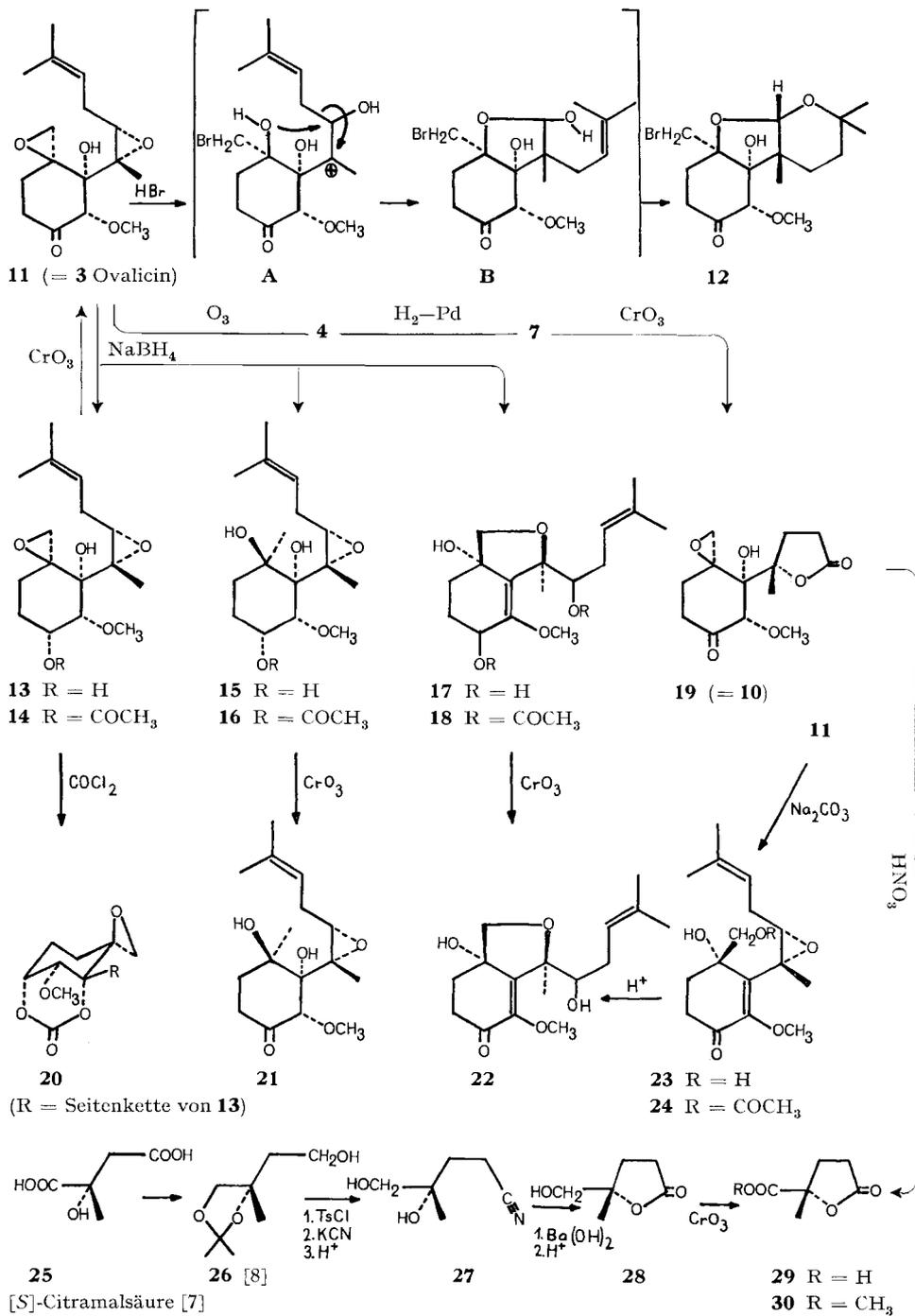
● Kohlenstoff; ● Sauerstoff; ○ Brom

Dass die tertiäre Hydroxylgruppe bei der Reaktion mit HBr keine Konfigurationsveränderung erfahren hat, konnte durch folgende Reaktion bewiesen werden:

Reduktion von Ovalicin (**11**) mit NaBH_4 in 80-proz. Dioxan gab ein Gemisch, aus dem durch sorgfältige Chromatographie der Alkohol **13** als Hauptprodukt isoliert werden konnte. **13** liess sich mit Chromtrioxid zu **11** rückoxydieren und gab mit Acetanhydrid das Monoacetat **14** (NMR.: $\delta = 3,66 D$ ($J = 3,5$ >CH-OCH_3), $\delta = 5,6 M$ (>CH-OAc)). Eine Konfigurationsbestimmung mit α -Phenylbuttersäureanhydrid nach der Methode von HOREAU [6] ergab für den sekundären Alkohol [*R*]-Chiralität. Beim Umsatz von **13** mit Phosgen in Pyridin entstand als Hauptprodukt das cyclische Carbonat **20**, $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_6$ ($\nu_{\text{max}}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$ u. a. 1750, 1150, 1110, 1040, 970 cm^{-1} ; NMR.: u. a. $\delta = 3,90 D$ ($J = 2$, >CH-OCH_3)), womit die *cis*-Stellung der beiden Hydroxyle und auch die absolute Konfiguration des tertiären Hydroxyls bewiesen wäre. Als Nebenprodukt aus der NaBH_4 -Reduktion konnte das Tetrahydroderivat **15** (NMR. u. a. $\delta = 1,28 S$ (CH_3), $\delta = 1,50 S$ (>CH-OH) und $\delta = 3,63 D$ ($J = 3$, >CH-OMe))

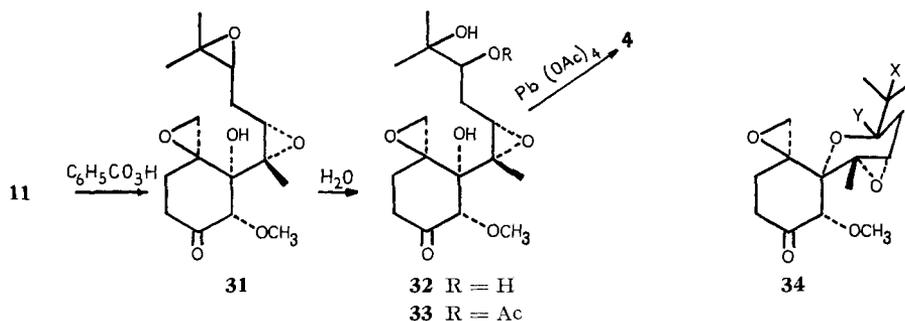
gefasst werden, das sich mit Acetanhydrid zum Monoacetat **16** und mit Chromtrioxid zum Keton **21** ($\nu_{\text{max}}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$ u. a. 3650, 3550, 1730, 1060 cm^{-1}) umsetzen liess. Für die sekundäre Hydroxylgruppe in **15** haben wir nach der Methode von HOREAU ebenfalls [*R*]-Chiralität ableiten können. Einem zweiten Nebenprodukt bei der NaBH_4 -Reduktion ordnen wir Struktur **17**, $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_5$, auf Grund der folgenden Daten und Reaktionen zu: Oxydation mit CrO_3 gibt ein α,β -ungesättigtes Keton **22** ($\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{OH}} = 259 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 3,80$) und 330 nm ($\log \epsilon = 2,10$), $\nu_{\text{max}}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$ u. a. 3600, 3400, 1680, 1650 cm^{-1}) und Acetylierung führt zum Diacetat **18**. Das *AB*-Kopplungssystem des Tetrahydrofuranringes in **22** gibt Signale bei $\delta = 3,7 D$ und $\delta = 4,1 D$ ($J = 9,5$). **22** konnte auch auf direktem Weg aus Ovalicin erhalten werden: Behandlung von **11** mit Na_2CO_3 in Aceton gab das ungesättigte Keton **23** ($\lambda_{\text{max}} = 256 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 3,92$) und 320 nm ($\log \epsilon = 2,04$), $\nu_{\text{max}}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$: 3600, 3400, 1680, 1650 cm^{-1}). Aus diesem erhält man mit Acetanhydrid-Pyridin das Monoacetat **24** und beim Erwärmen in Eisessig Keton **22**.

Formelschema 2



Die absolute Konfiguration der Methylgruppe von Ovalicin (**11**) konnte durch Abbau sichergestellt werden. Oxydation des γ -Lactons **19** (= **10**) mit HNO_3 führte zu einem Gemisch von Säuren, aus dem nach mehrfacher Chromatographie und Methylierung in geringer Ausbeute (+)- α -Methyl- α -hydroxy-glutarsäure- γ -lacton-methylester **30** ($\nu_{\text{max}}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$ u. a. 1780, 1740 cm^{-1}) isoliert werden konnte. Durch Überführung von [S]-Citramalsäure (**25**) [7] via Acetonid **26** [8], Nitril **27** und γ -Lacton **28** in (+)- α -Methyl- α -Hydroxyglutarsäurelacton-methylester **30** konnte die Chiralität des methylsubstituierten Kohlenstoffs in **19** bzw. Ovalicin (**11**) als [S] bewiesen werden. Für die *cis*-Geometrie des Oxiranringes der Seitenkette sprechen folgende Beobachtungen:

Formelschema 3



Oxydation von Ovalicin (**11**) mit *m*-Chlorperbenzoesäure in Chloroform ergibt in guter Ausbeute das Tris-epoxid **31**. Dieses wird bei der Suspension in Wasser innert weniger Minuten zum wasserlöslichen Triol **32** umgesetzt. Dessen Struktur geht einerseits aus der Bildung eines Monoacetats **33** und andererseits aus der Bildung von **4** nach Glykolspaltung mit $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ hervor. Diese enorm schnelle und selektive Aufspaltung des einen Epoxidringes können wir uns nur durch einen anchimeren Effekt der tertiären Hydroxylgruppe erklären, was nur bei einer *cis*-Anordnung möglich ist. Durch Versuche mit H_2^{18}O konnte gezeigt werden, dass die eintretende Hydroxylgruppe den Kohlenstoff mit der Dimethylgruppe substituiert. Der strenge Beweis für die Geometrie des Oxiranringes in der Seitenkette muss einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben. Alle Versuche zur Schliessung eines weiteren Sechseringes wie in **34** blieben bisher erfolglos.

Experimenteller Teil

unter Mitarbeit von A. Tóth

Allgemeines. Die Smp. wurden im Röhrchen bestimmt und sind nicht korrigiert. *Substanzproben* wurden 2 Std. bei Zimmertemperatur im Hochvakuum getrocknet. Für die Analysen wurden die Substanzen bei der jeweils angegebenen Temperatur und Zeitdauer bei 0,01 Torr getrocknet. – Die *IR.-Spektren* wurden mit einem PERKIN-ELMER-IR-Zweistrahlenspektrophotometer, Modell 21 (NaCl-Optik), bzw. mit einem UNICAM SP. 200, die *UV.-Spektren* mit einem BECKMAN-Spektrophotometer, Modell DK 2, die *NMR.-Spektren* mit einem VARIAN-Spektrometer A-60 und die *Massenspektren* mit einem CEC-21-110 B Massenspektrometer mit Direktinlass-System aufgenommen. Das Molekular-Ion wird mit M^+ bezeichnet.

Zur *Säulenchromatographie* diente Kieselgel MERCK der Korngrösse 0,2–0,5 mm. Für die *Dünnschichtchromatographie* nach STAHL wurden Kieselgel G als Adsorbens und Chloroform-

Methanol-Gemische als Fließmittel verwendet. Die Flecke wurden mit dem Reagens nach ZAK [9] sichtbar gemacht.

Isolierung von Ovalicin (11): 100 l einer Nährlösung (pro 1 20 g Glucose, 2 g Malzextrakt, (SCHWEIZ. FERMENT AG., Basel), 2 g BACTO-Yeast-Extrakt, 2 g Pepton, 2 g KH_2PO_4 , 2 g MgSO_4 , 7 H_2O und entmineralisiertes Wasser) wurden mit 10 l einer Vorkultur von *Pseudovotium ovalis* Srock, NRRL 3194, angeimpft und in einem Fermenter unter Rühren (150 U./Min.) und Belüftung (75 l/Min.) 111 Std. bei 27° inkubiert. Die Kulturbrühe wurde dann abgenußt und das Filtrat mit dreimal 50 l Äthylchlorid extrahiert. Der mit Wasser gewaschene und über MgSO_4 getrocknete Extrakt gab nach Abdampfen im Vakuum 7,5 g Rohextrakt. Dieser wurde an 300 g Kieselgel chromatographiert. Zur Elution wurde Chloroform-Methanol-(995:5) verwendet. Bei einer Fraktionsgröße von 100 ml gaben die Fraktionen 28–39 aus Äther-Pentan farblose Kristalle von Ovalicin. Umkristallisation aus Äther gab ein analysenreines Produkt vom Smp. 94–95° und $[\alpha]_D^{20} = -117^\circ$ ($c = 0,40$ in Chloroform). Zirkulardichrogramm ($c = 0,10$ in Äthanol bei 20°, Schichtdicke 1 cm): $[\theta]_{287} = 4790$. Rotationsdispersion: $[\text{M}]_{306} = +1740^\circ$, $[\text{M}]_{260} = -6100^\circ$ ($a = +78,4$). – UV.-Spektrum (Methanol): Maximum bei 285 nm ($\log \epsilon = 1,63$). IR.-Spektrum: vgl. Fig. 1. NMR.-Spektrum: vgl. Fig. 2. $M^+ = 296$. – Zur Analyse 3 Std. bei 60° getrocknet.

$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_5$ (296,35) Ber. C 64,8 H 8,2 O 27,0% Gef. C 65,2 H 8,2 O 27,2%

2,4-Dinitrophenylhydrazon von Ovalicin (11): Zur Lösung von 50 mg Ovalicin in 4 ml Methanol wurden 1,7 ml Reagens (50 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin/1 ml H_3PO_4) gegeben. Nach 6 Std. bei 20° wurde abfiltriert, gut mit Wasser gewaschen, der Rückstand in Chloroform aufgenommen, dieses über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde durch präparative Dünnschichtchromatographie gereinigt. Zweimalige Kristallisation aus Methanol gab 36 mg Kristalle vom Smp. 200–203°.

$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_8$ Ber. C 55,45 H 5,9 N 11,8 O 26,9%
(476,48) Gef. „ 55,3 „ 6,1 „ 11,7 „ 26,5%

Hydrierung von Ovalicin (\rightarrow 5, 6, 9): Die Lösung von 500 mg Ovalicin in 70 ml Äthanol wurde in Gegenwart von 500 mg Pd auf Aktivkohle (10%) hydriert. Theorie für ein Mol-Äquiv. H_2 : 37,9 ml. Nach Aufnahme von 39 ml Wasserstoff wurde die Hydrierung abgebrochen. Filtration über Talk und Eindampfen gab 520 mg Rückstand, die an 26 g Kieselgel chromatographiert wurden. Die Fraktionen (je 50 ml) 6–10 (Chloroform-Methanol-(995:5)) gaben 273 mg reines *Dihydroovalicin* 5 als farbloses Öl mit $[\alpha]_D^{20} = -103^\circ$ ($c = 0,44$ in Chloroform). $M^+ = 298$. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3500, 1725, 1110, 880 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 4,31 S (1 H), 3,62 S (3 H), 3,25 S (1 H austauschbar), 3,05 D + 2,82 D (AB, J = 4,5, 2 H), 1,37 S (3 H), 0,99 S (3 H), 0,88 S (3 H). – Zur Analyse 3 Std. bei 40° getrocknet.

$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_5$ (298,37) Ber. C 64,4 H 8,8 O 26,8% Gef. C 64,2 H 8,6 O 26,8%

Die Fraktionen 14–24 gaben 190 mg, aus denen durch Kristallisation aus Äther-Pentan 141 mg 6 als farblose Kristalle vom Smp. 88–91° erhalten wurden. $M^+ = 298$. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3600, 1070, 980 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 5,1 M (1 H), 4,01 D (J = 0,5, 1 H), 3,50 S (3 H), 3,04 D (mit Feinstruktur) + 2,54 D (AB, J = 4,5, 2 H), 1,70 D (J = 0,5, 3 H), 1,65 D (J = 0,5, 3 H), 1,34 S (3 H). – Zur Analyse 4 Std. bei 40° getrocknet.

$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_5$ (298,37) Ber. C 64,4 H 8,8 O 26,8% Gef. C 64,4 H 8,7 O 26,4%

Die katalytische Hydrierung von 20 mg 6 unter analogen Bedingungen gab durch direkt Kristallisation aus Äther-Pentan 20 mg Kristalle (9) vom Smp. 116–118° und $M^+ = 300$ ($\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_5 = 300,38$). – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3600, 3500, 1090, 1060, 980 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 4,02 D (J = 0,5, 1 H), 3,52 S (3 H), 3,03 D + 2,54 D (AB, J = 5 + 0,5, 2 H), 1,33 S (3 H), 0,90 D (J = 6, 6 H).

Ozonolyse von Ovalicin (\rightarrow 4): 2,4 g Ovalicin in 35 ml abs. Methanol wurden bei -70° bis zur leichten Blaufärbung ozonisiert. Dann wurde Stickstoff durchgeblasen, mit 760 mg Dimethylsulfid versetzt und 16 Std. bei 20° stehengelassen. Das Lösungsmittel wurde anschliessend in eine Vorlage mit 1,6 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 32 ml H_3PO_4 destilliert. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mehrmals aus Benzol-Pentan kristallisiert. Die gelben Kristalle (1,52 g) vom Smp. 122–123° waren identisch mit authentischem 2,4-Dinitrophenylhydrazon von Aceton (Misch-Smp. ohne Depression, identische IR.-Spektren und Laufstrecken im Dünnschichtchromato-

gramm). Der Destillationsrückstand wurde an 110 g Kieselgel chromatographiert. Aus den Fraktionen 7–10 (je 250 ml CH_2Cl_2 -Methanol-(99:1)) wurden aus Äther 1,79 g farblose Kristalle (**4**) vom Smp. 154–155° und $[\alpha]_D^{20} = -116^\circ$ ($c = 0,4$ in Chloroform) erhalten. $M^+ = 270$. – UV.-Spektrum (Methanol): 218 nm ($\log \epsilon = 3,97$) mit Schulter bei 320 nm ($\log \epsilon = 1,79$). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3600, 1690, 1630, 1020 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (DMSO): 9,63 *D* ($J = 8, 1 \text{ H}$), 7,10 *D* ($J = 15, 1 \text{ H}$), 6,65 *S* (1 H, austauschbar), 6,40 *DD* ($J = 8+15, 1 \text{ H}$), 5,40 *S* (1 H, austauschbar), 3,54 *S* (1 H), 3,35 *S* (3 H), 2,88 *D* + 2,44 *D* (*AB*, $J = 6, 2 \text{ H}$), 1,33 *S* (3 H). – Zur Analyse 4 Std. bei 80° getrocknet.

$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_6$ (270,27) Ber. C 57,8 H 6,7 O 35,5% Gef. C 58,0 H 6,9 O 35,3%

Hydrierung von 4 (\rightarrow **7**, **8**): Eine Lösung von 500 mg **4** in 100 ml Äthanol wurde in Gegenwart von 500 mg Pd-Aktivkohle (10%) bei 20° hydriert. Innert 10 Min. wurde die theoretische Menge Wasserstoff (41,5 ml) aufgenommen. Der nach Filtration und Eindampfung erhaltene Rückstand wurde aus Methylchlorid kristallisiert, wobei 380 mg **7** vom Smp. 165–167° erhalten wurden. $M^+ = 272$. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3600, 1720, 1090, 1010 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (DMSO): 6,57 *D* ($J = 4, 1 \text{ H}$, austauschbar), 6,28 *S* (1 H, austauschbar), 5,08 *M* (1 H), 4,63 *D* ($J = 0,5, 1 \text{ H}$), 3,42 *S* (3 H), 2,81 *DD* + 2,34 *D* (*AB*, $J = 6,5+0,5, 2 \text{ H}$), 1,28 *S* (3 H). – Zur Analyse 3 Std. bei 80° getrocknet.

$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_6$ (272,29) Ber. C 57,3 H 7,4 O 35,3% Gef. C 57,2 H 7,7 O 34,7%

Die Mutterlauge wurden an 10 g Kieselgel chromatographiert. Mit Chloroform-Methanol (98:2) liessen sich 80 mg eluieren, die aus Äther-Pentan farblose Kristalle (**8**) vom Smp. 70–83° ergaben. $M^+ = 300$. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3600, 1720, 1090, 1010, 980 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 4,81 *M* (1 H), 3,48 *S* (1 H), 3,45 *Q* ($J = 7, 2 \text{ H}$), 3,35 *S* (3 H), 1,48 *S* (3 H), 1,15 *T* ($J = 7, 3 \text{ H}$). – Zur Analyse 4 Std. bei 35° getrocknet.

$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_6$ (300,34) Ber. C 60,0 H 8,1 O 32,0% Gef. C 59,4 H 8,3 O 32,1%

Das Mengenverhältnis von **7**:**8** schwankte selbst bei ganz analogen Ansätzen sehr stark.

Oxydation von 7 (\rightarrow **10** = **19**): Die Lösung von 200 mg **7** in 50 ml abs. Aceton wurde bei 20° und unter starkem Rühren portionenweise mit total 0,25 ml CrO_3 -Reagens nach JONES [10] versetzt. Nach 5 Min. wurde 0,3 ml Methanol-Wasser-(1:1) zugegeben und nach weiteren 3 Min. wurde mit 60 ml Wasser verdünnt. Extraktion mit Methylchlorid gab nach Waschen des Auszuges mit 2N H_2SO_4 und Wasser und nach Trocknen über Na_2SO_4 beim Eindampfen 225 mg Rückstand. Aus Chloroform-Pentan wurden 155 mg farblose Kristalle (**19**) vom Smp. 190–192° und $[\alpha]_D^{20} = -16^\circ$ ($c = 0,63$ in Chloroform) erhalten. $M^+ = 270$. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): Banden u. a. bei 3550, 1780, 1720, 1090 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 3,46 *S* (1 H), 3,38 *S* (3 H), 3,01 *D* (Teil eines *AB*, $J = 4,5, 1 \text{ H}$), 1,53 *S* (3 H). – Zur Analyse 4 Std. bei 80° getrocknet.

$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_6$ (270,27) Ber. C 57,8 H 6,7 O 35,5% Gef. C 57,4 H 6,8 O 34,9%

Oxydation von 19 (\rightarrow **30**): Eine Lösung von 1 g **19** in 80 ml konz. HNO_3 -Wasser-(1:1) wurde 5 Std. zum Rückfluss erhitzt. Dann wurde im Vakuum zur Trockne gebracht und der Rückstand mit Äther extrahiert. Der so erhaltene Äther-Teil (860 mg) wurde einer Verteilungs-Chromatographie an Celite unterworfen: 50 g Celite 545, gut befeuchtet mit 40 ml 0,5N H_2SO_4 , wurden in eine Glassäule von 2 cm Durchmesser gestopft. Eluiert wurde mit Äther, gesättigt mit 0,5N H_2SO_4 . Aus dem Eluatvolumen von 40 bis 120 ml wurden 545 mg Säure erhalten, die nach Methylierung mit Diazomethan an 28 g Kieselgel (0,05–0,2 mm) chromatographiert wurden (Fraktionen zu je 40 ml Chloroform-Methanol-(993:7)). Fraktion 14 gab 51 mg, die auf einer Dünnschichtplatte (Laufmittel: Essigester) gereinigt wurden. Das dünnschichtchromatographisch und gas-chromatographisch einheitliche Produkt **30** zeigte folgende Drehungswerte: $[\alpha]_D^{20} = -4,7^\circ$ ($c = 0,78$ in Chloroform), $[\alpha]_{578} = -5,2^\circ$, $[\alpha]_{546} = -6,1^\circ$ und $[\alpha]_{436} = -8,2^\circ$. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 1780, 1740, 1200, 1120, 1100, 980, 960 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 3,79 *S* (3 H), 2,8–1,9 *M* (4 H), 1,67 *S* (3 H).

Ovalicin + HBr (\rightarrow **12**): Die Lösung von 110 mg Ovalicin in 2 ml Eisessig wurde mit 2 ml 48-proz. HBr versetzt. Nach 30 Min. Stehen bei 20° wurde auf Eis gegossen und dreimal mit Chloroform extrahiert. Die mit 2N NaOH und Wasser gewaschenen Auszüge gaben 120 mg Rückstand, der an 5 g Kieselgel (0,05–0,2 mm) chromatographiert wurde. Aus den Fraktionen 6 und 7 (je 10 ml Chloroform-Methanol-(995:5)) wurden 69 mg erhalten, die durch präparative Dünnschichtchromatographie (Kieselgel, Chloroform-Methanol-(98:2)) weiter gereinigt wurden. Das Reinprodukt

(11 mg) gab aus Äther-Pentan farblose Kristalle (**12**) vom Smp. 166–169° (Zers. ab 142°) und $M^+ = 378/376$ ($C_{16}H_{25}BrO_5 = 377,28$). – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u.a. Banden bei 3550, 1730, 1040, 1030, 920 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 5,00 S (1 H), 4,23 S (1 H), 4,25 DD + 3,50 D (AB, $J = 11,5 + 1,2$ H), 3,52 S (3 H), 3,01 S (1 H, austauschbar), 1,28 S (3 H), 1,23 S (3 H), 1,20 S (3 H).

RÖNTGEN-Strukturanalyse von 12: **12** kristallisiert in der orthorhombischen Raumgruppe $P2_12_1$. Es sind 4 Molekeln in der Zelle mit den Dimensionen $a = 7,84$, $b = 12,35$ und $c = 17,34$ Å (Volumen = 1680 Å³, gemessene und beobachtete Dichte 1,43 g/cm^3). – Es wurden über 1400 Reflexe ($\sin \theta/\lambda < 0,55$ Å⁻¹) auf dem Linearen Diffraktometer mit MoK α -Strahlung (Y/Zr-balanced filters) gemessen.

Die Strukturanalyse wurde nach der Schweratom-Methode durchgeführt und mit einem Blockdiagonalen «Least Squares» Verfahren verfeinert. Der endgültige R -Faktor für 702 signifikante Reflexe betrug 0,094, wobei Br als anisotrop, die C- und O-Atome als isotrop schwingende Atome verfeinert wurden. Die Wasserstoffatome wurden nicht in die Berechnung eingeschlossen.

Zur Bestimmung der absoluten Konfiguration wurden in der $2kl$ - und $3kl$ -Schicht über 90 symmetrische Doppelpaare ($hkl, h\bar{k}l, hkl, h\bar{k}l$) auf dem Diffraktometer gemessen. Davon wiesen 38 Doppelpaare signifikante und in sich konsistente Intensitätsunterschiede auf. Diese wurden mit den berechneten ΔF_c^2 verglichen⁴⁾, wobei alle 38 Vergleiche auf dieselbe enantiomorphe Form der Struktur hinwiesen. In Figur 5 sind Bindungslängen und -winkel angegeben, wobei für C-C- und C-O-Bindungen und -winkel Standardabweichungen von etwa 0,03 Å und 2° berechnet wurden. Die Packung der Molekel in der Zelle ist aus Fig. 6 ersichtlich. – Eine Liste der Koordinaten und eine F_o, F_c -Tabelle werden auf Wunsch zur Verfügung gestellt.

NaBH₄-Reduktion von Ovalicin (\rightarrow **13**, **15**, **17**): Die Lösung von 7 g Ovalicin in 225 ml 80-proz. Dioxan wurde portionenweise mit total 1,79 g NaBH₄ in 200 ml 80-proz. Dioxan versetzt (30 Min.) und 5 Std. bei 20° stehengelassen. Nach Abkühlen auf 0° wurde mit 2N H₂SO₄ vorsichtig auf pH 3

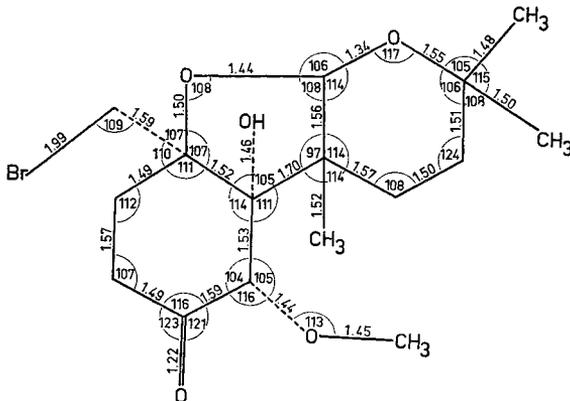


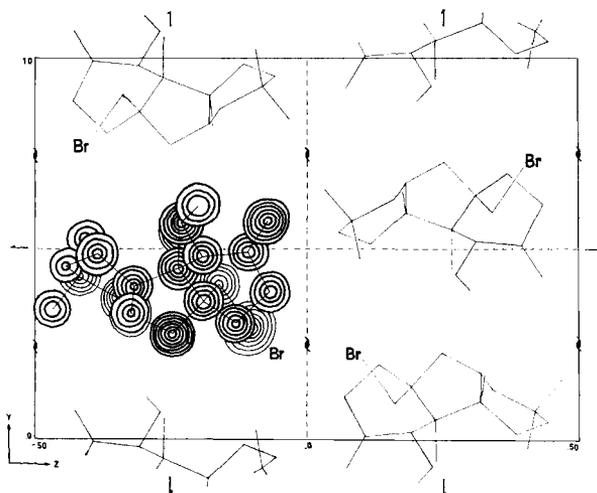
Fig. 5. Bindungslängen und Bindungswinkel von **12**

gestellt, mit Wasser verdünnt und fünfmal mit Chloroform ausgeschüttelt. Der nach mehrmaligem Waschen der Auszüge mit Wasser erhaltene Rückstand wurde an 350 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Chloroform-Methanol-(98:2) eluierten Fraktionen (je 200 ml) 15–24 (4,6 g) bzw. 29–37 (2,5 g) wurden getrennt an Kieselgel (50-fache Menge) rechromatographiert, wobei als Elutionsmittel Äther verwendet wurde. Das Chromatogramm der Fraktionen 15–24 gab 2,5 g **13** und 0,9 g **15**. Das Chromatogramm der Fraktionen 29–37 gab 1,4 g **17**.

⁴⁾ ΔF_c^2 ist hier der berechnete Unterschied zwischen den quadrierten Strukturformfaktoren F_c^2 für die beiden enantiomorphen Formen der Struktur.

$$\Delta F_c^2 = 4 (f_{Br}''/f_{Br}) (B_c \cdot A_{Br} - A_c \cdot B_{Br}).$$

Das Vorzeichen von ΔF_c^2 stimmt mit dem Vorzeichen des beobachteten Intensitätsunterschiedes überein, wenn die Struktur, welche der Berechnung von A_c und B_c zugrunde liegt, dem richtigen Enantiomeren entspricht.

Fig. 6. Packungsdiagramm von **12**

13 ist eine farblose Flüssigkeit mit $[\alpha]_D^{20} = -88^\circ$ ($c = 0,46$ in Chloroform) und $M^+ = 298$ ($C_{16}H_{26}O_5 = 298,38$). – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3500, 1110, 1100, 920 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 5,23 *T* ($J = 7$ mit Feinstruktur, 1 H), 4,40 *M* (1 H), 4,08 *D* ($J = 9$, 1 H austauschbar), 3,68 *S* (1 H austauschbar), 3,55 *D* ($J = 4$, 1 H), 3,54 *S* (3 H), 3,00 *D*+2,56 *D* (*AB*, $J = 4,5$, 2 H), 1,78 *D* ($J = 0,5$, 1 H), 1,68 *D* ($J = 0,5$, 3 H), 1,36 *S* (3 H).

15 gibt aus Äther-Pentan farblose Kristalle vom Smp. 93–95° und $[\alpha]_D^{20} = -65^\circ$ ($c = 1,1$ in Chloroform). $M^+ = 300$. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3600, 3500, 1220, 1100, 1050 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 5,26 *T* ($J = 7$ mit Feinstruktur, 1 H), 4,32 *M* (1 H), 3,63 *D* ($J = 3$, 1 H), 3,48 *S* (3 H), 3,02 *T* ($J = 6,5$ mit Feinstruktur, 1 H), 1,78 *D* ($J = 0,5$, 3 H), 1,68 *D* ($J = 0,5$, 3 H), 1,50 *S* (3 H), 1,28 *S* (3 H). – Zur Analyse 4 Std. bei 50° getrocknet.

$C_{16}H_{26}O_5$ (300,38) Ber. C 64,0 H 9,4 O 26,6% Gef. C 64,3 H 9,2 O 26,7%

17 gibt aus Äther-Pentan farblose Kristalle vom Smp. 90–91°. $M^+ = 298$. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3450, 1220, 1100, 1080, 1070, 1050 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 5,35 *T* ($J = 7$ mit Feinstruktur, 1 H), 4,00 *D*+3,63 *D* (*AB*, $J = 10,5$, 2 H), 3,57 *S* (3 H), 1,73 *D* ($J = 0,5$, 3 H), 1,67 *D* ($J = 0,5$, 3 H), 1,22 *S* (3 H). – Zur Analyse 4 Std. bei 50° getrocknet.

$C_{16}H_{26}O_5$ (298,38) Ber. C 64,4 H 8,8% Gef. C 64,8 H 9,0%

Oxydation von 13 (\rightarrow **11**): Die Lösung von 100 mg **13** in 18 ml abs. Aceton wurde mit 0,084 ml CrO_3 -Reagens nach JONES [10] versetzt, 4 Min. bei 20° gerührt, dann mit 0,5 ml Äthanol-Wasser- (1:1) versetzt und nach weiteren 3 Min. mit 40 ml Wasser verdünnt. Extraktion mit Chloroform und Filtration durch 8 g Kieselgel gab 64 mg Rohprodukt, das aus Äther-Pentan 47 mg krist. Ovalicin (**11**) von Smp. 95–96° gab (Misch-Smp. ohne Depression, gleiche Laufstrecke im Dünnschichtchromatogramm und identische IR.-Spektra).

Acetylierung von 13 (\rightarrow **14**): 102 mg **13** wurden 24 Std. in 2 ml abs. Pyridin und 1,5 ml Acetanhydrid bei 20° stehengelassen. Nach Einengen im Vakuum erhielt man 105 mg Rohprodukt, das an 4 g Kieselgel chromatographiert wurde. Mit Chloroform-Methanol-(99:1) konnten 80 mg einheitliches **14**, das aber nicht kristallisierte, erhalten werden. $M^+ = 340$ ($C_{18}H_{28}O_6 = 340,40$). – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3550, 1730, 1100, 1060 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 5,57 *M* (1 H), 5,22 *T* ($J = 7$ mit Feinstruktur, 1 H), 3,66 *D* ($J = 4$, 1 H), 3,48 *S* (3 H), 2,96 *D*+2,50 *D* (*AB*, $J = 4,5$, 2 H), 2,08 *S* (3 H), 1,72 *D* ($J = 0,5$, 3 H), 1,63 *D* ($J = 0,5$, 3 H), 1,33 *S* (3 H).

Konfigurationsbestimmung von 13 nach HOREAU: 15 mg **13** und 46,6 mg α -Phenylbuttersäureanhydrid wurden mit 0,15 ml Pyridin 16 Std. bei 20° stehengelassen. Aufarbeitung wie bei HOREAU [6] beschrieben gab folgende Daten: Umsatz: 100%. $\alpha_D = +0,24^\circ$. Optische Ausbeute = 31%.

Konfigurationsbestimmung von 15 nach HOREAU: 15 mg **45** und 46,6 mg α -Phenylbuttersäureanhydrid wurden wie bei **13** umgesetzt und aufgearbeitet. Umsatz: 76%. $\alpha_D = +0,07^\circ$. Optische Ausbeute = 12%.

Umsatz von 13 mit Phosgen (\rightarrow 20): Die Lösung von 217 mg **13** in 8 ml abs. Pyridin wurde bei 0° mit 214 mg COCl_2 in 1,07 ml Toluol versetzt und 20 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde auf Eis gegossen, mehrmals mit Chloroform extrahiert und dieses mit 2N HCl und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Aus Äther 93 mg Kristalle; nach Reinigung mit Aktivkohle und Kristallisation aus Methylenechlorid-Pentan, Smp. $191\text{--}192^\circ$. $M^+ = 324$. Thermoelektrische Molekulargewichtsbestimmung: 331. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 1750, 1400, 1230, 1210, 1150, 1110, 1040, 970 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: $5,23\ T$ ($J = 7$ mit Feinstruktur, 1 H), $5,1\ M$ (1 H), $3,90\ D$ ($J = 2, 1\ \text{H}$), $3,54\ S$ (3 H), $3,17\ D + 2,71\ D$ ($AB, J = 3,5, 2\ \text{H}$), $3,12\ DD$ (X -Teil von $ABX, J = 6+7, 1\ \text{H}$), $1,78\ D$ ($J = 0,5, 3\ \text{H}$), $1,67\ D$ ($J = 0,5, 3\ \text{H}$), $1,33\ S$ (3 H). – Zur Analyse 3 Std. bei 80° getrocknet.

$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_6$ (324,36) Ber. C 63,0 H 7,5 O 29,6% Gef. C 63,3 H 7,0 O 29,4%

Acetylierung von 15 (\rightarrow 16): 88 mg **15** wurden in 1,5 ml Pyridin und 1,5 ml Acetanhydrid gelöst und 90 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum zur Trockne gebracht. Kristallisation aus Pentan gab 72 mg **16** vom Smp. $104\text{--}105^\circ$. $M^+ - 18 = 324$. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u. a. Banden bei 3600, 3500, 1730, 1100, 1050, 1020 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: $5,62\ M$ (1 H), $5,25\ T$ ($J = 7$ mit Feinstruktur, 1 H), $3,63\ D$ ($J = 4, 1\ \text{H}$), $3,40\ S$ (3 H), $3,07\ T$ ($J = 6, 1\ \text{H}$), $2,13\ S$ (3 H), $1,75\ D$ ($J = 1, 3\ \text{H}$), $1,70\ D$ ($J = 1, 3\ \text{H}$), $1,50\ S$ (3 H), $1,38\ S$ (3 H). – Zur Analyse wurde 3 Std. bei 60° getrocknet.

$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_6$ (342,42) Ber. C 63,1 H 8,8 O 28,0% Gef. C 63,5 H 8,5 O 28,2%

Oxydation von 15 (\rightarrow 21): Zur Lösung von 310 mg **15** in 30 ml abs. Aceton wurde 0,27 ml CrO_3 -Reagens nach JONES [10] getropft, nach dreiminütigem Rühren wurde mit 1 ml Methanol-Wasser (1:1) versetzt und nach weiteren drei Min. wurde mit 40 ml Wasser verdünnt. Sechsmalige Extraktion mit Chloroform gab 280 mg Rückstand. Zweimalige Kristallisation aus Äther-Pentan gab 121 mg Krist. **21** vom Smp. $125\text{--}126^\circ$. $M^+ = 298$. – UV.-Spektrum (Methanol): Maximum bei 285 nm ($\log \epsilon = 1,46$). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3650, 3550, 1730, 1120, 1080, 1060, 920 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: $5,26\ T$ ($J = 7$ mit Feinstruktur, 1 H), $4,50\ S$ (1 H), $3,56\ S$ (3 H), $3,05\ T$ ($J = 6, 1\ \text{H}$), $2,97\ S$ (1 H austauschbar), $1,75\ D$ ($J = 0,5, 3\ \text{H}$), $1,69\ D$ ($J = 0,5, 3\ \text{H}$), $1,53\ S$ (3 H), $1,33\ S$ (3 H). – Zur Analyse 4 Std. bei 60° getrocknet.

$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_5$ (298,37) Ber. C 64,4 H 8,8 O 26,8% Gef. C 64,7 H 8,7 O 26,7%

Acetylierung von 17 (\rightarrow 18): Die Lösung von 103 mg **17** in 2 ml Pyridin und 1,5 ml Acetanhydrid wurde 24 Std. bei 20° stehengelassen. Der nach Eindampfen im Vakuum erhaltene Rückstand wurde durch präparative Dünnschichtchromatographie gereinigt (Kieselgel/Chloroform-Methanol-(98:2)). Das Hauptprodukt gab aus Äther-Pentan 50 mg **18** vom Smp. $73\text{--}75^\circ$. $M^+ - 60 = 322$ ($\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_7 = 382,44$). – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 1730, 1060, 1030 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: $5,4\text{--}4,7$ (3 H), $4,00\ D + 3,57\ D$ ($AB, J = 10,5, 2\ \text{H}$), $3,55\ S$ (3 H), $2,10\ S$ (3 H), $2,06\ S$ (3 H), $1,64$ (6 H), $1,18\ S$ (3 H).

Oxydation von 17 (\rightarrow 22): Die Lösung von 100 mg **17** in 10 ml abs. Aceton wurde mit 0,17 ml CrO_3 -Reagens nach JONES [10] versetzt. Nach dreiminütigem Rühren wurde mit 30 ml Wasser verdünnt und fünfmal mit Chloroform extrahiert. Der Extrakt wurde durch 7 g Kieselgel filtriert. Das Rohprodukt wurde durch präparative Dünnschichtchromatographie gereinigt und gab 23 mg amorphes **22**. $M^+ = 296$. – UV.-Spektrum (Methanol): Maxima bei 259 nm ($\log \epsilon = 3,80$) und 330 nm ($\log \epsilon = 2,10$). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3600, 3400, 1680, 1650, 1300, 1080, 940 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: $4,08\ D + 3,67\ D$ ($AB, J = 9,5, 2\ \text{H}$), $3,81\ S$ (3 H), $1,76\ D$ ($J = 0,5, 3\ \text{H}$), $1,66\ D$ ($J = 0,5, 3\ \text{H}$), $1,52\ S$ (3 H). – Zur Analyse wurde 4 Std. bei 40° getrocknet.

$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_5$ (296,35) Ber. C 64,8 H 8,2 O 27,0% Gef. C 64,8 H 8,0 O 26,7%

Ovalicin + Na_2CO_3 (\rightarrow 23): Zur Lösung von 500 mg Ovalicin (**11**) in 15 ml Aceton wurden bei 20° 360 mg Na_2CO_3 in 15 ml Wasser gegeben und 17 Std. stehengelassen. Nach Verdünnen mit 100 ml Wasser wurde fünfmal mit je 80 ml Chloroform extrahiert und dieser Extrakt an 25 g Kieselgel chromatographiert. Eluation mit Chloroform-Methanol-(99:1) gab aus den Fraktionen (je 30 ml) 4–5 87 mg Ausgangsmaterial und aus den Fraktionen 14–21 155 mg **23**. Kristallisation

aus Äther-Pentan gab Kristalle vom Smp. 70–73°. – UV.-Spektrum (Methanol): Maximum bei 256 nm ($\log \epsilon = 3,92$) und 320 nm ($\log \epsilon = 2,04$). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3600, 3400, 1680, 1650, 1080, 940 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 5,23 T ($J = 7$ mit Feinstruktur, 1 H), 3,71 S (3 H), 3,80 D + 3,61 D (AB bei D_2O -Zusatz, $J = 5, 2$ H), 2,90 DD (X-Teil eines ABX, $J = 6 + 7, 1$ H), 1,77 D ($J = 0,5, 3$ H), Zur Analyse 3 Std. bei 20° getrocknet.

$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_5$ (296,35) Ber. C 64,8 H 8,2% Gef. C 65,2 H 8,3%

Acetylierung von 23 (\rightarrow **24**): Die Lösung von 115 mg **23** in 3 ml abs. Pyridin und 2 ml Acetanhydrid wurde 20 Std. bei 20° stehengelassen. Der nach Eindampfen im Vakuum erhaltene Rückstand wurde an 10 g Kieselgel chromatographiert. Mit Chloroform-Methanol-(99:1) liessen sich 136 mg einheitliches, amorphes **24** eluieren. $M^+ = 338$ ($\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_6 = 338,39$). – UV.-Spektrum (Methanol): Maxima bei 254 nm ($\log \epsilon = 3,76$) und 330 nm ($\log \epsilon = 2,26$). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3600, 1730, 1680, 1610, 1090, 1040 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 5,23 T ($J = 7$ mit Feinstruktur, 1 H), 4,40 D + 4,07 D (AB, $J = 11,5, 2$ H), 3,73 S (3 H), 2,88 DD (X-Teil eines ABX, $J = 6 + 7, 1$ H), 2,09 S (3 H), 1,77 D ($J = 0,5, 3$ H), 1,69 D ($J = 0,5, 3$ H), 1,57 S (3 H).

Isomerisierung von 23 (\rightarrow **22**): Eine Lösung von 79 mg **23** in 10 ml Eisessig wurde 1 Std. auf 60° erwärmt. Eindampfen im Vakuum und Chromatographie an 8 g Kiesegel gab 67 mg amorphes **22**. IR.-Spektrum und Laufstrecke im Dünnschichtchromatogramm waren identisch mit denjenigen des Oxydationsproduktes von **17**.

Epoxydierung von Ovalicin (\rightarrow **31**): Die Lösung von 180 mg Ovalicin (**11**) in 30 ml Benzol wurde mit 200 mg *m*-Chlorperbenzoesäure versetzt. Nach 2 Std. bei 20° wurde zweimal mit 2N Na_2CO_3 und einmal mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde an 11 g Kieselgel chromatographiert. Eluation mit Chloroform-Methanol-(99,5:5) gab 160 mg einheitliches, amorphes **31**. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -80,5^\circ$ ($c = 0,46$ in Chloroform). $M^+ = 312$ ($\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_6 = 312,37$). – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3500, 1730, 1110, 1040, 1000, 880 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 4,27 S (1 H), 3,58 S (3 H), ca. 1,35 (9 H).

Hydratisierung von 31 (\rightarrow **32**): 400 mg **31** wurden in 1 ml H_2^{18}O (15-proz.) gelöst, 4 Std. auf 60° erwärmt und dann 92 Std. bei 20° stehengelassen. Die Lösung wurde lyophilisiert und der Rückstand noch zweimal in dest. Wasser gelöst und lyophilisiert. Das dünnschichtchromatographisch einheitliche Produkt **32** (360 mg) zeigte nach Analyse des Massenspektrums ($M^+ = 330$) einen Gehalt von 24% $\text{C}_{16}\text{H}_{26}^{16}\text{O}_6^{18}\text{O}$ und noch 2,5% $\text{C}_{16}\text{H}_{26}^{18}\text{O}_5^{18}\text{O}_2$ an. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3500, 1730, 1160, 1000, 960 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 4,28 S (1 H), 3,55 S (3 H), 1,36 S (3 H), 1,22 S (3 H), 1,18 S (3 H). – Zur Analyse 4 Std. bei 60° getrocknet.

$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_7$ (330,38) Ber. C 58,2 H 7,9 O 33,9% Gef. C 58,4 H 8,0 O 33,6%

Acetylierung von 32 (\rightarrow **33**): Die Lösung von 48 mg **32** in 2 ml Pyridin und 1 ml Acetanhydrid wurde 20 Std. bei 20° stehengelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand an 4 g Kieselgel chromatographiert. Eluation mit Chloroform-Methanol-(98:2) gab 27 mg einheitliches, amorphes **33**. – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): Banden u. a. bei 3600, 3550, 1730, 1110, 1040, 960 cm^{-1} . NMR.-Spektrum: 4,97 DD (X-Teil eines ABX, $J = 5 + 7,5, 1$ H), 4,20 S (1 H), 3,53 S (3 H), 2,11 S (3 H), 1,34 S (3 H), 1,21 S (6 H).

Glykolspaltung von 32 (\rightarrow **4**): 180 mg **32** (mit 24% $\text{C}_{16}\text{H}_{26}^{16}\text{O}_6^{18}\text{O}$) wurden in 4 ml Chloroform gelöst und mit 490 mg $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (viermal mit Benzol gewaschen, in Chloroform gelöst und mit Aktivkohle behandelt, filtriert, eingedampft und im Vakuum bei 20° getrocknet) in 5 ml Chloroform versetzt. Nach 3 Std. bei 20° im Dunkeln wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand an 9 g Kieselgel chromatographiert. Eluation mit Äther gab aus den Fraktionen (je 10 ml) 5–7 71 mg **4** vom Smp. 154–155°, das mit dem aus Ovalicin durch Ozonolyse erhaltenen Produkt (s. oben) identisch war. Im Massenspektrogramm ($M^+ = 270$) war kein spezieller Gehalt an ^{18}O -haltigem Material feststellbar.

Vom Destillat wurde ein Massenspektrogramm aufgenommen: Die Analyse der Spitzen bei 43 bzw. 45 *m/e* zeigte, dass das im Chloroform enthaltene Aceton zu ca. 20% aus $\text{C}_3\text{H}_8^{18}\text{O}$ bestand.

Synthese von [S]- α -Methyl- α -hydroxy-glutarsäurelacton-methylester 30⁵⁾ 3,2 g (–)-2-Methylbutan-1,2,4-triol-1,2-acetonid (**26**) [8]⁶⁾, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7,4^\circ$ ($c = 2$ in Chloroform), wurde in 36 ml abs.

⁵⁾ Herrn Dr. P. BOLLINGER danken wir für die Synthese dieses Vergleichsmaterials.

⁶⁾ Das Ausgangsmaterial, [S]-Citramalsäure, verdanken wir Herrn Prof. D. ARIGONI.

Pyridin gelöst und unter Eiskühlung mit 4,6 g *p*-Toluolsulfochlorid versetzt. Nach 35 Std. bei 20° wurde auf Eis gegossen und dreimal mit 150 ml Äther extrahiert. Die dreimal mit kalter 50-proz. HCl, 2*N* Soda und Wasser gewaschenen Extrakte gaben 4,1 g rohes Tosylat. Die Lösung von 3,3 g Tosylat in 80 ml Dimethylsulfoxid wurde mit 3,4 g KCN versetzt und 60 Min. auf 80° erwärmt. Das Gemisch wurde zwischen je 450 ml Methylenchlorid und Wasser verteilt. Nach Trocknung über Na₂SO₄ wurden aus dem Methylenchlorid-Extrakt 1,92 g dünnstichtchromatographisch einheitliches Nitril erhalten. - IR.-Spektrum (CH₂Cl₂): u. a. Banden bei 2250, 1390, 1380, 1210, 1110, 1060 cm⁻¹.

1,9 g Nitril wurden in 25 ml 50-proz. Essigsäure gelöst und 40 Min. auf 75° erwärmt. Dann wurde im Vakuum zur Trockne gebracht und der Rückstand durch wiederholtes Eindampfen einer benzolischen Lösung getrocknet. Chromatographie an 75 g Kieselgel (0,05-0,2 mm) gab durch Eluation mit Essigester 1,17 g 2-Methylpentan-1,2-diol-5-nitril (**27**) als farblose Flüssigkeit. - IR.-Spektrum (CH₂Cl₂): u. a. Banden bei 3600, 3500, 2250, 1130, 1060, 940 cm⁻¹. NMR.-Spektrum: 3,42 S (2 H), 3,05 S (2 H, austauschbar), 2,5 M (2 H), 1,9 M (2 H), 1,17 S (3 H).

Zur Lösung von 1,1 g **27** in 100 ml Methanol wurden 2,2 g Ba(OH)₂ in 40 ml Wasser gegeben und 3 Std. auf 80° erwärmt. Dann wurde das Methanol im Vakuum abdestilliert, der Rückstand mit 40 ml Wasser verdünnt und mit 6,5 ml konz. HCl angesäuert. Extraktion mit Essigester im Apparat nach KUTSCHER-STEUDEL (16 Std.) gab 1,02 g Extrakt. Kristallisation aus Äther-Pentan gab 695 mg farblose Kristalle vom γ -Lacton **28**, Smp. 39-42°. [α]_D²⁰ = +20° (*c* = 1,0 in Chloroform). - IR.-Spektrum (CH₂Cl₂): u. a. Banden bei 3600, 3500, 1770, 1200, 1060, 950 cm⁻¹. NMR.-Spektrum: 3,70 D + 3,55 D (*AB*, *J* = 11,5, 2 H), 3,16 S (1 H austauschbar), 1,37 S (3 H).



Die Lösung von 250 mg γ -Lacton **28** in 50 ml abs. Aceton wurde unter Rühren mit 2 ml CrO₃-Reagens nach JONES [10] versetzt und 3,5 Std. bei 20° gehalten. Nach Zugabe von 1 ml Äthanol wurde mit 100 ml Wasser verdünnt und viermal mit je 100 ml Essigester extrahiert. Die mit Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben 270 mg Rohprodukt, das an 20 g Kieselgel (0,05-0,2 mm) chromatographiert wurde. Eluation mit Chloroform-Methanol (96:4) gab 120 mg γ -Lactonsäure **29**, die nicht kristallisiert werden konnten. - IR.-Spektrum (CH₂Cl₂) und Laufstrecke im Dünnschichtchromatogramm waren identisch mit denjenigen von authentischem racemischen α -Methyl- α -hydroxy-glutarsäurelacton [11].

75 mg γ -Lactonsäure **29** wurden in Methylenchlorid gelöst und mit ätherischem Diazomethan verester. Der nach Eindampfen erhaltene Rückstand wurde an 4 g Kieselgel chromatographiert. Eluation mit Chloroform-Methanol (99:5) gab 35 mg einheitlichen *Methylester* **30**, [α]_D²⁰ = -5,4° (*c* = 1,1 in Chloroform), [α]_D²⁰₅₇₈ = -6,0°, [α]_D²⁰₄₄₆ = -6,5° und [α]_D²⁰₄₃₆ = -6,5°. - IR.-Spektrum, NMR.-Spektrum und Laufstrecke im Dünnschichtchromatogramm waren identisch mit denjenigen vom Abbauprodukt aus **19** (s. oben).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] S. LAZÁRY & H. STÄHELIN, «Immunosuppressive effect of a new antibiotic: ovalicin». Symposium «The immune response and its suppression», Schweiz. Gesellschaft für Allergie und Immunologie, Davos, 25.-28. 3. 68 (im Druck).
- [2] J. GUTZWILLER, R. MAULI, H. P. SIGG & CH. TAMM, *Helv.* **47**, 2234 (1964).
- [3] L. M. JACKMAN, «Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry», Pergamon Press, London 1959, p. 55; vgl. H. P. SIGG, R. MAULI, E. FLURY & D. HAUSER, *Helv.* **48**, 962 (1965).
- [4] D. S. TARBELL, R. M. CARMAN, D. D. CHAPMAN, S. E. CREMER, A. D. CROSS, K. R. HUFFMAN, M. KUNSTMAN, N. J. McCORKINDALE, J. G. McNALLY JR., A. ROSOWSKY, F. H. L. VARINO & R. L. WEST, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 3096 (1961).
- [5] J. J. PAPPAS, W. P. KEAVENEY, E. GANCHER & M. BERGER, *Tetrahedron letters* 1966, 4273.
- [6] A. HOREAU, *Tetrahedron letters* 1967, 506, 654.
- [7] H. A. BARKER, *Biochem. Preparations* **9**, 21 (1962); abs. Konfiguration s. [8].
- [8] H. P. WEBER, *Diss. ETH Zürich* (Prom. Nr. 3591), 1965.
- [9] A. ZLATKIS, B. ZAK & A. J. BOYLE, *J. Lab. clin. Med.* **41**, 486 (1953).
- [10] K. BOWDEN, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES & B. C. L. WEEDON, *J. chem. Soc.* 1946, 39.
- [11] R. FITTIG & J. BREDT, *Liebigs Ann. Chem.* **208**, 55 (1881).