

276. Isolierung und Konstitutionsermittlung von Chrysodin

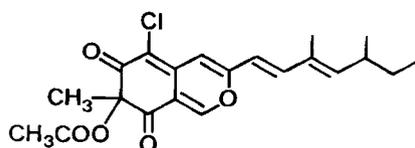
von Annemarie Closse und Daniel Hauser

SANDOZ AG, Pharma Departement, Chemische Forschung, Basel

(13. IX. 73)

Summary. The constitution of Chrysodin (**2**), a metabolite of *Sepedonium chrysospermum*, is proposed on the basis of chemical transformations and physical measurements.

Aus Fermentationen von *Sepedonium chrysospermum* haben wir eine rote, kristalline Substanz mit antifungischer Aktivität, die wir *Chrysodin* (**2**) nennen, isoliert. Chrysodin, $C_{19}H_{18}O_5$, wird mit Essigester aus dem Kulturfiltrat und dem Mycel extrahiert¹⁾ und beim Einengen der Extraktionslösung kristallin erhalten. Erste Hinweise auf die Struktur wurden aus dem UV.-Spektrum gewonnen, das mit Maxima bei 242, 307 und 379 nm sowie Schultermaxima bei 425 und 450 nm gewisse Ähnlichkeit mit demjenigen von Sclerotiorin (**1**) [1] aufweist.



1 Sclerotiorin

Dass Chrysodin, wie z.B. Sclerotiorin, Mitorubrin [2] oder Ascochitin [3], zur Klasse der Azaphilone gehört, wurde durch IR.- und NMR.-Spektrern und die in der Folge zu beschreibenden chemischen Reaktionen erhärtet. Im NMR.-Spektrum²⁾ von **2** erinnern vor allem das Singulett einer Methylgruppe bei 1,56 ppm und dasjenige einer Acetylgruppe bei 2,18 ppm (ν_{\max} bei 1740 cm^{-1}) sowie die grosse Zahl vinylicher Protonen zwischen 5,5 und 7,9 ppm an Strukturelemente von Sclerotiorin (**1**). Da im NMR.-Spektrum nur noch eine, und zwar eine vinyliche Methylgruppe (Dublett bei $\delta = 1,88$) zu erkennen ist, kann die Konstitution **2** für Chrysodin in Be-

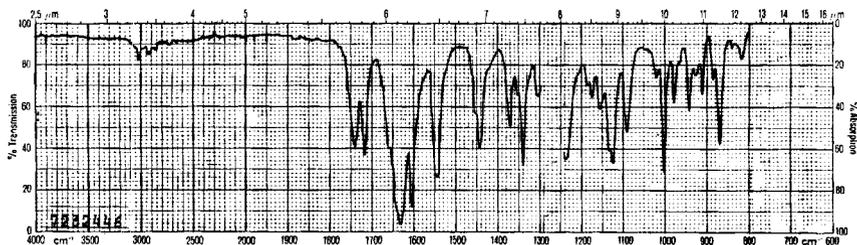
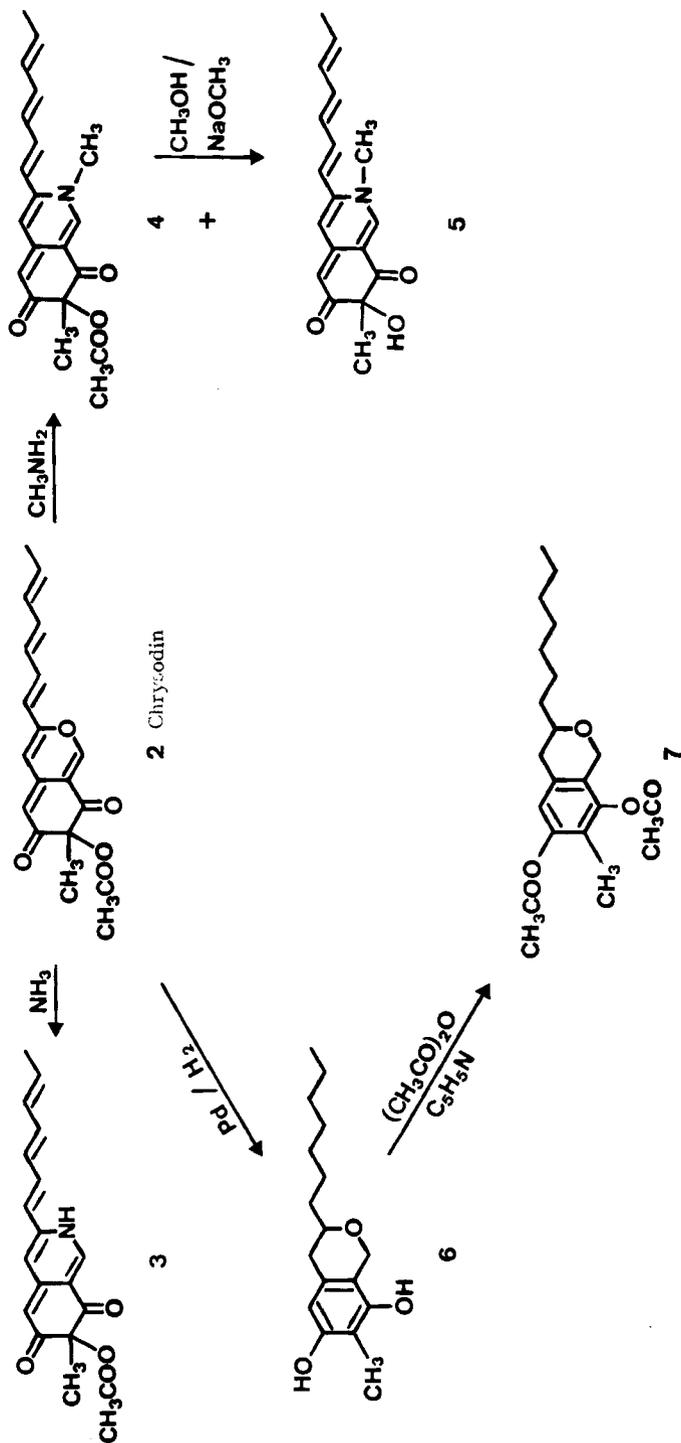


Fig. 1. IR.-Spektrum von Chrysodin

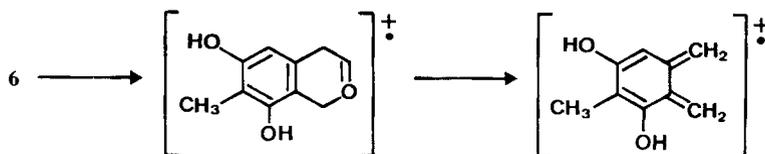
¹⁾ Den Herren Dr. E. Härrri und P. Furger danken wir für die Bereitstellung grösserer Mengen Chrysodin.

²⁾ Frau Th. Zardin danken wir für die Aufnahme und Interpretation der NMR.-Spektrern, Herrn Dr. Lichti für die der Massenspektren.

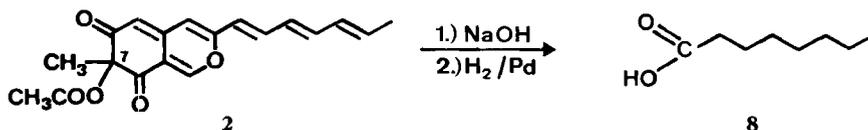


tracht gezogen werden. Das Auftreten einer Bande bei 1715 cm^{-1} im IR.-Spektrum (s. Fig. 1) liesse sich damit erklären, dass die Carbonylgruppe an C(8) aus der Ebene und damit aus der Konjugation herausragt [4].

Chrysodin (**2**) zeigt die für Azaphilone charakteristischen Reaktionen mit Aminen. So erhielt man mit wässrigem Ammoniak [5] in sehr guter Ausbeute das Stickstoff-analoge **3**, mit wässrigem Methylamin ein Gemisch von **4** und **5**. Letzteres konnte auch durch Methanolyse nach Zemplén [6] aus **4** erhalten werden. Die Hydrierung von **2** in Gegenwart von Palladium verlief weitgehend analog zu derjenigen von Sclerotiorin. Durch Hydrogenolyse der Acetoxygruppierung wurde u. a. ebenfalls ein Resorcin-Derivat (**6**) mit gesättigter Seitenkette isoliert, dessen zwei Phenolgruppen durch die Überführung in die Diacetyl-Verbindung **7** nachgewiesen wurden. Im Gegensatz zur Reaktion bei Sclerotiorin blieb aber bei der Hydrierung von **2** der Dihydropyranring erhalten. Im Massenspektrum von **6** treten neben dem Molekular-pik bei m/e 278 zwei weitere intensive Pike bei m/e 179 und 150 auf. Diese lassen sich zwanglos durch folgende Zerfallsreaktionen erklären:



Den Beweis für die Konstitution der Seitenkette brachte der Abbau mit verdünntem Alkali und anschließender Hydrierung, bei dem in geringer Ausbeute Caprylsäure isoliert und gas-chromatographisch³⁾ und massenspektrometrisch identifiziert wurde. Allerdings ist die *all-trans*-Konfiguration, die wir aus energetischen Gründen für die wahrscheinlichste halten, damit nicht bewiesen.



Die absolute Konfiguration von Chrysodin (**2**) ist nicht bekannt, dürfte aber aufgrund der Drehung $[\alpha]_D^{20} = -388^\circ$ die gleiche sein wie diejenige von (-)-Sclerotiorin [7] ($[\alpha]_D^{26} = -480^\circ$), die ebenfalls nicht bekannt ist.

Experimenteller Teil

unter Mitarbeit von R. Werder

Allgemeines. Die Smp. wurden im Röhrchen bestimmt und sind nicht korrigiert. UV.-Spek-tren: λ_{\max} in nm (log ϵ). IR.-Spektr.: ν_{\max} in cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ -Spektr.: δ -Werte (ppm relativ zu TMS als interner Standard). Abkürzungen: *s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplet, *m* = Multi-plett, *b* = breites Signal. Das analytische Gas-Chromatogramm wurde an einem Varian Aerograph 1200 (FID) mit Glaskapillarkolonne ($\varnothing = 2\text{ mm id}$, $l = 1\text{ m}$, Träger Chromosorb P, aw. 80/100 mesh beladen mit 10% DEGSu + 4% H_3PO_4) und Helium als Trägergas ausgeführt und mit Hilfe von GC.-MS.-Kopplung ausgewertet.

Züchtung von Sepedonium chrysospermum und Isolierung von 2. 500 l einer Nährlösung, die pro l 40 g Cerelese (Glucose), 5 g Trypton, 3 g NaNO_3 , 1 g K_2HPO_4 , 500 mg KCl, 500 mg MgSO_4

³⁾ Für die Aufnahme und Auswertung des Gas-Chromatogramms danken wir Herrn Quiquerez.

7H₂O, 10 mg FeSO₄ · 7H₂O und entmineralisiertes Wasser enthielt wurden mit 50 l einer Vorkultur des Stammes *Sepedonium chrysospermum* angeimpft und in einem Fermentationsgefäß aus Stahl unter Rühren (Blattrührer, 80 Umdrehungen/Min.) und Belüftung (1,0 l Luft/Min./l Nährlösung und 0,5 atü Druck) 138 Std. bei 18° inkubiert.

Die als Ausgangsmaterial verwendete Vorkultur wurde wie folgt erhalten: Ein Nährboden, der pro l 20 g Cereose (Glucose), 20 g Fadenagar, 2 g Malzextrakt, 2 g Hefeextrakt, 2 g Pepton, 2 g KH₂PO₄, 2 g MgSO₄ · 7H₂O und entmineralisiertes Wasser enthielt, wurde mit dem Stamm NRRL 3489 beimpft und 8 Tage bei 27° inkubiert. Die auf diesem Nährboden gewachsenen Konidien und das Mycel wurden in einer physiologischen Kochsalzlösung aufgenommen und homogenisiert. Mit dieser Suspension wurde eine Nährlösung gleicher Zusammensetzung wie die Hauptkultur in einem 50-l-Fermentationsgefäß beimpft und 90 Std. bei 18° unter Rühren (Blattrührer, 150 Umdrehungen/Min.) und unter Belüftung (1,0 l Luft/Min./l Nährlösung und 0,5 atü Druck) inkubiert. Diese Fermentationslösung diente als Impfmateriel für einen 500-l-Ansatz (Hauptkultur).

Die Brühe wurde durch Celit 545 filtriert und das Kulturfiltrat 3mal mit Essigester extrahiert, die Extrakte mit 200 l Wasser gewaschen und eingeeengt. Dabei kristallisierten bereits 46,1 g reines Chrysodin (2) aus. Das Mycel wurde mit Aceton/Wasser im Ultraturax aufgeschlossen, filtriert, das Aceton abgezogen und die wässrige Phase mit Essigsäureäthylester extrahiert. Der Essigesterextrakt wog nach dem Trocknen 700 g. Er wurde in wässrigem Aceton aufgenommen und mit Petroläther entfettet. Beim Einengen der Aceton/Wasser-Phase fielen 329 g rohes Chrysodin aus, das an mit Säure gewaschenem Kieselgel chromatographiert und mit Chloroform/Methanol 99:1 eluiert wurde. Zur Reinigung wurde mehrmals aus Methanol umkristallisiert. Smp. 169–171°, $[\alpha]_D^{20} = -388^\circ$ ($c = 0,06$, CHCl₃). $M^+ = 326$. - UV.-Spektrum (CH₂Cl₂): 243 (3,99); 308,5 (4,12); 380 (4,61). - IR.-Spektrum (CH₂Cl₂): u.a. Banden bei 3020, 2920, 2940, 2870, 2850, 1740, 1717, 1630, 1603 (s. Fig. 1). - NMR.-Spektrum (CDCl₃): 1,55 s (3H); 1,88 d ($J = 5$, 3H); 2,18 s (3H); 5,6 s (1H); 5,7–7,3 (7H); 7,9 s (1H).

C₁₉H₁₈O₅ (326,3) Ber. C 69,9 H 5,6 O 24,5% Gef. C 69,6 H 5,7 O 24,2%

Umsetzung von 2 zu 3. 10 g 2 wurden in 100 ml Ammoniak ($d = 0,87$) gelöst und mit 180 ml Wasser versetzt. Nach 20 Min. Stehen bei Raumtemperatur wurde die rote Lösung in eine eisgekühlte Mischung von 120 ml konz. HCl und 500 ml Wasser gegossen. Dabei fiel ein rotes, kristallines Produkt aus, das im Vakuum über KOH getrocknet wurde. Ausbeute 9,6 g. Smp. > 300°. $M^+ = 325$. - UV.-Spektrum (CH₂Cl₂): 256 (3,11); 374 (3,53). - IR.-Spektrum (Nujol): u.a. Banden bei 1735, 1700, 1635, 1610, 1575, 1550, 1510, 1480, 1420, 1370, 1335, 1280, 1260, 1230, 1210, 1180, 1165, 1130, 1090, 1005, 865, 800, 765. - NMR.-Spektrum (DMSO): 1,41 s (3H); 1,85 d ($J = 5$, 3H); 2,1 s (3H); 5,25 s (1H); 5,6–7,6 (8H); 7,98 s (1H).

C₁₉H₁₉NO₄ Ber. C 70,1 H 5,9 N 4,3 O 19,7%
(325,36) Gef. „ 69,5 „ 5,9 „ 4,6 „ 19,7%

Umsetzung von 2 zu 4 und 5. 20 g Chrysodin wurden in 100 ml Methanol suspendiert. Dann wurde bei Raumtemperatur 40 ml wässrige 33proz. Methylaminlösung zugetropft und anschliessend mit 2 l H₂O verdünnt. Nach 10 Min. wurde das Gemisch auf die Hälfte eingeeengt, der Niederschlag abfiltriert und im HV. über KOH getrocknet. Ausbeute: 13,2 g rotes Pulver. Dieses wurde an mit Salzsäure gewaschenem Kieselgel *Merck* chromatographiert; mit Chloroform/Methanol 99:1 wurden 10,4 g 4 und 750 mg 5 isoliert.

Analytische Daten von 4: Smp. 212°, $M^+ = 339$. - UV.-Spektrum (CH₂Cl₂): 249 (4,14); 370 (4,66); 496 (3,52). - IR.-Spektrum (CH₂Cl₂): u.a. Banden bei 3050, 3010, 1730, 1695, 1645, 1600, 1585, 1520, 1490, 1450, 1430, 1370, 1335, 1305, 1205, 1135, 1085, 1005, 980, 945, 885, 870, 835, 810. - NMR.-Spektrum (CDCl₃): 1,55 s (3H); 1,87 d ($J = 5$, 3H); 2,18 s (3H); 3,54 s (3H); 5,32 s (1H); 5,8–7,2 (7H); 7,7 s (1H).

C₂₀H₂₁O₄N Ber. C 70,8 H 6,2 N 4,1 O 18,9%
(339,4) Gef. „ 69,8 „ 6,4 „ 4,2 „ 19,1%

(Die Substanz ist schwer verbrennbar).

Verseifung von 4 zu 5. 1,02 g 4 wurden in 100 ml Methanol gelöst, mit 19 mg Natriummethylat versetzt und 20 Std. bei Raumtemperatur belassen. Nach Abdestillieren des Methanols wurde zwischen Chloroform und Wasser verteilt. Aus der Chloroformphase wurden 470 mg schwarzviolette Kristalle von 5 isoliert. Smp. 227°, $M^+ = 297$. - UV.-Spektrum (CH₂Cl₂): 250 (2,71);

370 (3,12). – IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u.a. Banden bei 3600, 1705, 1640, 1595, 1585, 1525, 1485, 1365, 1200, 1175, 1120, 1095, 1080, 1055, 1000, 965. – NMR.-Spektrum (CDCl_3): 1,52 s (3H); 1,85 d ($J = 5,5$, 3H); 3,58 s (3H); 5,25 s (1H); 5,7–7,4 (7H); 7,65 s (1H).

Hydrierung von 2 zu 6. 1 g **2** wurde in 50 ml Dioxan über 1 g 10proz. Pd/C hydriert. Nach Abfiltrieren und Eindampfen der Lösung erhielt man 448 mg farbloses Produkt, das nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Essigester/Hexan bei 145–147° schmolz. $[\alpha]_D = +75,8^\circ$, $M^+ = 278$. – UV.-Spektrum (Methanol): 280,5 (3,06); Endabsorption mit Schulter bei 225 nm (3,9). Nach Zugabe von NaOH: a) sofort gemessen: 285 (3,27); 338,5 (2,12); b) nach 20 Min.: 284 (3,28); 338,5 (5,52); 461 (2,78). – IR.-Spektrum (KBr): u.a. Banden bei 3400 breit, 2850, 2750, 1630, 1595, 1510, 1465, 1435, 1365, 1335, 1300, 1240, 1215, 1185, 1145, 1090, 1030, 975, 950, 900, 865, 835, 810, 760, 725. – NMR.-Spektrum (60 MHz, DMSO): 0,88 (3H); 1,28 m (12H); 1,95 s (3H); 2,25–2,7 m (2H); 3,45 m (1H); 4,35 d ($J = 15$, 1H AB); 4,78 d ($J = 15$, 1H AB); 6,12 s (1H); 8,03 s (1H austauschbar); 8,86 s (1H austauschbar).

$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_3$ (278,38) Ber. C 73,3 H 9,4 O 17,2% Gef. C 73,4 H 9,3 O 17,4%

Acetylierung von 6 zu 7. 20 mg **6** wurden in 3 ml Pyridin und 3 ml Acetanhydrid 15 Std. bei Raumtemperatur stehengelassen und anschliessend zur Trockne eingedampft. NMR.-Spektrum (CDCl_3): 0,88 (3H); 1,1–1,8 (12H); 1,95 s (3H); 2,32 s (6H); 2,5–2,85 (2H); 3,55 m (1H); 4,55–4,8 (2H); 6,78 s (1H).

Alkaliabbau von 2 und Isolierung von 8. 2 g **2** wurden unter Stickstoff mit 20 ml 1N NaOH 15 Min. lang bei 60° gehalten, anschliessend mit 25 ml 1N HCl angesäuert, die wässrige Phase mit reichlich Äther extrahiert und der Äther abgedampft. Der rötlichbraune Rückstand wurde in Äthanol über 10proz. Pd/C bei Raumtemperatur hydriert. Nach Filtration über Talk und Eindampfen zur Trockne erhielt man 50 mg bräunliches Öl, das durch gas-chromatographischen Vergleich mit einer authentischen Probe und durch Massen-Spektrum ($M^+ = 144$) als Caprylsäure ($\text{C}_7\text{H}_{15}\text{COOH}$) identifiziert wurde.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] W. B. Whalley, *Pure appl. Chemistry* 7, 565 (1963).
- [2] G. Büchi, J. D. White, C. N. Wogan, *J. Amer. chem. Soc.* 87, 3484 (1965).
- [3] H. Mishima, M. Kuwabayashi, H. Oku, Iwai Sankyo Kenkyusho Nempo 1970, 22, 67–79; C.A. 75, 48824 x, (1971).
- [4] F. M. Dean, J. Staunton, W. B. Whalley, *J. chem. Soc.* 1959, 3004.
- [5] R. A. Eade, H. Page, A. Robertson, K. Turner, W. B. Whalley, *J. chem. Soc.* 1957, 4913.
- [6] G. Zemplén, A. Gerecs, J. Hadacsy, *Chem. Ber.* 69B, 1827 (1936); *ibid.* 62B, 1613 (1929).
- [7] S. Udagawa, *Chem. Pharm. Bull. Jap.* 11, 366 (1963).

277. Photochemische Reaktionen

75. Mitteilung [1]

Die UV.-Bestrahlung von 3 β -Acetoxy-18-dimethoxy-20-oxo- Δ^{16} -5 α -pregnen

von Franz Marti, Hansuli Wehrli und Oskar Jeger

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, 8006 Zürich

(19. IX. 73)

Summary. On UV-irradiation in *i*-octane the α,β -unsaturated ketone **14** is transformed into a mixture of **15** and **16**.

1971 berichteten Gloor, Schaffner & Jeger [2a] über die UV.-Bestrahlung von 10-Dimethoxymethyl- $\Delta^{1,9}$ -octal-2-on (**1**) mit Licht der Wellenlänge 2537 Å (selektive