

Chemie der Pleuromutiline, IX.
Konfigurationsumkehr der Methylgruppe am Kohlenstoff 6
im tricyclischen Gerüst des Diterpens Pleuromutilin

Heinz Berner*, Hermann Vypel, Gerhard Schulz und Peter Stuchlik

Sandoz-Forschungsinstitut, A-1235 Wien, Österreich

(Eingegangen 11. April 1983. Angenommen 29. April 1983)

Inversion of Configuration of the Methylgroup at Carbon 6 in the Tricyclic Skeleton of the Diterpene Pleuromutilin (Chemistry of Pleuromutilins, IX)

The contact of pleuromutilin derivatives with the protein moiety of cytochrome P-450 as well as its orientation towards the heme iron is mainly dependent on the steric environment of the hydrindanone-part of the tricyclus¹. The apparent affinity between substrate and enzyme, which is correlated with the rate of metabolism can be reduced by inversion of configuration at carbon 6. This inversion is achieved by equilibrating the diastereomeric ketones **12** and **13** followed by a selective reduction of the keto group at position 7. The 6-methylgroup of **14** was assigned α -configuration on the basis of spectroscopic data in comparison to those of the naturally configured compound **14 a**.

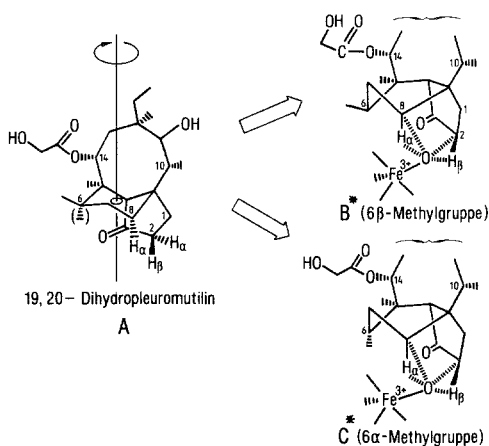
(Keywords: Pleuromutilin; Inversion of configuration; 1,5-Hydride-shift)

Einleitung

Wie wir in vorangegangenen Arbeiten^{2,3} bereits berichtet haben, wird das tricyclische Kohlenstoffgerüst des Pleuromutilins (**A**) und seiner Derivate durch mikrosomale Hydroxylierung (Cytochrom P-450) metabolisiert. Die dabei entstehenden Abbauprodukte tragen in 1β -, 2β - und 8α -Position eine Hydroxylgruppe und sind antimikrobiell inaktiv.

Der im Cytochrom P-450 als Singulett Oxen vorliegende Sauerstoff^{4,5} dürfte von einer zentralen Lage im Bereich des *cis*-Hydrindanons entweder auf 8α -, 2β - oder 1β -Stellung übertragen werden (Abb. **1B** and **C**). Die Konfiguration der Hydroxylierungsprodukte

unterstützt diese Annahme. Wie aus den Formelbildern **B** und **C** ersichtlich ist, stört eine 6 α -Methylgruppe die Ausbildung des Cytochrom—Substrat-Komplexes im Bereich zwischen 5- und 6-Ring. Es wurde daher versucht, durch eine Umkehr der Konfiguration die Ausbildung des Enzym—Substrat-Komplexes zu erschweren und damit die Metabolisierungsgeschwindigkeit zu reduzieren. Eine Blockierung der Kohlenstoffatome 1, 2 und 8 durch Austausch der Wasserstoffe gegen andere Substituenten führt nicht zum Ziel, da man damit die biologische Aktivität der Verbindungen drastisch verringert.



Ergebnisse und Diskussion

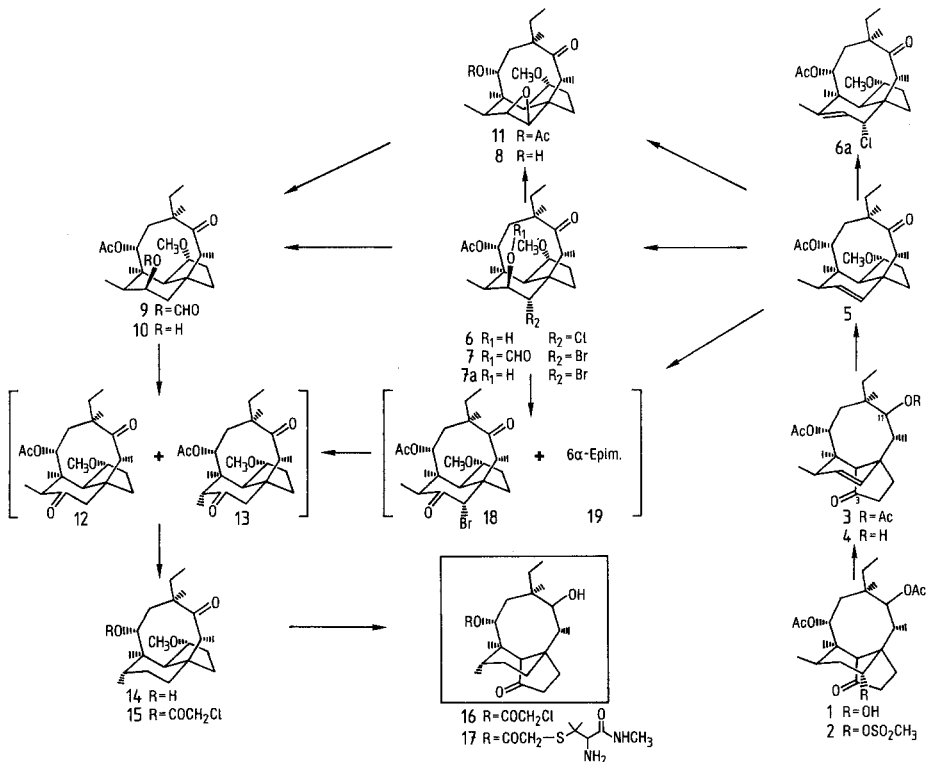
Mit dem problemlosen Zugang zur doppelt geschützten 8 α -Hydroxyverbindung **1**² standen zwei synthetische Möglichkeiten zur Verfügung, die Konfiguration am Kohlenstoff 6 umzukehren: Einmal die Reduktion der 6,7-Doppelbindung in **20**, die zu einem Gemisch der 6 α - und 6 β -konfigurierten Spezies **14**, **14 a** führen sollte, zum anderen eine Gleichgewichtseinstellung der Diketone **12** und **13** über das thermodynamisch kontrollierte 6-En-7-ol und nachträgliche selektive Reduktion der 7-Ketogruppierung.

Zu **20** gelangt man durch elektrochemische Allylchlorierung^{6,7} des 7-Mutilens **5** und anschließende reduktive Eliminierung des Chlors mit

* Die gestrichelten Linien in den Formelbildern B und C stellen die möglichen Interaktionen des Oxen-Sauerstoffs mit den beiden Wasserstoffen in Position 8 und 2 dar.

Tributylzinnhydrid. Die unter verschiedenen Bedingungen durchgeführten katalytischen Reduktionsversuche an **20** zeigten, daß der Wasserstoff offensichtlich aus sterischen Gründen nur von der α -Seite des Moleküls übertragen werden kann. Somit erhält man aber wieder die unerwünschte β -konfigurierte Spezies **14 a**. Dieses Ergebnis zwang uns in der Folge, den etwas mühsameren Weg über die Diketone **12**, **13** einzuschlagen.

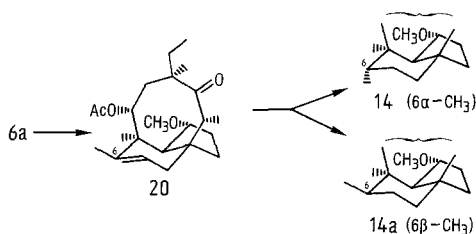
Das AB-*trans*-anellierte* 7-Mutilen **5**, das als zentrales Zwischenprodukt für beide Synthesefolgen diente, ist aus dem 8α -Hydroxyderivat **12** über 4 Stufen gut zugänglich: Eliminierung von Methylsulfonsäure mittels Natriumazid aus **2** und anschließende selektive Verseifung der 11-Acetoxygruppe führt zum 7-Mutilen **4**, dessen Oxydationsstufen an den Kohlenstoffen 3 und 11 mit Hilfe einer sauer



* Über die Nomenklatur dieser Verbindungsklasse wurde in vorangegangenen Arbeiten^{3, 8, 9} ausführlich berichtet.

induzierten Hydridumlagerung⁹ ausgetauscht werden (**4** → **5**). Über eine Retrohydridumlagerung⁹, die ihrerseits mit *Lewis*-Säuren induziert werden kann, läßt sich auf einer späteren Stufe dieser Reaktionschritt wieder rückgängig machen (**15** → **16**).

Die Reversibilität dieser Hydridumlagerung erlaubt es, die labile 3-Oxo-11-hydroxy-gruppierung (wie z. B. bei **4**) intermediär durch eine stabile 3-Methoxy-11-oxo-gruppierung (wie z. B. bei **13**) zu ersetzen. Im Gegensatz zur 3-Ketofunktion erweist sich diejenige in Stellung 11 gegenüber *Huang-Minlon*-Bedingungen als vollkommen inert. Die bei diesem Synthesekonzept erforderliche Differenzierbarkeit der beiden Ketofunktionen war somit gewährleistet.



Aus dem Mutilen **5** erhält man mit *NBS* in wäßrigem *DMF* das O-formylierte Bromhydrin **7**, dessen Halogen anschließend mit Tributylzinnhydrid reaktiv eliminiert wird (**9**). Eine selektive Verseifung der Formylgruppe mit anschließender Oxydation des 7β-Alkohols **10** führt schließlich zum Diastereomerengemisch der Diketone **12/13***. Ersetzt man beim Umsatz von **5** mit *NBS* das Lösungsmittel *DMF* durch *DMSO*, so gelangt man auf direktem Wege zu den epimeren Halogenketonen **18/19**. Das bei dieser Reaktion in geringer Menge anfallende Bromhydrin **7a** kann ohne vorherige Abtrennung im Reaktionsgemisch direkt nachoxydiert werden. Die anschließende reductive Eliminierung des Halogens erfolgt analog zur Reduktion von **7**.

Zwischen den epimeren Diketonen **12** und **13** liegt eine lösungsmittelabhängige, niedrige Energieschwelle, die es nicht gestattet, beide Spezies getrennt zu isolieren. Ebenso gelingt es nicht, die diastereomeren Bromketone **18** und **19** zu trennen. Erst mit der Entfernung der Ketogruppe in Position 7 durch eine *Huang-Minlon*-Reduktion werden

* Da die Versuche zur sauren Isomerisierung des Epoxids zu sehr komplexen Reaktionsgemischen führten, konnte der weitaus kürzere Syntheseweg **11** → **12/13** nicht besprochen werden.

die beiden stereoisomeren Formen stabilisiert*: Man erhält neben wenig 6- β -Methylverbindung **14 a** das gewünschte 6- α -Methylderivat **14** in Hauptmenge. Offensichtlich ist bei *trans*-Anellierung^{3,8} von 5- und 6-Ring — wie sie bei **14** vorliegt — die α -Konfiguration der 6-Methylgruppe die thermodynamisch stabilere Form.

Nach Chloracetylierung der 14-Hydroxylgruppe (**15**) werden die Oxydationsstufen an den Positionen 3 und 11 über die bereits erwähnte Retrohydridverschiebung wieder umgekehrt (**16**). Mit Hilfe einer nucleophilen Austauschreaktion wird schließlich der Acetylteil über eine Schwefelbrücke mit einem Derivat des Penicillamins¹² verknüpft**.

Orientierende biochemische Prüfungen¹³ zeigten, daß die Bindungsstärke des Enzym—Substrat-Komplexes durch eine Umkehr der Konfiguration der C-6-Methylgruppe drastisch absinkt. Eine gleichzeitig eintretende erhebliche Verschlechterung der antibakteriellen Aktivität¹³ läßt es nicht zu, diesen Effekt zur Retardierung des Metabolismus heranzuziehen.

Experimenteller Teil

Alle Schmelzpunkte (°C) wurden am *Kofler*-Heiztisch-Mikroskop ermittelt und sind unkorrigiert. Zur Schichtchromatographie wurden Kieselgel G und HPTLC-Kieselgel-Fertigplatten (Merck), zur Säulenchromatographie wurden Kieselgel (0,05-0,2 mm Merck) sowie Kieselgel-Fertigsäulen (Type A, B und C, Merck) verwendet. Als Dosierungspumpe diente CFG-Duramat-Membranpumpe für Niederdruck-Flüssigkeitschromatographie (Pro-Minent electronic, Typ 1001 SC + Duramat Pulsationsdämpfer).

Unter üblicher Aufarbeitung verstehen wir: Extraktion der wäßrigen Phase mit Essigester, Trocknen der organischen Phase mit Na₂SO₄ und Eindampfen des Reaktionsgemisches im Vakuum.

Die Spektren wurden mit dem IR-Spektrometer 421 (Perkin-Elmer), dem UV-Spektrometer DK 2 (Beckmann), den NMR-Spektrometern WH-90 DS sowie WM 250 (Bruker) und dem Massenspektrometer CH-7 (Varian-MAT) aufgenommen. Die NMR-Daten wurden in δ -Werten (*TMS* als innerer Standard) angeführt. Die ¹³C-NMR-Spektren wurden bei 62,90 MHz aufgenommen. Die Akkumulation der FID-Signale erfolgte mit einem 32 K-Datenspeicher. Es wurde eine Sweepwidth von 15 000 Hz und ein Pulswinkel von ca. 30° benützt. Die Protonen wurden breitbandentkoppelt.

Die Analysen entsprachen den geforderten Werten und sind nicht eigens angeführt.

Als Abkürzungen werden verwendet: *T* = Toluol, *EE* = Essigsäureethyl-ester, *M* = Methanol, *C* = Chloroform, *H* = Hexan (Fraktion 60—70°).

* Eine Konformationsänderung im Bereich des 6-Ringes wird durch die Anellierung mit dem 5- und 8-Ring verhindert.

** Für Verbindungen dieser Substanzklasse, die auf ihre antibakterielle Wirksamkeit geprüft werden, ist erfahrungsgemäß eine freie Hydroxylgruppe in Stellung 11 und eine basisch substituierte Acylgruppierung in Position 14 erforderlich^{10, 11}.

11,14-Diacetoxy-8-hydroxy-3-oxo-mutilan (1)

Durch Hydrierung der 12-Vinylverbindung² in Essigsäureethylester (Pd/C-10%) unter Normaldruck. NMR (CDCl₃): 5,6 (d, 1 H, H₁₄, $J_{H_{14}H_{13}} = 8,1$ Hz), 4,9 (d, 1 H, H₁₁, $J_{H_{11}H_{10}} = 6,3$ Hz), 4,02 (b, 1 H, H₈, $W^{1/2} = 6,3$ Hz), 2,09, 1,99 (s, s, 2 × CH₃, CH₃CO), 1,48, 0,8 [s, s, 2 × CH₃, (CH₃)₁₅, (CH₃)₁₈].

IR (KBr): 3 400 (OH), 1 730 (CO-Ester und 3-CO) cm⁻¹.

11,14-Diacetoxy-8-methylsulfonyloxy-3-oxo-mutilan (2)

Eine Lösung von 1,2 g (2,84 mmol) **1** in 3 ml Pyridin wird unter Kühlung mit 0,245 ml (3,12 mmol) Mesylchlorid und 5 mg *Steglich*-Base versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 25 h bei 25 °C gießt man das Reaktionsgemisch auf 0,5 *n* HCl, extrahiert wiederholt mit *EE* und wäscht anschließend die organische Phase mit NaCl-gesättigtem Wasser. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen i. Vak. erhält man 1,26 g (88,7%) **2** in amorpher Form. Für eine Analysenprobe wurde ein Teil über Kieselgel (*H/EE* 4:1) chromatographiert.

NMR (CDCl₃): 5,58 (d, 1 H, H₁₄, $J_{H_{14}H_{13}} = 8$ Hz), 5,08 (b, 1 H, H₈, $W^{1/2} = 6$ Hz), 4,9 (d, 1 H, H₁₁, $J_{H_{10}H_{11}} = 6,3$ Hz), 2,98 (s, 3 H, CH₃SO₂⁻), 2,11, 2,02 (s, s, 2 × 3 H, CH₃CO), 1,54 [s, 3 H, (CH₃)₁₅], 0,85 [s, 3 H, (CH₃)₁₈].

IR (KBr): 1 720 (3-CO, CH₃CO), 1 240, 1 170, 1 115, 1 025 cm⁻¹.

11,14-Diacetoxy-3-oxo-7-mutilen (3)

Eine Lösung von 6,5 g (12,9 mmol) Mesylat **2** und 0,92 g (14,2 mmol) Natriumazid in 60 ml *DMF* wird 36 h bei 120 °C gehalten. Anschließend gießt man das Reaktionsgemisch auf NaCl-gesättigtes Wasser und arbeitet wie üblich auf. Man erhält nach Chromatographie über Kieselgel (*H/EE* = 5:1) 4,57 g (87,04%) **3** in amorpher Form.

NMR (CDCl₃): 5,74 (ddd, 1 H, H₈, $J_{H_7H_8} = 12$ Hz, $J_{H_6H_8} = 2,3$ Hz, $J_{H_4H_8} = 1,8$ Hz), 5,42 (dd, 1 H, H₇, $J_{H_7H_8} = 12$ Hz, $J_{H_6H_7} = 2,7$ Hz), 5,38 (d, 1 H, H₁₄, $J_{H_{14}H_{13}} = 9$ Hz), 4,8 (d, 1 H, H₁₁, $J_{H_{10}H_{11}} = 8$ Hz), 2,1, 2,05 (s, s, 2 × CH₃, CH₃CO), 1,53 [s, 3 H, (CH₃)₁₅], 0,79 [s, 3 H, (CH₃)₁₈], 0,74 [t, 3 H, (CH₃)₂₀], 0,62 [d, 6 H, (CH₃)₁₆, (CH₃)₁₇].

IR (KBr): 1 720 (3-CO, CH₃CO) cm⁻¹.

14-Acetoxy-11-hydroxy-3-oxo-7-mutilen (4)

Eine Lösung von 150 mg (0,3 mmol) **3** in 10 ml Methanol und 10 ml 10%iger methanolischer Natronlauge wird 70 h bei 25 ° gehalten. Nach üblicher Aufarbeitung erhält man 145 mg Rohprodukt, das über Kieselgel (*T/EE* = 4:1) chromatographiert wird. Ausbeute 105 mg (78,4%).

NMR (CDCl₃): 5,36 (d, 1 H, H₁₄, $J_{H_{14}H_{13}} = 8,1$ Hz), 5,42 (dd, 1 H, H₇, $J_{H_8H_7} = 10,8$ Hz, $J_{H_6H_7} = 1,8$ Hz), 5,78 (ddd, 1 H, H₈, $J_{H_7H_8} = 10,8$ Hz, $J_{H_6H_8} = 2,7$ Hz, $J_{H_4H_8} = 1,8$ Hz), 3,4 (t, 1 H, H₁₁, $J_{H_{11}OH} = 7,2$ Hz, $J_{H_{11}H_{10}} = 6,3$ Hz), 1,99 (s, 3 H, COCH₃), 1,5 [s, 3 H, (CH₃)₁₅], 0,94 [s, 3 H, (CH₃)₁₈], 0,86, 1,04 [d, d, 2 × 3 H, (CH₃)₁₆, (CH₃)₁₇].

IR (CHCl₃): 1 725 cm⁻¹.

14-Acetoxy-3-methoxy-11-oxo-7-mutilen (5)

Eine Lösung von 1 g (2,75 mmol) **4** in 20 ml abs. CH₃OH wird unter Kühlung mit 2 ml Orthoameisensäuretrimetylester und 0,3 ml H₂SO₄ (98%) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 42 h bei 25 °C wird wie üblich aufgearbeitet. Man erhält nach Chromatographie über Kieselgel (*H/EE* = 10:1) 720 mg (69,9%) **5**.

NMR (CDCl_3): 5,92 (dd, 1 H, H_7 , $J_{\text{H}_7, \text{H}_8} = 9,9$ Hz, $J_{\text{H}_7, \text{H}_6} = 2,7$ Hz), 5,77 (d, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}, \text{H}_{13}} = 9,9$ Hz), 5,18 (dd, 1 H, H_8 , $J_{\text{H}_7, \text{H}_8} = 9,9$ Hz, $J_{\text{H}_8, \text{H}_9} = 1,8$ Hz), 3,25 (s, 3 H, OCH_3), 3,5 (m, 1 H, H_3), 3,16 (q, 1 H, H_{10} , $J_{\text{H}_{10}, \text{H}_{17}} = 6,5$ Hz), 2,05 (s, 3 H, CH_3CO), 1,29, 1,01 [s, s, $2 \times \text{CH}_3$, $(\text{CH}_3)_{15}$, $(\text{CH}_3)_{18}$], 1,1, 0,95 [d, d, 2×3 H, $(\text{CH}_3)_{16}$, $(\text{CH}_3)_{17}$, $J = 6,3$ Hz, $J = 7,2$ Hz], 0,72 [t, 3 H, $(\text{CH}_3)_{20}$, $J_{\text{H}_{20}, \text{H}_{19}} = 8,1$ Hz].

IR (CHCl_3): 1720 (COCH_3), 1690 (11-CO) cm^{-1} .

14-Acetoxy-8-chlor-3-methoxy-6-mutilen-11-on (6a)

14-Acetoxy-8-chlor-3-methoxy-7-hydroxy-mutilan-11-on (6)

100 mg (0,26 mmol) **5** und 500 mg (8,5 mmol) NaCl werden in einem heterogenen Gemisch aus 24 ml CH_2Cl_2 und 12 ml destilliertem Wasser aufgenommen und zwischen 2 Platin-Elektroden (Oberfläche je ca. 10 cm^2) bei 50 mA galvanostatisch elektrolysiert^{6,7*}. Während der Elektrolyse (18 h) wird das Reaktionsgemisch stark gerührt, so daß eine milchige Emulsion entsteht. Nach Trennung der Phasen und wiederholtem Ausschüttern der wäßrigen Anteile wird wie üblich aufgearbeitet. Man erhält nach Chromatographie über Kieselgel (H/EE 10:1) 18 mg (23%) **6**, 21 mg (28,2%) **6a** und 32 mg nicht umgesetzter Ausgangsverbindung **5**. **6**: NMR (CDCl_3): 6,42 (d, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}, \text{H}_{13}} = 10$ Hz), 4,5 (d, 1 H, H_8 , $J = 1,8$ Hz), 4,24 (q, 1 H, H_{10} , $J_{\text{H}_{10}, \text{H}_{17}} = 6,3$ Hz), 4,1 (m, 1 H, H_7), 3,5 (m, 1 H, H_3), 3,25 (s, 3 H, OCH_3), 2,04 (s, 3 H, CH_3CO), 1,01, 1,29 [s, s, $2 \times \text{CH}_3$, $(\text{CH}_3)_{15}$, $(\text{CH}_3)_{18}$].

IR (CHCl_3): 1720 (COCH_3), 1790 (11-CO) cm^{-1} .

MS (70 eV/140°) m/e (%): 428 (8,2) (*M*), 368 (32,2) (*M*- CH_3COOH), 261 (12,2), 229 (18,9), 194 (28,8) (229-Cl), 43 (100).

6a: NMR (CDCl_3): 5,72 (dd, 1 H, H_7 , $J_{\text{H}_7, \text{H}_8} = 6,3$ Hz, $J_{\text{H}_7, \text{H}_6} = 1,6$ Hz), 5,46 (d, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}, \text{H}_{13}} = 7,2$ Hz), 4,48 (d, 1 H, H_8 , $J_{\text{H}_7, \text{H}_8} = 6,3$ Hz), 3,8 (m, 1 H, H_3), 3,3 (s, 3 H, OCH_3), 3,22 (q, 1 H, H_{10} , $J_{\text{H}_{10}, \text{H}_{17}} = 6,3$ Hz), 2,12 (s, 3 H, CH_3CO), 1,85 (b, 3 H, H_{16} , $W^{1/2} = 2,7$ Hz), 1,3, 1,15 [s, s, 2×3 H, $(\text{CH}_3)_{15}$, $(\text{CH}_3)_{18}$], 1,02 [d, 3 H, $(\text{CH}_3)_{17}$, $J_{\text{H}_{17}, \text{H}_{10}} = 6,3$ Hz], 0,71 [t, 3 H, $(\text{CH}_3)_{20}$, $J_{\text{H}_{20}, \text{H}_{19}} = 7,2$ Hz].

IR (CHCl_3): 1730 (CO-Ester), 1685 (11-CO) cm^{-1} .

14-Acetoxy-8-brom-7-formyloxy-3-methoxy-mutilan-11-on (7)

Eine Lösung von 3 g (7,96 mmol) **5** in 6,1 ml DMF wird mit 0,29 ml H_2O und 2,83 g (15,9 mmol) NBS versetzt und 42 h bei 25°C gehalten. Nach üblicher Aufarbeitung erhält man 3,92 g Rohprodukt, das über Kieselgel ($H/EE = 4:1$) chromatographiert wird. Ausbeute 2,82 g (70,6%) **7**.

NMR (CDCl_3): 8,22 (t, 1 H, CHO, $J_{\text{H}_7, \text{CHO}} = 1,5$ Hz, $J_{\text{H}_6, \text{CHO}} = 1$ Hz), 5,45 (m, 1 H, H_7), 4,65 (d, 1 H, H_8 , $J_{\text{H}_8, \text{H}_7} = 2$ Hz), 6,26 (d, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}, \text{H}_{13}} = 10$ Hz), 3,9 (q, 1 H, H_{10} , $J_{\text{H}_{10}, \text{H}_{17}} = 6,5$ Hz), 2,35 (d, 1 H, H_4 , $J_{\text{H}_4, \text{H}_3} = 11,7$ Hz), 3,48 (m, 1 H, H_3), 3,28 (s, 3 H, OCH_3), 2,02 (s, 3 H, CH_3CO), 1,35, 1,04 [s, s, 2×3 H, $(\text{CH}_3)_{15}$, $(\text{CH}_3)_{18}$], 2,35 (dd, 1 H, H_{13} , $J_{\text{H}_{13}, \text{H}_{13'}} = 15,5$ Hz, $J_{\text{H}_{13}, \text{H}_{14}} = 10$ Hz), 1,39 (d, 1 H, $\text{H}_{13'}$, $J_{\text{H}_{13}, \text{H}_{13'}} = 16,5$ Hz).

IR (CHCl_3): 1720 (CHO, CH_3CO), 1690 (11-CO) cm^{-1} .

* Die präparativen Elektrolysen wurden in einer Durchflußzelle (Electro-
prep Cell, Eco-Control, Inc. Cambridge U.S.A.) durchgeführt. Zur Konstant-
haltung von Strom und Spannung diente der PREP-Potentiostat 3A bei
 ± 30 V, Modell 550 derselben Firma.

14-Acetoxy-8-brom-7-hydroxy-3-methoxy-mutilan-11-on (7a)

a) Eine Lösung von 200 mg (0,5 mmol) **5** in 0,41 ml *DMF* und 1 ml CH_3OH wird mit 190 mg (1 mmol) *NBS* versetzt und 18 h bei 25° gehalten. Nach üblicher Aufarbeitung und Chromatographie über Kieselgel ($H/EE = 8:1$) erhält man 158 mg (62,9%) Bromhydrin **7a**.

b) Als Nebenprodukt bei der Herstellung des Konformerengemisches **18 + 19**.

NMR (CDCl_3): 6,39 (d, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{13}\text{H}_{14}} = 10$ Hz), 4,75 (d, 1 H, H_8 , $J_{\text{H}_8\text{H}_7} = 2,4$ Hz), 4,26 (q, 1 H, H_{10} , $J = 6,5$ Hz), 4,2 (s, 1 H, H_7 , $W^{1/2} = 7,5$ Hz), 3,45 (m, 1 H, H_3), 3,24 (s, 3 H, OCH_3), 2,52 (s, 1 H, OH), 2,29 (d, 1 H, H_4 , $J_{\text{H}_4\text{H}_3} = 11,5$ Hz), 2,04 (s, 3 H, COCH_3), 1,30 (s, 3 H, CH_3), 1,0 (m, 9 H, $3 \times \text{CH}_3$), 0,73 [t, 3 H, $(\text{CH}_3)_{20}$, $J = 7,5$ Hz].

IR (CHCl_3): 3600 (OH), 1720, 1690 (CO) cm^{-1} .

14-Acetoxy-7-formyloxy-3-methoxy-mutilan-11-on (9)

2 g (4 mmol) **7** und 660 mg (4 mmol) α, α' Azo-bis-isobutyronitril werden in 150 ml Toluol gelöst und anschließend mit 2,3 g (14 mmol) Tributylzinnhydrid versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 18 h auf 65° erwärmt, anschließend auf gesättigte K_2CO_3 -Lösung gegossen und wie üblich aufgearbeitet. Man erhält 2,3 g Rohprodukt, das über Kieselgel ($H/EE = 4:1$) chromatographiert wird. Ausbeute 1,39 g (82,7%) **9** in Form eines farblosen Öls.

NMR (CDCl_3): 8,22 (d, 1 H, CHO, $J_{\text{CHO}, \text{H}_7} = 0,9$ Hz), 6,34 (d, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}\text{H}_{13}} = 10$ Hz), 5,28 (m, 1 H, H_7), 3,74 (q, 1 H, H_{10} , $J_{\text{H}_{10}\text{H}_{17}} = 6,3$ Hz), 3,5 (m, 1 H, H_3), 3,25 (s, 3 H, OCH_3), 1,74 (d, 1 H, H_4 , $J_{\text{H}_4\text{H}_3} = 10,8$ Hz), 2,04 (s, 3 H, COCH_3), 1,28, 1,02 [s, s, $2 \times \text{CH}_3$, $(\text{CH}_3)_{18}$, $(\text{CH}_3)_{15}$], 0,92, 0,96 [d, d, $2 \times \text{CH}_3$, $(\text{CH}_3)_{16}$, $(\text{CH}_3)_{17}$, $J = 6,3$ Hz].

IR (CHCl_3): 1720 (COCH_3 , CHO), 1690 (11-CO) cm^{-1} .

14-Acetoxy-7-hydroxy-3-methoxy-mutilan-11-on (10)

a) Eine Lösung von 17 g (~ 10 mmol) **9** und 1,38 g (10 mmol) K_2CO_3 in 50 ml Methanol wird 18 h bei 25° gehalten. Nach üblicher Aufarbeitung und anschließender Chromatographie über Kieselgel ($H/EE = 4:1$) erhält man 4,1 g (26%) **10**.

b) **10** erhält man auch durch Reduktion von **8** mit Lithium in flüssigem Amoniak¹⁴, Ausbeute 67%.

NMR (CDCl_3): 6,5 (d, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}\text{H}_{13}} = 10$ Hz), 4,08 (q, 1 H, H_{10} , $J_{\text{H}_{10}\text{H}_{17}} = 6,3$ Hz), 3,9 (m, 1 H, H_7), 3,5 (m, 1 H, H_3), 3,25 (s, 3 H, OCH_3), 2,06 (s, 3 H, CH_3CO), 2,34 (dd, 1 H, H_{13} , $J_{\text{H}_{13}\text{H}_{13'}} = 15$ Hz, $J_{\text{H}_{13}\text{H}_{14}} = 10$ Hz), 1,69 (d, 1 H, H_4 , $J_{\text{H}_4\text{H}_3} = 11$ Hz).

IR (CHCl_3): 3600, 3500 (OH), 1720 (CH_3CO), 1690 (11-CO) cm^{-1} .

*14-Hydroxy-7,8-epoxy-3-methoxy-mutilan-11-on (8)**14-Acetoxy-7,8-epoxy-3-methoxy-mutilan-11-on (11)*

a) Eine Lösung von 100 mg (0,2 mmol) **7** in 10 ml abs. *THF* wird unter Argon und Kühlung mit 1 ml einer 1-molaren Lösung von $\text{Li}(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{BH}$ (1 mmol) in *THF* versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 18 h bei 25° wird wie üblich aufgearbeitet. Man erhält nach Chromatographie über Kieselgel ($H/EE = 4:1$) 31 mg (39,7%) **11** und 22 mg (31,4%) **8**.

b) Eine Lösung von 190 mg (0,5 mmol) **5** und 860 mg (5 mmol) 3-Chlorperbenzoesäure in 5 ml Methylenchlorid wird 18 h bei 25° gehalten. Anschließend

wird das Reaktionsgemisch auf NaHCO_3 -Lösung gegossen und wie üblich aufgearbeitet. Man erhält 112 mg (59%) **11** nach Chromatographie über Kieselgel ($H/EE = 8:1$).

11: NMR (CDCl_3): 5,83 (d, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}\text{H}_{13}} = 10$ Hz), 3,6 (q, 1 H, H_{10} , $J_{\text{H}_{10}\text{H}_{17}} = 6,3$ Hz), 3,4 (m, 1 H, H_8), 3,22 (s, 3 H, OCH_3), 3,1 (m, 2 H, H_7 , H_8), 2,04 (s, 3 H, COCH_3).

IR (CHCl_3): 1720 (COCH_3), 1690 (11-CO) cm^{-1} .

8: NMR (CDCl_3): 4,78 (dd, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}\text{H}_{13}} = 6,3$ Hz, $J_{\text{H}_{14}\text{OH}} = 9$ Hz), 3,4 (q, 1 H, H_{10} , $J_{\text{H}_{10}\text{H}_{17}} = 6,3$ Hz), 3,2 (s, 3 H, OCH_3), 3,17 (m, 2 H, H_7 , H_8), 1,71 (d, 1 H, H_4 , $J_{\text{H}_4\text{H}_3} = 10$ Hz), 1,0, 1,11 [s, s, 2 \times CH_3 , (CH_3)₁₅, (CH_3)₁₈], 1,38, 1,12 [d, d, 2 \times CH_3 , (CH_3)₁₇, (CH_3)₁₆].

IR (CHCl_3): 3500, 3600 (OH), 1690 (11-CO), 1095, 1110 cm^{-1} .

14-Acetoxy-3-methoxy-mutilan-7,11-dion, 6 α + 6 β -Form (**12** + **13**)

a) Eine Lösung von 3,9 g (10 mmol) **10** in 50 ml Aceton wird unter Kühlung tropfenweise mit 2,63 ml Jones-Reagenz (7 mmol CrO_3) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 1 h bei 25 °C zerstört man noch vorhandene Anteile des Reagenz mit Isopropanol und arbeitet wie üblich auf. Aus einer Rohmenge von 3,85 g erhält man nach Chromatographie über Kieselgel ($H/EE = 3:1$) 3,01 g (77,5%) des Konformerengemisches **12** + **13**.

b) Setzt man das Diastereomerengemisch der Bromketone (**18** + **19**) analog zur reduktiven Eliminierung bei **7** um, erhält man in 62,5%iger Ausbeute das Diastereomerengemisch **12** + **13**.

NMR (CDCl_3): Gemisch der Epimeren im Verhältnis 9:2; 5,38 (d, 0,82 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}\text{H}_{13}} = 10$ Hz), 5,21 (d, 0,18 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}\text{H}_{13}} = 8,5$ Hz), 3,9 (m, 0,18 H, H_8), 3,56 (m, 0,82 H, H_8), 3,29 (s, 0,54 H, OCH_3), 3,26 (s, 2,46 H, OCH_3), 2,78 (d, 0,82 H, H_8 , $J_{\text{H}_8\text{H}_8'} = 13$ Hz), 2,18 (d, 0,82 H, H_8' , $J_{\text{H}_8\text{H}_8'} = 13$ Hz), 2,64 (d, 0,18 H, H_8 , $J_{\text{H}_8\text{H}_8'} = 12,5$ Hz), 2,44 (d, 1 H, H_4 , $J_{\text{H}_4\text{H}_3} = 11,5$ Hz), 2,02 (s, 2,46 H, CH_3CO), 2,09 (s, 0,54 H, CH_3CO).

In *DMSO* beträgt das Verhältnis der beiden Epimeren 10:1. Zwischen 100° und 140° tritt Koaleszenz der Signale ein.

IR (CHCl_3): 1730 (CH_3CO), 1700 (7-CO), 1690 (11-CO) cm^{-1} .

14-Hydroxy-3-methoxy-mutilan-11-on (**14**)

400 mg (1 mmol) **12** + **13** werden in einem Gemisch aus 16 ml Ethylenglykol, 6 ml Ethanol und 5 ml Hydrazinhydrat aufgenommen und 2 h unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen des Reaktionsgemisches fügt man 2,5 g festes KOH zu und destilliert (180 °C) Ethanol und Hydrazinhydrat langsam ab. Das Reaktionsgemisch wird anschließend auf Eiswasser gegossen und wie üblich aufgearbeitet. Man erhält nach Chromatographie über Kieselgel ($H/EE = 4:1$) 65 mg (19,0%) **14** und 32 mg (9,35%) der entsprechenden natürlich konfigurierten (6 β -Methyl) Verbindung.

Bei größeren Ansätzen steigt die Ausbeute von **14** auf 50–60%.

^1H -NMR (CDCl_3): 4,7 (t, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}\text{H}_{13}} = 7,5$ Hz, $J_{\text{H}_{14}\text{OH}} = 10$ Hz), 3,42 (m, 1 H, H_8), 3,18 (q, 1 H, H_{10} , $J_{\text{H}_{10}\text{H}_{17}} = 6,25$ Hz), 3,2 (s, 3 H, OCH_3), 2,32 (dd, 1 H, H_{13} , $J_{\text{H}_{13}\text{H}_{13'}} = 13$ Hz, $J_{\text{H}_{13}\text{H}_{14}} = 7,5$ Hz), 1,65 (d, 1 H, $\text{H}_{13'}$, $J_{\text{H}_{13}\text{H}_{13'}} = 13$ Hz).

^{13}C -NMR (CDCl_3): 82,8 (C-8), 70,8 (C-14), 56,7 (OCH_3), 55 (C-4), 51,86 (C-12), 49,4 (C-9), 44,8 (C-13), 43,7 (C-5), 41,5 (C-10), 35,5 (C-6), 35,1 (C-8), 31,7 (C-2), 30,6 (C-19), 28,8 (C-1), 26,5 (C-7), 23,0 (C-18), 18,0 (C-15), 14,9 (C-16), 14,4 (C-17), 8,7 (C-20).

Beim Übergang einer axialen zu einer äquatorialen CH_3 -Gruppe im Cyclohexanring wird das Signal der CH_3 -Gruppe ungefähr um 4,3 ppm zu tieferem Feld verschoben¹⁵. Hier findet man eine Differenz von 3,9 ppm.

IR (CHCl_3): 3 600, 3 500 (OH), 1 690 (11-CO) cm^{-1} .

14-Chloracetoxy-3-methoxy-mutilan-11-on (15)

Eine Lösung von 550 mg (1,6 mmol) **14** in 2 ml Chloroacetylchlorid wird 18 h auf 80 °C erwärmt. Man gießt das Reaktionsgemisch anschließend auf gesättigte NaHCO_3 -Lösung und rührt das heterogene Gemisch 0,5 h bei 25°. Nach Extraktion mit *EE* wird wie üblich aufgearbeitet. Man erhält nach Filtrieren über Al_2O_3 (III) (*H/EE* = 8:1) 580 mg (85,9%) der Chloroacetylverbindung **15**.

NMR (CDCl_3): 6,2 (d, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}\text{H}_{13}} = 10$ Hz), 4,08 (s, 2 H, $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CO}$), 3,42 (m, 1 H, H_3), 3,32 (q, 1 H, H_{10} , $J_{\text{H}_{10}\text{H}_{17}} = 7,5$ Hz), 3,21 (s, 3 H, OCH_3), 1,88 (d, 1 H, H_4 , $J_{\text{H}_4\text{H}_3} = 11$ Hz), 2,41 (dd, 1 H, H_{13} , $J_{\text{H}_{13}\text{H}_{18}} = 15$ Hz, $J_{\text{H}_{13}\text{H}_{14}} = 10$ Hz), 1,54 (d, 1 H, $\text{H}_{13'}$, $J_{\text{H}_{13'}\text{H}_{13}} = 15$ Hz).

IR (CHCl_3): 1 730 (COCH_2Cl), 1 690 (11-CO) cm^{-1} .

14-Chloracetoxy-11-hydroxy-mutilan-3-on (16)

500 mg **15** werden in einem Gemisch aus 12 ml Dioxan und 4 ml *Lukas*-Reagenz⁹ aufgenommen und 18 h bei 25 °C gehalten. Nach üblicher Aufarbeitung erhält man 520 mg Rohprodukt, das über Kieselgel (*H/EE* = 8:1) chromatographiert wird. Ausbeute 135 mg (27,9%) **16**.

NMR (CDCl_3): 5,73 (d, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}\text{H}_{13}} = 7,5$ Hz), 4,07 (s, 2 H, $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CO}$), 3,36 (t, 1 H, H_{11} , $J_{\text{H}_{11}\text{H}_{10}} = 7,5$ Hz, $J_{\text{H}_{11}\text{OH}} = 10$ Hz), 1,86 (s, 1 H, H_4 , $W^{1/2} = 5$ Hz), 1,47 [s, 3 H, $(\text{CH}_3)_{15}$], 0,98 [s, 3 H, $(\text{CH}_3)_{18}$], 0,96 (d, 3 H, H_{17} , $J_{\text{H}_{17}\text{H}_{10}} = 7,5$ Hz), 0,84 [d, 3 H, $(\text{CH}_3)_{16}$, $J_{\text{H}_{16}\text{H}_8} = 7,5$ Hz], 0,75 [t, 3 H, $(\text{CH}_3)_{20}$, $J = 7,5$ Hz].

IR (CHCl_3): 1 725 (3-CO, $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CO}$) cm^{-1} .

14-[(1-Amino-1-methylaminocarbonyl-2-methyl-propyl-2-yl)-thioacetoxy]-11-hydroxy-mutilan-3-on (17)

50 mg (0,25 mmol) *N*-Methyl-3-mercapto-3-methyl-2-amino-butylamidhydrochlorid¹² werden in 2,5 ml einer 0,0002 *M* NaOCH_3 -Lösung aufgenommen. Dazu fügt man tropfenweise eine Lösung von 100 mg (0,25 mmol) **16** in 5 ml Ethylmethylketon zu, wobei nach 10 min allmählich ein weißer Niederschlag ausfällt. Man rührt das heterogene Reaktionsgemisch weitere 18 h bei 25° und arbeitet anschließend wie üblich auf. Nach Chromatographie über Kieselgel (Gradient: *EE* → *EE/M* = 7:1) erhält man 56 mg (86,1%) **17**.

NMR (CDCl_3): 5,65 (d, 1 H, H_{14} , $J_{\text{H}_{14}\text{H}_{13}} = 7,5$ Hz), 3,4 (s, 1 H, $\text{N}-\text{CH}-\text{CO}$), 3,35 (d, 1 H, H_{11} , $J_{\text{H}_{11}\text{H}_{10}} = 5,7$ Hz), AB-System, $\nu_A = 3,25$, $\nu_B = 3,33$, $J_{AB} = 12,5$ Hz, $\text{S}-\text{CH}_2-\text{CO}$, 2,86 (d, 3 H, $\text{N}-\text{CH}_3$, $J = 5$ Hz), 1,88 (s, 1 H, H_4 , $W^{1/2} = 4,5$ Hz).

IR (CHCl_3): 3 400 breit (NH, OH), 1 730 (3-CO, Ester), 1 660 ($\text{NH}-\text{CO}$) cm^{-1} .

14-Acetoxy-8-brom-3-methoxy-mutilan-7,11-dion, 6 α + 6 β -Form (18 + 19)

a) 200 mg (0,53 mmol) **5** werden in 2,5 ml frisch über CaH destilliertem *DMSO* gelöst, mit 0,19 g *NBS* versetzt und bei 25° gerührt. Nach 24 h gießt man auf Wasser, arbeitet wie üblich auf und chromatographiert über Kieselgel (*H/EE* = 3:1). Man erhält dann 29 mg nicht umgesetztes **5**, 88 mg (41,3%) Diastereomerenmischung **18** und **19** und 38 mg (17,8%) Bromhydrin **7a**.

b) 38 mg (0,08 mmol) **7a** werden in 1 ml Aceton gelöst, mit 3 Tropfen *Jones*-Reagenz versetzt und 1 h bei 25° gerührt. Man arbeitet wie üblich auf, chromatographiert über Kieselgel ($H/EE = 3:1$) und erhält 17 mg (44,9%) Diastereomerenmischung **18 + 19**.

NMR ($CDCl_3$): 5,38 (d, 0,8 H, H_{14} , $J_{H_{14}H_{13}} = 9,5$ Hz), 5,17 (d, 0,2 H, H_{14} , $J_{H_{14}H_{13}} = 8,3$ Hz), 4,46 (s, 0,8 H, H_8), 4,32 (s, 0,2 H, H_8), 3,86 (m, 0,2 H, H_3), 3,48 (m, 0,8 H, H_3), 3,27 (s, 2,4 H, OCH_3), 3,29 (s, 0,6 H, OCH_3), 3,21 (q, 0,2 H, H_{10} , $J = 6,7$ Hz), 2,85 (q, 0,8 H, H_{10} , $J = 6,7$ Hz), 2,82 (d, 0,8 H, H_4 , $J_{H_4H_3} = 10,5$ Hz), 2,69 (d, 0,2 Hz, H_4 , $J_{H_4H_3} = 10,5$ Hz), 2,08 (s, 0,2 H, $COCH_3$), 2,03 (s, 0,8 H, $COCH_3$), 1,42 [s, 3 H, $(CH_3)_{15}$], 1,03 (d, 0,2 H, CH_3 , $J = 7,2$ Hz), 1,01 [s, 3 H, $(CH_3)_{18}$], 0,96 (d, 0,8 H, CH_3 , $J = 7,2$ Hz), 1,73 (d, 0,2 H, CH_3 , $J = 7,5$ Hz), 1,70 (d, 0,8 H, CH_3 , $J = 7,5$ Hz).

IR ($CHCl_3$): 1725, 1700 (CO), 1455 cm^{-1} .

14-Acetoxy-3-methoxy-6-mutilen-11-on (**20**)

200 mg (0,48 mmol) **6a** und 80 mg α , α' Azoisobutyronitril (0,48 mmol) werden in 30 ml absolutem Toluol gelöst und nach Zugabe von 570 mg (1,9 mmol) Tributylzinnhydrid 10 h auf 65° erwärmt. Nach üblicher Aufarbeitung und Chromatographie über Kieselgel ($H/EE = 6:1$) erhält man 74 mg (40,5%) **20** in Form eines farblosen Öls.

NMR ($CDCl_3$): 5,44 (dd, 1 H, H_{14} , $J_{H_{14}H_3} = 7,5$ Hz, $J_{H_{14}H_{13}} = 2$ Hz), 3,85 (m, 1 H, H_3), 3,24 (q, 1 H, H_{10} , $J_{H_{10}H_{17}} = 6,25$ Hz), 5,4 (m, 1 H, H_7), 3,28 (s, 3 H, OCH_3), 2,11 (s, 3 H, CH_3CO), 1,9 (d, 1 H, H_4 , $J_{H_4H_3} = 11,6$ Hz), 1,76 [b, 3 H, $(CH_3)_{16}$, $W^{1/2} = 5$ Hz], 1,01 [d, 3 H, $(CH_3)_{17}$, $J_{H_{17}H_{10}} = 6,25$ Hz], 0,7 [t, 3 H, $(CH_3)_{20}$, $J_{H_{10}H_{20}} = 7,2$ Hz].

IR ($CHCl_3$): 1730 (CO-Ester), 1695 (11-CO) cm^{-1} .

Die Analysen wurden von Dr. *J. Zak* im Mikroanalytischen Labor am Institut für Physikalische Chemie, die Massenspektren von Dr. *A. Nikiforov* und *H. Bieler* am Organisch-chemischen Institut der Universität Wien ausgeführt. Die Analysendaten entsprechen den geforderten Werten und sind nicht eigens angeführt.

Literatur

- Schuster I., Berner H., Egger H.*, Cytochrome P-450, Biochemistry, Biophysics and Environmental Implications (*Hietanen E., Laitinen M., Hanninen O.*, Hrsg.), S. 555. Elsevier Biochemical Press 1982.
- Berner H., Vypel H., Schulz G., Stuchlik P.*, Tetrahedron **39**, im Druck.
- Berner H., Schulz G., Fischer G.*, Monatsh. Chem. **112**, 1441 (1981).
- Trager W. F.*, in: Concepts in Drug Metabolism (*Jenner P., Testa B.*, Hrsg.), S. 185. New York: M. Dekker, 1980.
- Hamilton G. A.*, in: Molecular Mechanisms of Oxygen Activation (*Hayashi O.*, Hrsg.), S. 405—451. New York: Academic Press, 1974.
- Torii S., Uneyama K., Nakai T., Yasuda T.*, Tetrahedron Lett. **22**, 2291 (1981).
- Torii S., Tanaka H., Saitoh N., Siroi T., Sasaoka M., Nokami J.*, Ibid. **22**, 3193 (1981).
- Berner H., Schulz G., Schneider H.*, Tetrahedron **37**, 915 (1981).
- Berner H., Schulz G., Schneider H.*, Ibid. **36**, 1807 (1980).

- ¹⁰ *Egger H., Reinshagen H.*, J. of Antibiotics **29**, 923 (1976).
- ¹¹ *Egger H., Reinshagen H.*, Ibid. **29**, 915 (1976).
- ¹² *Asinger F., Gluzek K.*, Monatsh. Chem. **114**, 47 (1983).
- ¹³ *Schuster I., Hildebrandt J., Berner H.*, in Vorbereitung.
- ¹⁴ *Kaiser E. M., Edmonds C. G., Grubb S. D., Smith J. W., Tramp D.*, J. Org. Chem. **36**, 330 (1971).
- ¹⁵ *Pretsch E., Clerc J. T., Seibl J., Simon A.*, Tabellen zur Strukturaufklärung 1976, S. C 50 und C 55.