

Dieser Befund stimmt mit der allgemeinen Erfahrung überein, dass  $d^{10}$ -Zentren, auch wenn deren Oxydationszahl hoch ist, in ihren chemischen Eigenschaften nicht einfach  $d^0$ -Zentren derselben Ladung und von ähnlichem Ionenradius gleichen. Sn(IV) und Sb(V) bilden im Gegensatz zu Zr(IV) und Nb(V) stabile Chlorokomplexe sowie wasserbeständige, schwerlösliche Sulfide, die sich mit Alkalisulfiden zu mononuklearen Thiokomplexen  $\text{SnS}_3^{2-}$  bzw.  $\text{SbS}_4^{3-}$  lösen, deren Stabilitätskonstanten sicher sehr hoch sind. Das lässt vermuten, dass die Linien der Fig. 3 weiter ansteigen, wenn man zu den Zentralatomen der Oxydationszahl IV und V übergeht, und zwar nicht nur für die Fluoro- und Hydroxokomplexe, sondern auch für die andern Halogenokomplexe sowie bei den Mercapto- und Thiokomplexen.

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] G. Schwarzenbach, Adv. Inorg. and Radiochemistry (Emeleus-Sharpe) Vol. 3, 257 (1961); Pure appl. Chem. 24, 307 (1970).
- [2] M. Widmer & G. Schwarzenbach, Chimia 24, 447 (1970).
- [3] K. Tunaboylu & G. Schwarzenbach, Helv. 54, 2166 (1971).
- [4] G. Schwarzenbach, K. Gautschi & J. Peters, Proc. of the Xth Int. Conf. on Coordination Chem., p. 69 (Tokyo and Nikko, Sept. 1967).
- [5] G. Schwarzenbach, K. Gautschi, J. Peters & K. Tunaboylu, Commemoration Volume for Lars Gunnar Sillen, to be published by the Royal Institute of Technology, Stockholm.
- [6] K. Tunaboylu, Dissertation ETH, Zürich 1970.
- [7] B. G. F. Carleson & H. Irving, J. chem. Soc. 1954, 4390.
- [8] W. Feitknecht & P. Schindler, Pure appl. Chem. 6, 130 (1963).
- [9] G. Schwarzenbach & M. Widmer, Helv. 49, 111 (1966).
- [10] J. Ste-Marie, A. E. Torma & O. Gübeli, Canadian J. of Chem. 42, 662 (1964).
- [11] K. Tunaboylu & G. Schwarzenbach, Chimia 24, 424 (1970).

## 200. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

107. Mitteilung [1]

## Die Struktur des Chlorothricins, eines neuartigen Makrolid-Antibioticums

von R. Muntwyler und W. Keller-Schierlein

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

(2. VI. 72)

*Summary.* Chemical and spectroscopic evidence for the structural formula **9** of chlorothricolide methyl ester, derived from the aglycone of the antibiotic chlorothricin, is given. By chemical degradation and spectroscopic investigations structure **41** is deduced for the intact antibiotic.

Das chlorhaltige Antibioticum *Chlorothricin*, das von einem Actinomycetenstamm der Art *Streptomyces antibioticus* (*Waksman et Woodruff*) *Waksman et Henrici* gebildet wird, ist bisher stets im Gemisch mit einem chlorfreien Analogen, *Des-chlorothricin*, erhalten worden, von dem es sich trotz dem Einsatz moderner Trennverfahren nicht abtrennen liess [2]. Die antibiotische Wirkung gegen gram-positive Bakterien ist nur

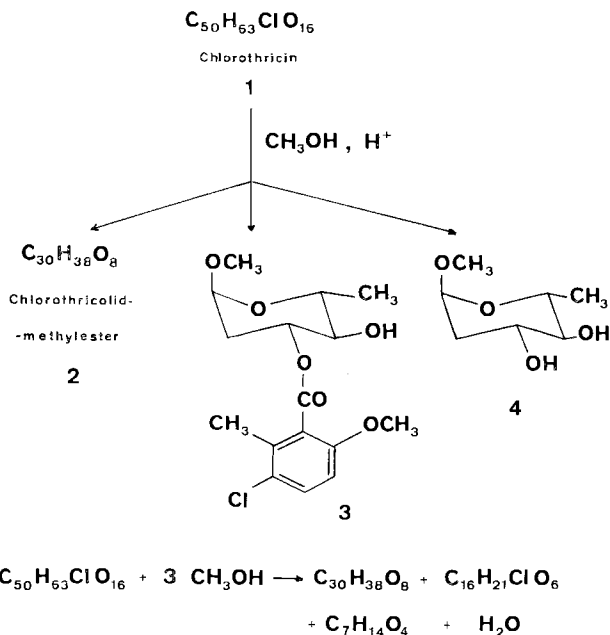
auf Minimalnährböden ausgeprägt. Sie beruht darauf, dass die durch die Pyruvat-Carboxylase katalysierte anaplerotische  $\text{CO}_2$ -Fixierung gehemmt wird [3].

**1. Bausteine und Bruttoformel.** – Wegen der Uneinheitlichkeit des Chlorothricins (die meisten Präparate enthielten ca. 20% Des-chlorothricin) waren die klassischen Elementaranalysen für die Bestimmung der Bruttoformel zunächst ungeeignet. Ebenso liessen die Massenspektren, die nur kleinere Fragmente zu erkennen geben, keine Schlussfolgerung über die Elementarzusammensetzung zu. Einzig das ungefähre Molekulargewicht, das durch Mikrotitration bzw. mittels Dampfdruckosmometrie am freien Antibioticum und am Di-O-methylderivat bestimmt wurde und bei etwa 950 lag, gab einen sicheren Anhaltspunkt über die Grösse der Molekel. Wir standen somit vor der Aufgabe, eine Bruttoformel auf indirektem Wege zu ermitteln, was schliesslich möglich wurde durch Rekonstruktion aus den nachgewiesenen Abbauprodukten und Vergleich der indirekt bestimmten Bruttoformel mit den analytischen Daten.

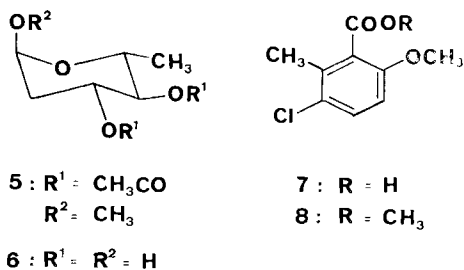
Über die Methanolyse des Chlorothricins ist bereits früher berichtet worden [2]. Sie lieferte ein Produkt  $\text{C}_{30}\text{H}_{98}\text{O}_8$  unbekannter Struktur (früher als Methanolyseprodukt C bezeichnet) und das  $\alpha$ -Methylglykosid eines Esters (**3**) der 2-Desoxy-D-rhamnose mit dem 5-Chlor-6-methyl-salicylsäure-methyläther (**7**). Die Struktur des aromatischen Bausteins ist seither durch eine Synthese bestätigt worden [4]. Aus den beiden Bausteinen **2** und **3** gelangt man unter Abzug von zwei Molekeln Methanol und nach Addition einer Molekel Wasser (über die Stöchiometrie der Reaktion s. unten) zu einer Bruttoformel  $\text{C}_{44}\text{H}_{53}\text{ClO}_{13}$  mit dem berechneten Molekulargewicht von 825, das mit den experimentellen Werten nicht übereinstimmt. Es war daher anzunehmen, dass bei der Aufarbeitung der Methanolyseprodukte ein Baustein mit einem Molekulargewicht von ca. 150 nicht erfasst worden war. Da die lipoidlöslichen Anteile kein weiteres Produkt in nennenswerter Menge enthielten, suchten wir es in den wasserlöslichen Anteilen. Nach der Bindung der Schwefelsäure an ein Anionen-Austauscherharz erhielten wir eine farblose hochviskose Masse, die an Kieselgel in zwei Komponenten (Verhältnis ca. 10:1) aufgetrennt wurde. Das Hauptprodukt konnte durch das IR.- und das NMR.-Spektrum sowie durch die Bildung des Diacetylderivates **5** als  $\alpha$ -Methyl-2-desoxy-D-rhamnosid (**4**) identifiziert werden, das wir schon früher durch alkalische Hydrolyse des Esters **3** erhalten hatten [2]. Das Nebenprodukt war der entsprechende freie Zucker, die 2-Desoxy-D-rhamnose (**6**). Die Ausbeuten an gereinigten Zuckerderivaten betragen bei einem typischen Versuch 73% des Esters **3**, 53% des Glykosids **4** und 6% des Zuckers **6**. Der letztere hat sich offensichtlich beim Stehen in der schwefelsauren wässrigen Lösung durch teilweise Hydrolyse des Glykosids **4** gebildet. Hingegen kann wegen der erwähnten Ausbeuten das Glykosid **4** zur Hauptsache nicht ein Folgeprodukt des Esters **3** sein, sondern muss als ein weiterer Baustein des Antibioticums aufgefasst werden. Dies wird dadurch bestätigt, dass weder die Säure **7** noch ihr Methylester **8** im Methanolyseprodukt nachweisbar waren.

Aus den Methanolyseprodukten **2**, **3** und **4** gelangt man unter plausiblen Annahmen zu einer Molekelgrösse, die auf das experimentell bestimmte Molekulargewicht passt (Schema 1). Für die Ermittlung der genauen Bruttoformel ist noch die Stöchiometrie der Methanolysereaktion in Betracht zu ziehen. Dabei ist zu beachten, dass die drei

Schema 1



Methanolyseprodukte zusammen drei O-Methylgruppen mehr besitzen als das Antibioticum, in dem durch das NMR.-Spektrum nur eine solche Gruppe nachgewiesen werden kann. Das Methanolyseprodukt 3 besitzt deren zwei.



Das Chlorothricin ist eine zweiwertige Säure mit  $pK_{MCS}^*$ -Werten von 5,01 und 7,91<sup>1)</sup>. Beide sauren Gruppen lassen sich mit Diazomethan verestern [2]. Bei der Titration des Methanolyseprodukts 2 findet man dagegen nur noch eine Stufe mit  $pK_{MCS}^*$  5,00. Es ist demnach im Verlaufe der Methanolyse gleichzeitig eine Carboxylgruppe im Aglykonteil verestert worden. Dem Aglykon, Chlorothricolid, kommt demnach die Bruttoformel  $C_{29}H_{36}O_8$  zu, und das bisher als Methanolyseprodukt C beschriebene Abbauprodukt ist als Chlorothricolid-methylester zu bezeichnen.

Gemäss der im Schema 1 wiedergegebenen Stöchiometrie kommt dem Chlorothricin die Bruttoformel  $C_{50}H_{63}ClO_{16}$  (Mol-Gew. 954), dem Des-chlorothricin die

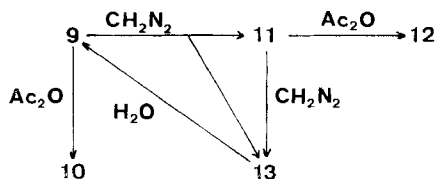
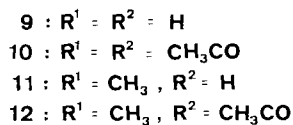
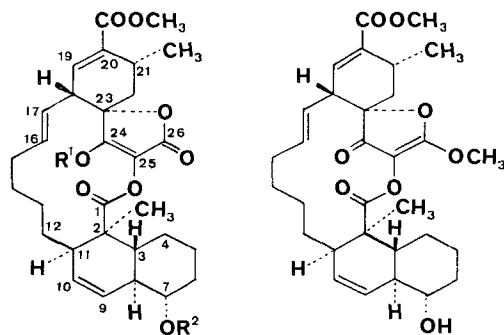
<sup>1)</sup> Die früher [2] mitgeteilten Werte von 5,2 und 8,11 sind um ca. 0,2 Einheit zu hoch (systematischer Bestimmungsfehler).

Formel  $C_{50}H_{64}O_{16}$  zu. Unter der Annahme, dass die analysierten kristallinen Gemische ca. 5 Teile Chlorothricin und 1 Teil Des-chlorothricin enthielten, was mit den Abbaueergebnissen übereinstimmt [2], passen die früher publizierten Analysen recht gut auf die theoretischen Werte. Die NMR.-Spektren sind mit dieser Annahme ebenfalls gut verträglich.

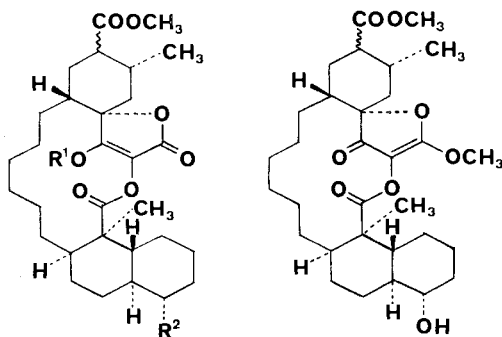
**2. Die Struktur des Chlorothricolid-methylesters.** – Während die Strukturen des Zuckers und des aromatischen Bausteins bereits früher abgeklärt worden sind [2], steht im Mittelpunkt dieser und der nachfolgenden Arbeit die Strukturaufklärung des Aglykon-methylesters. Sie beruht im wesentlichen auf einer *Röntgen*-Strukturanalyse [5], als deren Ergebnis die Strukturformel **9** resultierte. Vorgängig der Kristallstrukturanalyse und z. T. parallel dazu wurden eingehende spektroskopische Untersuchungen und eine Reihe von Abbaureaktionen durchgeführt mit dem Ziel, die Struktur des Aglykons auf diesem Weg aufzuklären. Diese Versuche wurden vorläufig abgebrochen. Obwohl sie für sich allein eine Ableitung der vollständigen Strukturformel nicht erlauben, sind sie geeignet, die Kristallstrukturanalyse in zahlreichen Einzelheiten zu erhärten. Sie sollen daher in diesem Abschnitt näher diskutiert werden. Es ist dabei sinnvoll, von Anfang an einige Derivate, die in den Schemata 2 und 3 zusammengefasst wurden, in die Diskussion einzubeziehen.

a) *Die Tetronsäuregruppe.* Während die schwächer saure Funktion des Chlorothricins ( $pK_{MCS}^* 7,91$ ) im Verlauf der Methanolyse verestert wurde, blieb die stärker

Schema 2

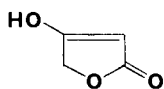


Schema 3

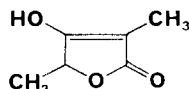


- 14 :  $R^1 = H, R^2 = OH$   
 15 :  $R^1 = R^2 = H$   
 16 :  $R^1 = CH_3, R^2 = OH$   
 17 :  $R^1 = CH_3, R^2 = H$   
 18 :  $R^1 = CH_3CO, R^2 = CH_3COO$

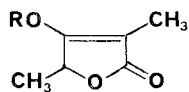
19



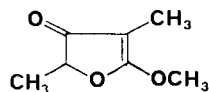
20



21



22 :  $R = CH_3$



23

24 :  $R = CH_3CO$

saure Gruppe,  $pK_{MCS}^*$  5,01, als solche erhalten. Diese lässt sich normal mit Diazomethan methylieren (Produkt 11) und mit Essigsäureanhydrid in Pyridin zu einem relativ stabilen Acetat verestern (Produkt 10). Diese chemischen Reaktivitäten entsprechen nicht denen einer Carbonsäure, sondern viel eher denen eines stark sauren Enols. Solche sind vor allem in der Form sauerstoff-heterocyclischer Verbindungen bekannt geworden. Das am besten untersuchte Beispiel aus dem Gebiet der Antibiotica dürfte das Novobiocin mit einem 4-Hydroxycumarin-system und  $pK$  4,3 (in Wasser) bzw.

5,3 (in 66proz. Äthanol) sein [6]. Das UV.-Spektrum des Chlorothricolid-methylesters mit einem Maximum bei 225 nm und einer Schulter bei 257 nm in Alkohol, bzw. einem Maximum bei 258 nm in alkoholischer Kalilauge, spricht dagegen eher für ein monocyclisches enolisches System, wie es z. B. in der Tetrensäure vorliegt. So wird für die Tetrensäure (**20**) ein UV.-Absorptionsmaximum von 224 nm ( $\log \epsilon = 4,16$ ) angegeben [7], während wir für die Dimethyltetrensäure (**21**) [8] Maxima bei 232 ( $\log \epsilon = 4,04$ ) und 260 nm (3,60) in Alkohol und ein Maximum bei 262 nm ( $\log \epsilon = 4,33$ ) in alkoholischer Kalilauge fanden, was mit den Befunden am Aglykon-methylester **9** gut übereinstimmt. Noch besser passt das Spektrum des Hexahydrochlorothricolid-methylesters (**14**),  $\lambda_{\max}$  237 (3,97) und 260 nm (3,66) in Alkohol, 258 nm (4,28) in Kalilauge, auf dasjenige der Verbindung **21**.

Die Anwesenheit einer Tetrensäuregruppe im Aglykon-methylester ist weiter gut im Einklang mit dem  $^{13}\text{C}$ -NMR.-Spektrum. Für die Ringkohlenstoffatome der  $\alpha,\gamma$ -Dimethyltetrensäure (**21**) wurden bei 25,14 MHz folgende chemischen Verschiebungen gegenüber  $\text{CS}_2$  gefunden: C(1) 14,8 oder 15,4 ppm, C(2) 96,5 ppm, C(3) 15,4 oder 14,8 ppm, C(4) 134,5 ppm. Das  $^{13}\text{C}$ -NMR.-Spektrum des Chlorothricolid-methylesters (**9**) zeigt bei der Breitband-Entkopplung ( $^{13}\text{C}$ -H-Wechselwirkungen) insgesamt 30 Signale im Bereich von  $-20$  bis  $+200$  ppm (gegenüber  $\text{CS}_2$ ) (vgl. Fig. 1). Davon liegen 4 im Bereich nichtketonischer Carbonylfrequenzen: 15,1, 26,0, 27,5 und 32,8 ppm. Das letzte muss wohl dem Carbonyl-C-Atom der  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Estergruppe [C(28)] zugeordnet werden (vgl. [9]). Von den beiden Signalen bei 26,0 und 27,5 ppm muss eines dem Lactoncarbonyl-Kohlenstoffatom [C(1)] zugehören. Das andere, zusammen mit dem Signal bei 15,1 ppm, muss dann den C-Atomen 24 und 26 des Tetrensäureringes zugeordnet werden. Für die deutliche Verschiebung des einen dieser zwei Signale gegenüber den entsprechenden Signalen der Modellverbindung **21** ist wohl der Sauerstoff-Substituent an C(25) (Lactonsauerstoff) verantwortlich.

Da der mit Wasserstoff und Palladiumkohle hergestellte Hexahydrochlorothricolid-methylester (**14**), in dem der Chromophor praktisch unverändert erhalten geblieben ist, oberhalb  $\delta = 4$  ppm keine Signale im Protonen-NMR.-Spektrum aufweist, konnte auch bereits erkannt werden, dass der Tetrensäurering vollständig substituiert sein muss.

Mit dem Vorliegen einer Tetrensäuregruppe sind weitere chemische Befunde im Einklang. Schon die Tatsache, dass bei der katalytischen Hydrierung wohl die drei olefinischen Doppelbindungen, nicht aber der Chromophor abgesättigt werden, ist mit dem bekannten Verhalten von Tetrensäuren bei der Hydrierung gut vereinbar [10]. Tetrensäuren geben nach *Haynes & Plimmer* [7] mit Diazomethan zwei isomere Methyläther. Bei eigenen Versuchen erhielten wir aus der  $\alpha,\gamma$ -Dimethyltetrensäure (**21**) die beiden Methyläther **22** und **23** im Verhältnis von ca. 2:1. Während sich das Isomere **22** erst mit verd. alkoholischer Natronlauge verseifen lässt, geht das Isomere **23** langsam schon beim Stehen an der Luft, rascher beim Kochen in wässrig-alkoholischer Lösung wieder in die Dimethyltetrensäure **21** über. Ganz analog verhält sich der Chlorothricolid-methylester (**9**). Die beiden Methylierungsprodukte **11** und **13** bilden sich im Verhältnis von ca. 10:1. Der isomere Methyläther **13** wird beim Erwärmen mit Wasser-Alkohol wieder verseift, während das Methylierungsprodukt **11** unter den gleichen Bedingungen nicht verändert wird.

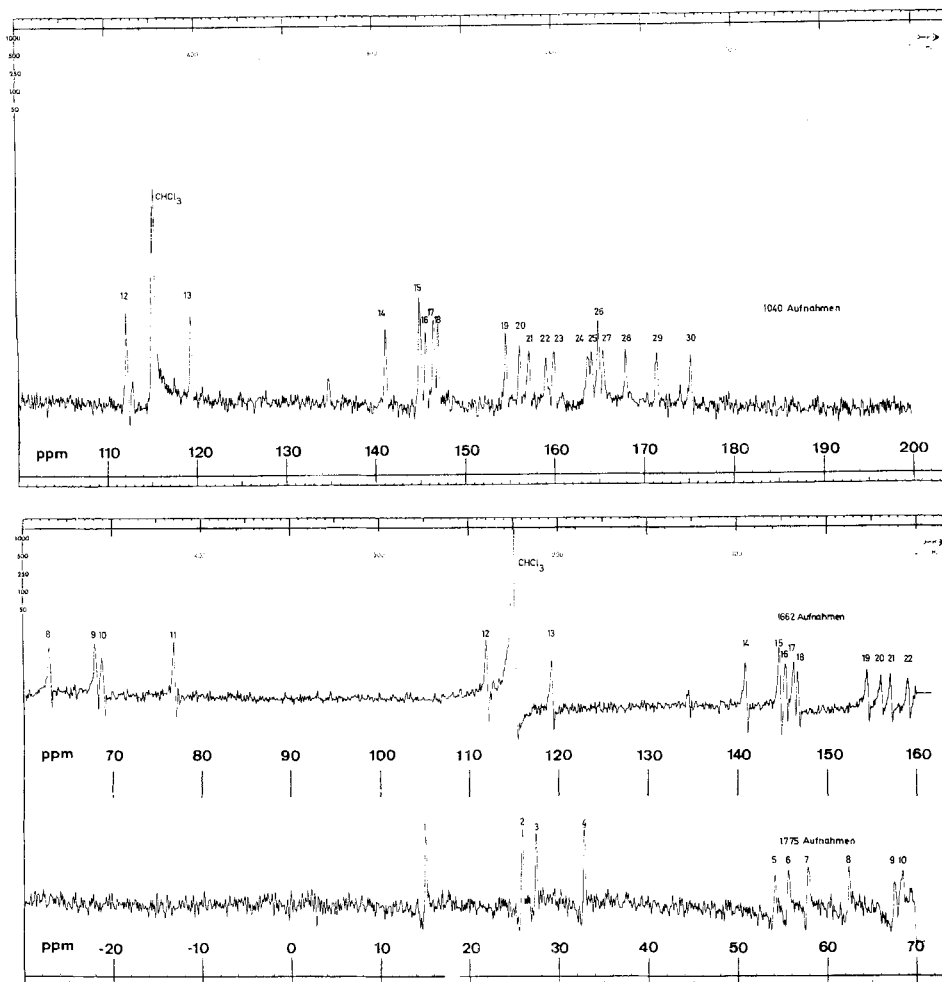

 Fig. 1.  $^{13}\text{C}$ -NMR.-Spektrum von Chlorothricolid-methylester (9) in  $\text{CDCl}_3$ 

Tabelle 1. Spektroskopische Daten von Derivaten des Chlorothricolids und von Modellverbindungen

Verbindung	IR.-Maxima in Chlf. 6- $\mu$ -Gebiet (in $\text{cm}^{-1}$ )	UV.-Max. in Alkohol $\lambda_{\text{max}}$ (log $\epsilon$ ) (in nm)	NMR.-Signale in $\text{CDCl}_3$ $\delta$ ( $\text{OCH}_3$ ) bzw. $\delta$ ( $\text{OAc}$ ) (in ppm)
<b>22</b>	1748, 1670	229 (4,11)	4,14
<b>16</b>	1760, 1735, 1681	232 (3,91)	3,70; 4,01
<b>24</b>	1784, 1760, 1700	220 (3,92)	2,33
<b>18</b>	1790, 1775, 1726, 1687	231 (3,75); 258 (4,04)	2,03; 2,31
<b>23</b>	1695, 1600 (st.)	256 (4,00)	4,10
<b>19</b>	1756, 1730, 1680 (st.)	265 (4,17)	3,67; 4,05

Die Gegenüberstellung einiger spektroskopischer Daten von Derivaten des Hexahydrochlorothricolidis und entsprechender Modellbindungen ist in der Tab. 1 wiedergegeben.

b) *Die Methoxycarbonylgruppe.* Auf die Veresterung einer Carboxylgruppe im Verlauf der Methanolysereaktion ist bereits hingewiesen worden. Die Umgebung der Methoxycarbonylgruppe, wie sie sich aus der Röntgen-Strukturanalyse des Cäsiumsalzes ergab, konnte durch eine chemische Umwandlung und damit zusammenhängende spektroskopische Beobachtungen unabhängig abgeleitet werden. Bei der Reaktion des O-Methyl-chlorothricolid-methylesters (**11**) mit Methylmagnesiumjodid entstand ein Gemisch von Produkten verschiedenen Methylierungsgrades. Daraus liess sich eine chromatographisch und spektroskopisch einheitliche Verbindung abtrennen, der auf Grund des NMR.-Spektrums die Strukturformel **25** zuzuordnen ist. Ausser den Signalen der ursprünglichen sekundären und tertiären C-Methylgruppe finden sich in der 1-ppm-Region des NMR.-Spektrums (Fig. 2) zwei zusätzliche Dreiprotonen-Singulette (1,32 und 1,37 ppm). Dagegen kommt nur noch ein O-Methyl-Signal vor ( $\delta = 4,00$  ppm, Tetronsäure-methyläther), während zwischen  $\delta$  4,9 und 5,9 ppm wie beim Ausgangsmaterial Signale von 5 olefinischen Protonen vorhanden sind.

Das im Ausgangsmaterial vorhandene NMR.-Dublett (1 H,  $J = 2,5$  Hz) bei 6,72 ppm (Fig. 3) ist im Produkt **25** nach 5,50 ppm verschoben. Das entsprechende Wasserstoffatom an einer Doppelbindung muss demnach im unmittelbaren Einflussbereich der Methoxycarbonylgruppe von Verbindung **11** liegen. Gemäss den Verschiebungsregeln von *Matter et al.* [11] passt die chemische Verschiebung von 6,72 ppm für das Proton an C(19) des O-Methyl-chlorothricolid-methylesters am besten auf eine *cis*-Lage von H und  $\text{COOCH}_3$  an der Doppelbindung. Ebenso ist im Produkt **25** die

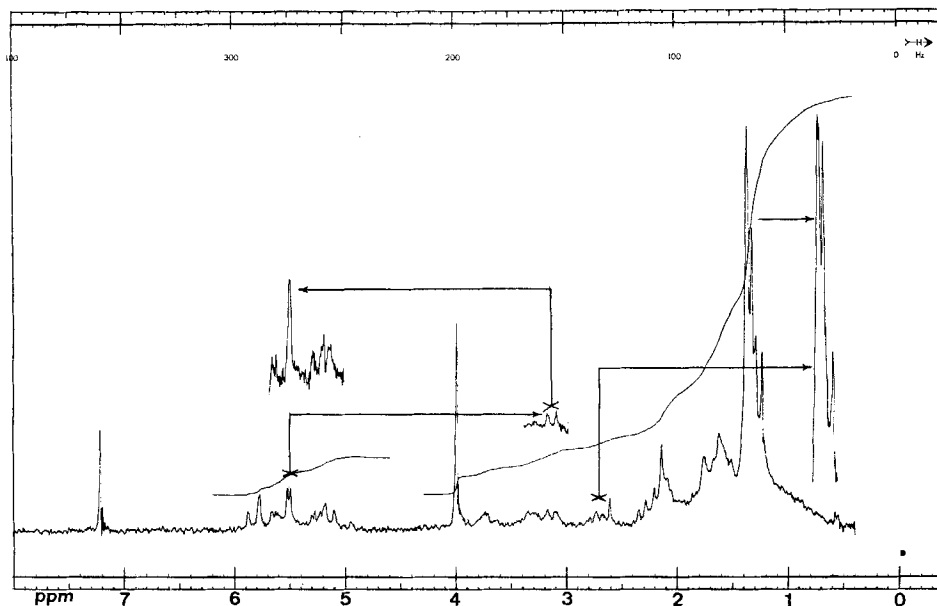


Fig. 2. NMR.-Spektrum des Grignard-Produktes **25** in  $\text{CDCl}_3$  (100 MHz)



chemische Verschiebung von 5,50 ppm nur mit einer *cis*-Lage von Proton und Hydroxyisopropylgruppe verträglich.

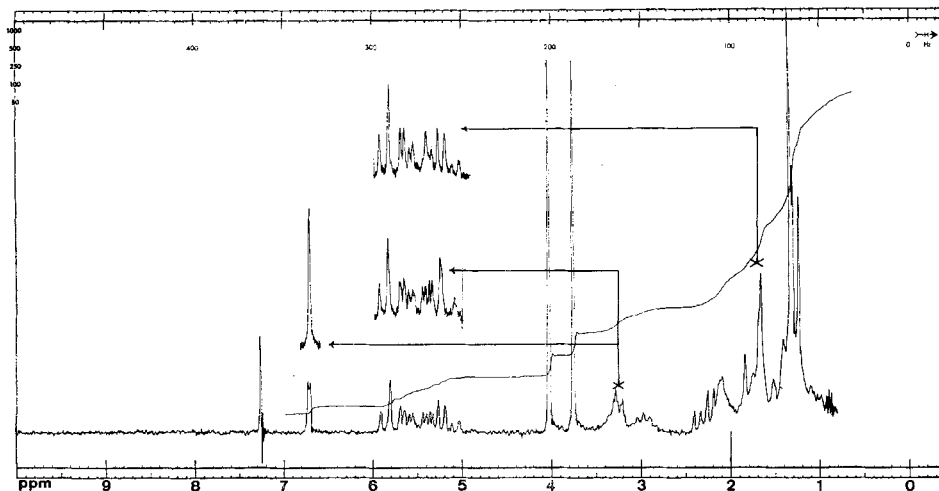
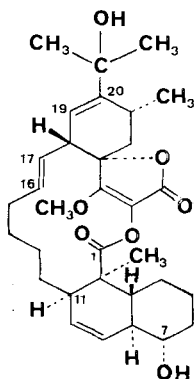


Fig. 3. NMR.-Spektrum von *O*-Methyl-chlorothricolid-methylester (**11**) in  $\text{CDCl}_3$  (100 MHz)

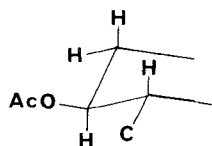
Über die Zuordnung des  $^{13}\text{C}$ -NMR.-Signals mit  $\delta$  32,8 ppm (Fig. 1) zu einem  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Estercarbonyl-Kohlenstoffatom ist bereits oben berichtet worden.

c) *Die alkoholische Hydroxylgruppe.* Der Chlorothricolid-methylester (**9**) besitzt ausser der sauren Enolgruppe noch eine alkoholische Hydroxylgruppe, die durch die Bildung der Acetylderivate **10**, **12** und **18** chemisch erfasst werden kann. Der Hexahydrochlorothricolid-methylester (**14**) und sein Methyläther **16** besitzen im NMR.-Spektrum ein schlecht aufgelöstes Multipllett mit Schwerpunkt bei  $\delta = 3,25$  ppm, das

Schema 4



**25**



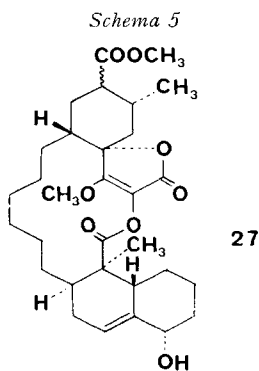
**26**

im Acetylderivat **18** nach ca. 4,5 ppm verschoben ist. Es handelt sich demnach um das Signal des einer sekundären Hydroxylgruppe anliegenden Wasserstoffatoms.

Beim Acetyl-methyläther **12**, bei dem das entsprechende Signal bei  $\delta$  4,43 ppm erscheint, konnte es durch ein bei 220 MHz aufgenommenes NMR.-Spektrum besser aufgelöst werden. Es besitzt eine Triplett-Aufspaltung mit  $J = 10$  Hz und eine Dublett-Aufspaltung mit  $J = 4$  Hz. Daraus kann geschlossen werden, dass das betreffende Wasserstoffatom an einem wahrscheinlich sechsgliedrigen Ring axial angeordnet und zwei axialen und einem äquatorialen Wasserstoffatom benachbart ist gemäss Partialformel **26**. Diese stimmt mit der kristallographisch aufgeklärten Struktur **9** des Aglykon-methylesters überein.

Ungewöhnlich ist der Befund, dass bei der Hydrierung des Chlorothricolid-methylesters (**9**) und seines Methyläthers **11** in geringem Ausmass eine hydrogenolytische Abspaltung der sekundären Hydroxylgruppe erfolgt, obwohl die beiden Verbindungen keine Allylalkohole sind (Schema 2). Das Hydrogenolyseprodukt **17** besitzt keine IR.-Absorptionsbanden im OH-Gebiet und ist nicht acetylierbar. Eine mögliche Erklärung für die Entstehung der Produkte **15** bzw. **17** mag darin bestehen, dass am Katalysator zunächst eine teilweise Verschiebung der Doppelbindung aus der homoallylischen in die allylische Lage erfolgt.

Eine Bestätigung für diese Vermutung ergibt sich aus einem Tetrahydroderivat, das als Nebenprodukt bei der Hydrierung des O-Methyl-chlorothricolid-methylesters (**11**) in 8proz. Ausbeute erhalten wurde. Das Nebenprodukt zeigt im NMR.-Spektrum nur noch ein Signal eines einzigen olefinischen Protons ( $\delta = 5,55$  ppm) als verbreitertes Dublett mit Kopplungskonstanten von 5 und weniger als 1 Hz. Die chemische Verschiebung entspricht nicht der von H-C(19) des Ausgangsmaterials ( $\beta$ -Stellung zur Ester-Carbonylgruppe). Die Entstehung dieses Nebenproduktes kann daher nur durch Verschiebung einer der beiden isolierten Doppelbindungen in eine weniger leicht hydrierbare Stelle erklärt werden. Wir schreiben daher dem Tetrahydro-O-methyl-chlorothricolid-methylester die Strukturformel **27** zu.



d) *Die Doppelbindungen.* Die im Schema 3 formulierten Hydrierungen zeigen, dass der Chlorothricolid-methylester neben der nicht hydrierbaren Enddoppelbindung drei olefinische Doppelbindungen besitzt. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR.-Spektrum (Fig. 1) sind im Gebiet olefinischer Kohlenstoffatome (ca. 50–80 ppm) 7 Signale zu erkennen (vgl. [12]). Da auf Grund des Spektrums der Modellverbindung **21** anzunehmen ist, dass auch das  $\beta$ -C-Atom des Tetronsäurerings in diesem Bereich absorbiert, ist das  $^{13}\text{C}$ -Spektrum im besten Einklang mit der Anwesenheit von 3 olefinischen Bindungen.

Im Protonen-NMR.-Spektrum des O-Methyl-chlorothricolid-methylesters (**11**) bei 100 MHz (Fig. 3) war von den Signalen der olefinischen Wasserstoffatome nur das Dublett ( $J = 2,5$  Hz) von H-C(19) bei  $\delta = 6,67$  ppm isoliert zu erkennen, hingegen erlaubte ein bei 220 MHz. aufgenommenes Spektrum (Fig. 4) die eindeutige Interpretation der Signale aller fünf Vinylprotonen. Die Signale mit Schwerpunkt bei 5,41 und 5,15 ppm gehören Protonen an einer *trans*-disubstituierten Doppelbindung ( $J_{16,17} = 15$  Hz) an. Das Signal von H-C(17) bei 5,15 ppm ist durch Kopplung mit H-C(18) ( $J_{17,18} = 8$  Hz) zusätzlich aufgespalten. Die Unschärfe der vier Pike ist durch eine «long-range»-Wechselwirkung mit einem Proton an C(15) zurückzuführen.

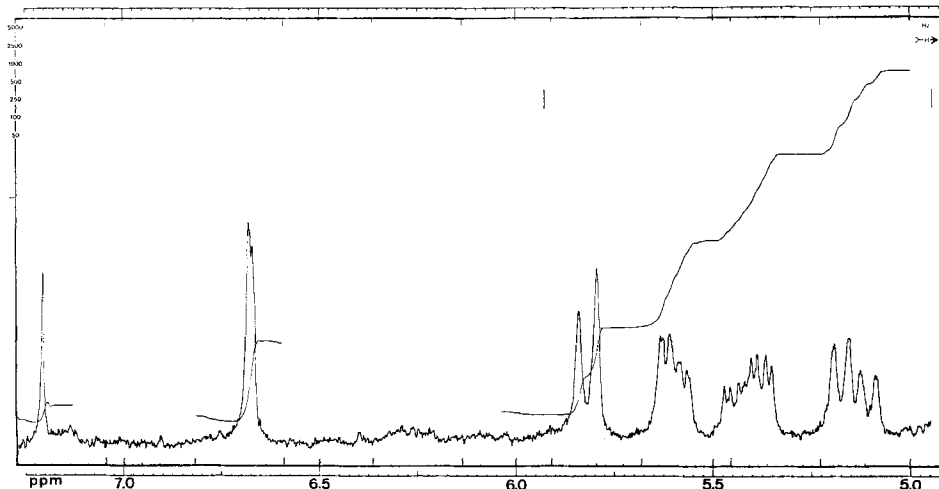


Fig. 4. NMR.-Spektrum von O-Methyl-chlorothricolid-methylester (**11**) in  $CDCl_3$ , Ausschnitt (220 MHz)

Das Signal von H-C(16) bei 5,41 ppm zeigt neben der *AB*-Kopplung von 15 Hz zwei zusätzliche Kopplungen von 8 und 3,5 Hz mit zwei Protonen an C(15) und ist demnach in acht Pike aufgespalten.

Das Signalpaar mit  $\delta$  5,60 und 5,82 ppm gehört dagegen Protonen an einer *cis*-substituierten Doppelbindung an, denn die *AB*-Kopplung beträgt lediglich 10 Hz. Interessanterweise ist die Kopplungskonstante  $J_{9,8}$  nahezu null, entsprechend dem Torsionswinkel H-C(9)-C(8)-H von nahezu  $90^\circ$  im Modell eines entsprechenden *trans*-Octalinsystems. Die Kopplungskonstante  $J_{10,11}$  beträgt dagegen 4,5 Hz.

e) Die C-Methylgruppen. Der Chlorothricolid-methylester (**9**) besitzt gemäss Röntgen-Strukturanalyse zwei C-Methylgruppen. Deren NMR.-Signale sind als Dublett ( $J = 6,5$  Hz) bei 1,29 ppm und als Singulett bei 1,35 ppm im Spektrum des Aglykon-methylesters und seiner Derivate (vgl. Fig. 3) leicht zu erkennen. Der Kopplungspartner der ersten Methylgruppe konnte durch Spinentkopplung bei  $\delta$  2,95 ppm ausgemacht werden, entsprechend einer  $\alpha$ -Stellung zu einer Doppelbindung des koppelnden Wasserstoffatoms.

In den Hydrierungsprodukten **14** bis **18** ist das Methyl dublett nach ca. 1,0 ppm verschoben. Diese Verschiebung bestätigt die Lage der Methylgruppe in  $\alpha$ -Stellung zu einer Doppelbindung gemäss Formel **9**.

Die Lage des Singulets,  $\delta = 1,35$  ppm, wird dagegen durch die Hydrierung kaum beeinflusst, was mit der Lage der zweiten Methylgruppe in  $\alpha$ -Stellung zur Lacton-Carbonylgruppe gemäss Formel **9** im Einklang ist.

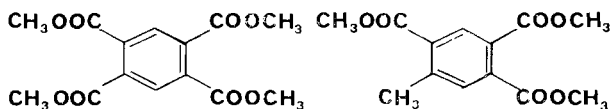
Im  $^{13}\text{C}$ -NMR.-Spektrum (Fig. 1) sind den beiden Methyl-Kohlenstoffatomen offenbar die beiden Signale mit  $\delta$  175,2 und 171,5 ppm zuzuordnen. Die nach der Beziehung von *Grant & Paul* [13] berechneten Werte betragen für die sekundäre C-Methylgruppe 174,2 ppm, für die tertiäre 169,1 ppm.

f) *Der sechsgliedrige Ring.* Der sechsgliedrige Ring, der die C-Atome 18–23 in Formel **9** umfasst, und die daran anschliessenden C-Atome konnten durch einen oxydativen Abbau erfasst werden. Das bei einer Oxydation von Chlorothricolid-methylester mit Salpetersäure erhaltene Säuregemisch wurde mit Diazomethan verestert. Durch Chromatographie an Kieselgel konnten zwei einheitliche Verbindungen isoliert werden. Die erste davon wurde in farblosen Kristallen, Smp.  $142,5^\circ$ , erhalten. Das NMR.-Spektrum zeigte nur zwei Singulette bei  $\delta = 3,94$  und  $8,10$  ppm (Intensitätsverhältnis 6:1). Auf Grund des UV.- und IR.-Spektrums musste es sich um einen aromatischen Körper handeln. Der Molekelpik im Massenspektrum,  $m/e$  310, wies auf eine Bruttoformel  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_8$  hin. Durch direkten Vergleich (Smp., IR.-Spektrum) konnte die Identität mit Pyromellithsäure-tetramethylester (**28**) [14] bewiesen werden.

Der zweite Ester war eine farblose Flüssigkeit. Das NMR.-Spektrum mit einem Ar- $\text{CH}_3$ -Signal bei 2,66 ppm, einem 9 Protonen entsprechenden O-Methyl-Singulett bei 3,92 ppm und zwei Singuletten zu je einem Proton bei 7,53 und 8,38 ppm weist auf die Struktur **29** hin. Das Massenspektrum ( $M^+ = 266$ ), das UV.- und das IR.-Spektrum (exp. Teil) bestätigen diese Annahme.

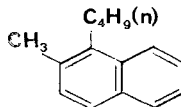
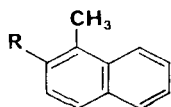
Die beiden Abbauprodukte **28** und **29** lassen sich aus der Struktur **9** zwanglos erklären, wenn man annimmt, dass dem Abbau eine Aromatisierung des Sechsrings, eingeleitet durch eine Elimination des Sauerstoffatoms an C(23), vorausgeht.

Schema 6



**28**

**29**



- 30** : R =  $\text{CH}_3$   
**31** : R =  $\text{C}_2\text{H}_5$   
**32** : R =  $n\text{-C}_3\text{H}_7$   
**33** : R =  $n\text{-C}_4\text{H}_9$   
**34** : R =  $n\text{-C}_5\text{H}_{11}$

**35**

Bei einer Oxydation des Chlorothricolid-methylesters (**9**) mit Kaliumpermanganat wurden dagegen nur niedrigmolekulare Produkte rein erhalten, die keine Rückschlüsse auf die Struktur des Chlorothricolids erlaubten. Der Abbau mit Ozon gab schwer trennbare Gemische von Produkten, deren Molekulargewichte im gleichen Bereiche lagen wie das des Ausgangsmaterials.

g) *Das Octahydronaphthalin-System.* Schon früh ergaben sich Anhaltspunkte dafür, dass dem Chlorothricolid ein polycyclisches Kohlenstoffgerüst zugrunde liege. Wir haben daher versucht, durch eine Dehydrierung weiteren Aufschluss über dessen Struktur zu erhalten.

Beim Erhitzen von Chlorothricolid-methylester (**9**) mit Selen entstand u. a. ein im Hochvakuum destillierbares Öl, das gemäss Gas-Chromatographie 7 Komponenten enthielt. Fünf davon konnten durch präparative Gas-Chromatographie rein erhalten und identifiziert werden. Auf Grund der UV.-Spektren waren alle Naphthalinkohlenwasserstoffe. Die Massenspektren zeigten, dass eine Reihe von Homologen vorlag mit Molekelpiken von  $m/e$  156, ( $C_{12}H_{12}$ ), 170 ( $C_{13}H_{14}$ ), 184 ( $C_{14}H_{16}$ ), 198 ( $C_{15}H_{18}$ ) und 212 ( $C_{16}H_{20}$ ).

Die erste dieser Verbindungen zeigte im NMR.-Spektrum zwei Singulette (je 3 H) bei  $\delta = 2,47$  und  $2,58$  ppm sowie eine komplexe Signalgruppe (6 H) zwischen  $7,10$  und  $8,05$  ppm. Es liegt demnach ein Dimethylnaphthalin vor. Durch direkten Vergleich (NMR.-Spektrum, Misch-Smp. des Pikrats) konnte das Dehydrierungsprodukt als 1,2-Dimethylnaphthalin (**30**) identifiziert werden.

Die NMR.-Spektren der vier höheren Homologen waren im Bereich von  $\delta$   $7,0$  bis  $8,1$  ppm deckungsgleich mit der des Dimethylnaphthalins **30**. Sie besitzen demnach das gleiche Substitutionsmuster am Naphthalinkern, d. h. alle sind 1,2-Dialkylnaphthaline. Auf Grund der NMR.-Spektren besitzen alle eine aromatisch gebundene Methylgruppe und je nur eine aliphatisch gebundene Methylgruppe, sind also entweder 1-Methyl-2-*n*-alkyl- oder 2-Methyl-1-*n*-alkyl-naphthaline. Zum Vergleich wurden die beiden in Frage kommenden Methyl-*n*-butyl-naphthaline (**33** und **35**) synthetisch hergestellt. Während die IR.-Spektren der beiden Vergleichsproben nahezu identisch waren, unterschieden sich ihre NMR.-Spektren signifikant voneinander (s. exp. Teil). Das Dehydrierungsprodukt war nach NMR.-Spektrum und Misch-Smp. des Pikrats identisch mit dem 1-Methyl-2-butyl-naphthalin (**33**).

Die übrigen homologen Dehydrierungsprodukte besitzen alle ein Aryl-methylsignal bei etwa  $2,65$  ppm sowie ein Triplett für die  $\alpha$ -Methylengruppe bei  $2,8$ - $2,9$  ppm. Auf Grund des Vergleichs mit den beiden synthetischen Methyl-butyl-naphthalinen handelt es sich um die Homologen **31** bis **34** (vgl. Tab. 2). Die Smp. der Pikrate der Abbauprodukte **31** und **32** stimmten mit Literaturwerten überein [15] (vgl. dagegen [16] und [17]).

Tabelle 2. Charakteristische NMR.-Signale ( $CDCl_3$ ) für einige 1,2-Dialkylnaphthaline

Naphthalinderivat	Ar-CH <sub>3</sub>	Ar-CH <sub>2</sub> -R
1-Methyl-2-äthyl-naphthalin ( <b>31</b> )	2,67	2,91
1-Methyl-2-propyl-naphthalin ( <b>32</b> )	2,65	2,81
1-Methyl-2-butyl-naphthalin ( <b>33</b> )	2,60	2,79
1-Methyl-2-pentyl-naphthalin ( <b>34</b> )	2,65	2,84
2-Methyl-1-butyl-naphthalin ( <b>35</b> )	2,47	3,04

Die Herkunft der 1-Methyl-2-alkyl-naphthaline aus dem Bereich der Kohlenstoffatome 2 bis 16 des Chlorothricolid-methylesters (**9**) ist offensichtlich. Für die Synthesen der beiden isomeren Methyl-butyl-naphthaline nach Analogievorschriften wird auf den experimentellen Teil verwiesen.

**3. Die Struktur des Chlorothricins.** – Von den beiden Hydroxylgruppen des Abbauproduktes **9** ist die stark saure Enolgruppe im Chlorothricin frei ( $pK_{MCS}^*$  5,04). Die Methoxycarbonylgruppe des Chlorothricolid-methylesters liegt im Chlorothricin als freie Carboxylgruppe ( $pK_{MCS}^*$  7,91) vor. Für die glykosidische Verknüpfung mit einem der beiden Zuckerreste steht somit nur die sekundäre Hydroxylgruppe an C(7) zur Verfügung, und die beiden Zuckerbausteine **3** und **4** müssen in einer Disaccharidkette angeordnet sein. Die Verknüpfungsstellen wurden nach der Methode der vollständigen Methylierung bestimmt. Bei der Methylierung von Chlorothricin mit Methyljodid und einem Überschuss an Bariumoxid und Bariumhydroxid [18] trat allerdings eine Komplikation ein. Neben einem Tri-O-methyl-chlorothricin, das noch eine freie Hydroxylgruppe besitzt, wurde nicht die erwartete Tetra-O-methylverbindung erhalten, sondern ein Penta-O-methylderivat mit insgesamt sechs O-Methylgruppen (NMR.-Spektrum s. Fig. 5). Es muss demnach unter dem Einfluss der starken Base eine Umlagerung im Aglykonteil stattgefunden haben, wobei eine neue methylierbare Hydroxylgruppe entstanden war.

Das kristalline Produkt gab Analysen, die auf eine Formel  $C_{55}H_{73}ClO_{16}$  (vermischt mit 15–20% der entsprechenden Des-chloro-Verbindung) passten. Das IR.-Spektrum zeigt die Abwesenheit freier Hydroxylgruppen. Aus dem NMR.-Spektrum (Fig. 5)

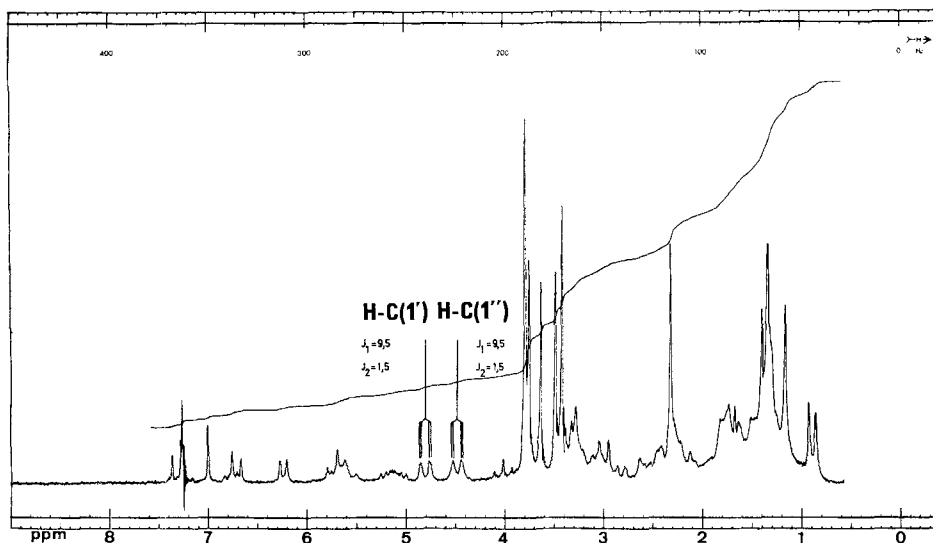


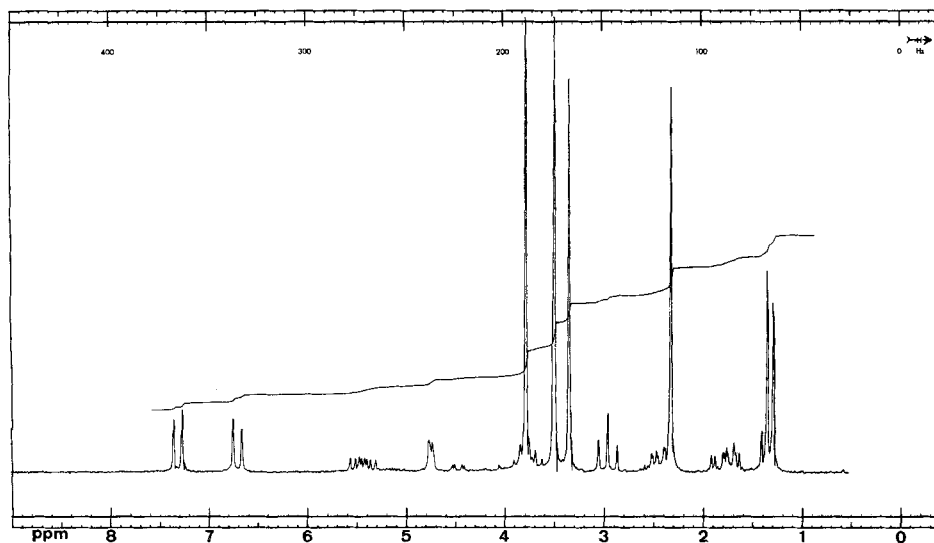
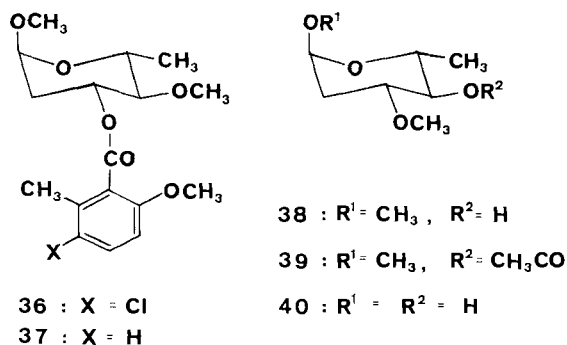
Fig. 5. NMR.-Spektrum von Penta-O-methyl-isochlorothricin (100 MHz) in  $CDCl_3$

erkennt man, dass die beiden Zuckerbausteine, jetzt in methylierter Form, noch vorhanden sind. Die Natur der Umwandlung im Aglykonteil ist noch nicht völlig aufgeklärt. Wir nennen das neue Derivat Penta-O-methyl-isochlorothricin. Das Tri-O-methyl-chlorothricin ging bei der erneuten Behandlung mit Methyljodid ebenfalls in

das Penta-O-methyl-isochlorothricin über. Hingegen wurde die Bildung von Tetra-O-methyl-chlorothricin mit unverändertem Aglykon nicht beobachtet.

Bei der säurekatalysierten Methanolyse des Penta-O-methyl-isochlorothricins wurden vorwiegend mit Äthylacetat extrahierbare Produkte erhalten. Die Auftrennung durch Chromatographie gab, neben uneinheitlichen Fraktionen, die auf Grund des NMR.-Spektrums vorwiegend Umwandlungsprodukte des Aglykons enthielten, hauptsächlich zwei einheitliche Verbindungen. Die erste davon, Kristalle der Zusammensetzung  $C_{17}H_{23}ClO_6$ , war auf Grund der Bruttozusammensetzung, des UV.- und des NMR.-Spektrums (Fig. 6) der Methyläther **36** des früher erhaltenen  $\alpha$ -Methylglykosids **3**. Das Fehlen einer OH-Bande im IR.-Spektrum bestätigt, dass keine freien Hydroxylgruppen vorhanden sind. Der Zuckerester **3** bildet demnach die Endgruppe im Disaccharid-Teil. Flüssige Nebenfraktionen des Abbauproduktes **36** waren gemäss NMR.-Spektrum ein Gemisch des Abbauesters **36** mit dem chlorfreien Analogon **37**.

Schema 7


 Fig. 6. NMR.-Spektrum des Glycosidesters **36** (60 MHz) in  $CDCl_3$

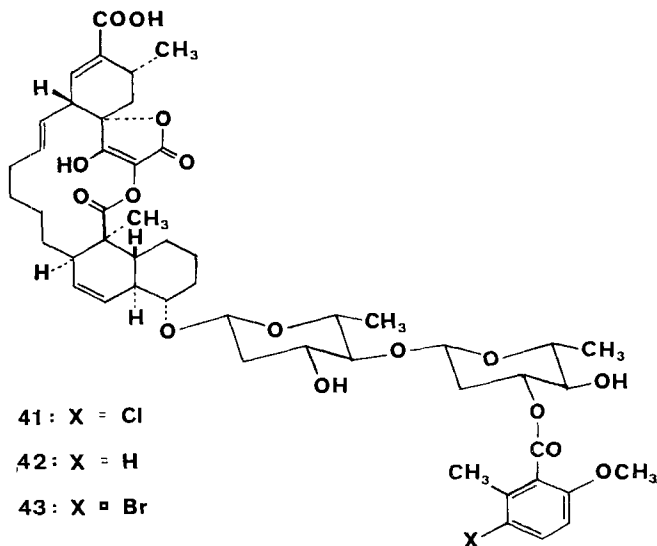
Das zweite rein erhaltene Methanolyseprodukt war eine farblose Flüssigkeit der Zusammensetzung  $C_8H_{16}O_4$ . Das NMR.-Spektrum zeigte die Anwesenheit zweier O-Methylgruppen; es liegt demnach ein Monomethyläther des  $\alpha$ -Methyl-2-desoxy-D-rhamnosids (**4**) vor. Die Lage der nichtglykosidischen O-Methylgruppe ergab sich aus dem NMR.-Spektrum des Acetylierungsproduktes **39**. Das charakteristische Triplet des H-Atoms an C(4), das im nicht acetylierten Glykosid **38** bei 3,15 ppm gefunden wurde, ist hier nach 4,66 ppm verschoben. Demnach ist die Hydroxylgruppe an C(4) des Methyläthers **38** frei, während das Sauerstoffatom an C(3) in einer Methoxylgruppe vorliegt.

In den wasserlöslichen Anteilen der Methanolyseprodukte konnte neben dem Methyläther-methylglykosid **38** noch eine geringe Menge der freien 3-O-Methyl-2-desoxy-D-rhamnose (**40**) nachgewiesen werden, deren spektrale Eigenschaften auf die angegebene Struktur passen.

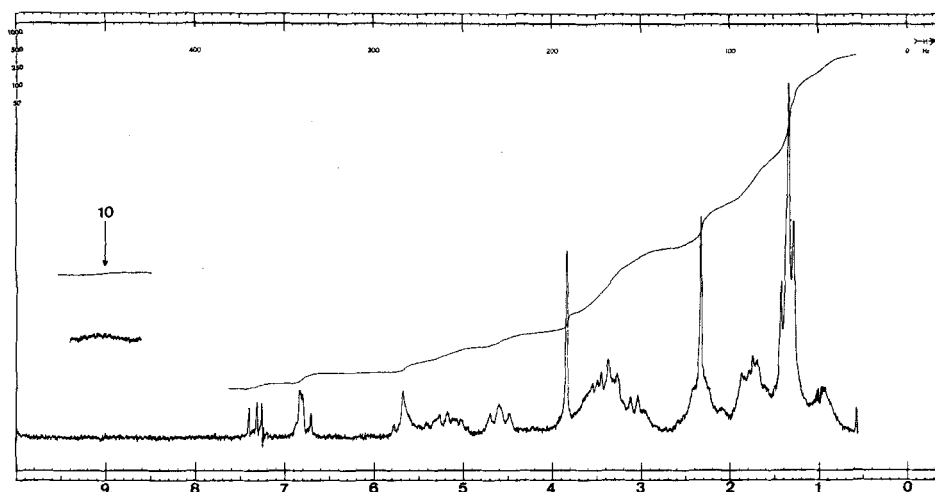
Diese Abbauergebnisse sind nur interpretierbar, wenn die Bausteine im Chlorothricin gemäss der Strukturformel **41** zusammengefügt sind. Die  $\beta$ -Konfiguration an den beiden Anomeriezentren gründet sich auf NMR.-Spektrern. Während die Signale der Protonen an diesen Zentren 1' und 1'' im Spektrum des Chlorothricins selber (Fig. 7) bei ca. 4,4 bis 4,8 ppm teilweise überlappen und daher nur mit Vorbehalt interpretiert werden können, erscheinen sie beim Penta-O-methyl-isochlorothricin (Fig. 5) isoliert als zwei Doppeldublette bei 4,48 und 4,83 ppm. Die Kopplungskonstanten betragen bei beiden 9,5 ( $J_{1a,2a}$ ) und 1,5 Hz ( $J_{1a,2e}$ ), was nur mit der in Formel **41** angegebenen Konfiguration vereinbar ist.

Das *Des-chlorothricin*, das bisher nicht rein erhalten wurde, aber als ständiger Begleiter des Chlorothricins auftritt, kann demnach als **42** formuliert werden. Dem *Bromothricin*, das bei der Fermentierung in bromidhaltiger Nährlösung entsteht [19], können wir die Strukturformel **43** zuschreiben.

Schema 8





Fig. 7. NMR.-Spektrum von Chlorothricin (100 MHz) in  $\text{CDCl}_3$ 

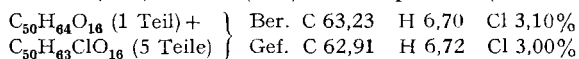
Herrn Prof. Dr. H. Zähler, Tübingen, danken wir für eine grössere Menge Rohchlorothricin.

### Experimenteller Teil

**Allgemeines.** Wenn nichts anderes angegeben ist, wurden die optischen Drehungen mit einem photoelektrischen Zeiss-Polarimeter in Chloroform, die UV.-Spektren in Feinsprit bzw. in 0,01 N alkoholischer KOH, die IR.-Spektren in Chloroform aufgenommen. Die NMR.-Spektren wurden in  $\text{CDCl}_3$  gemessen. Die chemischen Verschiebungen sind in  $\delta$ -Einheiten, bezogen auf Tetramethylsilan als internem Standard, die Kopplungskonstanten in Hz angegeben. Multiplizitäten wurden wie folgt bezeichnet: *s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *q* = Quartett, *m* = Multipllett, *k* = komplex aufgespaltene Signalgruppe, *b* = breites, schlecht aufgelöstes Signal.

Für die Dünnschichtchromatographie benützten wir Kieselgel-Fertigplatten  $\text{F}_{254}$  der Firma Merck, Darmstadt. Die Flecke wurden durch Besprühen mit konz. Schwefelsäure und Erhitzen auf ca.  $120^\circ$  oder mit Joddampf sichtbar gemacht.

**Chlorothricin (41).** Das wie früher [2] aus Kulturen von *Streptomyces antibioticus*, Stamm Tü 99, isolierte Chlorothricin wurde zweimal aus Methylchlorid/Methylacetat umkristallisiert. Smp.  $206\text{--}207^\circ$ . UV.-Spektrum:  $\lambda_{\text{max}}$  (loge) 222 nm (4,20), 260 nm (3,81), 281 nm (Sch., 3,28). UV.-Spektrum in KOH: 221 nm (4,09), 259 nm (3,95). NMR.-Spektrum (100 MHz): Fig. 7.



**Methanolyse; Nachweis von  $\alpha$ -Methyl-2-desoxy-D-rhamnosid (4).** 15 g Chlorothricin wurden wie früher [2] mit methanolischer Schwefelsäure gespalten. Durch Extraktion mit Äthylacetat und Chromatographie an Kieselgel wurden 5,5 g (66,2%) Chlorothricolid-methylester (9) (Methanolyseprodukt C, vgl. [2]) und 3,9 g (73%)  $\alpha$ -Methyl-2-desoxy-3-O-(5'-chloro-2'-methoxy-6'-methylbenzoyl)-D-rhamnosid (3), vermischt mit etwas chlorfreiem Analogon, erhalten.

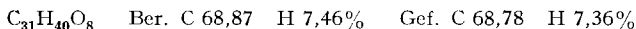
Die schwefelsaure wässrige Phase der Aufarbeitung wurde an 700 g Dowex 1 (200/400), das mit Hydrogencarbonat-Ionen beladen war, von den Sulfat-Ionen befreit und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand von 1,84 g wurde an 250 g Kieselgel (Merck, 0,05–0,2 mm) chromatographiert. Mit Äthylacetat/Methanol 9:1 wurden zuerst 1,37 g einheitliches  $\alpha$ -Methyl-2-desoxy-D-rhamnosid (4) und anschliessend 130 mg 2-Desoxy-D-rhamnose eluiert. Ausbeute an beiden zusammen 59%.

Zur Analyse wurde das Glykosid im Hochvakuum bei ca.  $100^\circ$  destilliert. Das farblose viskose Öl wurde durch Vergleich (IR.-Spektrum, NMR.-Spektrum, Dünnschichtchromatographie) mit einem Präparat, das aus Venturicin B erhalten worden war [20], identifiziert.  $[\alpha]_{\text{D}} = +126,5^\circ$

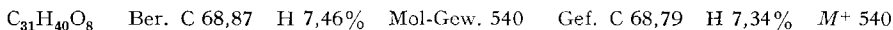
( $c = 1\%$ ). Die Eigenschaften des freien Zuckers stimmten ebenfalls mit denen einer authentischen Probe überein.

*Isomere O-Methyl-chlorothricolid-methylester (11 und 13).* 3 g Chlorothricolid-methylester in 200 ml Methanol wurden mit einem Überschuss ätherischer Diazomethanlösung 16 Std. bei  $4^\circ$  stehengelassen. Nach dem Eindampfen wurde der Rückstand an 260 g Kieselgel chromatographiert. Mit Chloroform/Äthylacetat wurden zunächst 2,52 g (84%) des Methylierungsproduktes **11** eluiert. Spätere Fraktionen gaben 267 mg (8,9%) des Isomeren **13**. Dünnschichtchromatographie mit Chloroform/Äthylacetat 7:3; **11**: Rf 0,47; **13**: Rf 0,30.

Das *Isomere 11* gab aus Methylacetat/*n*-Heptan farblose Kristalle, Smp.  $230^\circ$ ,  $[\alpha]_D = -30^\circ$  ( $c = 1\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$  225 nm (4,29); in KOH: 227 nm (4,19), 350 nm (3,52). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{\max}$  3620, 1760, 1710, 1680, 1645  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (100 MHz): Fig. 3; NMR.-Spektrum (220 MHz): Fig. 4.



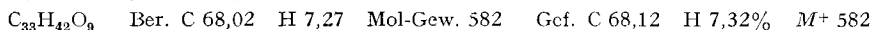
Das *Isomere 13* wurde nochmals an 30 g Kieselgel chromatographiert und gab aus Methylacetat/Hexan 5:1 farblose Kristalle, Smp.  $225\text{--}227^\circ$ ,  $[\alpha]_D = -109^\circ$  ( $c = 1\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$  220 nm (4,16), 270 nm (4,09). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{\max}$  3620, 1758, 1711, 1642, 1605  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (100 MHz): u.a.  $\delta$  1,23 (*d*,  $J = 7, 3\text{H}$ ), 1,23 (*s*, 3H), 1,82 (*s*, 1H, austauschbar), 2,42 (*dd*,  $J_1 = 14,5$ ,  $J_2 = 7, 1\text{H}$ ), 2,8–3,1 (*b*, 1H), 3,2–3,45 (*b*, 2H), 3,74 (*s*, 3H), 3,97 (*s*, 3H), 5,1–5,7 (*k*, 3H), 5,54 (*dd*,  $J_1 = 10$ ,  $J_2 = 4,5, 1\text{H}$ ), 5,85 (*d*,  $J = 10, 1\text{H}$ ), 6,74 (breites *s*, 1H).



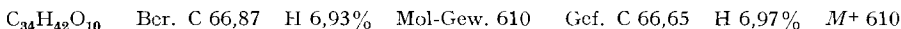
20 mg reiner Methyläther **11** in 3 ml absol. Methanol und 5 ml ätherische Diazomethanlösung wurden 15 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach dem Eindampfen wurden durch Chromatographie an 5 g Kieselgel (Chloroform/Äthylacetat 7:3) 4,8 mg Ausgangsmaterial (**11**) und 13,2 g Isomerisierungsprodukt (**13**) erhalten und durch ihre IR.-Spektren und Rf-Werte identifiziert.

*Hydrolyse des isomeren Methyläthers 13.* 94 mg Methyläther **13** in 10 ml Methanol und 4 ml Wasser wurden 5 Tage unter Rückfluss erwärmt. Nach dem Eindampfen wurden an 8 g Kieselgel mit Äthylacetat/Methanol 9:1 54 mg uneinheitliche Fraktionen und 15 mg Chlorothricolid-methylester erhalten und durch das IR.-Spektrum und den Rf-Wert identifiziert. – Der Methyläther **11** war unter den gleichen Bedingungen beständig.

*7-O-Acetyl-24-O-methyl-chlorothricolid-methylester (12).* 62 mg Methyläther **11** wurden mit Essigsäureanhydrid und Pyridin 12 Std. bei Zimmertemperatur acetyliert. Durch Chromatographie an 8 g Kieselgel wurden 61 mg farbloses Produkt erhalten und aus *n*-Hexan umkristallisiert; Smp.  $229\text{--}230^\circ$ ,  $[\alpha]_D = \pm 0^\circ$  ( $c = 0,5\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$  225 nm (4,15); in KOH keine Änderung. IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{\max}$  1760, 1715 (breit), 1682, 1648  $\text{cm}^{-1}$ , kein OH. NMR.-Spektrum (100 MHz): u.a.  $\delta$  1,29 (*d*,  $J = 7, 3\text{H}$ ), 1,36 (*s*, 3H), 2,07 (*s*, 3H), 2,32 (*dd*,  $J_1 = 15$ ,  $J_2 = 7, 1\text{H}$ ), 2,85–3,15 (*b*, 1H), 3,27 (*d*,  $J = 9, 1\text{H}$ ), 3,75 (*s*, 3H), 4,02 (*s*, 3H), 4,4–4,7 (*n*, 1H), 5,0–5,75 (*k*, 4H), 6,71 (*d*,  $J = 2, 1\text{H}$ ).



*Di-O-acetyl-chlorothricolid-methylester (10).* Das aus 45 mg Chlorothricolid-methylester (**9**) wie oben bereitete Acetylderivat kristallisierte nach chromatographischer Reinigung (6 g Kieselgel, Chloroform/Äthylacetat 19:1) aus *n*-Heptan/Methylacetat in farblosen Kristallen, Smp.  $251\text{--}255^\circ$ ,  $[\alpha]_D = +39^\circ$  ( $c = 0,5\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$  229 nm (4,28). IR.-Spektrum in KBr: u.a.  $\nu_{\max}$  1790, 1757, 1730, 1705, 1640  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (100 MHz): u.a.  $\delta$  1,26 (*d*,  $J = 7, 3\text{H}$ ), 1,30 (*s*, 3H), 1,80 (*d*,  $J = 13,5, 1\text{H}$ ), 2,02 (*s*, 3H), 2,18 (*dd*,  $J_1 = 13,5$ ,  $J_2 = 7, 1\text{H}$ ), 2,22 (*s*, 3H), 2,8–3,1 (*b*, 1H), 3,25 (*dd*,  $J_1 = 8$ ,  $J_2 = 2,5, 1\text{H}$ ), 3,74 (*s*, 3H), 4,3–4,7 (*b*, 1H), 4,9–5,65 (*b*, 4H), 6,68 (breites *s*, 1H).



*Hexahydrochlorothricolid-methylester (14).* 500 mg Chlorothricolid-methylester in 30 ml Methanol wurden mit 500 mg 10proz. Palladiumkohle in einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Die Wasserstoffaufnahme kam nach ca. 45 Min. zum Stillstand. Nach dem Filtrieren und Eindampfen wurde an 55 g Kieselgel chromatographiert. Mit Chloroform/Äthylacetat 19:1 wurden 41,8 mg (8,6%) Hexahydro-7-desoxy-chlorothricolid-methylester (**15**) erhalten, mit Chloroform/Äthyl-

acetat 1:1 268 mg (54%) Hexahydrochlorothricolid-methylester (**14**). Der letztere kristallisierte aus Cyclohexan/Methylacetat 10:1; Smp. 245°,  $[\alpha]_D = +9^\circ$  ( $c = 1\%$ ). Mikrotitration in Methylcellosolv/Wasser 8:2:  $pK_{MCS}^*$  5,01, Äqu.-Gew. 542. UV.-Spektrum:  $\lambda_{max}(\log \epsilon)$  237 nm (3,97), 260 (Schulter, 3,66); in KOH: 258 nm (4,28). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{max}$  3620, 3140, 1760, 1730, 1708, 1675  $cm^{-1}$ . NMR.-Spektrum (90 MHz): u.a.  $\delta$  0,99 ( $d, J = 7, 3H$ ), 1,37 ( $s, 3H$ ), 2,3–2,8 ( $b, 2H$ ), 3,05–3,45 ( $b, 1H$ ), 3,67 ( $s, 3H$ ), 9,96 ( $s, 1H$ ).

$C_{30}H_{44}O_8$  Ber. C 67,67 H 8,33% Mol.-Gew. 532 Gef. C 67,52 H 8,46%  $M^+ 532$

Das Nebenprodukt **15** gab aus Cyclohexan/*n*-Hexan 1:1 farblose Kristalle, Smp. 226°,  $[\alpha]_D = -6,5^\circ$  ( $c = 0,77\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{max}(\log \epsilon)$  236 nm (3,94), 262 nm (Schulter, 3,60); in KOH: 258 nm (3,95). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{max}$  3140, 1764, 1730, 1710, 1678  $cm^{-1}$ . NMR.-Spektrum (90 MHz): u.a.  $\delta$  0,94 ( $d, J = 7, 3H$ ), 1,31 ( $s, 3H$ ), 2,3–2,7 ( $b, 2H$ ), 3,62 ( $s, 3H$ ), 10,0 ( $s, 1H$ ).

$C_{30}H_{44}O_7$  Ber. C 69,74 H 8,58% Mol.-Gew. 516 Gef. C 70,11 H 8,64%  $M^+ 516$

*Di-O-Acetyl-hexahydrochlorothricolid-methylester* (**18**). Das in üblicher Weise hergestellte Acetylderivat gab nach der Reinigung an Kieselgel farblose Kristalle, Smp. 251–253°,  $[\alpha]_D = +21^\circ$  ( $c = 0,78\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{max}(\log \epsilon)$  231 nm (3,76). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{max}$  1790, 1775, 1726, 1687  $cm^{-1}$ , kein OH. NMR.-Spektrum (90 MHz): u.a.  $\delta$  1,03 ( $d, J = 7, 3H$ ), 1,35 ( $s, 3H$ ), 2,03 ( $s, 3H$ ), 2,31 ( $s, 3H$ ), 2,4–2,8 ( $b, 2H$ ), 3,69 ( $s, 3H$ ), 4,3–4,75 ( $b, 1H$ ).

$C_{34}H_{48}O_{10}$  Ber. C 66,21 H 7,85% Gef. C 66,20 H 7,88%

*Hydrierung von O-Methyl-chlorothricolid-methylester*. 200 mg O-Methyl-chlorothricolid-methylester (**11**) in 18 ml abs. Methanol wurden mit 100 mg 10proz. Palladiumkohle bei Zimmertemperatur hydriert. Nach 20 Min. hörte die Wasserstoffaufnahme auf. Nach dem Filtrieren und Eindampfen wurde der Rückstand an 26 g Kieselgel mit Chloroform/Äthylacetat 8:2 chromatographiert. Die ersten Fraktionen enthielten 9 mg (4,5%) O-Methyl-7-desoxy-hexahydrochlorothricolid-methylester (**17**). Anschliessend wurden 168 mg (84%) O-Methyl-hexahydrochlorothricolid-methylester (**16**) eluiert. Die letzten Fraktionen gaben 17 mg (8,5%) des Tetrahydroderivates **27**. Die Hydrierung mit Platinoxid in Eisessig gab die gleichen drei Produkte in etwas verändertem Mengenverhältnis.

*O-Methyl-hexahydrochlorothricolid-methylester* (**16**). Nach dem Umkristallisieren des Hauptproduktes wurden farblose Kristalle, Smp. 264°, erhalten;  $[\alpha]_D = -18^\circ$  ( $c = 1\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{max}(\log \epsilon)$  232 nm (3,91); in KOH unverändert. IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{max}$  3620, 1760, 1735, 1681  $cm^{-1}$ . NMR.-Spektrum (100 MHz): u.a.  $\delta$  1,03 ( $d, J = 7, 3H$ ), 1,41 ( $s, 3H$ ), 1,75 ( $s, austauschbar$  mit  $D_2O, 1H$ ), 2,3–2,75 ( $b, 2H$ ), 3,1–3,4 ( $b, 1H$ ), 3,70 ( $s, 3H$ ), 4,01 ( $s, 3H$ ).

$C_{31}H_{46}O_8$  Ber. C 68,10 H 8,48% Mol.-Gew. 546 Gef. C 68,25 H 8,51%  $M^+ 546$

Ein hochauflösendes Massenspektrum wurde im Bereich von  $m/e$  500 (Basispik,  $M^+ - H_2O - CO$ ) aufgenommen:

$C_{30}H_{44}O_6$  Ber. 500,3138 Gef. 500,3181

*O-Methyl-7-desoxy-hexahydrochlorothricolid-methylester* (**17**). Durch Umkristallisieren aus Methylacetat/Hexan 1:10 wurden farblose Kristalle erhalten, Smp. 208°,  $[\alpha]_D = -34,9$  ( $c = 0,24\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{max}(\log \epsilon)$  231 nm (3,89); keine Veränderung in KOH. IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{max}$  1758, 1730, 1678  $cm^{-1}$ , kein OH. NMR.-Spektrum (100 MHz): u.a.  $\delta$  1,02 ( $d, J = 7, 3H$ ), 1,36 ( $s, 3H$ ), 1,88 ( $d, J = 14, 1H$ ), 2,16 ( $dd, J_1 = 14, J_2 = 6, 1H$ ), 2,4–2,8 ( $b, 2H$ ), 3,66 ( $s, 3H$ ), 3,97 ( $s, 3H$ ).

$C_{31}H_{46}O_7$  Ber. C 70,16 H 8,74% C 70,19 H 8,74%

*O-Methyl-tetrahydrochlorothricolid-methylester* (**27**). Aus Methylacetat/Hexan 1:10 farblose Kristalle, Schmelzintervall 207–223°,  $[\alpha]_D = -65^\circ$  ( $c = 1\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{max}(\log \epsilon)$  230 nm (4,01); keine Veränderung in KOH. IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{max}$  3610, 1777, 1755, 1730, 1685  $cm^{-1}$ . NMR.-Spektrum (100 MHz): u.a.  $\delta$  1,00 ( $d, J = 7, 3H$ ), 1,26 ( $s, 3H$ ), 1,55 ( $s, austauschbar, 1H$ ), 2,3–2,75 ( $b, 3H$ ), 3,1–3,45 ( $b, 1H$ ), 3,65 ( $s, 3H$ ), 4,05 ( $s, 3H$ ), 5,55 (breites  $d, J = 5, 1H$ ). Durch Spinentkopplung wurden Spin-Spin-Wechselwirkungen zwischen  $\delta$  2,48 und 1,00 bzw. 2,58 und 5,55 ppm festgestellt.

$C_{31}H_{44}O_8$  Ber. C 68,36 H 8,14% Gef. C 68,26 H 8,16%

*Isomeres O-Methyl-hexahydrochlorothricolid-methylester* (**19**). Aus 3,6 g Chlorothricolid-methylester in 60 ml Methanol wurde mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung ein rohes Gemisch der Methyläther **11** und **13** bereitet (s. oben) und das Rohprodukt mit 2 g 10proz. Palla-

diumkohle in 200 ml Methanol hydriert. Das Gemisch wurde an 240 g Kieselgel chromatographiert. Mit Chloroform/Äthylacetat 8:2 wurden nach 93 mg Hydrogenolyseprodukt **17**, 2,20 g Hydrierungsprodukt **16** und 83 mg Tetrahydroderivat **27** noch 281 mg des isomeren Methyläthers **19** erhalten. Kristallisation aus Methylacetat/Hexan 1:5 gab farblose Kristalle, Smp. 193–194°,  $[\alpha]_D = -55^\circ$  ( $c = 1\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ) 265 nm (4,16); in KOH 213 nm (4,18), 265 nm (4,18). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{\max}$  3620, 1756, 1730, 1608  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (100 MHz): u.a.  $\delta$  0,98 ( $d$ ,  $J = 7$ , 3H), 1,29 ( $s$ , 3H), 1,70 ( $s$ , 1H), austauschbar, 2,22 ( $dd$ ,  $J_1 = 15$ ,  $J_2 = 5$ , 1H), 2,4–2,8 ( $b$ , 2H), 3,1–3,4 ( $b$ , 1H), 3,67 ( $s$ , 3H), 4,05 ( $s$ , 3H). Spinentkopplung zeigte u.a. eine Wechselwirkung zwischen 0,98 und 2,60 ppm.

$\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_8$  Ber. C 68,10 H 8,48% Mol-Gew. 546 Gef. C 68,22 H 8,58%  $M^+ 546$

*Umsetzung von O-Methyl-chlorothricolid-methylester mit Methylmagnesiumjodid.* Zu einer Grignard-Lösung aus 100 mg Magnesium und 0,3 ml Methyljodid in 3 ml abs. Äther wurden 200 mg O-Methyl-chlorothricolid-methylester (**11**) in 15 ml Äther innert 5 Min. gegeben. Die heterogene Mischung wurde 2 Std. bei Zimmertemperatur und 4 Std. unter Rückfluss gerührt, mit Wasser und verd. Salzsäure zersetzt und dreimal mit Äthylacetat ausgeschüttelt. Die gewaschene und mit Natriumsulfat getrocknete Lösung wurde eingedampft und der Rückstand an 30 g Kieselgel mit Chloroform/Äthylacetat 1:1 chromatographiert. Es wurden drei dünnschichtchromatographisch nicht ganz einheitliche Fraktionen von 50 mg (Rf 0,60), 60 mg (Rf 0,54) und 26 mg (Rf 0,28) erhalten. Die erste Fraktion wurde durch präparative Schichtchromatographie mit Chloroform/Äthylacetat 7:3 in zwei Komponenten aufgetrennt: 24 mg Rf 0,32 und 13 mg Rf 0,19. Die zweite Substanz erwies sich durch das NMR.-Spektrum als ein Gemisch, die erste scheint dagegen das einheitliche Produkt **25** zu sein: farblose amorphe Masse,  $[\alpha]_D = +8^\circ$  ( $c = 0,5\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ) 212 nm (3,91), 252 nm (Schulter, 3,11). IR.-Spektrum in Chloroform: u.a.  $\nu_{\max}$  3600, 3500, 1760, 1705, 1682, 1650  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (100 MHz): s. Fig. 2.

$\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{O}_7$  Ber. Mol-Gew. 540 Gef.  $M^+ 540$  (8%)

Weitere Pike bei  $m/e$  539 (8%), 538 (7%), 522 (8%), 494 (43%), 476 (100%).

*Oxydativer Abbau.* 1 g Chlorothricolid-methylester (**9**) und 75 g 35proz. Salpetersäure wurden in 2 Portionen im Bombenrohr  $4\frac{1}{2}$  Std. auf 100–110° erhitzt. Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand mehrmals in Benzol aufgenommen und wieder eingedampft. Der so getrocknete Rückstand wurde in Methanol mit einem Überschuss ätherischer Diazomethanlösung 1 Std. bei 0° stehengelassen und wieder zur Trockne verdampft. Durch Destillation im Hochvakuum liess sich nach Abtrennung eines niedrigsiedenden uneinheitlichen Vorlaufs (75 mg) 217 mg eines nahezu farblosen Öls mit Sdp. 130–150°/0,05 Torr gewinnen. Daraus wurden durch wiederholtes Chromatographieren an Kieselgel (Chloroform/Äthylacetat 95:5) 31 mg bzw. 12,4 mg von zwei einheitlichen Verbindungen erhalten.

*2,4,5-Trimethoxycarbonyltoluol (29).* Die etwas leichter eluierbare Fraktion (31 mg) gab nach erneuter Destillation bei 120° im Hochvakuum eine farblose Flüssigkeit. UV.-Spektrum:  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ) 212 nm (4,22), 238 nm (Schulter, 3,73), 293 nm (Schulter, 3,18). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{\max}$  1720, 1610, 1565  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (100 MHz):  $\delta$  2,66 ( $s$ , 3H), 3,92 ( $s$ , 9H), 7,53 ( $s$ , 1H), 8,38 ( $s$ , 1H). Massenspektrum:  $m/e$  267 (2,5%,  $M^+ + 1$ ), 266 (16%,  $M^+$ ,  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_6$ ), 235 (100%) u.a.m.

*Pyromellithsäure-tetramethylester (28).* Die kleinere Fraktion gab aus Petroläther farblose Kristalle, die im Hochvakuum sublimiert wurden; Smp. 142,5°. Auf Grund des Smp., des IR.- und des NMR.-Spektrums handelte es sich um Pyromellithsäure-tetramethylester [14].

*Dehydrierung.* 1,4 g Chlorothricolid-methylester (**9**) und 6 g Selen wurden zusammen verrieben und in zwei Portionen im Bombenrohr 24 Std. auf 270° erhitzt. Die erkalteten Produkte wurden mehrmals mit Chloroform ausgekocht, die filtrierten Extrakte mit verd. Natronlauge und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der schwarze Rückstand, 820 mg, wurde an 175 g Kieselgel mit Cyclohexan/Chloroform 1:1 chromatographiert. Die zuerst eluierten 245 mg bildeten ein Gemisch von Kohlenwasserstoffen, spätere Fraktionen (205 mg) erwiesen sich als sauerstoffhaltig und wurden nicht weiter untersucht.

Das Kohlenwasserstoffgemisch wurde zunächst im Hochvakuum bei 110° destilliert und anschliessend durch präparative Gas-Chromatographie (SE-30, 190°) in die 7 Komponenten aufgetrennt (Tab. 3).

Tabelle 3. *Isolierung von Naphthalinkohlenwasserstoffen durch Gas-Chromatographie*

Retentionszeit	Menge	identifiziert als
3,7 Min.	5,7 mg	nicht einheitlich, nicht identifiziert
6,4 Min.	16,0 mg	1,2-Dimethylnaphthalin
8,7 Min.	4,7 mg	1-Methyl-2-äthyl-naphthalin
12,0 Min.	5,4 mg	1-Methyl-2-propyl-naphthalin
16,2 Min.	9,6 mg	1-Methyl-2-butyl-naphthalin
23,5 Min.	7,2 mg	1-Methyl-2-pentyl-naphthalin
28,5 Min.	6,0 mg	uneinheitlich

*1,2-Dimethylnaphthalin (30)*. Das NMR.- und das Massenspektrum stimmten mit denen eines käuflichen Präparates überein. Das Pikrat, Smp. 131°, gab mit dem von authentischem 1,2-Dimethylnaphthalin keine Smp.-Erniedrigung.

*1-Methyl-2-äthyl-naphthalin (31)*. UV.-Spektrum in *n*-Hexan:  $\lambda_{\max}$  (log *e*) 227 nm (4,77), 281 nm (3,52). NMR.-Spektrum:  $\delta$  1,28 (*t*, *J* = 7, 3H), 2,67 (*s*, 3H), 2,91 (*q*, *J* = 7, 2H), 7,1–8,1 (*k*, 6H). Massenspektrum: *m/e* 171 (11%), 170 (65%, *M*<sup>+</sup>), 155 (100%), 141 (16%) u.a.m. Das Pikrat schmolz nach dem Umkristallisieren aus Alkohol bei 90°, entsprechend den Angaben in der Literatur [15].

*1-Methyl-2-propyl-naphthalin (32)*. UV.-Spektrum nahezu identisch mit dem von **31**. NMR.-Spektrum:  $\delta$  1,01 (*t*, *J* = 7, 3H), 1,15–1,9 (*b*, 2H), 2,65 (*s*, 3H), 2,82 (*t*, *J* = 7,5, 2H), 7,1–8,1 (*k*, 6H). Massenspektrum: *m/e* 185 (8%), 184 (43%, *M*<sup>+</sup>), 169 (8%), 155 (100%), 141 (9%) u.a.m. Pikrat: Smp. 82,5–83° (vgl. [15]).

*1-Methyl-2-butyl-naphthalin (33)*. Das NMR.- und das Massenspektrum stimmten mit denen eines synthetischen Präparates überein. Das Pikrat, Smp. 56°, gab mit der synthetischen Probe keine Smp.-Erniedrigung.

*1-Methyl-2-pentyl-naphthalin (34)*. Das UV.-Spektrum stimmt mit dem der Verbindungen **30–33** überein. NMR.-Spektrum:  $\delta$  0,93 (*t*, *J* = 7, 3H), 1,2–1,85 (*b*, 6H), 2,65 (*s*, 3H), 2,84 (*t*, *J* = 7,5, 2H), 7,1–8,1 (*k*, 6H). Im Bereiche von  $\delta$  7,1 bis 8,1 mit zahlreichen scharfen Signalen sind die NMR.-Spektren der Verbindungen **30–34** deckungsgleich. Massenspektren: *m/e* 213 (7,5%), 212 (43%), 169 (6,5%), 155 (100%), 141 (12,5%), 128 (7,5%) u.a.m.

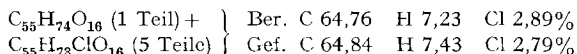
*Permethylierung des Chlorothricins*. 6 g Chlorothricin, 7,9 g Bariumoxid und 314 mg Bariumhydroxid in 40 ml abs. Dimethylformamid und 8 ml Methyljodid wurden 16 Std. bei Raumtemperatur im Dunkeln gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Eis gegossen, mit 2N Salzsäure auf pH 3 eingestellt und dreimal mit je 100 ml Äthylacetat ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und mit Natriumsulfat getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 6,53 g zitronengelben amorphen Rückstand. Durch Chromatographie an 550 g Kieselgel mit Chloroform/Äthylacetat wurden folgende Fraktionen erhalten: 420 mg, gemäss NMR.-Spektrum uneinheitlich; 1,99 g (31%) Penta-O-methyl-isochlorothricin (Rf 0,42 mit Chloroform/Äthylacetat 8:2); 1,83 g Tri-O-methyl-chlorothricin (Rf 0,30); 0,72 g uneinheitliche Fraktion, vorwiegend Tri-O-methyl-chlorothricin.

2,55 g Tri-O-methyl-chlorothricin gaben bei der Methylierung unter den gleichen Bedingungen 1,42 g Penta-O-methyl-isochlorothricin und 0,82 g Ausgangsmaterial.

*Tri-O-methyl-chlorothricin* ist eine farblose, amorphe Verbindung. NMR.-Spektrum (100 MHz): u.a.  $\delta$  1,26 (*d*, *J* = 6, 3H), 1,28 (*d*, *J* = 6, 3H), 1,32 (*s*, 3H), 1,37 (*d*, *J* = 7, 3H), 2,30 (*s*, 3H), 3,48 (*s*, 3H), 3,74 (*s*, 3H), 3,80 (*s*, 3H), 4,01 (*s*, 3H), 6,70 (*d*, *J* = 8, 1H), 7,31 (*d*, *J* = 8, 1H). Im Massenspektrum treten keine Pike mit *m/e* > 600 auf.

*Penta-O-methyl-isochlorothricin*. Nach erneuter chromatographischer Reinigung an 250 g Kieselgel wurden 1,53 g dünnschichtchromatographisch einheitliches Produkt erhalten, das aus Methylacetat/Hexan 1:10 blassgelbliche Kristalle lieferte; Smp. 144–150°,  $[\alpha]_D^{+160} = +160^\circ$  (*c* = 1%). Auf Grund der Analyse handelt es sich um ein Gemisch von ca. 5 Teilen Penta-O-methyl-isochlorothricin und ca. 1 Teil des chlorfreien Analogens (entsprechend der Zusammensetzung des

Ausgangsmaterials). UV.-Spektrum:  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 208 nm (4,25), 260 nm (4,08), 300 nm (Schulter, 3,61); in KOH: 212 nm (4,44), 260 nm (4,18), 400 nm (Schulter, 3,74). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{\max}$  1730 (breit), 1660, 1615, 1585  $\text{cm}^{-1}$ , kein OH. NMR.-Spektrum (100 MHz): s. Fig. 5.

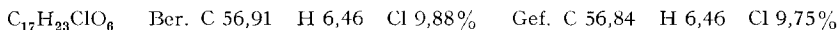


*Methanolyse.* 1,53 g Penta-O-methyl-isochlorothricin wurden mit 65 ml abs. Methanol und 1,6 g konz. Schwefelsäure 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wurde mit 150 ml Eiswasser vermischt und dreimal mit je 40 ml Äthylacetat ausgeschüttelt. Die gewaschenen und mit Natriumsulfat getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 1,15 g Rückstand.

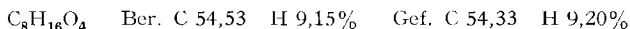
Der wässrige Anteil wurde an 100 g Dowex 1 (200/400, Hydrogencarbonatform) von Schwefelsäure befreit und das neutrale Filtrat eingedampft. Es blieben 168 mg gelbliche viskose Flüssigkeit zurück. Diese wurde an 20 g Kieselgel mit Äthylacetat chromatographiert, wobei 74 mg  $\alpha$ -Methyl-2-desoxy-3-O-methyl-D-rhamnosid (**38**) (Rf 0,38 mit Äthylacetat) und 19 mg 2-Desoxy-3-O-methyl-D-rhamnose (**40**) (Rf 0,22) erhalten wurden.

Der Äthylacetat-Extrakt gab an 240 g Kieselgel mit Chloroform/Äthylacetat 8:2 376 mg (69%)  $\alpha$ -Methyl-2-desoxy-4-O-methyl-3-O-(6'-methyl-2'-methoxy-5'-chlorbenzoyl)-D-rhamnosid (**36**) und 300 mg einer Mischfraktion. Chloroform-Äthylacetat 1:1 eluierte anschliessend 500 mg einer uneinheitlichen Fraktion und 100 mg  $\alpha$ -Methyl-2-desoxy-3-O-methyl-D-rhamnosid (**38**). Die Mischfraktionen enthielten gemäss NMR.-Spektrum vorwiegend Umwandlungsprodukte des Aglykons.

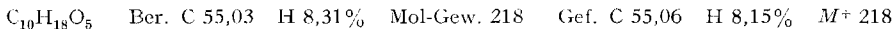
$\alpha$ -Methyl-3-O-(5'-chloro-2'-methoxy-6'-methyl-benzoyl)-2-desoxy-4-O-methyl-D-rhamnosid (**36**). 366 mg der entsprechenden Fraktion wurden durch erneute Chromatographie an 50 g Kieselgel von geringen Mengen des chlorfreien Analogens (**37**) befreit. Die einheitliche Fraktion (281 mg) kristallisierte beim Eindampfen spontan und gab aus Methylacetat/Hexan farblose Prismen, Smp. 113,5°,  $[\alpha]_{\text{D}} = +92^{\circ}$  ( $c = 1\%$ ). UV.-Spektrum:  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 208 nm (4,01), 228 nm (3,62), 291 nm (3,06). IR.-Spektrum:  $\nu_{\max}$  1730, 1582  $\text{cm}^{-1}$ , kein OH. NMR.-Spektrum (100 MHz): s. Fig. 6. Massenspektrum:  $m/e$  360 (10%,  $M^+ + 2$ ), 358 (25%,  $M^+$ ), 257 (5%), 255 (15%), 185 (34%), 183 (100%) u.a.m.



$\alpha$ -Methyl-2-desoxy-3-O-methyl-D-rhamnosid (**38**). Das bei der Chromatographie anfallende farblose Öl wurde bei 130°/11 Torr destilliert;  $[\alpha]_{\text{D}} = +90,2^{\circ}$  ( $c = 1\%$ ). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{\max}$  3600  $\text{cm}^{-1}$ , keine Carbonylbande. NMR.-Spektrum (100 MHz):  $\delta$  1,30 ( $d$ ,  $J = 6$ , 3H), 1,50 ( $m$ ,  $J_{2a,2e} = 13$ ,  $J_{2a,3} = 10$ ,  $J_{2a,1} = 4$ , 1H), 2,28 ( $m$ ,  $J_{2e,2a} = 13$ ,  $J_{2e,3} = 5$ ,  $J_{2e,1} = 1,5$ , 1H), 2,79 (breites  $s$ , austauschbar, 1H), 3,15 ( $t$ ,  $J = 9$ , 1H), 3,33 ( $s$ , 3H), 3,39 ( $s$ , 3H), 3,3–3,8 ( $k$ , 2H), 4,78 ( $dd$ ,  $J_{1,2a} = 4$ ,  $J_{1,2e} = 1,5$ , 1H). Massenspektrum:  $m/e$  176 (0,8%,  $M^+$ ), 145 (48%), 132 (13%), 118 (100%) u.a.m.



Das in üblicher Weise bereitete *Acetylderivat* (**39**) wurde nach der Chromatographie an Kieselgel (Chloroform/Äthylacetat 8:2) und Destillation im Hochvakuum (70°) als farbloses viskoses Öl erhalten;  $[\alpha]_{\text{D}} = +103^{\circ}$  ( $c = 0,42\%$ ). NMR.-Spektrum (100 MHz):  $\delta$  1,15 ( $d$ ,  $J = 6$ , 3H), 1,61 ( $m$ , 1H), 2,09 ( $s$ , 3H), 2,26 ( $m$ , 1H), 3,31 ( $s$ , 6H), 3,5–3,9 ( $k$ , 2H), 4,66 ( $t$ ,  $J = 9,5$ , 1H), 4,77 ( $dd$ ,  $J = 3,5$  und 1,5, 1H).



2-Desoxy-3-O-methyl-D-rhamnose (**40**). Der aus den wasserlöslichen Anteilen nach der Chromatographie erhaltene Methyläther war eine dünnschichtchromatographisch einheitliche hochviskose Flüssigkeit,  $[\alpha]_{\text{D}} = +123^{\circ}$  ( $c = 0,22\%$ ). NMR.-Spektrum (100 MHz): erkennbare Signale der  $\alpha$ -Form:  $\delta$  1,29 ( $d$ ,  $J = 6$ , 3H), 3,07 ( $t$ ,  $J = 9$ , 1H), 3,33 ( $s$ , 3H), 4,73 ( $d$ ,  $J = 3,5$ , 1H); Signale der  $\beta$ -Form:  $\delta$  1,34 ( $d$ ,  $J = 6$ , 3H), 3,49 ( $s$ , 3H), 4,40 ( $dd$ ,  $J = 10$  und 1,5, 1H). Die beiden Anomeren liegen in Deuteriochloroform im Verhältnis von ca. 3:1 vor. Massenspektrum:  $m/e$  162 (0,7%,  $M^+$ ), 131 (57%), 118 (23%), 113 (12%), 104 (100%) u.a.m.

**Synthetische Vergleichspräparate.** – 2-Butyltetralon-(1). Die Verbindung wurde aus 2-Methoxy-carbonyltetralon-(1) und *n*-Butyljodid in Analogie zur Vorschrift von Bachmann & Sheehan [15] hergestellt und durch Chromatographie an Kieselgel (Chloroform/Äthylacetat 9:1)

gercingt. Durch Destillation im Hochvakuum bei ca. 100° wurde eine farblose Flüssigkeit erhalten. UV.-Spektrum:  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 216 nm (3,73), 254 nm (3,86), 294 nm (3,23). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{\max}$  1680, 1660  $\text{cm}^{-1}$ .

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}$  Ber. C 83,12 H 8,97% Gef. C 83,30 H 9,06%

*1-Methyl-2-butyl-naphthalin* (**33**). 1,35 g 2-Butyltetralon-(1) wurden nach den Angaben von *Smith & Lo* [16] mit Methylmagnesiumjodid umgesetzt und das Rohprodukt bei 90° im Hochvakuum destilliert. Ausbeute an Diastereomerenmischung 82%. 400 mg des Produktes wurden mit 60 mg 10proz. Palladiumkohle im Bombenrohr  $3\frac{1}{2}$  Std. auf 310° erhitzt. Das Rohprodukt wurde in Chloroform aufgenommen, filtriert, eingedampft und im Hochvakuum bei ca. 100° destilliert. Das Destillat (350 mg) wurde weiter durch präparative Gas-Chromatographie gereinigt (Apiezon L, 225°). NMR.-Spektrum (100 MHz):  $\delta$  0,94 (*t*, *J* = 7, 3H), 1,2–1,75 (*b*, 4H), 2,60 (*s*, 3H), 2,79 (*t*, *J* = 7,5, 2H), 7,1–8,1 (*k*, 6H). Massenspektrum: *m/e* 199 (6%), 198 (43%), 183 (0,08%), 155 (100%), 141 (10%) u.a.m.

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}$  Ber. C 90,85 H 9,15% Gef. C 90,84 H 9,15%

Das durch Umkristallisieren aus pikrinsäurehaltigem Feinsprit gereinigte Pikrat schmilzt bei 64,5°.

*2-Methyl-1-butyl-naphthalin*. Zum Vergleich wurde in analoger Weise aus 2-Methyltetralon-(1) [17] und Butylmagnesiumjodid mit nachfolgender Dehydrierung das 2-Methyl-1-butyl-naphthalin hergestellt. Es destillierte im Hochvakuum bei ca. 100° als farblose Flüssigkeit. UV.- und IR.-Spektrum: vom Isomeren **33** kaum unterscheidbar. NMR.-Spektrum (100 MHz):  $\delta$  0,98 (*t*, 3H), 1,35–1,8 (*b*, 4H), 2,47 (*s*, 3H), 3,04 (*t*, *J* = 7, 2H), 7,1–8,1 (*k*, 6H). Massenspektrum: *m/e* 199 (4,5%), 198 (36%), 155 (100%), 141 (5%).

Das Pikrat schmilzt bei 108–108,5°.

*Umsetzung der  $\alpha,\gamma$ -Dimethyltetronsäure mit Diazomethan*. 60 mg  $\alpha,\gamma$ -Dimethyltetronsäure (**21**) [8] in 5 ml abs. Methanol wurden mit einem Überschuss ätherischer Diazomethanlösung 10 Min. bei 4° methyliert. Nach dem Eindampfen wurde der Rückstand an 10 g Kieselgel mit Chloroform/Äthylacetat 1:1 chromatographiert. Es wurden 36 mg O-Methyl- $\alpha,\gamma$ -dimethyltetronsäure (**22**) (Rf 0,46 mit Chloroform/Äthylacetat 7:3) und 19 mg des Isomeren **23** (Rf 0,26) erhalten.

O-Methyl- $\alpha,\gamma$ -dimethyltetronsäure (**22**). Die farblose Flüssigkeit wurde bei 90° im Hochvakuum destilliert. UV.-Spektrum:  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 229 nm (4,11); in KOH 229 nm (4,13), 260 nm (3,19). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{\max}$  1748, 1670  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (100 MHz): 1,38 (*d*, *J* = 6, 3H), 1,95 (*d*, *J* = 1, 3H), 4,14 (*s*, 3H), 4,69 (*m*, *J* = 6 und 1, 1H).

5-Methoxy-2,4-dimethyl-2,3-dihydrofuran-3-on (**23**). Farblose Flüssigkeit. UV.-Spektrum in Hexan:  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 256 nm (5,00). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{\max}$  1740 (schwach), 1695, 1600 (stark)  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (100 MHz):  $\delta$  1,46 (*d*, *J* = 7, 3H), 1,58 (*s*, 3H), 4,10 (*s*, 3H), 4,67 (*q*, *J* = 7, 1H).

O-Acetyl- $\alpha,\gamma$ -dimethyltetronsäure (**24**). 20 mg  $\alpha,\gamma$ -Dimethyltetronsäure wurden in je 1 ml Pyridin und Essigsäureanhydrid bei Zimmertemperatur 15 Std. acetyliert. Nach Chromatographie an 6 g Kieselgel (Chloroform/Äthylacetat 7:3) wurden 19 mg dünnstichtchromatographisch einheitliches Produkt als farblose Flüssigkeit erhalten. UV.-Spektrum in *n*-Hexan:  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 221 nm (3,92). IR.-Spektrum: u.a.  $\nu_{\max}$  1784, 1760, 1700  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (100 MHz):  $\delta$  1,40 (*d*, *J* = 7, 3H), 1,76 (*d*, *J* = 1, 3H), 2,33 (*s*, 3H), 5,25 (*m*, 1H).

Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Leitung Herr *W. Manser*) ausgeführt. Die NMR.-Spektren verdanken wir unserer NMR.-Abteilung (Leitung Prof. Dr. *J. F. Oth*), die Massenspektren Herrn Dr. *J. Seibl* und die IR.-Spektren unserer Abteilung für Instrumentalanalyse (Leitung Prof. Dr. *W. Simon*).

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 106. Mitteilung: *W. D. Linke, A. Cruieger & H. Diekmann*, Arch. Mikrobiol. (im Druck).
- [2] *W. Keller-Schierlein, R. Muntwiler, W. Pache & H. Zähler*, Helv. 52, 127 (1969).
- [3] *P. W. Schindler & H. Zähler*, Arch. Mikrobiol. 82, 66 (1972).
- [4] *R. Muntwiler, J. Widmer & W. Keller-Schierlein*, Helv. 53, 1544 (1970).

- [5] *M. Brufani, S. Cervini, W. Fedeli, F. Mazza & R. Muntwyler*, *Helv.* 55, 2094 (1972).
- [6] *H. Hoeksema, M. E. Bergy, W. G. Jackson, J. W. Shell, J. W. Hinman, A. E. Fonken, G. A. Boyack, E. L. Caron, J. H. Ford, W. H. Devries & G. F. Crum*, *Antibiotics and Chemotherapy* 6, 143 (1956).
- [7] *L. J. Haynes & J. R. Plimmer*, *Quart. Rev.* 14, 292 (1960).
- [8] *E. B. Reid & G. H. Denny*, *J. Amer. chem. Soc.* 81, 4632 (1959).
- [9] *J. B. Stothers & P. C. Lauterbur*, *Canad. J. Chemistry* 42, 1563 (1964).
- [10] *P. W. Clutterbruck, H. Raistrick & F. Reuter*, *Biochem. J.* 29, 1300 (1935).
- [11] *U. E. Matter, C. Pascual, E. Preitsch, A. Pross, W. Simon & S. Sternhell*, *Tetrahedron* 25, 691 (1969).
- [12] *G. B. Savitsky & K. Namikawa*, *J. physic. Chemistry* 68, 1956 (1964); *D. H. Marr & J. B. Stothers*, *Canad. J. Chemistry* 43, 596 (1965); *J. W. Emsley, J. Feeney & L. H. Sutcliffe*, «High Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy», Vol. 2, S. 988, Pergamon Press 1966.
- [13] *D. M. Grant & E. G. Paul*, *J. Amer. chem. Soc.* 86, 2984 (1964).
- [14] *F. Feist*, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 44, 135 (1911).
- [15] *W. E. Bachmann & J. C. Sheehan*, *J. Amer. chem. Soc.* 63, 2598 (1941); *H. Adkins & G. F. Hager*, *ibid.* 71, 2965 (1949).
- [16] *O. Brunner & F. Grof*, *Mh. Chem.* 64, 76 (1934); *L. I. Smith & C. P. Lo*, *J. Amer. chem. Soc.* 70, 2209 (1948).
- [17] *W. E. Bachmann & D. G. Thomas*, *J. Amer. chem. Soc.* 63, 598 (1941).
- [18] *R. Kuhn, H. Egge, R. Brossmer, A. Gauhe, P. Klesse, W. Lochinger, E. Röhn, H. Trischmann & D. Tschampel*, *Angew. Chem.* 72, 805 (1960).
- [19] *W. Keller-Schierlein, R. Muntwyler & H. Zähler*, *Experientia* 25, 786 (1969).
- [20] *M. Brufani, W. Keller-Schierlein, W. Löffler, I. Mansperger & H. Zähler*, *Helv.* 51, 1293 (1968).

## 201. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

108. Mitteilung <sup>1)</sup>

### Kristallstrukturanalyse des Chlorothricolid-methylesters

von **M. Brufani, S. Cerrini, W. Fedeli, F. Mazza** und **R. Muntwyler**

Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologica dell'Università, Roma  
 Laboratorio di Strutturistica Chimica «Giordano Giacomello», CNR, Roma  
 Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich

(2. VI. 72)

*Summary.* The X-ray crystal structure analysis of the Caesium salt of Chlorothricolide methylester, derived from the aglycone of the antibiotic chlorothricin, is described.

**1. Einleitung.** – Das Antibioticum Chlorothricin [2] gab bei der Methanolyse neben zwei Methylglykosiden den Methylester eines Aglykons, Chlorothricolid-methylester,  $C_{30}H_{38}O_8$  [1, 2]. Während die Zuckerbausteine sowie der Aufbau des Antibioticums aus den Bausteinen durch chemische Abbauprobungen und spektroskopische Untersuchungen aufgeklärt werden konnten, liess sich das Aglykon bisher durch die chemischen Untersuchungen nur bruchstückweise erfassen [1]. In dieser Arbeit beschreiben wir die Röntgen-Strukturanalyse eines Derivates des Aglykons,

<sup>1)</sup> 107. Mitt., s. [1].