

71. Dysidin, ein neuartiger, chlorhaltiger Naturstoff aus dem Schwamm *Dysidea herbacea*

von **Werner Hofheinz** und **Willi E. Oberhänsli**

Pharmazeutische Forschungsabteilung und Zentrale Forschungseinheiten der
F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., CH-4000 Basel

Zum ehrenden Andenken an Prof. Dr. Dr. h. c. *Hans Schmid*, der am 24. 3. 1977 seinen
60. Geburtstag gefeiert hätte

(29. XII. 76)

Dysidin, a novel chlorine containing natural product from the sponge *Dysidea herbacea*

Summary

Dysidin (1) has been isolated from the marine sponge *Dysidea herbacea*. Its structure has been determined by degradation studies and spectroscopic methods. The synthesis of a degradation product is described. The relative and absolute configuration is established by X-ray diffraction methods.

Naturstoffe aus marinen Organismen haben in den letzten Jahren zunehmend Beachtung gefunden. Gründe dafür sind die Vielfalt neuartiger Strukturen und bemerkenswerte biologische Aktivitäten, die viele der neugefundenen Verbindungen auszeichnen¹⁾. Es kann nicht überraschen, dass zahlreiche Substanzen marinen Ursprungs Halogene enthalten, entstammen sie doch einer Umwelt, die zu 2% aus Halogenid-Ionen besteht. Erstaunlich ist jedoch, dass Verbindungen, die Chlor enthalten seltener sind als Bromverbindungen und z. B. in Schwämmen noch nicht ange troffen worden sind [3]. Wir haben nun aus dem Schwamm *Dysidea herbacea* eine chlorhaltige Substanz isoliert, über die wir im folgenden berichten.

Dysidea herbacea ist ein krustenbildender Schwamm der Ordnung *Dictyoceratida*, Klasse *Demospongiae*. Wegen seiner antimikrobiellen Eigenschaften ist er bereits vor einigen Jahren auf antibiotisch wirksame Inhaltsstoffe untersucht worden [4]. Dabei konnten einige bromierte 2-Hydroxybiphenyläther isoliert werden [5]. In Exemplaren derselben Spezies, die auf dem australischen *Great Barrier Reef* gesammelt worden waren, fanden wir solche Verbindungen nicht. Wir erhielten hingegen eine neue, chlorhaltige Substanz, die 1–1,2% der Schwamm-Trockenmasse ausmacht und welcher wir den Namen Dysidin gegeben haben. Die Struktur ergab sich aufgrund der im folgenden beschriebenen Untersuchungen, insbesondere einer *Röntgen-Struktur-*

¹⁾ Eine umfassende Zusammenstellung mariner Naturstoffe haben *Baker & Murphy* gegeben [1]; eine neuere Übersicht von *Ruggieri* [2] behandelt das Gebiet unter dem Gesichtspunkt der biologischen Wirksamkeit.

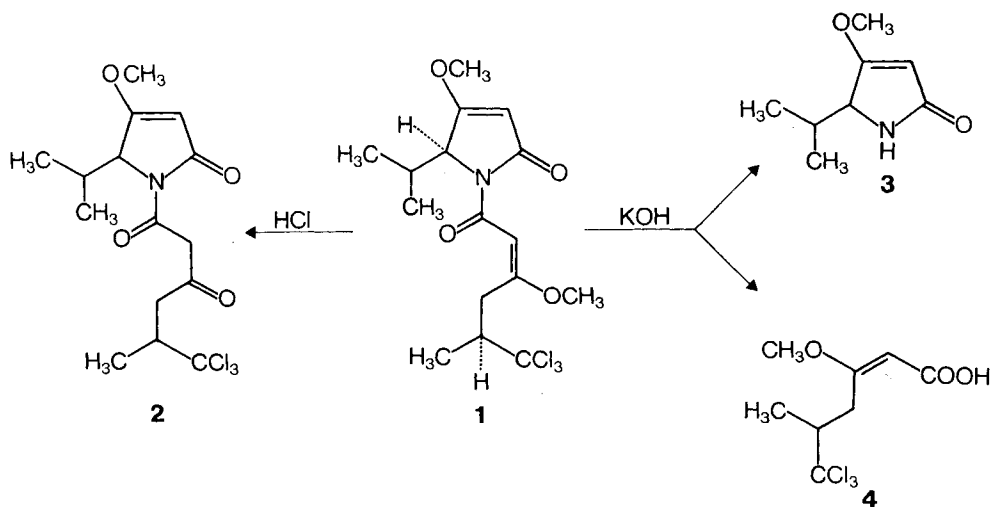
analyse, als **1**²⁾. Vorgängig der Röntgen-Strukturanalyse ermöglichten es eingehende spektroskopische Untersuchungen an **1** und einigen Abbauprodukten (*Schema 1*), die Konstitution ohne stereochemische Details abzuleiten. Diese Versuche sollen zunächst diskutiert werden.

Dysidin, farblose Nadeln vom Smp. 127–129°, ist neutral und optisch aktiv, $[\alpha]_D^{25} = +141^\circ$ ($c = 1$, CHCl_3). Das Massenspektrum und die Elementaranalyse ergeben als Summenformel $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{Cl}_3\text{NO}_4$. Das höchste chlorfreie Fragment des Massenspektrums hat m/e 280 und entspricht $M-\text{CCl}_3$, d.h. die drei Chloratome liegen als Trichlormethylgruppe vor. Diese Gruppierung ist in Naturprodukten bisher nicht gefunden worden.

Das UV.-Spektrum mit $\lambda(\text{max})$ bei 264 nm ($\log \epsilon = 4,43$) und das IR.-Spektrum mit vier starken Banden zwischen 1722 und 1610 cm^{-1} weisen auf konjugierte Doppelbindungen hin. Näheren Aufschluss über deren Natur gibt das ^{13}C -NMR.-Spektrum. Vier Singulette bei 164,8, 170,8, 171,3 und 179,2 ppm sowie zwei Dublette bei 94,9 und 96,3 ppm lassen sich zwei Gruppierungen der Art $-\text{C}(\text{OR})=\text{CH}-\text{C}(=\text{O})-$ zuordnen, d.h. zwei Enolen oder Enoläthern von β -Dicarbonylverbindungen ähnlich β -Alkoxy-crotonestern oder Tetronsäuren [6]. Das Spektrum weist keine weiteren Signale doppelt gebundener Kohlenstoffatome auf. Aufgrund der Summenformel muss **1** demnach neben vier Doppelbindungen einen Ring enthalten. Im Massenspektrum sind zwei intensive Pike bemerkenswert, die zeigen, dass **1** aus zwei C_8 -Hälften besteht: m/e 243 ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{Cl}_3\text{O}_2$) und m/e 156 ($\text{C}_8\text{H}_{14}\text{NO}_2$).

Durch wässrig-alkoholische Salzsäure wird Dysidin partiell zur Verbindung **2** hydrolysiert. Ihre Farbreaktion mit Eisen(III)-chlorid zeigt, dass **2** eine β -Dicarbonyl-Verbindung ist, die – wie aus den ^1H -NMR.-Spektren ersichtlich ist – aus einer der beiden ungesättigten Carbonylgruppierungen entstanden ist. Während das Spektrum von **1** Signale von zwei Methoxygruppen bei 3,76 und 3,83 ppm und zwei olefinischen

Schema 1

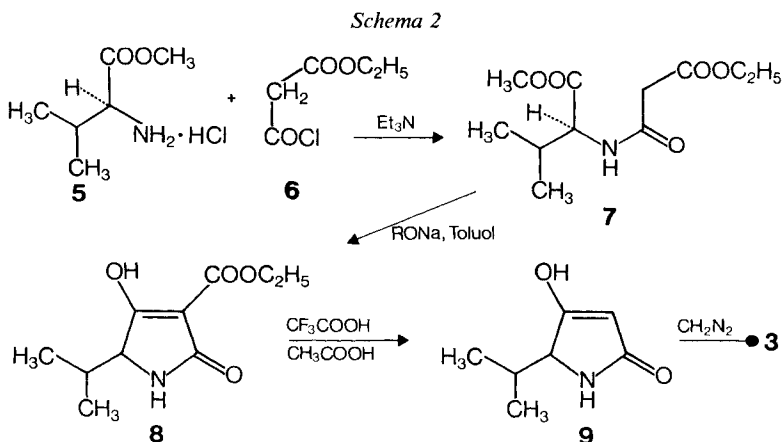


²⁾ Nach den Regeln der IUPAC-Nomenklatur ist **1** als (5*S*)-5-Isopropyl-4-methoxy-1-[(5*S*)-6,6,6-trichlor-3-methoxy-5-methyl-2(*E*)-hexenoyl]-3-pyrrolin-2-on zu bezeichnen.

Protonen bei 5,06 und 6,84 ppm aufweist, ist in dem Spektrum von **2** nur ein Methoxy-Signal bei 3,85 ppm und anstelle des tiefer liegenden Olefin-Singulets das *AB*-Spektrum einer Methylengruppe in asymmetrischer Umgebung zu sehen (2 Dublette bei 3,87 und 4,12 ppm, $J = 16$ Hz). Aus dem Massenspektrum ergibt sich, dass die Hydrolyse von **1** zu **2** die chlorhaltige C_8 -Hälfte betrifft, da der Pik bei m/e 243 verschwunden, der bei m/e 156 noch vorhanden ist.

Wird **1** mit wässrig-äthanolischer Kalilauge behandelt, so entstehen zwei neue Verbindungen **3** und **4**. Die eine (**3**) ist eine neutrale, optisch inaktive Substanz $C_8H_{13}NO_2$. Wie das NMR.-Spektrum zeigt, enthält sie eine Methoxygruppe (3,80 ppm), ein olefinisches Proton (Dublett bei 5,03 ppm mit $J = 1$ Hz), ein austauschbares, stickstoffgebundenes Proton und die Gruppierung $(CH_3)_2CH-CH$ (2 CH_3 -Dublette bei 0,80 und 1,03 ppm mit $J = 6,5$ Hz, ein 14-Linien-Signal (1 H) bei 2,1 ppm mit $J = 6,5$ und 3 Hz und ein Doppeldublett bei 4,01 ppm mit $J = 3$ und 1 Hz). Bis auf das N-H-Signal sind alle Signale mit nur geringfügigen Verschiebungen auch im Spektrum von **1** zu sehen³⁾. Diese Daten sind mit der Konstitution gemäss **3** erklärbar, die durch Synthese ausgehend von L-Valin (*Schema 2*) bestätigt wurde.

Zu diesem Zweck wurde L-Valin-methylester (**5**) mit dem Säurechlorid des Malonsäure-monoäthylesters (**6**) [7] acyliert und der gebildete Diester **7** mit Natrium-*t*-amylat in Toluol zum optisch aktiven Natriumsalz der Tetramsäure **8** cyclisiert; bei der Freisetzung der Säure **8** erfolgte jedoch Racemisierung. Verbindungen dieses Typs sind bereits früher hergestellt worden [8]. Sie können durch Kochen in Wasser verseift und decarboxyliert werden, während bei alkalischer Verseifung und Decarboxylierung Selbstkondensationsprodukte, Anhydridimere, entstehen [9]. Diese einfache Methode, auf **8** angewandt, ergab nur mässige und schlecht reproduzierbare Ausbeuten an **9**, ohne dass die Bildung von Kondensationsprodukten verhindert werden konnte. Sehr leicht hingegen entsteht **9** beim Kochen von **8** (als Natriumsalz oder als freie Säure) in Eisessig in Gegenwart von Trifluoressigsäure. Unter diesen Bedingungen wird vermutlich **8** mit Essigsäure zur freien Carbonsäure umgeestert, die sich spontan decarboxyliert. Die Ausbeuten an **9** lagen bei 92–95% und bezogen auf den

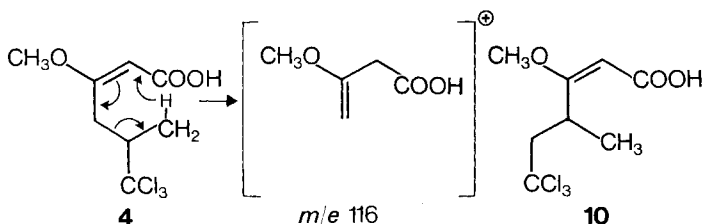


³⁾ Im Unterschied zu dem NMR.-Spektrum von **3** ist in dem von **1** keine Kopplung zwischen dem olefinischen und dem der Isopropylgruppe benachbarten Proton zu beobachten.

L-Valinester bei 60%. Der aus **9** mit Diazomethan hergestellte Äther **3** war mit dem Produkt der Hydrolyse von **1** nach Smp., IR., NMR. und MS. identisch.

Das zweite Produkt (**4**) der alkalischen Hydrolyse ist eine Carbonsäure $C_8H_{11}Cl_3O_3$. Das NMR.-Spektrum weist neben den Singulettten eines olefinischen Protons bei 5,16 ppm und einer Methoxygruppe bei 3,70 ppm das Dublett einer Methylgruppe bei 1,28 ppm ($J=6,5$ Hz) und ein komplexes Multiplett (3 H) zwischen 2,8 und 3,4 ppm auf. Im NMR.-Spektrum einer Lösung von **1** in Benzol ist dieses Multiplett besser aufgelöst. Im einzelnen zeigt es ein Doppeldublett bei 3,79 ppm ($J=12,5$ und 10 Hz), ein zweites Doppeldublett bei 3,4 ppm ($J=12,5$ und 3,5 Hz) sowie ein Multiplett bei 3,24 ppm, das sich zu einem Doppeldublett ($J=10$ und 3,5 Hz) vereinfacht, wenn mit der Resonanzfrequenz des Methylsubletts bei 1,33 ppm ($J=6,5$ Hz) eingestrahlt wird. Diesen Daten zufolge enthält **4** die Gruppierung $CH_2-CH-CH_3$. Dieses Strukturfragment kann mit der Methoxygruppe, der CCl_3 -Gruppe und dem bereits diskutierten Enoläther einer β -Dicarbonylgruppierung nur wie in **4** oder **10** verknüpft sein (s. *Schema 3*). Eine Entscheidung zwischen diesen beiden Strukturen ermöglicht das Massenspektrum: ein intensiver Pik bei m/e 116 lässt sich zwanglos mit Formel **4**, nicht jedoch mit **10** erklären. Eine sichere Aussage über die Konfiguration der Doppelbindung ist aufgrund der spektroskopischen Daten nicht möglich.

Schema 3



Aus den Konstitutionsformeln **3** und **4**, welche den beiden aus dem Massenspektrum erschlossenen C_8 -Hälften entsprechen, folgt unmittelbar für Dysidin die Konstitution **1** mit zwei chiralen Zentren. Die geschilderten Untersuchungen erlauben keine Aussage über die relative oder absolute Konfiguration dieser beiden Zentren. Der Versuch einer Korrelation mit L-Valin scheiterte an der Racemisierung sowohl bei der Verseifung von **1** zu **3** wie auch im Verlauf der Synthese von **3**. Da auch die Konfiguration der Seitenketten-Doppelbindung nicht bestimmt werden konnte, wurde eine Röntgen-Strukturanalyse durchgeführt.

Die Konfiguration der Molekel ist durch die Atomparameter in den Tabellen 1 und 2 und die Fig. 1 mit der willkürlich gewählten Atomnumerierung definiert. Die Stereoprojektion in Fig. 2 und eine Anzahl von berechneten Torsionswinkeln (Tabelle 5) beschreiben die Geometrie der Molekel.

Der Pyrrolinonring ist, wie Berechnungen einer besten Ebene und die entsprechenden Torsionswinkel zeigen, weitgehend planar. Ebenfalls in dieser Ebene, jedoch mit etwas grösseren Abweichungen, liegen auch C(6), C(7), C(8), C(9) und O(3). Dadurch kommt das Wasserstoffatom an C(7) in die Bindungsebene der Carbonyl-

gruppe an C(5) zu liegen. Diese Orientierung erklärt die ungewöhnliche chemische Verschiebung dieses Protons von 6,84 ppm gegenüber 5,06 ppm für das Proton an C(4) im NMR.-Spektrum von **1** und gegenüber 5,16 ppm für das olefinische Proton im Spektrum des Hydrolyseproduktes **4**.

Tabelle 1. *Koordinaten der Atome* (Standardabweichungen $\times 10000$)

Atome	X	Y	Z
Cl(1)	-0,9848 (1)	0,0241 (2)	1,4236 (3)
Cl(2)	-0,8850 (1)	0,1418 (3)	1,5591 (3)
Cl(3)	-0,9640 (1)	0,3014 (2)	1,3830 (4)
O(1)	-0,8975 (3)	0,6549 (7)	0,4108 (6)
O(2)	-0,7598 (3)	0,3617 (8)	0,6191 (8)
O(3)	-0,8970 (3)	0,4054 (6)	0,9479 (7)
O(4)	-0,7866 (2)	0,0838 (6)	1,0699 (7)
N(1)	-0,8426 (3)	0,4509 (7)	0,7285 (7)
C(2)	-0,8866 (3)	0,5465 (7)	0,6734 (8)
C(3)	-0,8667 (3)	0,5746 (9)	0,5000 (9)
C(4)	-0,8160 (3)	0,5142 (10)	0,4653 (10)
C(5)	-0,8012 (3)	0,4317 (10)	0,6061 (11)
C(6)	-0,8541 (3)	0,3759 (9)	0,8693 (10)
C(7)	-0,8163 (3)	0,2647 (8)	0,9055 (9)
C(8)	-0,8187 (3)	0,1982 (8)	1,0434 (10)
C(9)	-0,8526 (3)	0,2225 (8)	1,1990 (9)
C(10)	-0,8980 (3)	0,1152 (8)	1,2260 (9)
C(11)	-0,9316 (3)	0,1418 (7)	1,3845 (9)
C(12)	-0,9396 (4)	0,1084 (12)	1,0738 (12)
C(13)	-0,8771 (4)	0,6797 (12)	0,2408 (10)
C(14)	-0,7511 (4)	0,0371 (10)	0,9402 (12)
C(15)	-0,8896 (5)	0,6730 (9)	0,7833 (11)
C(16)	-0,9434 (7)	0,7571 (12)	0,7385 (15)
C(17)	-0,8346 (6)	0,7497 (13)	0,7849 (17)

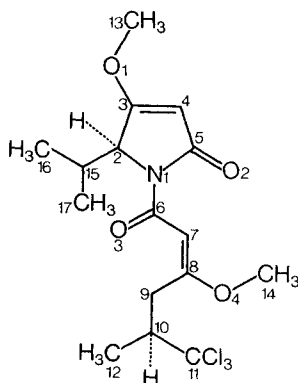


Fig. 1. *Struktur von Dysidin*

Tabelle 2. *Anisotrope Temperaturfaktoren*
 $T = \exp -(B_{11}h^2 + B_{22}k^2 + B_{33}l^2 + B_{23}kl + B_{13}hl + B_{12}hk)$

Atom	B ₁₁	B ₂₂	B ₃₃	B ₂₃	B ₁₃	B ₁₂
Cl(1)	0,0028	0,0141	0,0243	0,0069	0,0008	-0,0033
Cl(2)	0,0028	0,0217	0,0149	0,0028	-0,0008	-0,0007
Cl(3)	0,0027	0,0120	0,0336	0,0036	0,0053	0,0023
O(1)	0,0028	0,0179	0,0121	0,0043	-0,0002	0,0009
O(2)	0,0022	0,0278	0,0219	0,0145	0,0034	0,0043
O(3)	0,0028	0,0153	0,0192	0,0092	0,0051	0,0021
O(4)	0,0024	0,0149	0,0182	0,0028	0,0006	0,0022
N(1)	0,0019	0,0137	0,0126	-0,0008	0,0014	-0,0006
C(2)	0,0022	0,0104	0,0125	0,0008	0,0003	0,0005
C(3)	0,0023	0,0138	0,0125	0,0027	-0,0002	-0,0018
C(4)	0,0022	0,0168	0,0136	0,0046	0,0014	-0,0015
C(5)	0,0019	0,0180	0,0169	0,0055	0,0007	-0,0013
C(6)	0,0022	0,0139	0,0139	0,0003	0,0001	-0,0005
C(7)	0,0021	0,0117	0,0144	-0,0013	-0,0007	-0,0002
C(8)	0,0019	0,0120	0,0173	-0,0051	0,0005	-0,0000
C(9)	0,0018	0,0114	0,0144	0,0010	-0,0002	-0,0016
C(10)	0,0020	0,0126	0,0152	0,0002	-0,0006	-0,0018
C(11)	0,0022	0,0084	0,0158	0,0036	0,0004	-0,0009
C(12)	0,0033	0,0215	0,0172	-0,0029	-0,0022	-0,0068
C(13)	0,0027	0,0214	0,0131	0,0100	-0,0024	0,0004
C(14)	0,0029	0,0170	0,0219	-0,0036	0,0044	0,0036
C(15)	0,0045	0,0104	0,0153	0,0013	0,0009	-0,0008
C(16)	0,0063	0,0159	0,0232	-0,0029	-0,0010	0,0072
C(17)	0,0051	0,0198	0,0279	-0,0031	-0,0014	-0,0083

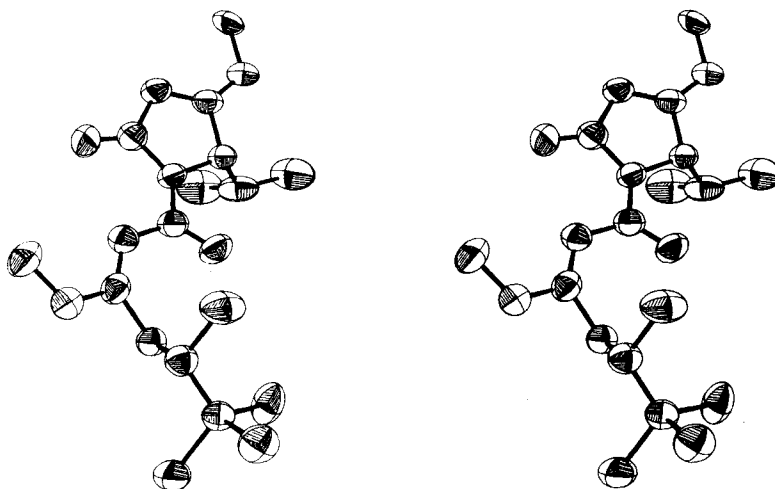


Fig. 2. *Stereoprojektion von Dysidin*

Tabelle 3. Bindungslängen (Å) (Standardabweichungen $\times 1000$)

Atome	Länge	Atome	Länge
O(1)–C(3)	1,308 (10)	O(3)–C(6)	1,232 (10)
O(2)–C(5)	1,209 (11)	O(4)–C(14)	1,425 (12)
O(4)–C(8)	1,399 (10)	N(1)–C(5)	1,405 (10)
N(1)–C(2)	1,488 (10)	C(2)–C(3)	1,509 (10)
N(1)–C(6)	1,397 (10)	C(3)–C(4)	1,372 (12)
C(2)–C(15)	1,560 (11)	C(6)–C(7)	1,465 (11)
C(4)–C(5)	1,456 (12)	C(8)–C(9)	1,514 (11)
C(7)–C(8)	1,305 (11)	C(10)–C(11)	1,534 (11)
C(9)–C(10)	1,540 (11)	C(15)–C(16)	1,569 (18)
C(10)–C(12)	1,578 (12)	Cl(1)–C(11)	1,758 (8)
C(15)–C(17)	1,512 (17)	Cl(2)–C(11)	1,792 (8)
O(1)–C(13)	1,480 (10)	Cl(3)–C(11)	1,785 (8)

Tabelle 4. Bindungswinkel mit Standardabweichungen (Grad)

Atome	Winkel	Atome	Winkel
C(3)–O(1)–C(13)	116,0 (0,7)	O(3)–C(6)–C(7)	125,6 (0,7)
C(8)–O(4)–C(14)	118,6 (0,7)	N(1)–C(6)–C(7)	117,5 (0,7)
C(2)–N(1)–C(5)	111,3 (0,6)	C(6)–C(7)–C(8)	122,8 (0,7)
C(2)–N(1)–C(6)	117,5 (0,6)	O(4)–C(8)–C(7)	122,3 (0,7)
C(5)–N(1)–C(6)	129,6 (0,7)	O(4)–C(8)–C(9)	107,0 (0,6)
N(1)–C(2)–C(3)	100,6 (0,6)	C(7)–C(8)–C(9)	130,7 (0,7)
N(1)–C(2)–C(15)	113,1 (0,6)	C(8)–C(9)–C(10)	111,8 (0,6)
C(3)–C(2)–C(15)	113,1 (0,7)	C(9)–C(10)–C(11)	110,8 (0,6)
O(1)–C(3)–C(2)	117,3 (0,7)	C(9)–C(10)–C(12)	110,6 (0,7)
O(1)–C(3)–C(4)	130,4 (0,8)	C(11)–C(10)–C(12)	109,9 (0,7)
C(2)–C(3)–C(4)	112,2 (0,7)	C(2)–C(15)–C(16)	110,4 (0,8)
C(3)–C(4)–C(5)	107,7 (0,7)	C(2)–C(15)–C(17)	112,7 (0,8)
O(2)–C(5)–N(1)	125,4 (0,8)	C(16)–C(15)–C(17)	114,7 (0,9)
O(2)–C(5)–C(4)	126,6 (0,8)	Cl(1)–C(11)–C(10)	113,6 (0,5)
N(1)–C(5)–C(4)	107,9 (0,7)	Cl(2)–C(11)–C(10)	110,1 (0,5)
O(3)–C(6)–N(1)	116,8 (0,7)	Cl(3)–C(11)–C(10)	112,0 (0,5)

Tabelle 5. Torsionswinkel (Grad)

Atome	Winkel	Atome	Winkel
N(1)[C(2), C(3)]C(4)	– 5,0	C(5)[N(1), C(6)]C(7)	4,6
C(2)[C(3), C(4)]C(5)	5,4	C(6)[C(7), C(8)]C(9)	– 7,5
C(3)[C(4), C(5)]N(1)	– 3,4	C(7)[C(8), C(9)]C(10)	112,8
C(4)[C(5), N(1)]C(2)	0,2	C(8)[C(9), C(10)]C(11)	179,9
C(5)[N(1), C(2)]C(3)	2,7	C(9)[C(10), C(11)]Cl(1)	179,5
C(4)[C(3), O(1)]C(13)	4,3	C(7)[C(8), O(4)]C(14)	– 1,5
O(2)[C(5), N(1)]C(6)	– 17,0	C(2)[N(1), C(6)]C(7)	168,5
N(1)[C(6), C(7)]C(8)	171,3		

Tabelle 6. *Effekt der anomalen Streuung, mit Cu-K α -Strahlung erhalten mit dem Koordinatensatz – X_i, Y_i, Z_i*

Friedel-Paare	ΔF_c	ΔF_o	Friedel-Paare	ΔF_c	ΔF_o
-2 -1 -1; 2 1 1	+	+	-9 -2 -2; 9 2 2	+	+
-1 -3 -1; 1 3 1	+	+	-2 -3 -2; 2 3 2	-	-
-5 -4 -1; 5 4 1	-	-	-7 -3 -2; 7 3 2	+	+
-3 -1 -2; 3 1 2	+	+	-6 -2 -3; 6 2 3	-	-
-5 -2 -2; 5 2 2	+	+	-3 -1 -4; 3 1 4	+	+

$$\Delta F = F_{-h-k-l} - F_{h\ k\ l}$$

Die berechneten Bindungslängen (Tabelle 3) und Bindungswinkel (Tabelle 4) zeigen etwa die erwarteten Werte. Die Abstände N(1)–C(5) und N(1)–C(6) von 1,41 Å bzw. 1,40 Å weisen auf einen, wenn auch schwachen, Doppelbindungscharakter hin.

Die absolute Konfiguration konnte aus dem anomalen Streuverhalten der Chloratome unter Verwendung von Cu-K α -Strahlung bestimmt werden. Beide chiralen Zentren haben danach *S*-Konfiguration, d.h. der Pyrrolinonring besitzt die gleiche absolute Konfiguration wie L-Valin.

Wir danken Mr. C. R. Wilkinson und Dr. P. J. Dunstan, Department of Zoology, University of Queensland, Australien, für das Sammeln des Schwammes und für Extrakte und Frau Professor Dr. P. R. Bergquist, University of Auckland, New Zealand, für die taxonomische Bestimmung. Herrn B. Blösch danken wir für die experimentelle Mitarbeit, Frau Dr. M. Grosjean, Herrn Dr. G. Englert, Herrn W. Meister und Herrn Dr. W. Vetter für die Interpretation der Spektren sowie Herrn Dr. A. Dirscherl und seinen Mitarbeitern für die Mikroanalysen.

Experimenteller Teil

Allgemeine Bemerkungen. Smp. sind mit dem Apparat von *Totoli* bestimmt und nicht korrigiert. UV.-Spektren in Äthanol; Angaben von λ_{\max} in nm (log ϵ). IR.-Spektren in KBr; Angaben in cm^{-1} . ^{13}C -NMR.-Spektren mittels Impuls-Fourier-Transformations-Technik auf Bruker HX-90-Spektrometer mit Nicolet Computer 1083; Messfrequenz 22,65 MHz; Angaben in ppm (Tetramethylsilan = 0) mit Multiplizität im ^1H -CW-offset-entkoppelten Spektrum. ^1H -NMR.-Spektren auf Varian HA-100; Angaben in ppm (Tetramethylsilan = 0) mit Zahl der Protonen, Multiplizität und Kopplungskonstanten in Hz (durch Analyse 1. Ordnung ermittelt). Massenspektren (MS.) mit AEI MS 902/DS30. Angaben in *m/e* (%rel. Int.) und (Summenformel, berechnete Masse, rel. Int.) CD.-Spektren auf Dichrograph Mod. 185, Lösungsmittel Methanol; Angaben von λ_{\max} in nm ($\Delta \epsilon$). Dünnschichtchromatogramme (DC.) und präparative Schichtchromatographie auf vorbeschichteten Kieselgel HF₂₅₄-Platten (Merck).

1. *Isolierung von 1.* *Dysidea herbacea* wurde auf dem Great Barrier Reef vor Townsville, Queensland, Australien, gesammelt und bis zur Gefrierdrying tiefgefroren. 570 g fein zerriebenes Schwamm-Material wurden in einer 1-l-Chromatographie-Säule mit tiefsiedendem Petroläther (Sdp. 40–60°) extrahiert. Die ersten 2500 ml Eluat hinterliessen beim Eindampfen 13,4 g, aus denen durch Kristallisieren mit 50 ml Äther 3,66 g Dysidin (1) erhalten wurden. Mit weiteren 5000 ml Petroläther wurden zusätzliche 2,5 g Rohextrakt erhalten, die mit den Mutterlaugen-Rückständen der ersten Kristallisation an 850 g Kieselgel mit Chloroform chromatographiert wurden. Nach einem Vorlauf von 2500 ml wurde in den nächsten 2000 ml ziemlich reines 1 eluiert, das nach Umkristallisieren aus Isopropyläther weitere 2,35 g 1 ergab. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Isopropyläther oder Hexan Smp. 127–129°; $[\alpha]_D^{25} = +141^\circ$ ($c = 1$, CHCl_3). – UV.: 225 (4,20), 264 (4,43). – IR.: 3116, 1722, 1663, 1628, 1610, 1320, 1172, 760. – CD.: 278 (+5,7), 256 (–3,2), 232 (+2,6). – ^1H -NMR. (in CDCl_3): 0,74 (3H, *d*, 7); 1,12 (3H, *d*, 7); 1,25 (3H, *d*, 6); 2,57 (1H, *d* × *q* × *q*, 2,8, 7, 7);

ca. 3,0 (1H, *m*); 3,15 (1H, *d* × *d*, 13, 3); 3,47 (1H, *d* × *d*, 13, 10); 3,76 (3H, *s*); 3,83 (3H, *s*); 4,68 (1H, *d*, 2,8); 5,06 (1H, *s*); 6,84 (1H, *s*). – ¹H-NMR. (in C₆D₆): 0,70 (3H, *d*, 7); 1,02 (3H, *d*, 7); 1,33 (3H, *d*, 6,5); 2,73 (1H, *d* × *q* × *q*, 2,8, 7, 7); 2,85 (3H, *s*); 3,2 (1H, *m*); 3,34 (3H, *s*); 3,4 (1H, *d* × *d*, 12,5, 3,5); 3,79 (1H, *d* × *d*, 12,5, 10); 4,59 (1H, *d*, 2,8); 4,67 (1H, *s*); 7,29 (1H, *s*). – ¹³C-NMR.: 15,5, 15,8, 18,8 (3*q*), 28,9 (*d*), 35,7 (*t*), 52,6 (*d*), 55,9, 58,2 (2*q*), 63,9, 94,9, 96,3 (3*d*), 105,7, 164,8, 170,8, 173,1, 179,2 (5*s*). – MS.: 397,0592 (*M*, C₁₆H₂₂Cl₃NO₄, ber. 397,0613, 0,5); 382,0397 (C₁₅H₁₉Cl₃NO₄, ber. 382,0378, 2); 362,0911 (C₁₆H₂₂Cl₂NO₄, ber. 362,0925, 3); 280,1557 (C₁₅H₂₂NO₄, ber. 280,1548, 28); 242,9749 (C₈H₁₀Cl₃O₂, ber. 242,9745, 24); 207 (23); 156,1019 (C₈H₁₄NO₂, ber. 156,1024, 29); 125,0605 (C₇H₉O₂, ber. 125,0602, 100).

C₁₆H₂₂Cl₃NO₄Ber. C 48,20 H 5,56 N 3,51 Cl 26,68%
(398,71) Gef. „ 48,49 „ 5,55 „ 3,38 „ 26,28%

2. *Saure Hydrolyse von 1*. Eine Lösung von 15 mg **1** in 0,4 ml Äthanol und 0,1 ml 25% HCl wurde in einem abgeschmolzenen Röhrchen 1½ Std. auf 80° erwärmt. Nach Eindampfen wurden aus dem Rohprodukt bei präparativer Schichtchromatographie mit Essigester/Benzol 2:1 durch Elution mit Essigester ca. 6 mg **2** als gelbliches Öl erhalten. – ¹H-NMR. (in CDCl₃): 0,80 (3H, *d*, 7); 1,12 (3H, *d*, 7); 1,35 (3H, *d*, 7); 2–3,5 (ca. 4H, *m*); 3,85 (3H, *s*); 3,87 (1H, *d*, 16); 4,12 (1H, *d*, 16); 4,59 (1H, *d*, 3); 5,05 (1H, *s*). – MS.: 383 (*M*, <1); 368 (2); 266 (5); 224,0921 (C₁₁H₁₄NO₄, ber. 224,0923, 30); 219 (35); 156 (40); 140 (55); 113 (100); 112 (60).

3. *Alkalische Hydrolyse von 1*. 20 mg **1** wurden in 0,6 ml einer 10proz. Lösung von KOH in Äthanol/Wasser 4:1 in einem geschlossenen Rohr 1½ Std. auf 80° erwärmt. Nach Eindampfen nahm man den Rückstand in 2 ml Essigester und 2 ml Wasser auf. Die Essigester-Phase wurde eingedampft. Der Rückstand ergab aus wenig Essigester 5 mg **3**, Smp. 169–171°; IR., NMR. und MS. identisch mit denjenigen von synthetischem **3**; optisch inaktiv. Die Wasserphase wurde mit 1 ml 2N HCl angesäuert und daraufhin 2mal mit je 2 ml Essigester ausgeschüttelt. Aus dem Extrakt erhielt man 7 mg Öl, die bei präparativer Schichtchromatographie mit Essigester/Benzol 2:1 durch Elution der Hauptbande mit Essigester 1,5 mg **4** als farbloses Öl lieferten. – ¹H-NMR. (in CDCl₃): 1,28 (3H, *d*, 6,5); 2,8–3,4 (3H, *m*); 3,70 (3H, *s*); 5,16 (1H, *s*). – MS.: 260 (*M*, 3Cl, <1); 225 (8); 143,0720 (C₇H₁₁O₃, ber. 143,0708, 100); 125,0603 (C₇H₉O₂, ber. 125,0603, 56); 116,0467 (C₅H₈O₃, ber. 116,0473, 42).

4. *Synthese von 3*. – 4.1. *4-Hydroxy-5-isopropyl-2-oxo-3-pyrrolin-3-carbonsäureäthylester (8)*. Zu 28,9 g (172,5 mmol) L-Valin-methylester-hydrochlorid (**5**) in 200 ml Dichlormethan tropfte man bei 0° 54 g (535 mmol) Triäthylamin und danach 28,6 g (190 mmol) Malonsäure-äthylesterchlorid (**6**) [7]. Nach Stehen über Nacht bei RT. filtrierte man vom ausgefällten Triäthylammoniumchlorid ab, dampfte ein, nahm den Rückstand mit 100 ml Wasser auf, stellte mittels konz. HCl auf pH 2 und extrahierte 3mal mit je 50 ml Essigester. Der Extrakt wurde je 2mal mit 50 ml Wasser und 50 ml 5proz. Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft: 33,3 g (81%) **7**, [α]_D²⁵ = +11,9° (*c*=1, CHCl₃).

Zur Cyclisierung wurde eine Lösung von 24 g (98 mmol) **7** in 180 ml Toluol mit 45,6 ml einer 2,15N Natrium-*t*-amylat-Lösung in Toluol (98 mmol) versetzt. Nach Stehen über Nacht bei RT. wurde das als gelbes Pulver abgeschiedene Natriumsalz der Säure **8** abgenutscht und mit Äther nachgewaschen: 19,1 g (81%), [α]_D²⁵ = –89,3° (*c*=1, H₂O). Um die freie Säure zu gewinnen, wurde in 150 ml Wasser aufgenommen, mit 12 ml konz. Salzsäure unter Eiskühlung auf pH 1 gestellt, 3mal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert, der Extrakt zur Trockne eingedampft und **8** zunächst aus Essigester, dann je einmal aus Toluol und aus Essigester umkristallisiert. Smp. 127–129°; [α]_D²⁵ = ± 0° (H₂O). – UV. (in Wasser): 226 (4,16), 260 (4,06). – IR.: 3216 (br.), 1721, 1709, 1662, 1621, 1200. – ¹H-NMR. (in CDCl₃): 0,93 (3H, *d*, 7); 1,08 (3H, *d*, 7); 1,42 (3H, *t*, 7); 2,20 (1H, *m*); 4,12 (1H, *d*, 3,2); 4,42 (2H, *q*, 7); 7 (1H, *m*). – MS.: kein *M*; 167 (*M*–C₂H₅OH, 1); 139 (11); 125 (100).

C₁₀H₁₅NO₄ (213,23) Ber. C 56,33 H 7,09 N 6,57% Gef. C 56,36 H 7,14 N 6,47%

4.2. *4-Hydroxy-5-isopropyl-3-pyrrolin-2-on (9)*. 31,3 g (147 mmol) **8** wurden in 313 ml Eisessig unter Zusatz von 31,3 ml Trifluoressigsäure 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Danach dampfte man im RV. ein, gab zum Rückstand 120 ml Äther, liess über Nacht in der Kälte stehen und nutschte das auskristallisierte **9** ab: 19 g (92%); Smp. 140–142°. – UV. (in H₂O): Endabsorption; in 0,01N NaOH: 260 (3,95). – IR.: 3254, 2450 (br.), 1777, 1682, 1645, 1575. – ¹H-NMR. (in (CD₃)₂SO): 0,88 (3H, *d*, 6,5); 0,99 (3H, *d*, 6,5); ca. 2,0 (1H, *m*); ca. 2,8 (1H, *d*); ca. 2,9 (1H, *d*); 3,80 (1H, *d*, 4). – MS.:

141 (*M*, < 1); 113 (100); 99 (64); 85 (25); 70 (70).

$C_7H_{11}NO_2$ (141,17) Ber. C 59,56 H 7,85 N 9,92% Gef. C 59,58 H 7,94 N 9,80%

4.3. *5-Isopropyl-4-methoxy-3-pyrrolin-2-on* (3). Eine Lösung von 500 mg (3,54 mmol) **9** in 20 ml Methanol und 2 ml Wasser wurde portionenweise mit 75 ml ätherischer Diazomethanlösung (ca. 1 g $CH_2N_2/100$ ml) versetzt, über Nacht stehen gelassen, im Rotationsverdampfer eingedampft und der Rückstand aus 7 ml Essigester umkristallisiert: 301 mg (55%) **3**; nach Umkristallisieren aus Benzol, Smp. 172–174°. – UV.: Endabsorption. – IR.: 3190, 3100, 1690, 1670, 1620. – 1H -NMR. (in $CDCl_3$): 0,80 (3H, *d*, 6,5); 1,03 (3H, *d*, 6,5); 2,1 (1H, $d \times q \times q$, 3, 6,5, 6,5); 3,80 (3H, *s*), 4,01 (1H, $d \times d$, 3, 1); 5,03 (1H, *d*, 1), 7,15 (1H, *br.*). – MS.: 155 (*M*, 38); 133 (60); 112 (100).

$C_8H_{13}NO_2$ (155,20) Ber. C 61,92 H 8,44 N 9,03% Gef. C 62,00 H 8,60 N 8,90%

5. *Bestimmung der Kristallstruktur von 1.* – 5.1. *Kristalldaten.* Formel $C_{16}H_{22}Cl_3NO_4$; Formelgewicht 398,71; Kristallsystem orthorhombisch, Raumgruppe $P2_12_12_1$, $Z=4$. Zellkonstanten (Å): $a=23,586 \pm 0,005$, $b=10,111 \pm 0,005$, $c=8,105 \pm 0,004$. Volumen der Elementarzelle: 1932, 86 Å³. Gemessene Dichte: 1,37 g/cm³, berechnete Dichte 1,37 g/cm³. Farblose durchsichtige Prismen.

5.2. *Beugungsintensitäten.* Die Daten wurden mit einem Vierkreisdiffraktometer *Hilger & Watts Y290/PDP8* gemessen. Strahlung Mo- $K\alpha$; Messbereich 0–15,0° mit Differenz-Filter, 15,0–28° mit β -Filter; Scan: $\omega/2\theta$.

5.3. *Strukturbestimmung.* Von den 2776 gemessenen Reflexen wurden 1695 als beobachtet angenommen (die Nettointensitäten dieser Reflexe sind grösser als das 2fache der Standardabweichung der Messung). Die Strukturbestimmung erfolgte mittels einer direkten Methode kombiniert mit Tangensformelverfeinerung. Eine blockdiagonale «Kleinste Quadrate Verfeinerung» ergab die Atomparameter der Tab. 1 und 2. Der berechnete *R*-Wert beträgt 7,3%. Die Resultate von Berechnungen an der Molekel-Geometrie sind in Tab. 3 (Bindungslängen), Tab. 4 (Bindungswinkel) und Tab. 5 (Torsionswinkel) wiedergegeben. Die verwendete willkürliche Atomnummerierung gibt Fig. 1.

5.4. *Absolute Konfiguration.* Ihre Bestimmung mit Hilfe der anomalen Streuung beruht auf zwei unabhängigen Messungen. Im ersten Versuch wurden die Koordinatensätze X_i, Y_i, Z_i und $-X_i, Y_i, Z_i$ auf der Basis der mittels Mo- $K\alpha$ Strahlung erhaltenen Daten unter Einschluss der anomalen Chlorstreufaktoren verfeinert. Es resultierten dabei die folgenden *R*-Werte:

für X_i, Y_i, Z_i $R=7,40\%$; für $-X_i, Y_i, Z_i$ $R=7,33\%$.

Diese *R*-Werte geben einen starken Hinweis, dass der Koordinatensatz $-X_i, Y_i, Z_i$ die korrekte absolute Konfiguration beschreibt. Um dieses Resultat zu erhärten, wurde eine Reihe von *Röntgen*-Reflexen (*Friedel*-Paare) unter Verwendung von Cu- $K\alpha$ Strahlung nochmals vermessen (Tab. 6). Die Resultate zeigen ganz eindeutig, dass der Datensatz $-X_i, Y_i, Z_i$ (Tab. 1) die korrekte absolute Konfiguration beschreibt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *J. T. Baker & V. Murphy*, in 'Handbook of Marine Science', Vol. 1, Compounds from Marine Organisms, CRC Press, Cleveland, Ohio 1976.
- [2] *G. D. Ruggieri*, *Science* 194, 491 (1976).
- [3] *L. Minale, G. Cimino, S. De Stefano & G. Sodano*, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe 33, 1 (1976).
- [4] *P. R. Burkholder & G. M. Sharma*, *Lloydia* 32, 466 (1966).
- [5] *G. M. Sharma & B. Vig*, *Tetrahedron Letters* 1972, 1715.
- [6] *M. J. Loots, L. R. Weingarten & R. H. Levin*, *J. Amer. chem. Soc.* 98, 4571 (1976); *R. Muntwyler & W. Keller-Schierlein*, *Helv.* 55, 2071 (1972).
- [7] *D. S. Breslow, E. Baumgarten & C. R. Hauser*, *J. Amer. chem. Soc.* 66, 1286 (1944).
- [8] *Y. Isowa & M. Ohta*, *Bull. chem. Soc. (Japan)* 35, 1941 (1962).
- [9] *T. P. C. Mulholland, R. Foster & D. B. Haydock*, *J. chem. Soc.* 1972, 2121.