

Iron⁵) [15], (+)-*trans*- α -Iron⁵) [15] entspricht. Man muss diese Tatsache einem, allen diesen Verbindungen gemeinsamen enzymatischen Cyclisationsmechanismus zuschreiben. Über die Chiralität der an C(2) durch die Isopentenylgruppe substituierten Carotinoide soll später berichtet werden [16].

Wir danken Herrn Dr. G. Ohloff, Firmenich SA, Genève, für die Hilfe bei der präparativen Gas-Chromatographie, Herrn Prof. K. Grob, Universität Zürich, für die kombinierten G.C.-Massenspektren, dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Gesuch Nr. 2.434.71) und dem Norwegian Research Council for Science and Humanities (Grant No. D. 32.22-1) für finanzielle Unterstützung.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. Tischer, Z. physiol. Chem. 243, 103 (1936).
- [2] H. Kjosén, N. Arpin & S. Liaaen-Jensen, Acta chem. scand. 26, 3053 (1972).
- [3] G. Nybraaten & S. Liaaen-Jensen, Acta chem. scand. 27 (1973), in Vorbereitung.
- [4] R. Buchecker & C. H. Eugster, Helv. 54, 327 (1971).
- [5] R. Buchecker & C. H. Eugster, Helv. 56, 1124 (1973).
- [6] J. A. Mills, J. chem. Soc. 1952, 4976.
- [7] S. Liaaen-Jensen, Pure and Appl. Chemistry 35, 81 (1973).
- [8] R. Buchecker, P. Hamm & C. H. Eugster, Chimia 25, 192 (1971).
- [9] G. Rybach, Chem. Commun. 1972, 1190.
- [10] C. H. Eugster, R. Buchecker, Ch. Tschärner, G. Uhde & G. Ohloff, Helv. 52, 1729 (1969).
- [11] C. J. W. Brooks & J. D. Gilbert, Chem. Commun. 1973, 194.
- [12] L. Bartlett, W. Klyne, W. P. Mose, P. M. Scopes, G. Galasko, A. K. Mallams, B. C. L. Weedon, J. Szabolcs & G. Tóth, J. chem. Soc. (C) 1969, 2527.
- [13] D. Goodfellow, G. P. Moss & B. C. L. Weedon, Chem. Commun. 1970, 1578.
- [14] R. Buchecker, P. Hamm & C. H. Eugster, Chimia 26, 134 (1972).
- [15] V. Rautenstrauch & G. Ohloff, Helv. 54, 1776 (1971).
- [16] A. G. Andrewes, S. Liaaen-Jensen & G. Borch, Acta chem. scand., in Vorbereitung.

⁵) Aus Iris-Öl, das daneben auch (+)-*cis*- γ -Iron mit identischer Konfiguration an C(6) enthält [15].

301. Isolierung und Strukturaufklärung von 11-Desacetoxy-wortmannin

von Walter Haefliger und Daniel Hauser

SANDOZ AG, Pharma Departement, Chemische Forschung, CH-4002 Basel

(8. XI. 73)

Summary. The structure of 11-desacetoxy-wortmannin (**3**), a new antiinflammatory metabolite of the fungus *Penicillium funiculosum* THOM, has been elucidated by physico-chemical methods and chemical correlation with wortmannin (**1**).

11-Desacetoxy-wortmannin (**3**) ist ein neues Stoffwechselprodukt mit stark entzündungshemmender Wirkung, das wir aus *Penicillium funiculosum* THOM isoliert haben [1]. Ursprünglich war dieser Pilzstamm aufgrund seiner Aktivität gegen *Candida albicans* und *Candida tropicalis* in unsere Untersuchungen einbezogen worden.

Hinweise auf die Konstitution des neuen Metaboliten ergaben sich aus der Ähnlichkeit der spektralen Daten mit denjenigen von Wortmannin (**1**) [2–3].

So sind der IR.-Carbonylbereich und die UV.-Maxima von **1** und **3** fast deckungsgleich, was auf eine nahe Verwandtschaft der chromophoren Systeme schliessen lässt. Das Vorhandensein des Furanrings ergibt sich aus den charakteristischen IR.-Banden bei 3140 und 1540 cm^{-1} , sowie dem NMR.-Signal bei 8,22 ppm [3].

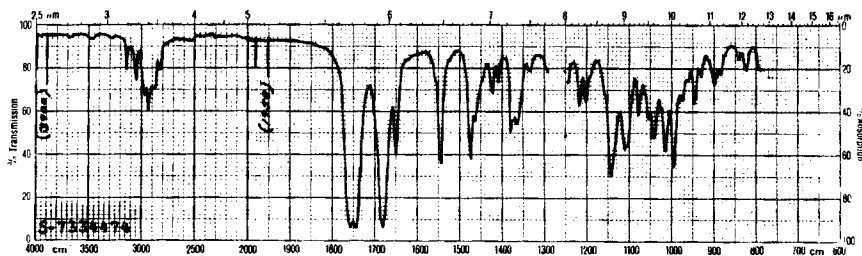
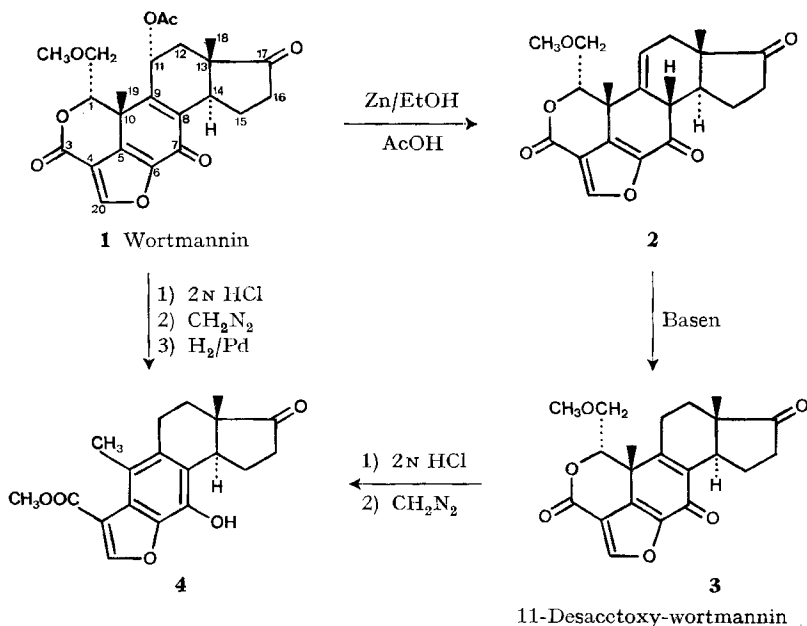


Fig. 1. IR.-Spektrum von 11-Desacetoxy-wortmannin (**3**) in CH_2Cl_2

Der Vergleich der NMR.-Spektren von **1** und **3** zeigt, dass lediglich die sekundäre Acetoxygruppierung, die bei Wortmannin (**1**) anhand des Singulets bei 2,09 ppm und des Multipletts bei 6,10 ppm erkennbar ist, bei **3** fehlt.

Der Strukturbeweis für **3** wurde durch Verknüpfung mit Wortmannin (**1**), dessen Struktur aufgrund einer Röntgenanalyse eindeutig feststeht [4], sowie durch Vergleich von Abbauprodukten erbracht. Diese Verknüpfung von **1** mit **3** gelang durch reduktive Eliminierung der Acetoxygruppe mit Zink, wobei die Empfindlichkeit des



durch zwei Carbonylfunktionen aktivierten Furanrings eine genaue Kontrolle der Reaktionsbedingungen verlangte. Die Reduktion führte allerdings nicht direkt zu **3**, sondern aufgrund von Analyse und Massenspektrum zu einem Isomeren (**2**), dessen

NMR.-Spektrum das Multiplett eines vinyllischen Protons bei 5,67 ppm aufweist. Die sterische Lage des Wasserstoffs an C(8) liess sich durch Doppelresonanzexperimente¹⁾ an **2** eindeutig festlegen. So beträgt die Kopplungskonstante zwischen dem Proton an C(8) und demjenigen an C(14) 10,5 Hz, was einem dihedralen Winkel von ungefähr 170° und damit einer periplanaren Anordnung entspricht. Da die Stereochemie an C(14) aufgrund der nachfolgend beschriebenen Versuche mit derjenigen von Wortmannin (**1**) übereinstimmt, ist der Wasserstoff an C(8) β -ständig. Die Verschiebung der Doppelbindung aus der 9,11- in die 8,9-Stellung liess sich in Pyridin bei Siedetemperatur oder mit 1,8-Diazabicycloundecen in Methylenchlorid bei Zimmertemperatur durchführen.

Die absolute Konfiguration von **3** wurde durch Vergleich von Abbauprodukten bewiesen: Behandlung von **1** mit kochender 2N Salzsäure, Veresterung des Reaktionsproduktes mit Diazomethan und anschliessende Hydrierung der durch Essigsäure-Eliminierung entstandenen Doppelbindung führte zu **4** [5], das mit dem aus 11-Desacetoxy-wortmannin (**3**) durch entsprechenden Abbau erhaltenen Produkt identisch war.

Experimenteller Teil

(unter Mitarbeit von Albert Arnold, Günter Bamert und Simone Rominger)

Allgemeines. Die Smp. wurden im offenen Röhrchen bestimmt und sind nicht korrigiert. NMR.-Spektren: δ -Werte (ppm relativ zu TMS als internem Standard). Abkürzungen: *s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *m* = Multiplett, *b* = breites Signal. UV.-Spektren: λ_{\max} in nm (log ϵ).

Isolierung von 11-Desacetoxy-wortmannin (3)²⁾. In einem Fermenter wurden 150 l einer Nährlösung, die pro l 20 g Cerelese, 2 g Malzextrakt, 2 g Hefeextrakt, 2 g KH_2PO_4 , 2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ und entmineralisiertes Wasser enthielt, mit einer Sporensuspension des Stammes NRRL 3363 von *Penicillium funiculosum* THOM beimpft und unter Belüftung (150 l Luft/Min.) und unter Rühren (100 U./Min.) 112 Std. bei 27° inkubiert. Anschliessend wurde die Kulturbrühe filtriert und das Filtrat 2mal mit je 100 l Essigester extrahiert. Die organische Phase wurde 1mal mit 60 l Wasser gewaschen, im Vakuum auf 5 l eingeeengt, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Den Rückstand (7,4 g) verteilte man 3mal zwischen Petroläther und Methanol/Wasser 9:1. Die Methanolphase wurde konzentriert und anschliessend 3mal mit Essigester extrahiert. Die Essigesterphasen wurden 1mal mit Wasser gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Man erhielt 1,79 g entfetteten Rohextrakt, der an 90 g Kieselgel chromatographiert wurde. Mit Chloroform/Methanol 99:1 wurden 770 mg Kristalle eluiert. Zweimalige Umkristallisation aus Methylenchlorid/Äther lieferte 320 mg 11-Desacetoxy-wortmannin (**3**) vom Smp. 178–180°. $[\alpha]_D^{20} = +104^\circ$ ($c = 0,967$ in CHCl_3). – IR. (Fig. 1, CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3140, 1755, 1745, 1680, 1650, 1540 cm^{-1} . – UV. (CHCl_3): 258,5 (4,08) und 293,5 (3,86). – NMR. (CDCl_3): 0,90 s (3H), 1,71 s (3H), 3,11 s (3H), 3,15 m (2H), 4,82 t ($J = 5$ Hz; 1H), 8,22 s (1H). – MS.: *m/e* 370 (100%), 325 (85), 312 (48), 297 (43), 296 (48), 281 (43), 268 (33), 240 (67).

$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_6$ (370,401) Ber. C 68,1 H 6,0 O 25,9% Gef. C 67,9 H 5,8 O 26,3%

Zn-Reduktion von Wortmannin (1 → 2). 5,0 g Wortmannin (**1**) wurden in 200 ml Äthanol zum Sieden erhitzt und dann mit 5 ml Eisessig und 5 g Zn-Staub versetzt. Nach 30 Min. Rühren am Rückfluss wurde das Gemisch heiss filtriert und das Filtrat am RV. zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wurde in 200 ml Methylenchlorid gelöst und eine Std. stehengelassen. Dann wurde filtriert und das Filtrat eingedampft. Umkristallisation des Rückstandes aus Methylenchlorid/Methanol ergab 3,1 g **2** vom Smp. 208–210°. $[\alpha]_D^{20} = +69^\circ$ ($c = 1,013$ in CHCl_3). – IR. (CH_2Cl_2): u. a.

¹⁾ Wir sind Frau Th. Zardin und Herrn H. R. Loosli für die Durchführung und Interpretation dieser Versuche dankbar.

²⁾ Die Bereitstellung grösserer Mengen von **3** erfolgte unter der Leitung von Herrn Dr. E. Hürri und Herrn H. Hofmann.

Banden bei 3140, 1745 (breit), 1695, 1650, 1540 cm^{-1} . – UV. (CH_2Cl_2): 261 (4,13), Schulter bei ca. 300 (2,67). – NMR. (CDCl_3): 0,98 s (3H), 1,78 s (3H), 3,21 s (3H), 4,98 dd (1H), 5,67 m (1H), 8,22 s (1H). – MS.: *m/e* 370 (11%), 325 (10), 307 (12), 297 (31), 296 (100), 281 (18), 268 (10), 267 (10).

$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_6$ (370,401) Ber. C 68,1 H 6,0 O 25,9% Gef. C 68,2 H 5,9 O 25,4%

Isomerisierung 2 \rightarrow *3*. 6,0 g *2* wurden in 300 ml trockenem Methylenchlorid gelöst und mit 60 ml einer 1proz. Lösung von 1,8-Diazabicyclo-undecen in Methylenchlorid versetzt. Nach 16 Std. bei 22° goss man die schwarze Lösung auf 50 ml eiskalte 2N HCl. Die organische Phase wurde mit kalter 2N KHCO_3 und 2mal mit Wasser gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Man erhielt 5,95 g Rohprodukt, das an 300 g Kieselgel chromatographiert wurde. Fraktionsgrösse: 300 ml. Eluationsmittel: Äther. Fraktionen 7–9 enthielten 219 mg Ausgangsmaterial (*2*). In den Fraktionen 10–12 wurde 1,82 g weitgehend reines *3* gefunden, das nach 1maliger Umkristallisation aus Methylenchlorid/Äther bei 165–166° schmolz. Aus den Fraktionen 13–18 wurden 3,97 g 11-Desacetoxy-wortmannin (*3*) erhalten, das nach 1maliger Umkristallisation aus Methylenchlorid/Äther bei 178–180° schmolz und das nach Smp., DC. und den spektralen Daten mit dem aus der Fermentation isolierten Material identisch war.

Säureabbau von Wortmannin (1 \rightarrow *4*). 520 mg Wortmannin (*1*) wurden in 10 ml 2N HCl während 1 Std. am Rückfluss gekocht. Das Gemisch wurde wie üblich aufgearbeitet und das Rohprodukt mit Diazomethan behandelt. Man erhielt 522 mg eines Gemisches, das durch präp. DC. (Kieselgel G, Benzol/Essigester 4:1) getrennt wurde. Die schnellere Zone (120 mg) schmolz nach Umkristallisation aus Methylenchlorid bei 222–226°. (Lit. [5]: 219–220°).

17 mg des Methylesters wurden in Essigester in Gegenwart von Pd/C (10%) hydriert. Nach Aufnahme von 1 Äqu. H_2 wurde filtriert und eingengt. Den Rückstand reinigte man durch präp. DC. (Kieselgel G, Benzol/Essigester 4:1). Umkristallisation der Hauptfraktion aus Methylenchlorid/Pentan lieferte *4* vom Smp. 191–198°. (Lit. [5]: 196–198°). Die IR.- und NMR.-Spektren entsprachen den Literaturangaben [5].

Säureabbau von 11-Desacetoxy-wortmannin (3 \rightarrow *4*). 30 mg 11-Desacetoxy-wortmannin (*3*) wurden in 5 ml 2N HCl 1 Std. am Rückfluss gekocht. Dann wurde mit 10 ml Wasser verdünnt, 2mal mit je 50 ml Essigester extrahiert und wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt behandelte man mit Diazomethan. Man erhielt 22 mg Ester, der durch präp. DC. (Kieselgel G, Benzol/Essigester 4:1) gereinigt wurde.

Durch Umkristallisation der Hauptfraktion (11 mg) resultierten Kristalle, die bei 196–200° schmolzen und die aufgrund von Smp., Misch-Smp., DC., NMR.- und IR.-Spektren mit *4* identisch waren.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] D. Wiesinger, H. U. Gubler, W. Haefliger & D. Hauser, *Experientia*, im Druck.
- [2] P. W. Brian, P. J. Curtis, H. G. Hemming & G. L. F. Norris, *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 40, 366 (1957).
- [3] J. MacMillan, A. E. Vanstone & S. K. Yeboah, *J. chem. Soc. Perkin I* 1972, 2898.
- [4] T. J. Petcher, H.-P. Weber & Z. Kis, *Chem. Commun.* 1972, 1061.
- [5] J. MacMillan, T. J. Simpson, A. E. Vanstone & S. K. Yeboah, *J. chem. Soc. Perkin I* 1972, 2892.