

Prom. Nr. 3206

Zur Kenntnis des Pleuromutilins

Von der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN
HOCHSCHULE IN ZÜRICH

zur Erlangung
der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften
genehmigte

PROMOTIONSARBEIT

vorgelegt von
PETER NAEGELI
dipl. Ing.-Chem. E. T. H.
von Küsnacht (ZH)

Referent: Herr Prof. Dr. O. Jeger
Korreferent: Herr P.-D. Dr. D. Arigoni

Juris-Verlag Zürich
1961

Leer - Vide - Empty

Sag Atome, sage Stäubchen.
Sind sie auch unendlich klein,
haben sie doch ihre Leibchen
und die Neigung, da zu sein.
Haben sie auch kleine Köpfchen,
sind sie doch voll Eigensinn.
Trotzig spricht das Zwerggeschöpfchen:
Ich will sein, so wie ich bin.
Suche nur, sie zu bezwingen,
stark und findig, wie du bist.
Solch ein Ding hat seine Schwingen,
seine Kraft und seine List.

Wilhelm Busch

Leer - Vide - Empty

**Meinen lieben Eltern
und
meiner lieben Braut
in Dankbarkeit gewidmet**

Leer - Vide - Empty

Meinem Freund und Lehrer,

Herrn P.-D. Dr. D. Arigoni,

unter dessen Leitung die vorliegende Arbeit ausgeführt wurde, möchte ich für seine von echter wissenschaftlicher Begeisterung getragene Hilfe herzlich danken.

Leer - Vide - Empty

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Theoretischer Teil	7
A) Züchtung des Pilzes und Isolierung von Pleuromutilin	8
B) Bruttoformel und funktionelle Gruppen	9
C) Umgebung der Carbonylfunktion in C	13
D) Gegenseitige Lage der Sauerstofffunktionen	17
E) Lage der Doppelbindung	25
F) Ableitung der möglichen Strukturformeln für Pleuromutilin	34
G) Umsetzungen im Gebiet des Kohlenstoffatoms 14	38
H) Biogenetische Betrachtungen	47
I) Anhang: NMR-Spektren	48
Experimenteller Teil	54
Zusammenfassung	87
Literatur	88

Leer - Vide - Empty

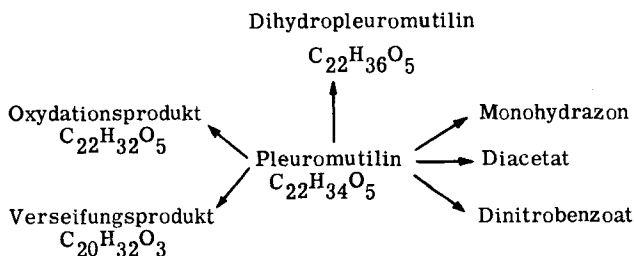
THEORETISCHER TEIL

Einleitung

Im Laufe der Untersuchung verschiedener Basidiomyceten auf ihre antibiotische Wirkung konnten F. Kavanagh et al.¹⁾ aus der Nährlösung von *Pleurotus mutilus* und *Pleurotus passeckerianus* einen kristallinen neutralen Stoff isolieren, den sie Pleuromutilin nannten. Die Autoren identifizierten dieses Produkt etwas später mit dem Drosophilin B aus *Drosophila subatrata* (identisch mit *Agaricus subatratus* und *Psathyrella subatrata*)²⁾. Das Produkt ist gegenüber gram-positiven Bakterien aktiv und weist geringe Toxizität auf. Seine antibiotische Wirksamkeit ist jedoch von untergeordneter Bedeutung, sodass es klinisch nicht weiter interessiert³⁾.

M. Anchel versuchte das Produkt chemisch zu charakterisieren⁴⁾. Auf Grund ihrer Angaben besitzt Pleuromutilin die Bruttoformel $C_{22}H_{34}O_5$. Es enthält eine leicht hydrierbare Doppelbindung sowie zwei Hydroxylgruppen, die leicht verestert werden können. Die sekundäre Natur der Hydroxylgruppen konnte jedoch nicht mit Sicherheit bestimmt werden, wird doch bei der Oxydation mit Chrom(VI)oxyd ein lediglich um zwei Wasserstoffatome ärmeres Derivat erhalten. Die drei verbleibenden Sauerstofffunktionen wurden auf Grund nicht eindeutiger Reaktionen einer Carbonylgruppe und einer Lacton- oder Estergruppierung zugeordnet. Von besonderem Interesse in diesem Zusammenhang ist die Beobachtung, dass Pleuromutilin bei alkalischer Behandlung angeblich in ein Produkt $C_{20}H_{32}O_3$ übergeht. Für diesen Uebergang wurde keine Erklärung gegeben. Uebersichtshalber sind diese Umsetzungen in Schema 1 zusammengestellt.

Schema 1



Bereits diese spärlichen Angaben liessen vermuten, dass das Pleuromutilin bzw. dessen Verseifungsprodukt $C_{20}H_{32}O_3$ mit den Diterpenen verwandt ist. Diese Vermutung fand eine erste Unterstützung in der Beobachtung, dass isotop markierte Verbindungen, deren Rolle bei der Biogenese der Terpene heutzutage als gesichert zu betrachten ist, durch den Pilz *Pleurotus mutilus* zu Pleuromutilin verarbeitet werden (vgl. unten). Die relativ leichte Zugänglichkeit der Verbindung, besonders aber die Tatsache, dass sie leicht in Schüttelkulturen produziert werden kann, machen sie zu einem geeigneten Objekt für biogenetische Versuche. Im Rahmen einer umfassenden Arbeit über die Biogenese der Terpene wurde es erneut unternommen, Pleuromutilin chemisch zu untersuchen. Einer biogenetischen Bearbeitung hat aber eine Aufklärung der Molekülstruktur voranzugehen. Es ist das Ziel der vorliegenden Arbeit, Beiträge zur Strukturklärung dieses anscheinend neuartigen Diterpenesters zu liefern*).

Die ersten Kapitel gelten der Bestimmung von Bruttoformel und Molekulargewicht sowie der Abklärung der gegenseitigen Beziehungen der funktionellen Gruppen von Pleuromutilin. Anschliessend wird auf Grund chemischer und physikalischer Experimente eine arbeitshypothetische Strukturformel abgeleitet, mit deren Hilfe weitere Reaktionen des Pleuromutilins gedeutet werden können **).

A) Züchtung des Pilzes und Isolierung von Pleuromutilin

Der Pilz *Pleurotus mutilus* wurde in Anlehnung an die Vorschriften von F. Kavanagh et al.¹⁾ in Schüttelkulturen gezüchtet. Die im experimentellen Teil näher beschriebene Aufarbeitung des Kulturfiltrates erlaubte eine mühelose Isolierung des gewünschten Produktes. Gaschromatographische Untersuchungen der bei der Kristallisation anfallenden Mutterlaugen zeigten, dass Pleuromutilin praktisch das einzige Produkt im Chloroformextrakt ist ***). Die Extraktion des getrockneten Mycels mit verschiedenen Lösungsmitteln ergab nur verschwindend kleine Mengen Pleuromutilin; es scheint, dass die Biosynthese des Stoffes extrazellulär vor sich geht. Bei Inkubation der Schüttelkultur mit methylmarkierter Essigsäure konnte am isolierten Pleuromutilin ein Einbau von ungefähr einem Prozent festgestellt werden. Ausgehend von ^{14}C -(2)-Mevalonsäure erhielt man einen Einbau von rund vierzig Prozent.

*) Vgl. dazu 5), 6) und 7).

**) Einfachheitshalber wird von dieser Strukturformel, obwohl sie erst in Kapitel F abgeleitet wird, in allen Schemata Gebrauch gemacht.

***) Zur Methodik vgl. 8). Diese Versuche wurden durch das Entgegenkommen von Herrn Dr. W. C. Wildman, NHI Bethesda (Md) USA, ermöglicht, wofür ihm an dieser Stelle bestens gedankt sei.

B) Bruttoformel und funktionelle Gruppen

Die physikalischen Konstanten des isolierten Produktes sowie der daraus hergestellten Derivate zeigten gute Uebereinstimmung mit den in der Literatur für Pleuromutilin und seine Umwandlungsprodukte angegebenen Werten^{1), 4)}. Obwohl ein direkter Vergleich nicht durchgeführt werden konnte, dürfte das isolierte Produkt mit Pleuromutilin identisch sein. Die Verbrennungswerte entsprechen der erwarteten Zusammensetzung $C_{22}H_{34}O_5$. Die Gültigkeit dieser Bruttoformel wurde im Laufe der vorliegenden Arbeit durch die Verbrennung verschiedener Derivate wiederholt überprüft. Bewiesen wird sie einerseits durch eine röntgenographische Molekulargewichtsbestimmung eines bromhaltigen Derivates, andererseits durch mehrere massenspektrometrische Molekulargewichtsbestimmungen verschiedener Umwandlungsprodukte.

Pleuromutilin (I) zeigt im UV-Spektrum nur Endabsorption ($\log \epsilon = 2,43$ bei 210μ). Im IR-Spektrum der Verbindung treten Banden bei 3410 und 3510 cm^{-1} (Nujol) auf, die beide für Hydroxylgruppen charakteristisch sind. In Chloroform fallen diese Banden in eine einzige bei 3575 cm^{-1} zusammen. Die Anwesenheit zweier Hydroxylgruppen geht aus der Bildung eines Diacetats $C_{26}H_{38}O_7$ (II)⁴⁾ hervor, welches im IR-Spektrum keine Hydroxylbanden mehr aufweist. Eine eher schwache IR-Absorption bei 1638 cm^{-1} (Nujol) bzw. 1630 cm^{-1} (Chloroform) zusammen mit Banden bei 934 und 3100 cm^{-1} deuten auf die Anwesenheit einer Doppelbindung, welche als Vinylidengruppierung vorliegen dürfte^{*}). Die entsprechenden Banden fehlen im Spektrum der Dihydroverbindung $C_{22}H_{36}O_5$ (III), welche aus Pleuromutilin durch katalytische Hydrierung in Gegenwart von Palladiumkohle bzw. Platinoxid in Aethanollösung leicht erhalten werden kann⁴⁾. Eine sehr ausgeprägte IR-Bande bei $1725-1730 \text{ cm}^{-1}$ (Chloroform) bzw. $1730-1745 \text{ cm}^{-1}$ (Nujol) kann einer Keton- oder Estergruppierung zugeordnet werden.

Zur genaueren Aufklärung der Natur der drei restlichen Sauerstofffunktionen wurde die bereits früher beschriebene Umsetzung von Pleuromutilin mit Alkalien näher untersucht⁴⁾. Bei der Behandlung mit 5-proz. methanolischer Kaliumhydroxylösung erhielt man aus Pleuromutilin ein neutrales Produkt $C_{20}H_{32}O_3$ (IV), für welches der Name Mutilin vorgeschlagen wird. Die beiden bei dieser Umsetzung abgespaltenen Kohlenstoffatome konnten nach dem Ansäuern des alkalischen Auszuges in Form von Glykolsäure isoliert werden. Der mit dem Uebergang Pleuromutilin \longrightarrow Mutilin verbundene Verlust eines $C_2H_2O_2$ -Restes lässt sich damit eindeutig im Sinne der Verseifung einer Glykolsäureestergruppierung interpretieren.

*) Zusätzliche Hinweise auf die Anwesenheit einer Doppelbindung sind die Endabsorption im UV-Gebiet, die sofortige Entfärbung von Kaliumpermanganat in Acetonlösung und die, allerdings schwache, gelbe Farbreaktion mit Tetranitromethan.

Von den drei Sauerstofffunktionen des Mutilins (IV) liegen mindestens zwei als Hydroxylgruppen vor, gelingt es doch durch Acetylierung bei Zimmertemperatur neben geringen Mengen eines Diacetates $C_{24}H_{36}O_5$ (VI) ein Monoacetat $C_{22}H_{34}O_4$ (V) herzustellen, welches noch freie Hydroxylgruppen enthält (IR-Bande bei 3630 cm^{-1} in Chloroform)*). Die dritte Sauerstofffunktion von Mutilin (IV), welche im IR-Spektrum der Verbindung eine Bande bei 1730 cm^{-1} (Chloroform) verursacht, muss demnach als Keton- oder Aldehydcarbonylgruppe vorliegen. Das Auftreten eines ausgeprägten positiven Cottoneffektes in der Rotationsdispersionskurve von IV ist kongruent mit dem Vorliegen eines Ringketons. Die Lage der entsprechenden IR-Bande macht es dann wahrscheinlich, dass es sich dabei um ein Cyclopentanon handelt. Der gehinderte Charakter dieser Ketogruppe geht daraus hervor, dass es gelingt, aus IV ein Oxim $C_{20}H_{33}O_3N$ (VII), dagegen aber nicht ein 2,4-Dinitrophenylhydrazon herzustellen. Die Carbonylgruppe des Mutilins (IV) lässt sich leicht mit Natriumborhydrid reduzieren, wobei eine Trihydroxyverbindung $C_{20}H_{34}O_3$ (IX) entsteht. Die gleiche Verbindung erhält man ebenfalls aus Pleuromutilin (I), sowohl durch Reduktion mit Natriumborhydrid in Dioxanlösung als auch durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid in Aetherlösung. Der letzte Versuch weist darauf hin, dass beim Uebergang Pleuromutilin \longrightarrow Mutilin keine tiefgreifende Aenderung des Gerüsts stattfindet. Mit Chrom(VI)-oxyd in Essigsäure lässt sich Mutilin (IV) in eine Tricarbonylverbindung $C_{20}H_{28}O_3$ (X) überführen, die keine Aldehydgruppe aufweist.

Pleuromutilin (I) stellt daher den Glykolsäureester von Mutilin (IV) dar, einer ungesättigten Verbindung mit 20 Kohlenstoffatomen, welche zwei sekundäre Hydroxylgruppen und ein Fünferingketon enthält.

Da sowohl im Pleuromutilin als auch im Mutilin nur eine Doppelbindung nachweisbar ist, kann man jetzt aus den Bruttoformeln ableiten, dass den zwei Verbindungen ein tricarbocyclisches Gerüst eigen ist. An diesem Gerüst müssen auf Grund der Kuhn-Roth-Bestimmung mindestens drei Methylgruppen haften. Die Kernresonanzkurven verschiedener Derivate, auf die in einem anderen Kapitel näher eingegangen wird, erlauben die Anwesenheit von insgesamt vier Methylgruppen nachzuweisen, wovon zwei tertiärer und zwei sekundärer Natur sind.

Zusammenfassend lässt sich somit für Pleuromutilin die Partialformel A vorschlagen.

*) Bei der Verwendung von Bromacetanhydrid lässt sich das entsprechende Monobromacetat $C_{22}H_{33}O_4Br$ (VIII) gewinnen, für welches röntgenographisch ein Molekulargewicht von 445,4 (ber. 441,3) ermittelt wurde. Für diese Bestimmung sei Herrn Prof. J. D. Dunitz und Herrn K. Schläpfer bestens gedankt.

Partialformel A



CH-OH	2x (C)-CH ₃
CH-O-CO-CH ₂ OH	2x (CH)-CH ₃
C=C	2 Ringe

Es wurde bereits erwähnt, dass Pleuromutilin ein Diacetat, Mutilin dagegen unter gleichen Bedingungen hauptsächlich ein Monoacetat zu bilden vermag. Es scheint daher naheliegend, dass von den zwei Hydroxylgruppen des Mutilins jene, welche der Acetylierung widersteht, durch Verseifung der Glykolsäureestergruppierung im Pleuromutilin entstanden ist. Da eine solche Zuordnung für die nachträgliche Lokalisierung der Sauerstofffunktionen im Pleuromutilin von Bedeutung ist, wurde versucht, diese Zusammenhänge durch weitere Experimente zu stützen. Uebersichtshalber werden in der Folge die drei sauerstofftragenden Kohlenstoffatome von Mutilin (IV) mit den Buchstaben A, B und C bezeichnet. Dabei soll A die Glykolsäureestergruppierung und B die sekundäre freie Hydroxylgruppe tragen, während C der Ketogruppe zugeordnet wird.

Oxydiert man Pleuromutilin (I) mit Chrom(VI)-oxyd, so erhält man unter Verlust von zwei Wasserstoffatomen ein Produkt C₂₂H₃₂O₅⁴⁾ (XI), welches von nun an Pleuromutilon genannt wird. Die neuentstandene Carbonylgruppe (wohl in B) weist im IR-Spektrum eine Bande bei 1690 cm⁻¹ (Chloroform) auf. Eine weitere Bande bei 3500 cm⁻¹ (Chloroform) zeugt dafür, dass in diesem Produkt noch eine freie Hydroxylgruppe vorhanden ist. Letztere lässt sich unter milden Bedingungen acetylieren, wobei das Pleuromutilonacetat C₂₄H₃₄O₆ (XII) entsteht, dessen IR-Spektrum keine Hydroxylbanden mehr aufweist. Offenbar wird unter den Reaktionsbedingungen der Oxydation die Hydroxylgruppe der Glykolsäureestergruppierung nicht oder nur langsam angegriffen^{*)}.

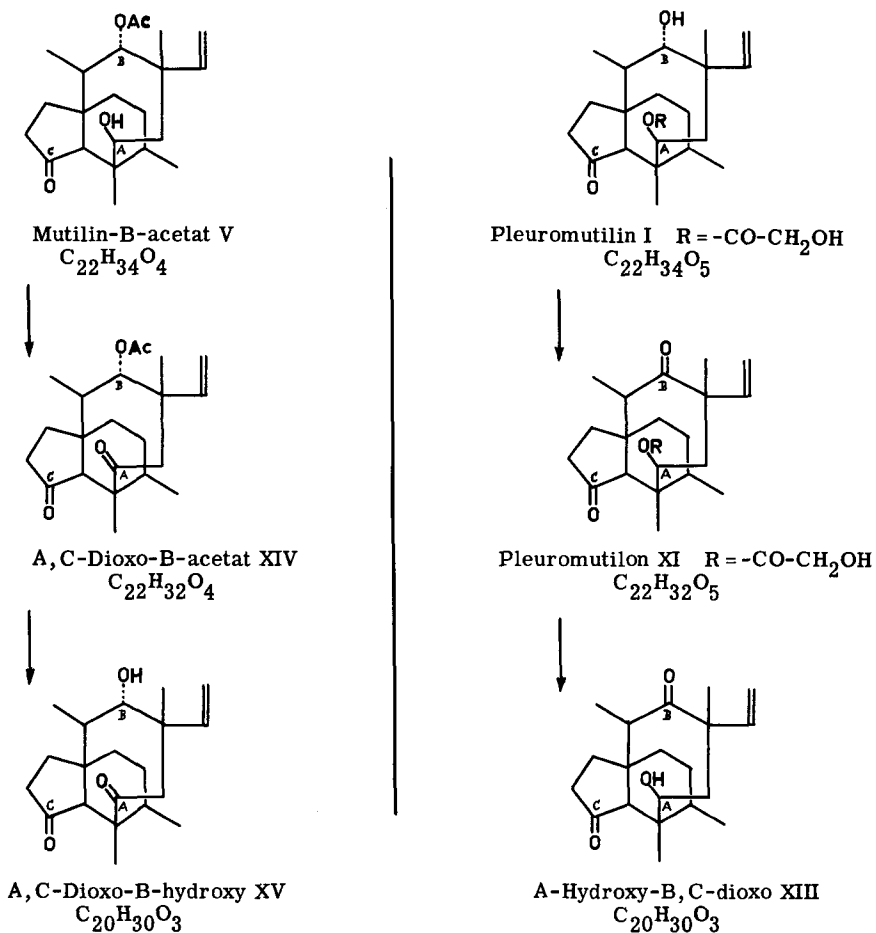
Verseift man Pleuromutilon (XI) mit 5-proz. methanolischer Kaliumhydroxyd-lösung, so erhält man unter Verlust von Glykolsäure ein Produkt C₂₀H₃₀O₃, welches sinngemäss die A-Hydroxy-B,C-dioxoverbindung (XIII) darstellt. Dieses Produkt ist deutlich verschieden von der isomeren Verbindung C₂₀H₃₀O₃ (XV), welche aus dem Monoacetat (V) von Mutilin durch Oxydation mit Chrom(VI)oxyd in Essigsäure zur Dehydroverbindung C₂₂H₃₂O₄ (XIV) und nachträgliche alkalische Verseifung erhältlich ist. Die Verbindung XV weist im IR-Spektrum eine neue Carbonylbande bei 1683 cm⁻¹ (Nujol) auf. Da sowohl Mutilin (IV), aus dem die Verbindung XV hergestellt wurde, wie auch die A-Hydroxy-B,C-dioxoverbindung (XIII) aus Pleuromutilon (XI), bei der Oxydation mit Chrom(VI)oxyd in Essigsäure ein und dasselbe A, B, C-Trioxoderivat

*) Zur Chrom(VI)oxyd-Oxydation von 11-Hydroxy-Steroiden mit α-ständigen elektro-negativen Substituenten vgl. 28). Analoge Beeinflussung der Oxydationsgeschwindigkeit durch α-ständige Halogensubstituenten ist bei Isopropanol beobachtet worden⁹⁾.

$C_{20}H_{28}O_3$ (X) liefern, können sich die zwei isomeren Hydroxy-dioxoverbindungen XIII und XV lediglich durch die Natur der zwei Sauerstofffunktionen in A und B voneinander unterscheiden. Die Verbindung XV stellt somit ein A, C-Dioxo-B-hydroxyderivat dar.

Darin lässt sich der Beweis erblicken, dass im Monoacetat (V) von Mutilin wirklich jene Hydroxylgruppe verestert ist, welche am Kohlenstoffgerüst des Naturproduktes in freier Form vorliegt. Schema 2 soll diese Beweisführung mit den korrekten Benennungen veranschaulichen.

Schema 2



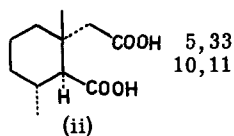
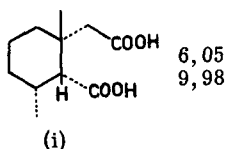
Die Tatsache, dass die zwei Isomeren XIII und XV im UV-Spektrum kein Absorptionsmaximum zeigen, beweist die isolierte Lage der Doppelbindung in den beiden Verbindungen. Die ungewöhnlich tiefe Lage der neuentstandenen Carbonylbanden der beiden Isomeren im IR-Spektrum darf somit nicht auf die Anwesenheit einer α, β -ungesättigten Carbonylgruppierung zurückgeführt werden. Darin liegt ein erster Hinweis für die Tatsache, dass die Kohlenstoffatome A und B in einem Ring mittlerer Grösse enthalten sein könnten. Im Zusammenhang mit der Charakterisierung der Hydroxylgruppen soll noch das Ergebnis der Bestimmung von Oxydationsgeschwindigkeiten Erwähnung finden, die für den Fall des Dihydropleuromutilins(III) und der A-Hydroxy-B, C-dioxoverbindung (XIII) nach der Methode von J. Schreiber und A. Eschenmoser¹⁰⁾ durchgeführt wurde. Danach wird die Hydroxylgruppe in B ($k^* = 17$) ungefähr zwanzigmal schneller oxydiert als die Hydroxylgruppe in A ($k^* = 0,84$). Diese Erscheinung ist bemerkenswert, da die Hydroxylgruppe in A langsamer verestert wird als jene in B (vgl. die Bildung des B-Monoacetats (V) aus Mutilin) und daher auf Grund der allgemeinen Regel¹⁰⁾ die höhere Oxydationsgeschwindigkeit aufweisen sollte. Diesem Umstand, der hier noch nicht näher besprochen werden kann, muss bei der Aufstellung einer Pleuromutilinformel auch noch Rechnung getragen werden.

C) Umgebung der Carbonylfunktion in C

In den früheren Kapiteln wurde für Pleuromutilin (I) auf Grund teils chemischer, teils spektroskopischer Befunde die Anwesenheit einer Cyclopentanonstruktur abgeleitet. Das Vorliegen eines cyclischen Ketons, welches in α -Stellung eine Methylengruppe besitzt, liess sich durch folgende Reaktionen beweisen:

Kondensation von Mutilin (IV) mit Aethylformiat in Gegenwart von Natriumhydrid lieferte eine amorphe Hydroxymethylenverbindung (XVI), welche eine positive Farb-reaktion mit Eisen(III)chlorid zeigte und durch ihr UV-Spektrum ($\lambda_{Max.} = 269 m\mu$, $\log \epsilon = 3,6$) charakterisiert wurde. Spaltung dieser Hydroxymethylenverbindung mit alkalischem Wasserstoffperoxyd ergab ein Gemisch von sauren Produkten, aus dem nebst kleinen Mengen einer kristallinen, nicht näher untersuchten Dicarbonsäure (XVIIa) mit pK_{MCS}^* -Werten von 7,12 und 8,75^{*)}, als Hauptprodukt eine amorphe Di-

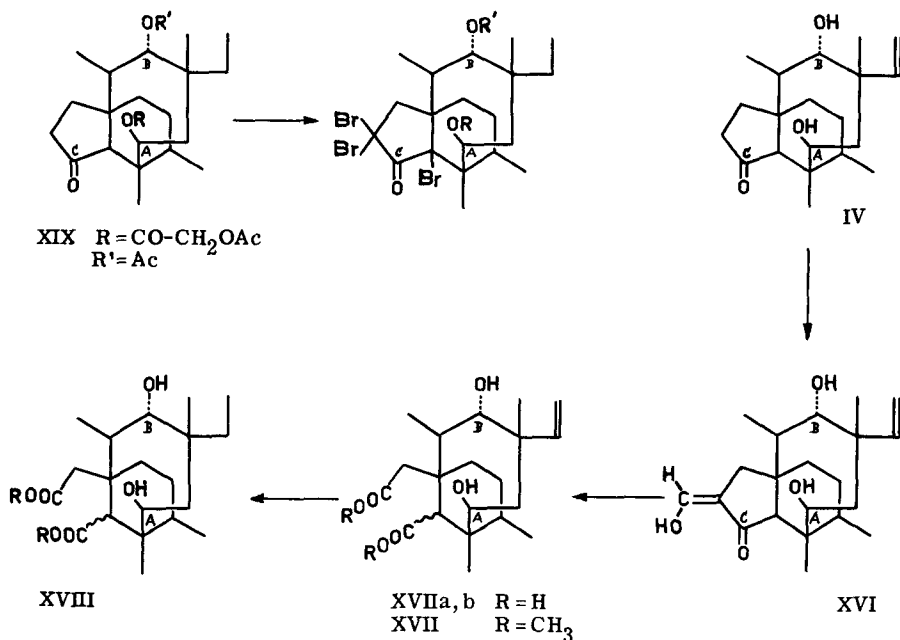
) Zur Definition und Bestimmung der pK_{MCS}^ -Werte vgl. 11). Zum Vergleich seien die pK_{MCS}^* -Werte der Dicarbonsäuren (i) und (ii) angegeben.



carbonsäure (XVIIb) mit pK_{MCS}^* -Werten von 5,73 und 9,91 isoliert werden konnte. Offenbar stellen die beiden Dicarbonsäuren Epimere dar, was nur möglich ist, wenn mindestens eine der Carboxylgruppen sekundär gebunden ist. Zur näheren Charakterisierung wurde die amorphe Dicarbonsäure mit Diazomethan in einen kristallinen Dimethylester $C_{22}H_{36}O_6$ (XVII) übergeführt, der sich katalytisch mit Palladiumkohle in Aethanollösung zum gesättigten Dihydroester $C_{22}H_{38}O_6$ (XVIII) reduzieren liess. Beide Ester enthalten noch alle Kohlenstoffatome des Mutilins, wodurch bewiesen bleibt, dass die Carbonylgruppe des Ausgangsmaterials ein Ringglied darstellen muss.

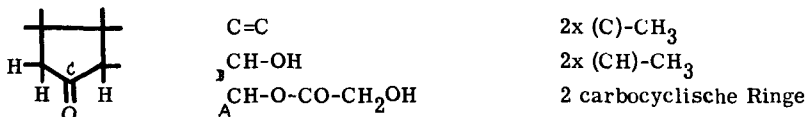
Zur Abklärung der Substitutionsverhältnisse in α' -Stellung zur Carbonylgruppe des Pleuromutilins wurde das gesättigte Dihydropleuromutilindiacetat $C_{26}H_{40}O_7$ (XIX), erhältlich durch Absättigung der Doppelbindung im bereits erwähnten Pleuromutilindiacetat (II), einer Bromierung nach C. S. Barnes et al.¹²⁾ unterworfen. Der Einbau von Brom wurde titrimetrisch verfolgt und erreichte nach fünfzehn Tagen einen konstanten Wert, welcher der Bildung eines Tribromoderivates entspricht.

Schema 3



Daraus, sowie aus den früheren Resultaten, kann man für Pleuromutilin die Partialformel B ableiten.

Partialformel B



Unabhängig von diesen Resultaten kann die Anwesenheit einer zur Carbonylgruppe α -ständigen Methingruppierung auch aus den Ergebnissen der in Kapitel D erwähnten Reaktionen abgeleitet werden. Eine indirekte chemische Bestätigung für die Grösse des die Carbonylgruppe tragenden Ringes lieferten Dehydrierungsversuche, die anschliessend besprochen werden müssen.

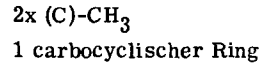
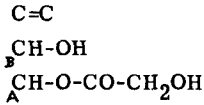
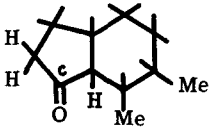
Wird Mutilin (IV) bzw. das daraus erhältliche A, B, C-Trihydroxyderivat (IX) mit Selen während längerer Zeit auf 300° erhitzt, so entsteht als einziges definierbares Produkt eine kristalline Verbindung der Zusammensetzung C₁₁H₁₂O (XX). Ihr UV-Spektrum weist Maxima bei 307 m μ (log ϵ = 3, 51), 252 m μ (log ϵ = 4, 12) und 214 m μ (log ϵ = 4, 5) auf. Die IR-Banden liegen bei 3020, 1700, 1610, 1594, 1392, 1380, 835 und 810 cm⁻¹ (Chloroform). Laut NMR-Spektrum (Signale bei δ = 2, 31 und 2, 61, je drei Wasserstoffatomen entsprechend) enthält die Verbindung zwei Methylgruppen, welche beide an einem aromatischen Kern sitzen müssen. Die Verbindung gibt ein 2, 4-Dinitrophenylhydrazon C₁₇H₁₆O₄N₄ (XXI). Auf Grund der analytischen Daten muss es sich beim Dehydrierungsprodukt (XX) um ein (ar)-Dimethylindanon-(1) handeln.

Zur näheren Abklärung der Substitutionsverhältnisse im Dehydrierungsprodukt (XX) wurde es einerseits oxydativ zur 1, 2, 3, 4-Benzoltetracarbonsäure (sog. Prehnit-säure) abgebaut, die als Tetramethylester (Y) identifiziert wurde. Andererseits reduzierte man das Indanon (XX) nach Clemmensen und identifizierte das resultierende Produkt mit dem bekannten 4, 5-Dimethylindan (W)¹³⁾ (vgl. experimenteller Teil). Für das Dehydrierungsprodukt kommen somit lediglich die zwei Strukturen (XX) und (Z) in Frage. Durch direkten Vergleich konnte die Identität mit dem bekannten 4, 5-Dimethylindanon-(1) (Z)¹³⁾ ausgeschlossen werden. Das Dehydrierungsprodukt (XX) muss daher mit dem bis anhin unbekanntem 6, 7-Dimethylindanon-(1) identisch sein. Kurz vor Abschluss der Arbeit liess sich diese Identität auch durch direkten Vergleich mit inzwischen synthetisch hergestelltem 6, 7-Dimethylindanon-(1)¹⁴⁾ bestätigen *).

Sieht man vorläufig von der Möglichkeit ab, dass die Entstehung des Dehydrierungsproduktes (XX) aus Pleuromutilin mit einer komplizierten Gerüstumlagerung gekoppelt ist, so lässt sich für Pleuromutilin auf Grund der besprochenen Ergebnisse die Partialformel C aufstellen.

*) Für die Ueberlassung einer Vergleichsprobe sei Herrn Prof. R. Granger, Montpellier, bestens gedankt.

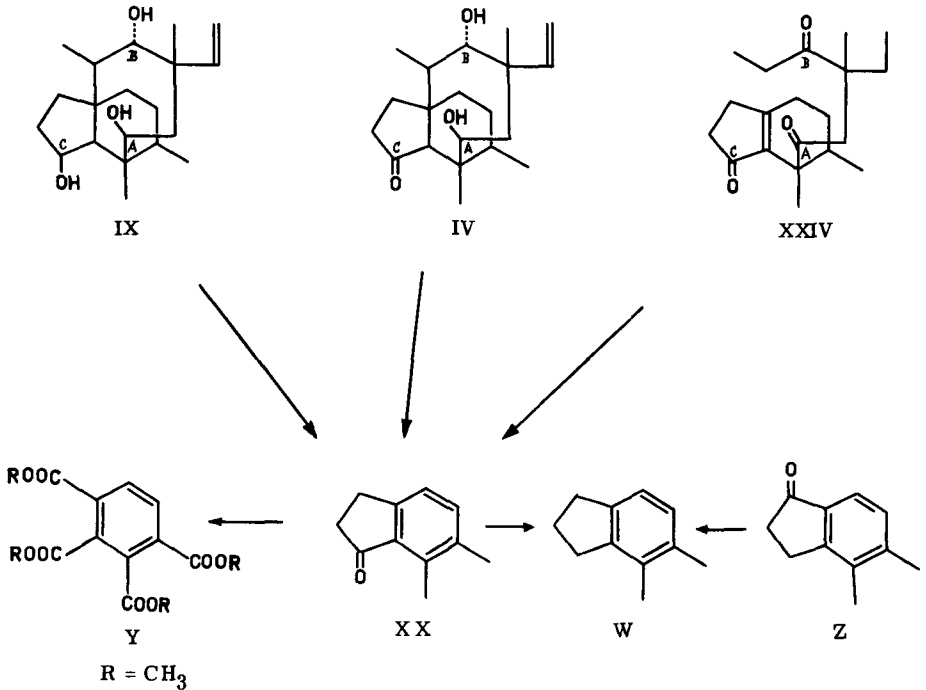
Partialformel C



Prinzipiell könnte man Zweifel hegen, ob die Carbonylgruppe des Dehydrierungsproduktes (XX) wirklich jener des Ausgangsmaterials entspricht, entsteht doch das gleiche Produkt auch durch Dehydrierung der entsprechenden A, B, C-Trihydroxyverbindung (IX), welche keine Carbonylfunktion mehr enthält. Solche Zweifel lassen sich aber auf Grund von später zu beschreibenden Versuchen beseitigen (vgl. Kapitel F). Die Erfassung des 6,7-Dimethylindanon-(1) darf daher zugunsten der ursprünglich anwesenden Cyclopentanonstruktur interpretiert werden.

Anschliessend soll noch darauf hingewiesen werden, dass im Dehydrierungsprodukt (XX) zwei von den vier im Naturprodukt vorhandenen Methylgruppen enthalten sind.

Schema 4



D) Gegenseitige Lage der Sauerstofffunktionen

Als Ausgangspunkt für diesen Teil der Untersuchungen diente die A, B, C-Trioxo-
verbindung $C_{20}H_{28}O_3$ (X), welche u. a. durch Oxydation von Mutilin (IV) erhältlich ist.
Diese Verbindung enthält immer noch die ursprüngliche isolierte Doppelbindung des
Pleuromutilins und gibt bei der katalytischen Hydrierung in Gegenwart von Palladium-
kohle das gesättigte Dihydro-A, B, C-trioxoderivat $C_{20}H_{30}O_3$ (XXII). Beide Trioxo-
verbindungen zeigen im UV-Spektrum kein ausgeprägtes Absorptionsmaximum. Aus
diesem Grund, sowie wegen des Ausbleibens einer Farbreaktion mit Eisen(III)chlorid,
kann man das Vorhandensein von enolisierten 1, 2- resp. 1, 3-Dicarbonylgruppierungen
in X und XXII ausschliessen. Aufschlussreich hinsichtlich der gegenseitigen Lage der
Sauerstofffunktionen in den Verbindungen X und XXII erwiesen sich die folgenden Ver-
suche.

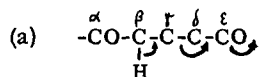
Durch Kochen mit 5-proz. methanolischer Kaliumhydroxydlösung geht das unge-
sättigte A, B, C-Trioxoderivat $C_{20}H_{28}O_3$ (X) in einen schwer zu kristallisierenden neu-
tralen Körper (XXIII) über, welcher im UV-Spektrum ein für α, β -ungesättigte Car-
bonylverbindungen charakteristisches Maximum bei 237 μ ($\log \epsilon = 4, 0$) aufweist.
Im IR-Spektrum der neuen Verbindung fehlt die Bande des gesättigten Cyclopentanon-
systems bei 1738 cm^{-1} (Chloroform). Dagegen deutet die Verstärkung der Bande um
 1695 cm^{-1} sowie das Auftreten einer kräftigen Bande bei 1650 cm^{-1} ebenfalls auf das
Vorliegen einer α, β -ungesättigten Carbonylgruppierung. Die katalytische Hydrie-
rung von Verbindung XXIII mit Palladiumkohle in Aethanollösung liefert nach Aufnahme
von einem Mol Wasserstoff eine kristalline Verbindung $C_{20}H_{30}O_3$ (XXIV), worin die
chromophore Gruppierung des Vorläufers immer noch enthalten ist. ($\lambda_{\text{Max}} = 237 \mu$ /
 $\log \epsilon = 4, 08$; IR-Banden bei 1695 und 1650 cm^{-1} in Chloroform.) Darnach dürfte der
Uebergang $X \longrightarrow XXIII$ in einer durch Alkali katalysierten Isomerisierung bestehen,
an der die isolierte Doppelbindung nicht beteiligt ist. Diese Auffassung lässt sich be-
stätigen durch das Ergebnis einer analogen alkalischen Behandlung des gesättigten Di-
hydro-A, B, C-trioxoderivates (XXII), welche ein mit XXIV identisches Produkt
lieferte.

Die bei der Isomerisierung neu entstehende Doppelbindung von XXIV ist in einer
Cyclopentenongruppierung enthalten und muss deshalb mit der ursprünglichen Sauer-
stofffunktion in C konjugiert sein. Die katalytische Hydrierung der Dihydroverbindung
XXIV mit Platinoxid in Eisessiglösung liefert nämlich, wenn auch nur in geringer
Ausbeute, ein kristallines Produkt $C_{20}H_{34}O_3$ (XXV), in dessen IR-Spektrum in Chloro-
form die Bande der konjugierten Doppelbindung bei 1650 cm^{-1} fehlt, jedoch eine für
Cyclopentanone charakteristische Bande bei 1732 cm^{-1} wieder in Erscheinung tritt.
Gleichzeitig mit der Absättigung des Cyclopentenonsystems findet dabei Reduktion
einer der beiden Carbonylfunktionen A oder B unter Ausbildung einer Hydroxylgruppe
statt (IR-Bande bei 3620 cm^{-1} in Chloroform).

Das Hauptprodukt der Hydrierung wird nach chromatographischer Reinigung als flüssige Substanz der Zusammensetzung $C_{20}H_{32}O_2$ (XXVI) erhalten. Die spektroskopischen Eigenschaften dieser Verbindung (UV-Spektrum leer, IR-Banden bei 1695 und 1648 (cm^{-1} in Chloroform) sowie die stark gelbe Färbung mit Tetranitromethan erlauben die Annahme, dass sie ihre Bildung einer reduktiven Entfernung der Carbonylgruppe im Cyclopentenonsystem verdankt, wobei die Doppelbindung dieses Systems unangegriffen bleibt^{*)}.

Im Hinblick auf eine Auswertung der beschriebenen Experimente für die Erweiterung der Partialformel von Pleuromutilin müssen folgende Tatsachen berücksichtigt werden:

- a) Der Uebergang von XXII zu XXIV, welcher von einem gesättigten tricyclischen Triketon ausgehend zu einer isomeren Tricarbonylverbindung führt, worin eine der Carbonylgruppen Teil eines α, β -ungesättigten Systems darstellt, ist nur dann verständlich, wenn einer der Ringe im Laufe der Reaktion gespalten worden ist. Offenbar muss es sich bei diesem Vorgang um eine durch Alkali eingeleitete Michaelerspaltung handeln^{**)}. Die Tricarbonylverbindung muss daher die Gruppierung (a)



enthalten.

- b) Im bicyclischen Spaltprodukt liegt, wie oben gezeigt wurde, ein Cyclopentenon vor. Daraus wird ersichtlich, dass Kohlenstoffatom α der Gruppierung (a) mit Kohlenstoffatom C des Pleuromutilins (Sitz der Cyclopentanongruppierung) identisch ist.
- c) Die Doppelbindung des Cyclopentenonsystems von XXIII und XXIV ist tetrasubstituiert. Dafür sprechen bereits die Trägheit dieser Doppelbindung gegenüber katalytisch erregtem Wasserstoff sowie die Lage des Absorptionsmaximums im UV-Spektrum ($237 m\mu / \log \epsilon = 4,08$)^{***)}. Bewiesen wird die vollständige Substitution der Doppelbindung durch das Fehlen der für Vinylprotonen charakteristischen Signale im NMR-Spektrum der Verbindung XXIV. Nimmt man an, dass die Lage dieser Doppelbindung nicht durch eine nachträgliche Isomerisierung bedingt ist, so muss C_δ einen Kohlenstoffsubstituenten und C_γ deren zwei tragen. Das NMR-Spektrum der Verbindung XXIV erlaubt ferner auszuschliessen, dass es sich bei diesen Substituenten um Methylgruppen handelt (Fehlen von scharfen Signalen bei $\delta = ca. 2$).

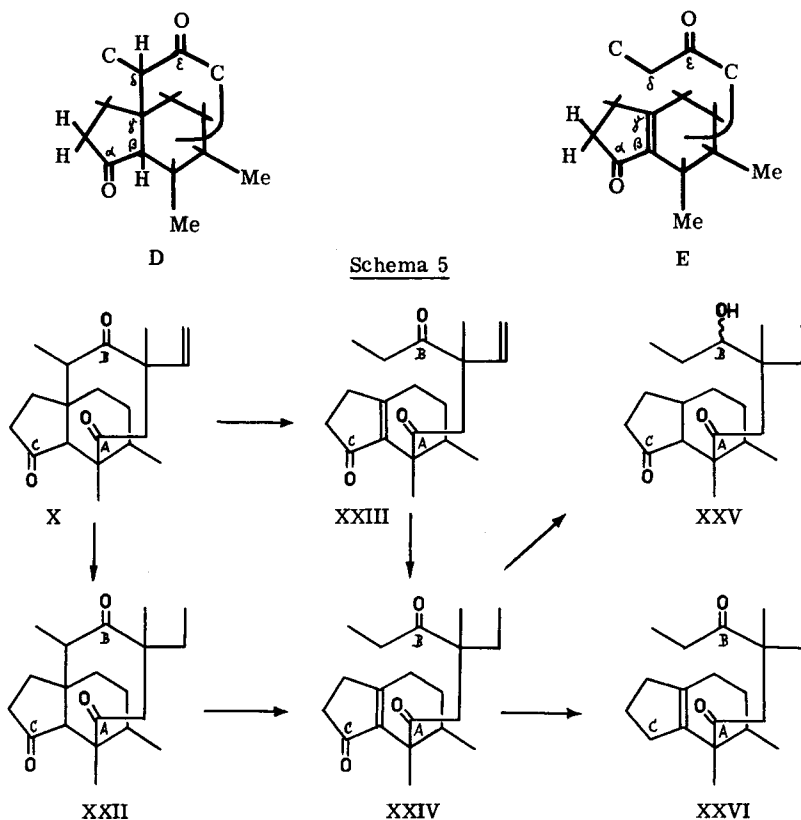
*) Für ähnliche Reaktionen α, β -ungesättigter Carbonylgruppierungen in der Triterpenreihe vgl. 15).

***) Über eine Besprechung von Michaelerspaltungen vgl. 16) und 17).

****) Beispielsweise absorbiert 2,3-Dimethylcyclopenten-(2)-on-(1) bei $235 m\mu$ ($\log \epsilon = 4,16$) 18). Für eine zusammenfassende Darstellung der UV-Spektren von Cyclopentenonen vgl. 19).

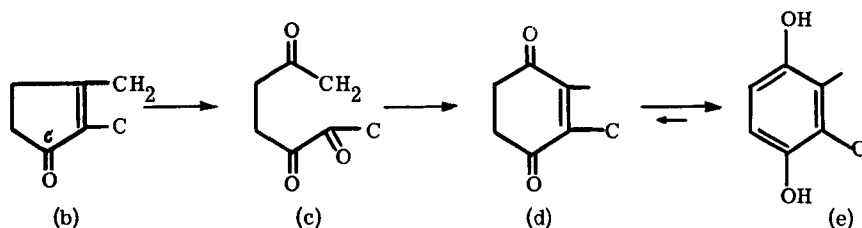
- d) Die bicyclische Secoverbindung XXIV enthält alle Kohlenstoffatome des tricyclischen Vorläufers XXII. Die Bindung $C_{\gamma}-C_{\delta}$ muss daher ursprünglich in einem Ring enthalten sein. Aus dem entsprechenden NMR-Spektrum geht klar hervor, dass die Secoverbindung XXIV kein Methylketon darstellt (Fehlen eines Signales bei $\delta = \text{ca. } 2$). C_{δ} darf daher nicht als Methylengruppe vorliegen und muss somit mindestens einen Kohlenstoffsubstituenten tragen.
- f) Die bei 300° mit Selen durchgeführte Dehydrierung der Secoverbindung XXIV liefert in ungefähr 10-proz. Ausbeute das gleiche Dimethylindanon (XX), welches durch analoge Behandlung der tricyclischen Verbindungen IV und IX erhalten wurde. Die Bindung $C_{\gamma}-C_{\delta}$ kann daher nicht im Hydrindanonsystem von Triketon X bzw. Pleuromutilin (I) enthalten sein (siehe Schema 4, Seite 16).

Diesen Anforderungen kann durch die Partialformeln D und E für das tricyclische Triketon (X) bzw. für die Secoverbindung XXIII Rechnung getragen werden (vgl. jedoch auch S. 35)



Um weitere Aufschlüsse über die Substitutionsverhältnisse des Cyclopentenon-systems zu erhalten, wurde das Dihydro-seco-A, B, C-trioxoderivat (XXIV) ozonoly-tischen Spaltversuchen unterworfen. Nebst erheblichen sauren Anteilen, die nicht wei-ter untersucht wurden, liess sich dabei ein öliger Neutralkörper (XXVII) isolieren, der im UV-Spektrum keine Absorption zeigte und dessen IR-Spektrum nur eine breite Bande bei $1700-1710\text{ cm}^{-1}$ (Chloroform) aufwies. Beim Versuch, diese Verbindung durch Chromatographie an Aluminiumoxyd zu reinigen, erhielt man ein kristallines Produkt $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_4$ (XXVIII). Diese Verbindung zeigt im UV-Spektrum ein für Phenole charakteristisches Absorptionsmaximum bei $296\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,49$). Mit der Formu-lierung eines Phenols stehen auch die im IR-Spektrum auftretenden Banden bei $3200-3400\text{ cm}^{-1}$ (Hydroxylgruppen) sowie $1622, 1600, 1504$ und 815 cm^{-1} (aromatischer Ring) in Einklang. Die Anwesenheit von Carbonylgruppen geht aus dem Auftreten einer breiten Bande bei 1675 cm^{-1} (Nujol) hervor. Die niedrige Frequenz kann nicht auf eine Konjugation der Carbonylgruppen zum aromatischen Kern zurückgeführt werden, da das UV-Spektrum keine für α, β -ungesättigte Carbonylgruppen charakteristische Bande aufweist, und scheint durch intra- oder intermolekulare Wasserstoffbrücken bedingt zu sein. Diese Wasserstoffbrücken werden bei der Acetylierung von XXVIII aufgehoben. Es entstehen dabei ein amorphes Monoacetat (XXIX) und ein amorphes Diacetat (XXX), die neben der für Enolacetate charakteristischen IR-Banden bei ungefähr 1760 und 1200 cm^{-1} (Chloroform) nunmehr eine Carbonylbande bei 1700 cm^{-1} aufweisen. Die Bildung des Phenols XXVIII, welches immer noch alle Kohlenstoffatome des Aus-gangsmaterials (XXIV) enthält, muss im Sinne der Partialformeln (b)-(e) erklärt wer-den (siehe Schema 6).

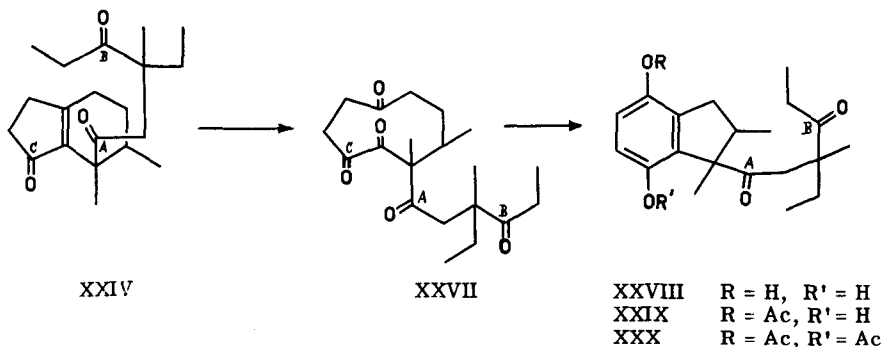
Schema 6



Das bei der Ozonisation entstehende Pentaketon (XXVII)=(c) geht an der alkalischen Aluminiumoxydoberfläche eine Kondensation ein, die zum En-dion (d) führt, wobei letzteres sofort zum Hydrochinon (e) tautomerisiert. Dieser Uebergang beweist, dass an der β -Stellung des Cyclopentenonsystems von XXIII bzw. XXIV eine Methylengruppe haften muss.

Bei der Entstehung des Phenols XXVIII wird der Sechsering von XXIV zu einem Fünfering verengert. Da im Phenol selbst die zwei noch vorhandenen Carbonylgruppen nicht in einem Fünfering liegen können (IR-Spektrum!), muss daraus geschlossen werden, dass die entsprechenden Kohlenstoffatome A und B nicht Glieder dieses Ringes darstellen. Sie müssen daher beide im dritten, bisher nicht näher untersuchten Ringe des Pleuromutilins enthalten sein. Dieser entspricht jenem Ring, der bei der alkalischen Isomerisierung gespalten wird.

Schema 7



Die besprochenen Experimente beweisen, dass eines der beiden Kohlenstoffatome A oder B in 1, 5-Stellung zum Kohlenstoffatom C des Pleuromutilins liegen muss, erlauben jedoch nicht, zwischen den beiden Möglichkeiten zu unterscheiden. Der Entscheid darüber lässt sich anhand der nachfolgenden Versuche fällen.

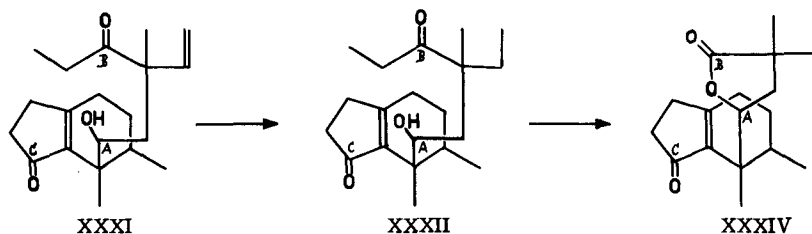
Die bereits früher beschriebene A, C-Dioxo-B-hydroxyverbindung (XV) lässt sich nach der Behandlung mit 10-proz. äthanolischer Kaliumhydroxydlösung unverändert zurückgewinnen. Diese Tatsache weist darauf hin, dass die zweite, für das Auftreten einer Michaelerspaltung verantwortliche Carbonylgruppe nicht mit Kohlenstoffatom A zusammenfallen kann. Auf den ersten Blick mag dies verwirren, wurde doch bereits früher beschrieben, dass die Behandlung von Pleuromutilon (XI), einer Verbindung, welche das B, C-Dioxosystem enthält, mit methanolischer Kaliumhydroxydlösung lediglich Verseifung der Glykolsäureestergruppierung bewirkt. Es stellt sich aber heraus, dass sowohl Pleuromutilon (XI) als auch dessen Verseifungsprodukt (XIII) unter drastischeren alkalischen Bedingungen (mehrstündiges Kochen mit 10-proz. äthanolischer Kaliumhydroxydlösung) doch eine Spaltung erfahren. Das resultierende Produkt

XXXI, das nicht in kristalliner Form erhalten werden konnte, zeigt im UV-Spektrum das erwartete Absorptionsmaximum bei 238 m μ ($\log \epsilon = 4, 1$) und weist im IR-Spektrum Banden bei 3300, 1695, 1620 und 925 cm $^{-1}$ (Chloroform) auf. Bei der katalytischen Hydrierung von XXXI wird nur die isolierte Doppelbindung abgesättigt, wobei eine ebenfalls ölige Verbindung der vermutlichen Zusammensetzung C₂₀H₃₂O₃ (XXXII) entsteht (UV: λ_{Max} = 239 m μ / $\log \epsilon = 4,0$). Zum gleichen Produkt gelangt man auch aus der A-Hydroxy-B, C-dioxoverbindung (XIII) durch Absättigung der isolierten Doppelbindung zum kristallinen Dihydroderivat XXXIII und anschliessende Isomerisierung mit 10-proz. äthanolischer Kaliumhydroxydlösung. Daraus geht klar hervor, dass das Auftreten der Michaelspaltung die Anwesenheit einer Carbonylgruppe in B voraussetzt^{*)}.

Die weitere Bearbeitung der Secoverbindung XXXII erlaubte auf eine unerwartete Weise, die genaue Beziehung zwischen den Kohlenstoffatomen A und B festzulegen. Die Verbindung XXXII sollte sich von der früher beschriebenen Dihydro-seco-A, B, C-trioxoverbindung (XXIV) lediglich in der Oxydationsstufe des Kohlenstoffatoms A unterscheiden. Es war daher naheliegend, die beiden Produkte experimentell zu verknüpfen, umso mehr als XXXII bisher nur spektroskopisch charakterisiert worden war. Oxydation dieser Verbindung bei Zimmertemperatur mit Chrom(VI)oxyd in Essigsäure führt überraschenderweise nicht zum erwarteten Secotriketon XXIV, sondern zu einer neuen kristallinen Verbindung (XXXIV), für welche die Zusammensetzung C₁₈H₂₆O₃ gesichert werden konnte. Die Gültigkeit dieser Bruttoformel folgt aus zahlreichen Verbrennungsanalysen, aus einer genauen Auszählung der vorhandenen Wasserstoffatome im NMR-Spektrum (gef. 25, 6 \pm 0, 7 H) sowie schliesslich aus einer massenspektrometrischen Bestimmung des Molekulargewichtes.

Die drei Sauerstofffunktionen der C₁₈-Verbindung verteilen sich auf eine Cyclopentenon-(UV-Absorptionsmaximum bei 237 m μ / $\log \epsilon = 4, 1$; IR-Banden bei 1693 und 1633 cm $^{-1}$ in Nujol) und eine γ -Lactongruppierung (IR-Bande bei 1760 cm $^{-1}$ in Nujol)^{**)}.

Schema 8



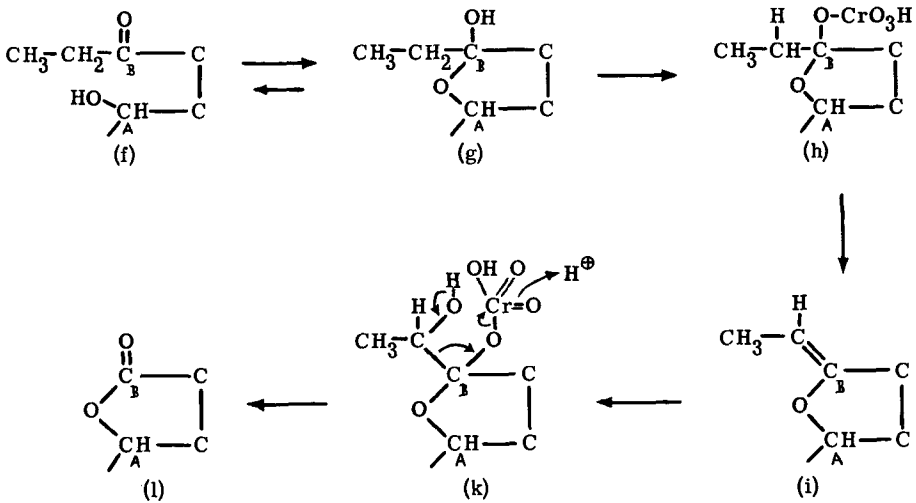
*) Die alkalische Isomerisierung der A-Hydroxyverbindungen XIII und XXXIII zu den entsprechenden Cyclopentenonen ist auch in anderem Zusammenhang von Bedeutung; sie erlaubt nämlich auszuschliessen, dass der Spaltungsvorgang der A, B, C-Trioxoverbindung (X) durch die Beteiligung einer dritten Carbonylfunktion kompliziert worden ist.

***) Für eine unabhängige eindeutige Bestimmung der Grösse des Lactonringes vgl. Seite 36.

Die Anwesenheit einer Lactongruppierung wurde chemisch durch Verseifung mit 10-proz. methanolischer Kaliumhydroxydlösung kontrolliert. Nach dem Ansäuern des alkalischen Auszuges erhielt man eine amorphe Hydroxysäure, welche bei der Chromatographie an saurem Silicagel spontan unter Bildung des Ausgangsmaterials (XXXIV) lactonisierte.

Auf Grund ihrer Entstehung aus der Dihydro-A-hydroxy-B, C-dioxyverbindung (XXXIII) entspricht die Carbonylgruppe des Lactonringes dem Kohlenstoffatom B des Pleuromutilins, während die maskierte Hydroxylgruppe von XXXIV am Kohlenstoffatom A haften muss. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass beim Uebergang XXXII \longrightarrow XXXIV zwei Kohlenstoffatome abgespalten werden, muss angenommen werden, dass das zur Oxydation gelangende Material in der Cyclohemiketalform (g) vorliegt oder in einer solchen bevorzugt reagiert. Der Oxydationsvorgang lässt sich dann im Sinne der Formeln (f)-(l) darstellen.

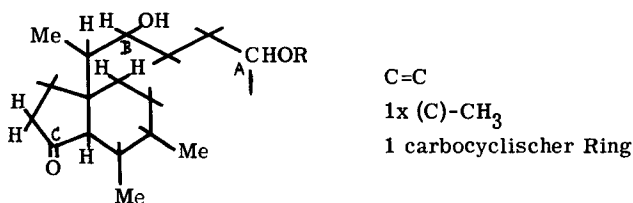
Schema 9



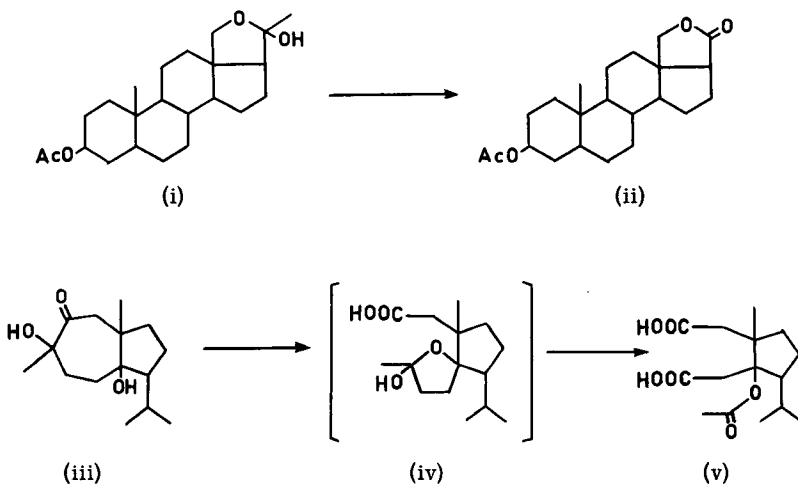
Aehnliche Vorgänge sind in letzter Zeit wiederholt von verschiedenen Autoren beobachtet worden^{*)}.

Die Erfassung des C₁₈-Lactons (XXXIV) ist beweisend für die 1, 4-Lage der Kohlenstoffatome A und B im Pleuromutilin. Die damit gekoppelte Abspaltung eines C₂-Bruchstückes (wohl in Form von Essigsäure) zeigt, dass die Produkte der Michaelspaltung Aethylketone darstellen, somit aber auch, dass in α -Stellung zu Kohlenstoffatom B in den tricyclischen Verbindungen eine sekundär gebundene Methylgruppe vorliegt. Eine zusätzliche Bestätigung für den Verlust eines C₂-Bruchstückes beim beschriebenen Oxydationsvorgang liefert die Auswertung des NMR-Spektrums von Verbindung XXXIV, welche eine Methylgruppe weniger ergibt als bei den Kurven ihrer C₂₀-Vorläufer. Die Partialformel von Pleuromutilin kann jetzt zu F erweitert werden.

Partialformel F



*) Beispielsweise seien hier der durch Chrom(VI)oxyd hervorgerufene Uebergang von (i) in (ii)²⁰ und die über (iv) verlaufende Bildung des Acetates (!) (v)²¹ bei der Oxydation des Carotolderivates (iii) erwähnt.



E) Lage der Doppelbindung

Bereits in Kapitel B wurde darauf hingewiesen, dass die Anwesenheit von IR-Banden bei 3100, 1630 und 934 cm^{-1} (Chloroform) in verschiedenen Derivaten des Pleuromutilins bzw. Mutilins (IV) das Vorliegen einer Vinylidengruppierung wahrscheinlich machen. Eine erste Bestätigung dieser Annahme liefert die Untersuchung der entsprechenden NMR-Spektren. Alle Verbindungen, die die ursprüngliche Doppelbindung enthalten, zeigen ein Quadruplett bei $\delta = \text{ca. } 6,5$ (1 Wasserstoffatom) sowie ein Multiplett bei $\delta = \text{ca. } 5,3$ (2 Wasserstoffatome), entsprechend dem degenerierten ABX-System der drei Protonen an der Vinylidengruppierung. Diese Signale fehlen in den NMR-Spektren der entsprechenden Dihydroverbindungen, welche alle, wie aus den Integrationskurven hervorgeht, eine (wohl primär gebundene) zusätzliche Methylgruppe besitzen.

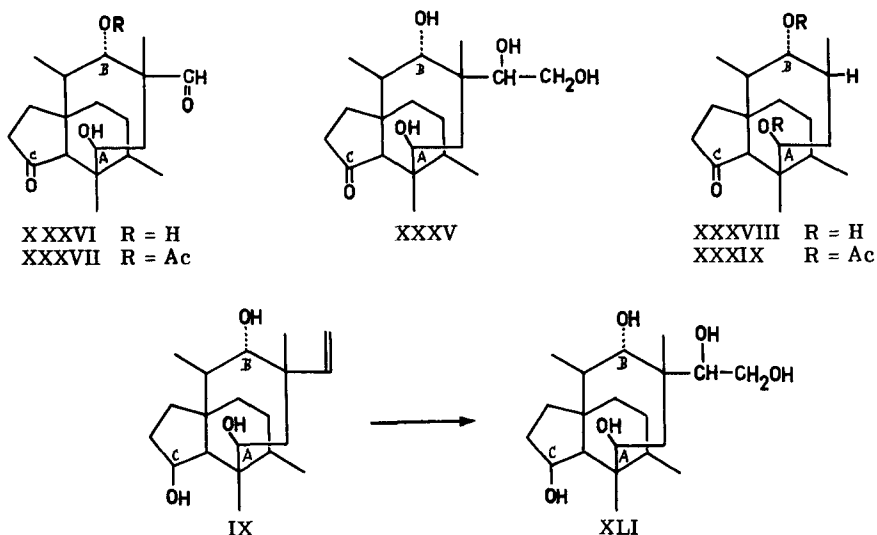
In diesem Kapitel werden Experimente besprochen, die sowohl für die Substitution wie auch für die Lage dieser Doppelbindung im Mutilingerüst beweisend sind. Dabei ist es gleichzeitig gelungen, eine weitere Einschränkung der für Pleuromutilin in Frage kommenden Formeln zu erzielen.

Wird Mutilin (IV) mit Osmium(VIII)oxyd in Pyridinlösung behandelt und der entstehende Osmiumester bei Zimmertemperatur mit Natriumhydrogensulfit zersetzt^{*)}, so entsteht in vorzüglicher Ausbeute ein amorphes Produkt, das zur Hauptsache aus dem gewünschten Glykol (XXXV) bestehen dürfte. Spaltung desselben mit Blei(IV)-acetat in Eisessiglösung führt zu einer kristallinen Norverbindung $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_4$ (XXXVI), in welcher die neuentstandene Carbonylgruppe als Aldehyd vorliegt (IR-Bande bei 2740 cm^{-1} und NMR-Signal bei $\delta = 9,74$) (vgl. Fig. 2). Dasselbe Produkt ist auch durch Behandlung von Mutilin mit Ozon in Aethylacetatlösung und reduktive Aufarbeitung des gebildeten Ozonids mit Wasserstoff und Palladiumkohle als Katalysator erhältlich. Zur weiteren Charakterisierung wurde der Noraldehyd XXXVI in ein entsprechendes Monoacetat $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_5$ (XXXVII) (wohl das B-Acetoxyderivat) übergeführt. Bei der Bearbeitung des Osmiumesters aus Mutilin wurde in orientierenden Versuchen über die Möglichkeit einer Umesterung mit Mannit festgestellt, dass das Edukt unter alkalischen Bedingungen eine komplexe Umwandlung erleidet. Ähnliches trifft zu für die Behandlung des entsprechenden Glykols (XXXV) mit wässriger Natriumhydroxydlösung in einem Gemisch von Aethanol-Benzol. Als gemeinsames Hauptprodukt der beiden Reaktionen lässt sich eine neutrale Verbindung isolieren, deren Zusammensetzung zu $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_3$ ermittelt wurde. Diese neue Verbindung (XXXVIII) verbraucht kein Blei(IV)acetat mehr. Ihre drei Sauerstofffunktionen verteilen sich auf eine Cyclopentanongruppierung (IR-Bande bei 1733 cm^{-1} in Chloroform) sowie zwei Hydroxyl-

^{*)} Zur Methodik der Zersetzung vgl. 22).

gruppen (IR-Bande bei 3650 cm^{-1} in Chloroform), die unter Bildung eines Diacetats $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_5$ (XXXIX) bei Zimmertemperatur verestert werden können. Aus diesem Diacetat lässt sich ein Oxim $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{O}_5\text{N}$ (XL) herstellen. Da die Verbindung nach wie vor ein tricyclisches Gerüst besitzt, muss sie ihre Bildung einer durch Alkali katalysierten Abspaltung der C_2 -Glykolseitenkette (entsprechend der Vinylgruppe von Mutilin) verdanken. Eine solche Abspaltung kann nur als Desaldolisierung formuliert werden und ist somit von der Anwesenheit einer Carbonylfunktion in β -Stellung zur Glykolseitenkette abhängig^{*)} (vgl. Schema 11, Seite 27). Die Notwendigkeit der Carbonylfunktion für das Eintreten der Desaldolisierung kann leicht überprüft werden. Die Hydroxylierung der A, B, C-Trihydroxyverbindung (IX) liefert ein amorphes Pentol (XLI), welches sowohl vor wie auch nach der Behandlung mit Alkalien bei der Titration mit Blei(IV)acetat ein Mol Reagens verbraucht. Es lässt sich jedoch ausschliessen, dass die im Mutilin (IV) vorhandene Carbonylgruppe unmittelbar für den von der Desaldolisierungsreaktion verlangten Elektronensog verantwortlich ist. Wäre dies der Fall, dann sollten die Glykolgruppierung von XXXV bzw. die Vinylgruppe von Mutilin (IV) in α -Stellung zum Keton in C haften, was durch die gesicherte Partialformel F (Seite 24)

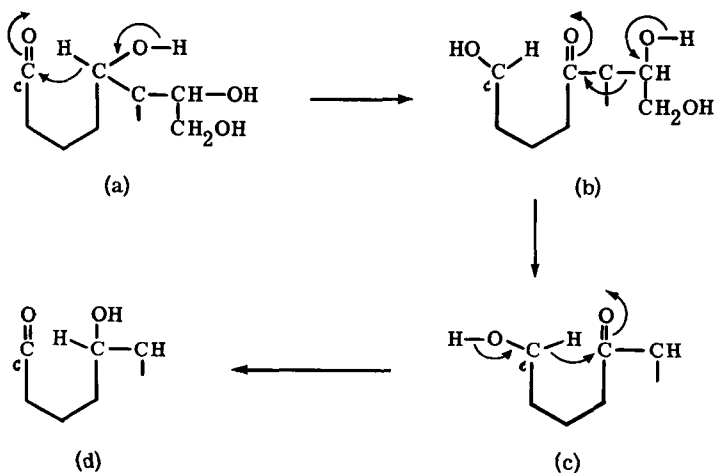
Schema 10



*) Als kleines Bruchstück dieser Desaldolisierung sollte Glykolaldehyd auftreten. Versuche zu dessen Isolierung schlugen fehl. Es kann indessen gezeigt werden, dass authentischer Glykolaldehyd unter den angewandten Reaktionsbedingungen unbeständig ist und quantitativ zerstört wird. Dazu vgl. auch 23).

ausgeschlossen wird^{*)}. Dieser scheinbare Widerspruch lässt sich mühelos beseitigen, wenn man annimmt, dass die in Stellung C vorhandene Carbonylgruppe die intermediäre Bildung einer neuen Carbonylgruppe in A oder B vermittelt, welche dann für die Desaldolisierung benützt werden kann. Vor der Desaldolisierung muss somit ein Oxido-Reduktionsvorgang eingeschaltet werden. Die Beschaffenheit des Produktes verlangt zusätzlich, dass nach erfolgter Abspaltung der Glykolseitenkette ein ähnlicher Vorgang in der umgekehrten Richtung erfolgt, woraus in Stellung C eine Carbonylgruppe regeneriert wird. Der Uebergang lässt sich somit in die Teilvorgänge (a) - (d) zerlegen (siehe Schema 11).

Schema 11



Die Reversibilität der Oxido-Reduktion sowie die Leichtigkeit, mit der sie unter recht milden Bedingungen erfolgt, sprechen dafür, dass es sich dabei um eine intramoleku-

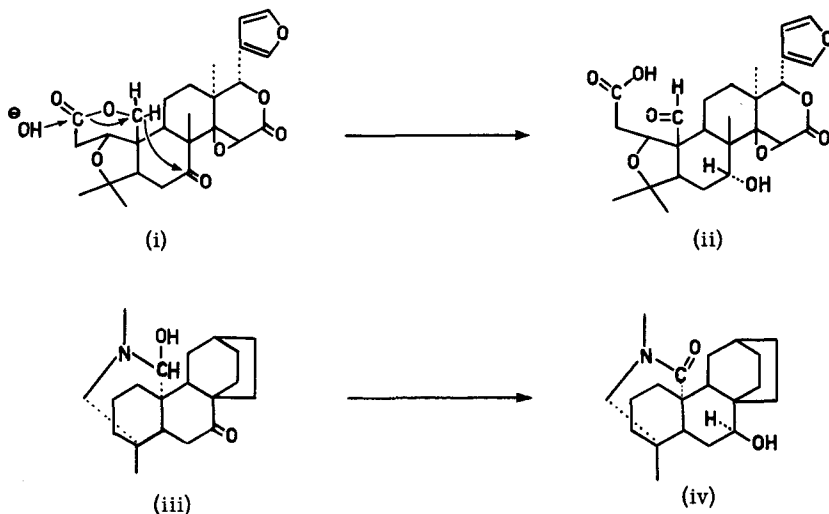
^{*)} Als weiteres Argument gegen die β, γ -Lage der Doppelbindung zur Ketogruppe von Pleuromutilin lässt sich anführen, dass unter alkalischen Bedingungen leichte Isomerisierung zum α, β -ungesättigten Keton stattfinden sollte, trägt doch die α -Stellung mindestens ein Wasserstoffatom. Zudem sollten die nicht hydrierten Produkte der Michaelsplaltung gekreuzt konjugierte Dienone darstellen, was u.a. durch die spektroskopischen Befunde ausgeschlossen werden kann.

lare Hydridverschiebung handelt ^{*)}.

Um die Gültigkeit der dargelegten Interpretation zu bestätigen und gleichzeitig die Haftstelle der Vinylgruppe im Gerüst des Pleuromutilins festzulegen, galt es zunächst, zwei Verbindungen herzustellen, welche nur in Stellung A oder B eine Carboxylgruppe enthalten. Dieses Problem wurde in folgender Weise gelöst:

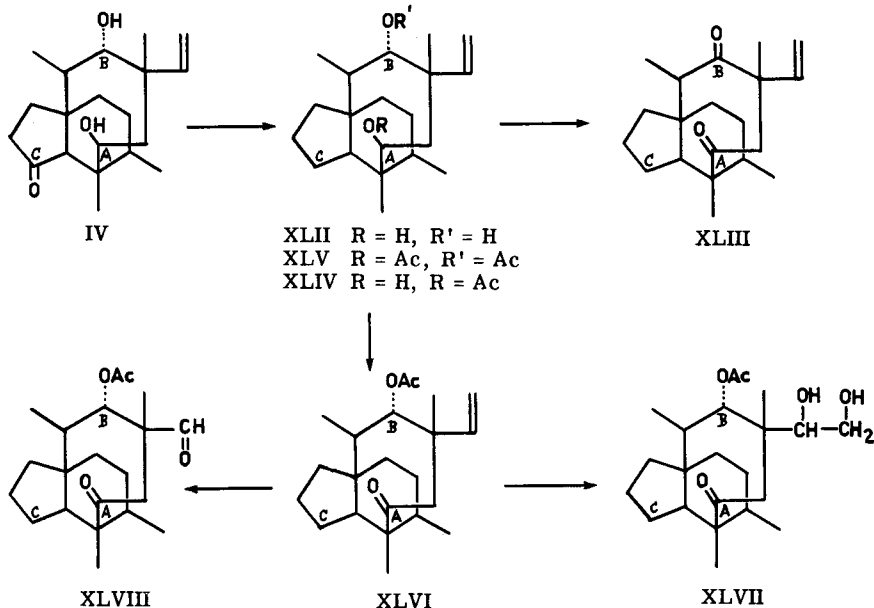
Reduktion von Mutilin (IV) nach der Huang-Minlon-Modifikation der Wolff-Kishner-Methode unter Einhaltung von Bedingungen, die im experimentellen Teil näher beschrieben sind, liefert eine kristalline Verbindung $C_{20}H_{34}O_2$, welche auf Grund ihrer Entstehung ein A, B-Dihydroxyderivat (XLII) darstellen dürfte. Oxydation von XLII mit Chrom(VI)oxyd in Essigsäurelösung bei Zimmertemperatur gibt ein kristallines Diketone $C_{20}H_{30}O_2$ (XLIII). Dieses weist im IR-Spektrum eine Doppelbande bei 1700 und 1705 cm^{-1} (Nujol) auf, wodurch die Anwesenheit von Sauerstofffunktionen im Fünfering ausgeschlossen wird ^{**)}. Acetylierung des A, B-Dihydroxyderivats (XLII) liefert im

^{*)} Aehnliche intramolekulare Hydridverschiebungen sind in den letzten Jahren von anderen Autoren beschrieben worden. So entsteht z. B. aus 1-Hydroxy-8-methylhydrindanon-(5) bei der Chromatographie an Aluminiumoxyd 5-Hydroxy-8-methylhydrindanon-(1)²⁴⁾. Vgl. ferner die durch Bariumhydroxyd katalysierte Bildung des Aldehyds (ii) aus Limonin (i)²⁵⁾ sowie den in alkalischem Milieu stattfindenden Uebergang des Carbinolamins (iii) der Ajaconinreihe in das entsprechende Lactam (iv)²⁶⁾.



^{**)} Diese Ueberprüfung ist notwendig, da es ohne weiteres denkbar ist, dass auch der Wolff-Kishner-Reaktion ein Oxido-Reduktionsvorgang vorausgeht, der eine Verwechslung der Lage der Hydroxylgruppen im Reduktionsprodukt XLII mit sich bringen würde.

Schema 12



Verhältnis 2:1 ein Monoacetat $C_{22}H_{36}O_3$ (XLIV) sowie ein Diacetat $C_{24}H_{38}O_4$ (XLV). Verbindung XLIV, worin die Acetatgruppe am Kohlenstoffatom B sitzen dürfte, wird durch Chrom(VI)oxyd in Essigsäure bei Zimmertemperatur zum A-Oxo-B-acetoxyderivat $C_{22}H_{34}O_3$ (XLVI) oxydiert. Die Verbindung XLVI zeigt im IR-Spektrum nebst der Acetatbande bei 1729 cm^{-1} eine weitere Carbonylbande bei 1695 cm^{-1} (Chloroform). Die Ketogruppe von XLVI macht sich in der Rotationsdispersionskurve durch einen positiven Cottoneffekt mit $[\text{M}]_{315\text{m}\mu} = +1590^{\circ}$ bemerkbar. Der Vergleich dieser Rotationsdispersionskurve mit derjenigen einer später zu beschreibenden B-Oxoverbindung L bestätigt, dass die Carbonylgruppe von XLVI in Stellung A sitzen muss^{*)}.

Hydroxylierung von XLVI mit Osmium(VIII)oxyd liefert ein kristallines Glykol $C_{22}H_{36}O_5$ (XLVII), welches durch Blei(IV)acetat zum entsprechenden Noraldehyd $C_{21}H_{32}O_4$ (XLVIII) (IR-Bande in Nujol bei 2710 cm^{-1}) abgebaut wird. Das Glykol XLVII erweist sich Alkalien gegenüber als beständig. Daraus kann indirekt gefolgert werden, dass die für die Abspaltung der Glykolseitenkette notwendige Carbonylgruppe sich in Stellung B befinden muss.

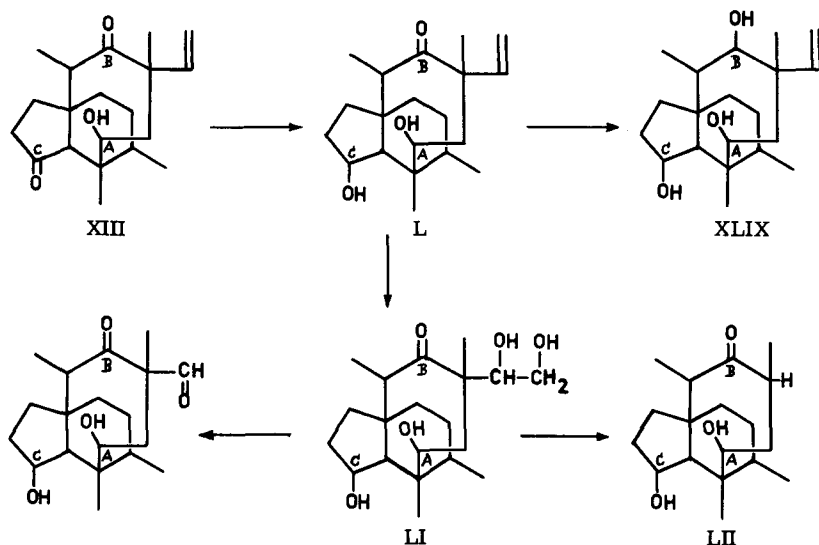
Ein direkter Beweis dafür kann auf folgendem Wege erbracht werden: Reduktion der A-Hydroxy-B, C-dioxoverbindung (XIII) (aus der Verseifung von Pleuromutilon (XI) mit Natriumborhydrid in siedender Dioxanlösung liefert neben kleinen Mengen

*) Die Tatsache, dass XLVI überhaupt einen Cottoneffekt ergibt, zeigt erneut, dass Kohlenstoffatom A von Pleuromutilin ein Ringglied darstellen muss.

eines Trihydroxyderivates $C_{20}H_{34}O_3$ (XLIX) als Hauptprodukt ein Ketodiol $C_{20}H_{32}O_3$ (L), welches im IR-Spektrum eine Carbonylbande bei 1690 cm^{-1} (Nujol) aufweist. Auf Grund der Herstellungsweise sowie der spektroskopischen Daten muss L eine A, C-Dihydroxy-B-oxoverbindung darstellen. Die Carbonylgruppe dieser Verbindung verursacht einen negativen Cottoneffekt mit $[M]_{326\text{ m}\mu} = -10700^{\circ}$. Weitere Reduktion von L mit Lithiumaluminiumhydrid liefert erwartungsgemäss das soeben beschriebene Trihydroxyderivat (XLIX).

Hydroxylierung von L mit Osmium(VIII)oxyd ergibt ein amorphes Glykol (LI), das bei der Titration mit Blei(IV)acetat ein Mol Reagens verbraucht^{*)}. Alkalische Behandlung des amorphen Glykols LI führt, wie erwartet, unter Verlust der Glykolseitenkette zu einer bis-nor-Verbindung $C_{18}H_{30}O_3$ (LII) (IR-Banden in Nujol bei 3630 und 3560 cm^{-1} für die Hydroxylgruppen sowie bei 1690 cm^{-1} für die Carbonylgruppe). Dadurch ist bewiesen, dass die Abspaltung der Glykolseitenkette von der Anwesenheit einer Carbonylgruppe in Stellung B des Pleuromutilingerüsts abhängig ist.

Schema 13



Im Lichte des früher postulierten Oxido-Reduktionsvorganges mag die Stabilität der Verbindung LII, worin die Carbonylgruppe immer noch in Stellung B sitzt, auf den ersten Blick recht störend erscheinen, denn diese Verbindung stellt konstitutionsmässig jenes Zwischenprodukt dar, welches auf Seite 28 für die Bildung der C-

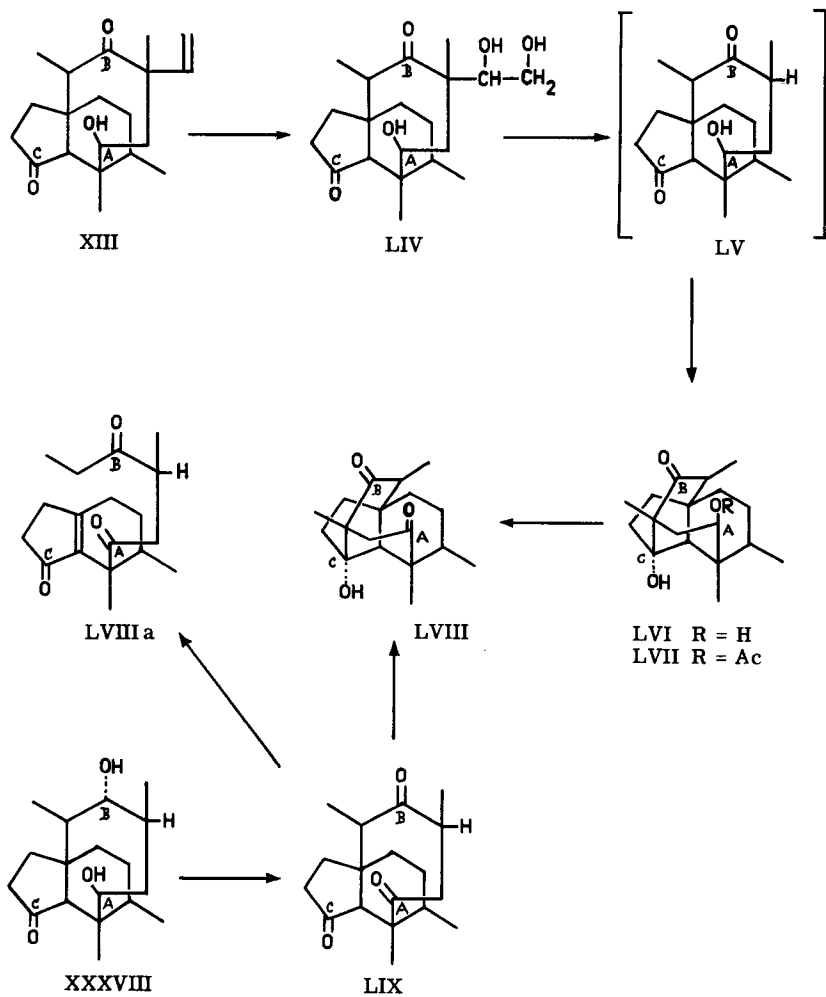
*) Im IR-Spektrum des nicht analysierten amorphen Spaltproduktes tritt die erwartete Bande bei 2770 cm^{-1} (Nujol) auf.

Oxoverbindung XXXVIII verantwortlich gemacht wurde. Das Ausbleiben einer Oxidoreduktion, welche von LII ausgehend zu XXXVIII führen würde, ist aber erklärlich, falls die Konfiguration der Hydroxylgruppe in C bei Verbindung LII nicht den von einem intramolekularen Vorgang gestellten Anforderungen entspricht. Folgende Ueberlegungen zeigen, dass das Vorliegen einer solchen "falschen" Konfiguration in Stellung C bei Verbindung LII durchaus verständlich ist. Die Verschiebung eines Hydridions von B nach C und umgekehrt wird zweifellos durch die geeignete sterische Anordnung der entsprechenden Kohlenstoffatome im Gerüst des Pleuromutilins begünstigt (vgl. Schema 11, Seite 27) und bewirkt daher eine Reduktion der jeweils in Frage kommenden Carbonylgruppe von der konkaven Seite des Moleküls her. Andererseits ist zu erwarten, dass der von aussen stattfindende Angriff der Carbonylgruppe in B oder C durch Metallhydride aus sterischen Gründen von der konvexen Seite des Moleküls erfolgt und somit zur Ausbildung von Hydroxylgruppen mit "falscher" Konfiguration führt. Diese Folgerung lässt sich mindestens für Kohlenstoffatom B nachprüfen. Die von Natriumborhydrid bzw. Lithiumaluminiumhydrid bewirkte Reduktion von L sollte zu einer Trihydroxyverbindung führen, in der die an B haftende Hydroxylgruppe die "falsche", epi-, Konfiguration besitzt. Dieses Produkt (XLIX) ist in der Tat verschieden von der Trihydroxyverbindung IX (vgl. Seite 10), welche durch analoge Reduktion von Mutilin (IV) erhältlich ist und am Kohlenstoffatom B die "natürliche" Konfiguration der Hydroxylgruppe aufweist.

Anschliessend soll noch auf eine weitere Reaktion der beschriebenen bis-nor-Verbindungen aufmerksam gemacht werden. Hydroxylierung der A-Hydroxy-B, C-dioxoverbindung (XIII) mit Osmium(VIII)oxyd in Pyridinlösung liefert ein mit Blei(IV)-acetat spaltbares, amorphes Glykol (LIV). Behandlung dieses Glykols mit Alkalien führt nicht zur erwarteten tricyclischen bis-nor-A-Hydroxy-B, C-dioxoverbindung (LV), sondern zu einem kristallinen Isomeren $C_{18}H_{28}O_3$ (LVI), welches nebst Carbonylgruppe B (IR-Bande in Nujol bei 1707 cm^{-1}) eine sekundäre sowie eine tertiäre Hydroxylgruppe enthält. Acetylierung des Isomeren liefert ein Monoacetat $C_{20}H_{30}O_4$ (LVII) und Oxydation mit Chrom(VI)oxyd in Essigsäure eine Verbindung $C_{18}H_{26}O_3$ (LVIII), welche immer noch eine Hydroxylgruppe enthält (IR-Banden in Nujol bei 3580 und 1700 cm^{-1}). Das Fehlen einer Fünfferringcarbonylgruppe sowie die Anwesenheit einer tertiären Hydroxylgruppe in LVIII lassen sich durch die Annahme erklären, dass die Verbindung ihre Entstehung einer Aldolisierung des intermediär gebildeten Diketons LV verdankt. Dies liess sich durch eine stufenweise Herstellung des Aldols LVIII aus der früher beschriebenen Bis-nor-A, B-Dihydroxy-C-dioxoverbindung XXXVIII beweisen. Oxydation derselben mit Chrom(VI)oxyd in Essigsäure liefert die ölige Tricarbonylverbindung LIX (IR-Banden in Chloroform bei 1735 und 1690 cm^{-1}). Behandlung dieser Tricarbonylverbindung mit Alkali führt unter Aldolisierung zum erwarteten Produkt LVIII. Die Aldole LVI und LVIII stellen demnach tetracyclische Verbindungen dar, in denen die Kohlenstoffatome A und B in einem sechs- oder höhegliedrigen Ring vorliegen. Die Bildung solcher Produkte lässt eine zusätzliche Einschränkung der für Pleuromutilin in Frage kommenden Formeln zu.

Es soll in diesem Zusammenhang nicht verschwiegen werden, dass Aldol LVI in geringer Ausbeute auch bei der alkalischen Behandlung des amorphen Glykols XXXV

Schema 14



(aus Mutilin) erhalten werden kann. Das Rohprodukt der Hydroxylierung von Mutilin muss daher eine bestimmte Menge der Verbindung XIII enthalten, welche durch eine von Osmium(VIII)oxyd vermittelte Oxydation der Hydroxylgruppe in B entstanden ist*).

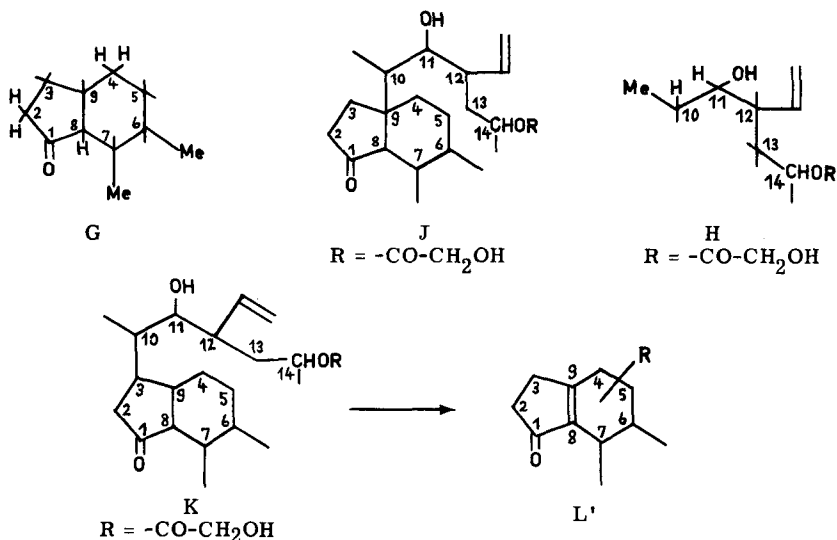
Zuletzt wäre noch die Frage zu beantworten, warum die Verbindung LIX, in der ein B, C-Dioxosystem enthalten ist, bevorzugt eine Aldolisierung eingeht, anstatt in Analogie zur ähnlich gebauten Verbindung X durch Michaelerspaltung eine Secoverbindung zu liefern. Eine solche Erscheinung ist verständlich, wenn das in Frage kommende, zu B benachbarte Kohlenstoffatom in XIII tetrasubstituiert ist. Die bis-nor-Verbindung LV, in der die Vinylgruppe von XIII durch ein Wasserstoffatom ersetzt worden ist, wäre dann zur Bildung des Anions befähigt, von welchem die Aldolisierung LV \longrightarrow LVI ausgehen muss. Kompetitiv zur Bildung eines Aldols tritt aber in der Tat auch die erwartete Spaltung ein. Die Mutterlaugen des Aldols LVIII (aus LIX) weisen nämlich im UV-Spektrum das für die Secoverbindungen charakteristische Absorptionsmaximum bei 237 m μ ($\log \epsilon = 3,19$) auf.

*) Die Oxydierbarkeit sekundärer Hydroxylgruppen mit Osmium(VIII)-oxyd scheint eine allgemeine Erscheinung zu sein, der bisher nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt wurde. Unveröffentlichte Versuche von L. Guglielmetti in diesem Laboratorium haben z. B. gezeigt, dass bei der Hydroxylierung von Betulinsäuremethylester mit Osmium(VIII)oxyd erhebliche Anteile des entsprechenden 3-Oxoderivates entstehen.

F) Ableitung der möglichen Strukturformeln für Pleuromutilin

Auf Grund der in früheren Kapiteln beschriebenen Experimente konnte gezeigt werden, dass im Pleuromutilin die zwei Strukturelemente G und H enthalten sind, welche insgesamt 21 der 22 Kohlenstoffatome, darunter drei Methylgruppen, umfassen. Da Pleuromutilin vier Methylgruppen enthält, muss das fehlende Kohlenstoffatom eine Methylgruppe darstellen, deren Lage bisher nicht ermittelt wurde. Zur Vervollständigung der Strukturformel von Pleuromutilin müssen zusätzlich die beiden Fragmente unter Bildung eines dritten carbocyclischen Ringes verknüpft werden. Um die nachfolgende Diskussion zu erleichtern, soll in der Folge die in G und H vorgeschlagene Numerierung angewandt werden.

Schema 15



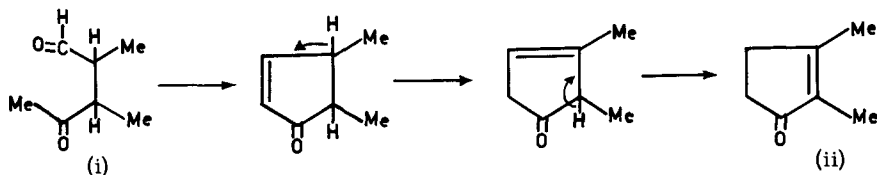
Bereits früher wurde abgeleitet, dass C-10 derart mit dem Hydrindanonensystem verknüpft ist, dass die Kohlenstoffatome 1 und 11 in 1, 5-Stellung zueinander angeordnet sind. Die Anwesenheit einer 8, 9-Doppelbindung in den Produkten der Michaelspaltung wurde so interpretiert, dass sich die Bindung zwischen C-9 und C-10 erstreckt. Es soll hier jedoch betont werden, dass eine solche Ableitung nicht ohne weiteres stichhaltig zu sein braucht. Eine Formel vom Typus K, worin C-10 mit C-3 verknüpft ist, könnte ebenfalls zur Deutung der Entstehung von $\Delta^8(9)$ -Secoverbindungen bei der Michaelspaltung von 1, 11-Dioxoderivaten herangezogen werden. Die

bei der Spaltung primär entstehende $\Delta 2(3)$ -ungesättigte Verbindung dürfte nämlich unter den alkalischen Reaktionsbedingungen leicht über das $\Delta 3(9)$ -ungesättigte Isomere zu L' isomerisiert werden, falls Stellung 9 des Gerüsts ein Wasserstoffatom trägt *). Weitere Experimente, die in diesem Laboratorium von P. Bollinger durchgeführt worden sind, erlauben indessen, einen eindeutigen Entscheid zugunsten der bereits früher bevorzugten Partialformel F (Seite 24) zu fällen. Ein unabhängiger spektroskopischer Hinweis für die Gültigkeit dieser Partialformel soll in Kapitel G Erwähnung finden (vgl. Seite 45).

Zur Schliessung des dritten Ringes kann das in der Partialformel J fehlende Kohlenstoffatom nicht herangezogen werden, da es sich dabei um eine Methylgruppe handelt. Da andererseits C-14 (d. h. jenes Kohlenstoffatom, an dem die Glykolsäure-estergruppierung haftet) ein Ringglied darstellt (vgl. Seite 29), muss die noch fehlende Bindung von diesem Kohlenstoffatom ausgehen. Als anderes Ende dieser Ringbindung kommen nur noch C-5, C-6 und C-7 in Betracht. Ohne die genaue Haftstelle von C-14 zu kennen, kann man unter diesen Voraussetzungen zeigen, dass die vierte, bisher nicht erfasste Methylgruppe an C-12 sitzen muss. Dafür sind folgende Beobachtungen massgebend:

a) Bei der massenspektrometrischen Untersuchung des Dihydro-seco-A, B, C-trioxo-derivates (XXIV) erhält man zwei Fragmente mit den Massen 163 ($C_{11}H_{15}O^+$) und 155 ($C_9H_{15}O_2^+$), deren Summe dem Molekulargewicht der Verbindung entspricht **). Unter gleichen Bedingungen liefert das C_{18} -Lacton (XXXIV) nebst dem Molekülion (mit Masse 290) zwei Fragmente der Massen 163 ($C_{11}H_{15}O^+$) und 127 ($C_7H_{11}O_2^+$). Das den beiden Verbindungen XXIV und XXXIV gemeinsame Fragment M unterscheidet sich nur durch den Mehrgehalt von drei Wasserstoffatomen vom Dehydrierungsprodukt $C_{11}H_{12}O$ (XX), welches u. a. aus dem Dihydro-seco-A, B, C-trioxoderivat (XXIV) erhalten wurde. Folglich wird bei der Bildung des Dehydrierungsproduktes (XX) aus XXIV eine einzige C-C-Bindung gespalten. Die bisher nicht erfasste Methylgruppe darf also nicht am Hydrindanonsystem haften und muss in der Umgebung

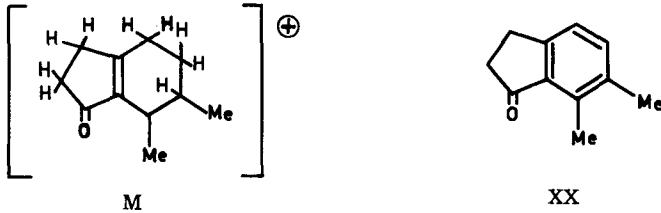
*) Vgl. z. B. die Bildung von (ii) aus (i)¹⁸⁾.



***) Die Spaltung von XXIV in die beiden Bruchstücke tritt derart leicht ein, dass bei Aufnahme des Spektrums auch bei niedriger Spannung kein Signal für das molekulare Ion wahrgenommen wird.

der Kohlenstoffatome 11 - 14 lokalisiert werden^{*)}.

Schema 16



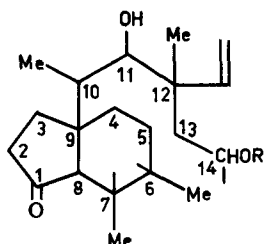
- b) Die bereits erfolgte Charakterisierung von C-10, C-11 und C-14 schliesst sie als Sitz der fehlenden Methylgruppe aus. Unter Berücksichtigung von Punkt a) kommen als Haftstellen nur C-12 oder C-13 in Frage.
- c) Bereits früher (Seite 33) wurde wahrscheinlich gemacht, dass C-12 vollständig substituiert ist. Zugunsten einer vollständigen Substitution dieses Kohlenstoffatoms lässt sich die Beobachtung auswerten, dass die Vinylgruppe des Ausgangsmaterials auch bei solchen Verbindungen (wie XXXIII) nicht mit einer Carbonylgruppe in C-11 in Konjugation gebracht werden kann, bei welchen die entsprechenden Kohlenstoffatome Glieder einer Kette und nicht mehr eines Ringes darstellen.
- d) Das Fehlen von Wasserstoffatomen an C-12 kann auf unabhängigem Wege aus den nachfolgend angeführten NMR-Untersuchungen abgeleitet werden. Verbindungen, die an C-11 eine Acetoxygruppe tragen, nicht aber die entsprechenden 11-Oxoverbindungen, weisen im NMR-Spektrum bei $\delta = \text{ca. } 5$ ein Dublett mit $J = 7-8$ cps auf (vgl. z. B. das in Fig. 1 abgebildete Spektrum des 11-Acetoxyderivates XLVI). Dieses Dublett entspricht dem Wasserstoffatom an C-11, welches nur mit einem benachbarten Wasserstoffatom, jenem an C-10, gekoppelt ist. Im Spektrum des Noraldehyds XXXVI (aus Mutilin) (vgl. Fig. 2) tritt das Signal des Aldehydprotons als Dublett bei $\delta = 9,74$ ($J = 1,75$ cps) auf. Die vollständige Substitution von C-12 würde eher das Auftreten eines Singletts erwarten lassen. Die geringe Splitterung dieses Signals ist aber nicht durch ein α -ständiges, an C-12 sitzendes Wasser-

^{*)} Die Erhaltung eines Ions $C_7H_{11}O_2^+$ aus dem Lacton XXXIV erlaubt nunmehr eine eindeutige Bestimmung der Grösse des Lactonringes. Von den sieben Kohlenstoffatomen dieses Fragmentes entfallen drei auf eine Methylgruppe und eine Äthylgruppe (durch Hydrierung der Vinylgruppe entstanden). Mit den verbleibenden vier Kohlenstoffatomen kann wohl ein γ -Lactonring geschlossen werden. Dadurch wird die 1,4-Lage der zwei Hydroxylgruppen des Mutilins unabhängig bewiesen.

stoffatom, sondern durch das β -ständige Wasserstoffatom an C-11 verursacht. Dies geht klar aus der Tatsache hervor, dass bei Verbindung XXXVI das Signal des Wasserstoffatoms an C-11 nunmehr als ein Quadruplett bei $\delta = 3,44$ auftritt, worin nebst der üblichen Koppelungskonstante von $J = 7$ cps (C-10-Proton \longleftrightarrow C-11-Proton) auch noch die Koppelungskonstante von $J = 1,75$ cps (C-10-Proton \longleftrightarrow Aldehydproton) erkenntlich ist^{*)}. Das gleichzeitige Auftreten der gesplitterten Signale bei $\delta = 3,44$ und $\delta = 9,74$ lässt sich daher ebenfalls zugunsten des Fehlens eines Wasserstoffatoms an C-12 auswerten.

Unter Berücksichtigung der Punkte a) bis d) wird die Lage der vierten Methylgruppe von Pleuromutilin an C-12 festgelegt. Das bedingt gleichzeitig, dass C-13 als Methylengruppe vorliegt. Die Partialformel für Pleuromutilin lässt sich zu N erweitern.

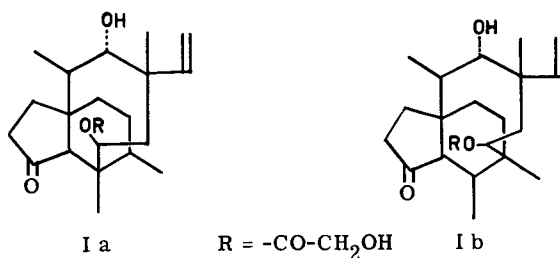
Partialformel N



Mehrere NMR-Spektren verschiedener Derivate des Pleuromutilins zeigen, dass von den vier im Naturprodukt enthaltenen Methylgruppen je zwei tertiär bzw. sekundär gebunden sind. So treten z. B. im NMR-Spektrum des Noraldehyds XXXVI (Fig. 2) zwei Dublette bei $\delta = 0,95$ (3 Wasserstoffatome, $J = 6$ cps) und $\delta = 1,05$ (3 Wasserstoffatome, $J = 6$ cps) sowie zwei scharfe Singlette (je 3 Wasserstoffatome) bei $\delta = 1,28$ und $\delta = 1,37$ auf. Die von C-14 ausgehende, in Partialformel N noch fehlende Bindung muss daher so geschlossen werden, dass eine der an C-6 und C-7 haftenden Methylgruppen tertiären Charakter annimmt. Daraus resultieren für Pleuromutilin die vollständigen Strukturformeln I a und I b. Zwischen diesen beiden Formeln lässt sich auf Grund des vorliegenden Materials nicht unterscheiden. Wenn in der Folge der ersteren der Vorzug gegeben wird, so geschieht es willkürlich und nur aus Gründen der Uebersichtlichkeit. Es liesse sich noch anfügen, dass auch biogenetische Argumente eine solche Formulierung wahrscheinlicher machen (vgl. Kapitel H).

*) Ähnliche Splitterung der Signale von Aldehydprotonen durch mehr als um ein Kohlenstoffatom entfernte Protonen sind neuerdings von anderen Autoren an einfacher gebauten Verbindungen beobachtet worden; dazu vgl. 27).

Schema 17



G) Umsetzungen im Gebiet des Kohlenstoffatoms 14

Bei der Ableitung der Formeln Ia und Ib für Pleuromutilin wurde im vorangehenden Kapitel gezeigt, dass sich neben dem Kohlenstoffatom, welches die Glykolsäureestergruppierung trägt (C-14), eine Methylengruppe befinden muss. Diese Ableitung ist nur auf recht indirektem Weg möglich, da das entsprechende Kohlenstoffatom nicht erfasst werden kann. Versuche, welche eine direkte chemische Ueberprüfung dieses Molekülbezirkes bezweckten, führten nicht zum gewünschten Resultat. Da sie jedoch einen tieferen Einblick in die eigentümliche Reaktionsfähigkeit des mittelgrossen Ringes von Pleuromutilin lieferten, sollen sie anschliessend besprochen werden.

Für diesen Teil der Untersuchung ging man vom Dihydro-A-oxo-B-acetoxyderivat $C_{22}H_{36}O_3$ (LX) aus, welches aus der A-Oxo-B-acetoxyverbindung (XLVI) durch Hydrierung in Gegenwart von Palladiumkohle hergestellt worden war. Die Verbindung bildet keine Ketoderivate, besonders kein Oxim. Sie wird nicht angegriffen von Benzoepersäure und reagiert nicht mit Brom in Eisessiglösung, weder bei Zimmertemperatur noch in der Wärme. Durch Behandlung mit Natriumhydrid und Aethylformiat lässt sich eine Hydroxymethylenverbindung nicht einmal in Spuren erhalten. Die erstaunliche Reaktionsträgheit der Methylenketongruppierung von LX wird vor allem bei Oxydationsversuchen mit Seldioxid klar. Sowohl beim Kochen mit Seldioxid in Eisessiglösung als auch bei längerem Erhitzen mit demselben Reagens in Dioxanlösung bleibt die Verbindung LX unangegriffen. Es sei noch erwähnt, dass die Carbonylgruppe von LX durch Natriumborhydrid in verd. Methanol bei Zimmertemperatur bzw. in siedender Dioxanlösung nicht reduziert werden kann. Einzig Lithiumaluminiumhydrid vermag die Carbonylgruppe zu reduzieren. Unter gleichzeitiger reduktiver Verseifung der Acetoxygruppe entsteht dabei die gesättigte A, B-Dihydroxyverbindung $C_{20}H_{36}O_2$ (LXI). Diese Verbindung muss an C-14 die

"natürliche" Konfiguration der Hydroxylgruppe besitzen, ist sie doch auch durch Absättigung der Vinylgruppe aus dem früher erwähnten ungesättigten A, B-Dihydroxyderivat (XLII) erhältlich. Die Hartnäckigkeit, mit welcher sich die Methylengruppe einem chemischen Nachweis entzieht, insbesondere ihre verblüffende Resistenz gegen Selendioxyd, könnte berechnete Zweifel an ihrer Existenz aufkommen lassen. Solche Zweifel können aber durch NMR-spektroskopische Untersuchungen beseitigt werden.

So tritt z. B. in allen Spektren von Verbindungen, die an C-14 eine Hydroxylfunktion tragen, das dem C-14-Proton entsprechende Signal als mehr oder weniger scharf definiertes Quadruplett in der Gegend von $\delta = 4, 17$ auf. Besonders gut ist dieses Quadruplett im Spektrum des Seco-bis-nor- γ -Lactons (XXXIV) zu erkennen, das in Fig. 3 abgebildet ist. Es besteht daher kein Zweifel, dass das Wasserstoffatom an C-14 von zwei Wasserstoffatomen flankiert ist. Aus diesen experimentellen Befunden ergeben sich die Gruppierungen (a) und (b). Der Entscheid zugunsten von



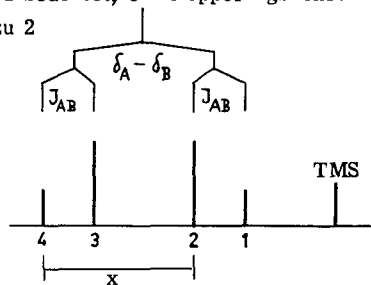
(b) kann durch Auswertung des in Fig. 1 abgebildeten NMR-Spektrums der Verbindung LX gefällt werden. Die der Ketogruppe von LX benachbarten, nicht äquivalenten Protonen an C-13 bilden ein AB-System, welches zum Auftreten zweier typischer Dublette Anlass geben sollte. Eines dieser Dublette mit $\delta = 2, 67$ ($J = 11, 7$ cps) ist in Fig. 1 deutlich zu erkennen. Das zweite, dem AB-System angehörende Dublett, welches bei $\delta = 1, 98$ ($J = 11, 7$ cps) auftritt, ist weniger gut sichtbar, da es teilweise bereits mit dem Signal der Acetylgruppe bei $\delta = 2, 05$ zusammenfällt ^{*)}. Der

^{*)} Die genaue Lage des zweiten Dubletts lässt sich rechnerisch durch Anwendung der Formel

$x = J \frac{1+a}{1-a}$ ermitteln, worin $x = 4 - 2$ bzw. $3 - 1$ bedeutet; J = Koppelungskonstante und a = Verhältnis der Intensität der Signale 1 zu 2 bzw. 4 zu 3. Aus x kann $\delta_A - \delta_B$, der Abstand der zwei Dublette durch die Formel

$x = \sqrt{(\delta_B - \delta_A)^2 + J_{AB}^2}$ berechnet werden.

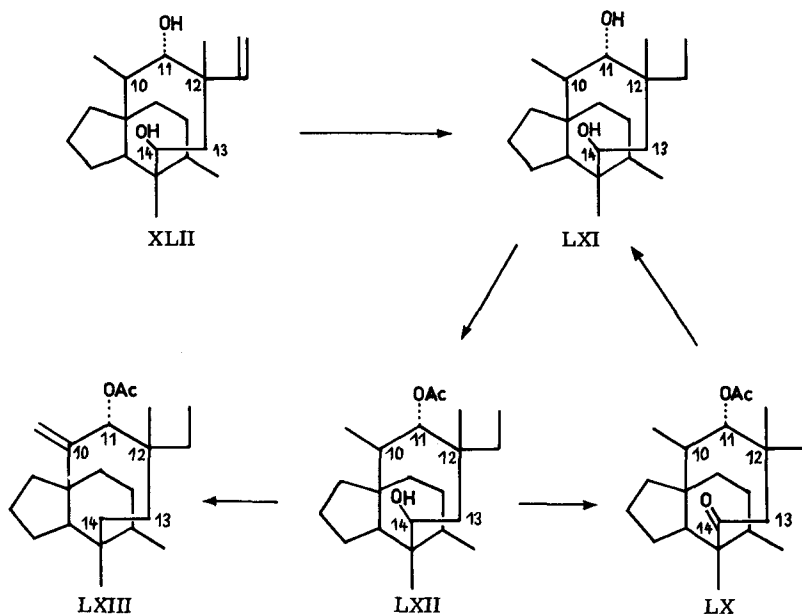
Dazu vgl. L. M. Jackman, NMR-Spectroscopy, Pergamon Press (1959). Für wertvolle Hinweise bezüglich der Auswertung dieses Spektrums sei Herrn Dr. L. M. Jackman bestens gedankt.



relativ hohe Unterschied im δ -Wert der zwei Dublette weist darauf hin, dass die zwei C-13-Wasserstoffbindungen mit der C-14-Carbonylgruppe stark voneinander verschiedene Winkel bilden ^{*)}.

Nachdem die Anwesenheit der C-13-Methylengruppe unabhängig von früheren Ableitungen auch spektroskopisch nachgewiesen werden konnte, muss das Ausbleiben einer chemischen Umsetzung dieser Methylengruppe in den oben erwähnten Versuchen auf eine verminderte Tendenz zur Enolisierung der C-13-Carbonylgruppe von LX zurückgeführt werden, die mit grosser Wahrscheinlichkeit durch die Eigenart des konstellativ fixierten Ringes mittlerer Grösse bedingt ist. Eine solche Eigenart des mittleren Ringes spielt eine massgebende Rolle bei den anschliessend beschriebenen Versuchen.

Schema 18



^{*)} Unter Zugrundelegung der Formel LX und Anwendung von Dreidring-Modellen lassen sich diese Winkel zu 180° bzw. 60° abschätzen.

Bei der Behandlung von Dihydro-A-hydroxy-B-acetoxyverbindung (LXII), erhältlich aus der katalytischen Hydrierung des bereits beschriebenen Produktes XLIV, mit Phosphoroxychlorid in Pyridinlösung bei 100° gewinnt man unter Verlust von Wasser in vorzüglicher Ausbeute eine Verbindung $C_{22}H_{36}O_2$, welcher, wie in der Folge gezeigt wird, die Strukturformel LXIII zugeschrieben werden muss. Verbindung LXIII gibt mit Tetranitromethan eine gelbe Farbreaktion und zeigt im IR-Spektrum nebst der Acetatbande bei 1728 cm^{-1} auch Banden bei 1630 und 922 cm^{-1} (Nujol), die auf die Anwesenheit einer endständigen Methylengruppe hinweisen. Damit in Einklang steht das NMR-Spektrum von LXIII, worin Signale für zwei Vinylprotonen bei $\delta = 5,1$ und $5,15$ auftreten. Die Integration der NMR-Kurve dieser Verbindung zeigt ferner, dass das Auftreten einer endständigen Methylengruppe, wie erwartet, mit dem Verschwinden einer sekundären Methylgruppe einhergeht. Wichtig ist auch der Befund, dass das Wasserstoffatom an C-11 im NMR-Spektrum von LXIII (Fig. 4) nicht mehr als das übliche Dublett mit $J = \text{ca. } 7\text{ cps}$, sondern als Singlett bei $\delta = 5,03$ auftritt. Auf Grund dieser Daten war es naheliegend anzunehmen, dass die endständige Methylengruppe von LXIII an C-10 haftet. Einen ersten chemischen Hinweis dafür, dass die Acetoxygruppe von LXIII allylartig gebunden ist, findet man im Ergebnis der Behandlung von LXIII mit Salzsäure in Eisessiglösung. Unter Bedingungen, bei welchen das Dihydro-A-oxo-B-acetoxyderivat (LX) nicht angegriffen wird, findet hier eine quantitative Abspaltung der Acetoxygruppe statt, und es lässt sich ein flüssiger Kohlenwasserstoff isolieren, welcher als konjugiertes Dien formuliert werden muss (braune Farbreaktion mit Tetranitromethan; UV-Maxima bei $257\text{ m}\mu/\log \epsilon = 3,68$ und $264\text{ m}\mu/\log \epsilon = 3,62$ *)).

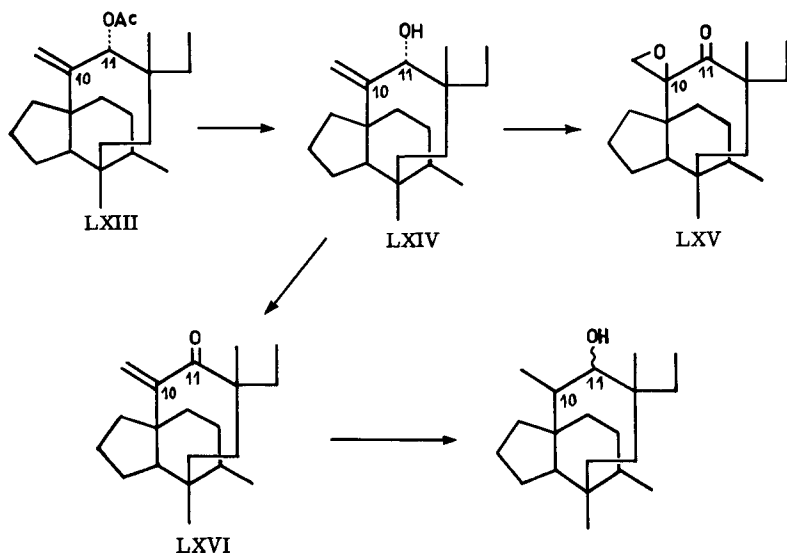
Zur weiteren chemischen Ueberprüfung der für das Wasserabspaltungsprodukt (LXIII) postulierten Formel reduzierte man es mit Lithiumaluminiumhydrid zu einem flüssigen Alkohol (LXIV) (keine IR-Bande bei $1720\text{-}1730\text{ cm}^{-1}$). Oxydation desselben mit Chrom(VI)oxyd in Essigsäure führt nicht zum erwarteten konjugierten Keton, sondern zum gesättigten Epoxyketon $C_{20}H_{32}O_2$ (LXV), welches eine IR-Bande bei 1685 cm^{-1} (Chloroform) zeigt, ein leeres UV-Spektrum hat und im NMR-Spektrum zwei Dublette (je ein Wasserstoffatom) bei $\delta = 3,03$ ($J = 4,5\text{ cps}$) und $\delta = 3,12$ ($J = 4,5\text{ cps}$), dem AB-System der zwei Wasserstoffatome im Oxiranring von LXV entsprechend, aufweist. Da unter gleichen Oxydationsbedingungen die Doppelbindung des Allylacetats (LXIII) nicht angegriffen wird, muss die Epoxydierung der Doppelbindung spezifisch von der Anwesenheit einer Alkoholgruppierung abhängen. Aehnliche anomale Oxydationen sind bereits früher von anderen Autoren für Allyl-

*) Die Einheitlichkeit dieses Kohlenwasserstoffes ist fraglich, obwohl seine Verbrennungswerte einigermassen der zu erwartenden Bruttoformel $C_{20}H_{32}$ entsprechen. Da die Versuche nicht weiter verfolgt wurden, soll von einer Formulierung des Kohlenwasserstoffes abgesehen werden.

alkohole beobachtet worden^{*)}.

Zum gewünschten α, β -ungesättigten Keton (LXVI) gelangt man durch längere Behandlung von LXIV mit Mangan(IV)oxyd in siedender Benzollösung. Die Verbindung stellt ein Oel dar, welches im UV-Spektrum eine starke Endabsorption ($\log \epsilon = 3,67$ bei $210 \text{ m}\mu$) mit einem ausgeprägten Plateau bei $225\text{-}230 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,44$) aufweist^{**)}. Im IR-Spektrum zeigt LXVI eine Carbonylbande bei 1678 cm^{-1} sowie Banden für die endständige Methylengruppe bei 1618 und 906 cm^{-1} (Chloroform)^{***)}. In bester Ueber-einstimmung mit den Eigenschaften eines α, β -ungesättigten Ketons lässt sich LXVI durch Natrium und n-Butanol zu einer amorphen Verbindung reduzieren, die auf Grund ihres IR-Spektrums eine Hydroxylgruppe, dagegen keine Carbonyl- und keine endständige Methylengruppe mehr enthält.

Schema 19



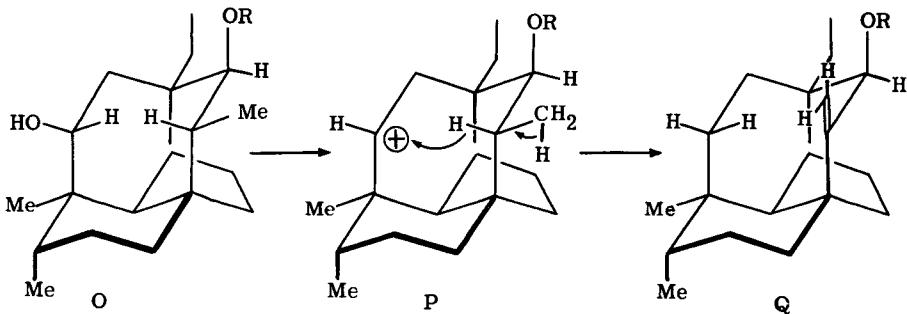
*) Vgl. dazu 28).

***) Möglicherweise ist in LXVI die Konjugation zwischen der Carbonylgruppe und der Doppelbindung durch eine vom Cyclodecanring herrührende Verzerrung teilweise aufgehoben.

****) Die geringe Verschiebung der Carbonylbande von LXVI gegenüber jener des Epoxyketons (LXV) überrascht nicht. Aus verschiedenen Literaturbeispielen 29) - 34) geht hervor, dass Konjugation eines Ringketons mit einer endständigen Methylengruppe normalerweise noch geringere Verschiebung der Carbonylbande als die hier beobachtete bewirkt.

Durch diese Resultate wird die Struktur des Wasserabspaltungsproduktes im Sinne der Formel LXIII festgelegt. Die Entstehung einer Verbindung vom Typus LXIII verlangt, dass das bei der Wasserabspaltung primär entstehende Carboniumion (C-14) imstande ist, ein Hydridion aus der Stellung 10 zu abstrahieren, worauf sich das neu gebildete Kation unter Abspaltung eines Protons aus der Methylgruppe zu LXIII stabilisiert (vgl. Schema 20). Eine solche 1,5-Hydridverschiebung ist durchaus verständlich, wenn die Kohlenstoffatome, zwischen denen sie stattfindet, in einem Ring mittlerer Grösse enthalten sind^{*)}. Sie lässt sich folglich diagnostisch als weitere Stütze für das Vorliegen eines Cyclodecanringes auswerten. Diese Verhältnisse lassen sich am besten durch die sterischen Partialformeln O, P und Q veranschaulichen, deren Geometrie jener einfacher Cyclodecanmodelle ähnlich ist (vgl. dazu³⁶⁾).

Schema 20

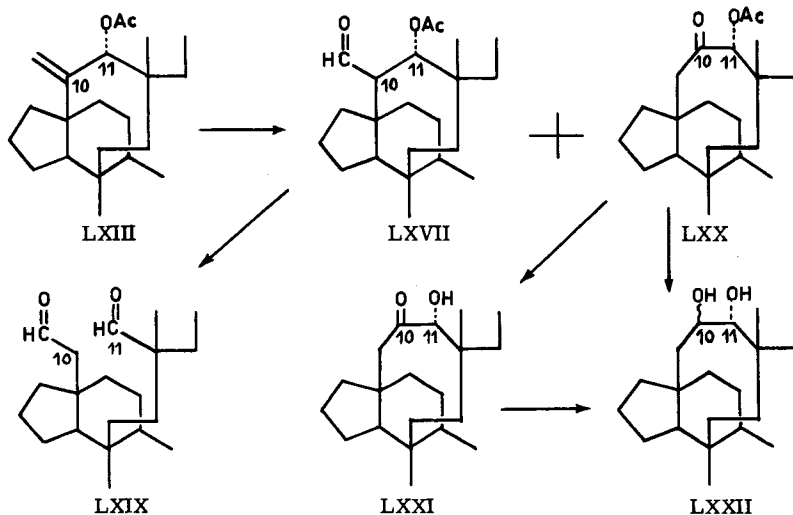


Ein solches Modell für das Wasserabspaltungsprodukt (LXIII) liefert ferner eine einleuchtende Erklärung für das sonstige abnorme Verhalten der Doppelbindung. Diese ist nämlich durch eine erstaunliche Reaktionsträgheit charakterisiert. Durch Osmium-(VIII)oxyd wird sie auch nach längerer Zeit nicht angegriffen; ebenso versagt der Versuch einer Absättigung mit Wasserstoff in Gegenwart von Palladiumkohle in Aethanol- bzw. Eisessiglösung, ja sogar von Platinoxid in Eisessiglösung. Die sterische Formel zeigt, dass die Doppelbindung auf der einen Seite durch den mittelgrossen Ring abgeschirmt ist (linke Seite in Schema 20). Wohl wäre ein chemischer Angriff von der äusseren Seite möglich, er würde aber zu Produkten führen, in denen die raumbanspruchende Methylgruppe infolge der tetrahedralen Anordnung von C-10 zu stark gegen das Innere des Cyclodecanringes gedrängt wäre. Eine scheinbare Ausnahme

*) Für eine Zusammenstellung ähnlicher transanularer Effekte bei einfachen Modellsubstanzen vgl. ³⁵⁾.

findet man bei der Bildung des Epoxyketons (LXV). In diesem Zusammenhang darf jedoch nicht übersehen werden, dass die Geometrie des Epoxydringes weitgehend jener einer Doppelbindung ähnelt, sodass von einer tetrahedralen Anordnung an C-10 in LXV kaum die Rede sein kann.

Schema 21

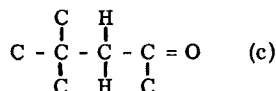


Der "gehinderte" Charakter der Methylendoppelbindung von LXIII kommt bei oxydativen Abbauersuchen besonders hübsch zum Ausdruck. Wird das Allylacetat (LXIII) bei -50° mit Ozon behandelt, so lassen sich zwei isomere Produkte $C_{22}H_{36}O_3$ isolieren, worin alle Kohlenstoffatome des Ausgangsmaterials noch enthalten sind. Eine dieser Verbindungen stellt den Aldehyd LXVII dar. Sein IR-Spektrum zeigt Banden bei 2730 und $1715-20\text{ cm}^{-1}$ (Nujol) für die Aldehydgruppierung sowie bei 1730 cm^{-1} für die Acetatgruppe. Eine gute Stütze für die Formel des Aldehyds bildet das NMR-Spektrum der Verbindung (vgl. Fig. 5). Ein Dublett bei $\delta = 9,22$ ($J = 5,4$ cps, 1 Wasserstoffatom) entspricht dem Aldehydproton, welches mit dem benachbarten Proton an C-10 gekoppelt ist. Das Signal des Protons an C-11 tritt bei $\delta = 5,13$ auf und ist ebenfalls durch das C-10-Proton gesplittert ($J = 7,5$ cps)*). Erwartungsgemäss finden sich die identischen Koppelungskonstanten auch im Signal des C-10-Protons, welches als Quadruplett mit $J = 7,5$ und $5,4$ cps bei $\delta = 3,02$ auftritt. Die Bildung des Aldehyds LVII lässt sich auf eine anomale Ozonisation zurückführen (vgl. Schema 22,

*) Dazu vgl. das Auftreten eines Singletts bei Verbindung LXIII in Fig. 4.

Gruppierungen (d)-(f)), die auch bei anderen Verbindungen mit endständiger, "gehinderter" Methylengruppe bereits beobachtet wurde, so z. B. bei Camphen und Longifolen³⁷⁾. Durch längeres Stehen an der Luft geht der Aldehyd langsam in die entsprechende Säure (LXVIII) über, die einen pK_{MCS}^* -Wert von 8,44 aufweist. Bei der alkalischen Verseifung von LXVII mit 10-proz. methanolischer Kaliumhydroxyldlösung tritt Aldolspaltung zum amorphen Dialdehyd LXIX ein (IR-Banden bei 2710 und 1718 cm^{-1} in Chloroform), welcher als bis-2,4-Dinitrophenylhydrazon $C_{32}H_{42}O_8N_8$ charakterisiert werden konnte.

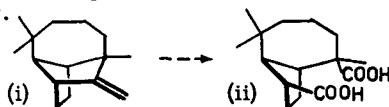
Das zweite Ozonisationsprodukt besitzt ebenfalls die Zusammensetzung $C_{22}H_{36}O_3^*$ und muss daher auch aus einer anomalen Reaktion hervorgehen. Die Verbindung bildet langsam ein 2,4-Dinitrophenylhydrazon $C_{28}H_{40}O_6N_4$. Im IR-Spektrum tritt keine Aldehydbande bei 2700 cm^{-1} (Nujol) auf. Die Bande der Ketongruppe fällt mit jener des Acetats bei 1735 cm^{-1} zusammen. Das NMR-Spektrum in Fig. 6 erlaubt ebenfalls auszuschliessen, dass es sich um einen Aldehyd handelt. Besonders wertvoll ist die Beobachtung, dass das C-11-Proton durch ein Singlett bei $\delta = 4,92$ charakterisiert wird und daher keinen anderen Protonen benachbart sein kann. Das bei $\delta = 2,88$ auftretende Paar von Dubletten lässt sich dem AB-System einer Gruppierung (c) mit zwei nicht äquivalenten Protonen zuschreiben.



Unter Berücksichtigung dieser Daten lässt sich für das zweite Ozonisationsprodukt Formel LXX aufstellen. Die Bildung dieser Verbindung stellt lediglich eine Variante der oben besprochenen anomalen Ozonisation dar und lässt sich durch die Reaktionsfolge (g) - (j) (Schema 22) veranschaulichen. Als treibende Kraft dieser Reaktion dürfte wiederum die Abneigung gegen eine tetraedrale Anordnung von C-10 eine wichtige Rolle spielen^{***)}.

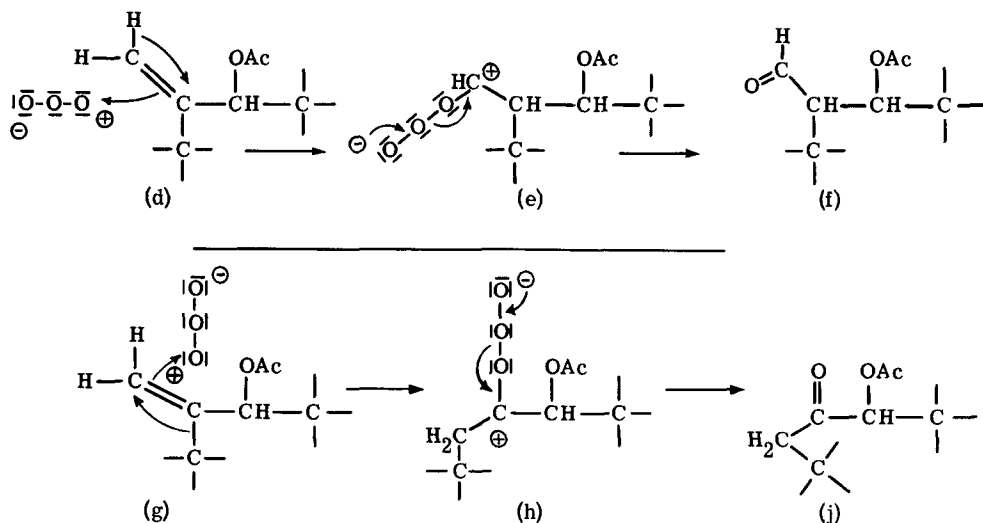
*) Die Verbrennungswerte wären an und für sich auch mit der Bildung eines Norketons $C_{21}H_{34}O_3$ kongruent. Das Ergebnis der massenspektrometrischen Untersuchung von LXX spricht jedoch eindeutig zugunsten der ersten Variante.

**) Gleiche Umlagerungen bei Ozonisation gehinderter endständiger Doppelbindungen scheinen bis jetzt nicht beobachtet worden zu sein. In diesem Zusammenhang ist jedoch bemerkenswert, dass bei der Ozonisation von Longifolen (i) geringe Mengen der Longiforsäure (ii) entstehen, deren Bildung eine der hier postulierten ähnliche Gerüstumlagerung voraussetzt³⁷⁾.



***) Das Auftreten des Strukturelementes (c) in Formel LXX (vgl. oben) liefert einen Hinweis für die Tatsache, dass C-10 des Pleuromutilins ebenso wie die Methylengruppe von (c) einem tetrasubstituierten Kohlenstoffatom benachbart ist. Auf dieser Grundlage kann erneut der Entscheid zwischen den zwei auf Seite 34 erwähnten Partialformeln J und K zugunsten der ersteren gefällt werden.

Schema 22



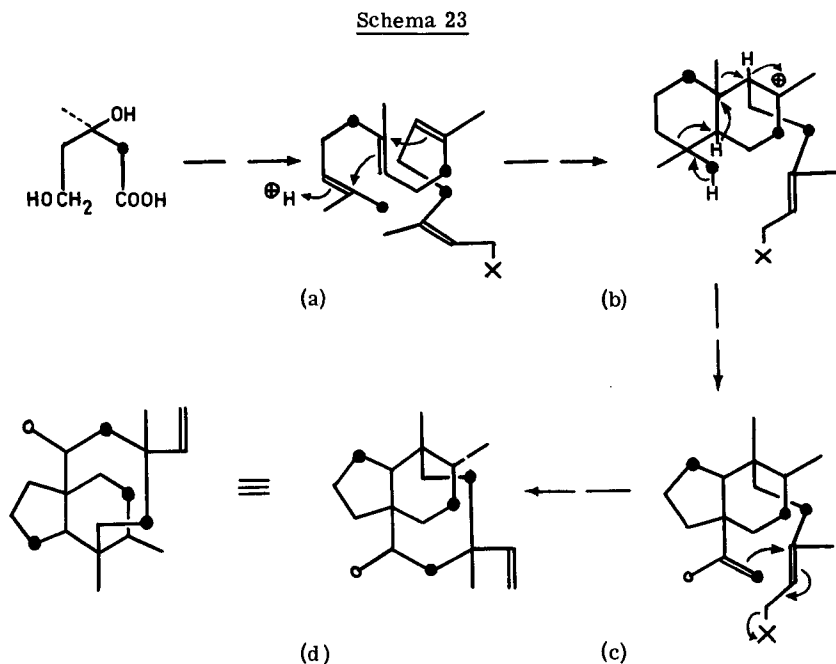
Die postulierte vicinale Lage der Sauerstofffunktionen von LXX lässt sich chemisch nachweisen. Verseifung von LXX mit 10-proz. äthanolischer Kaliumhydroxydlösung gibt ein kristallines Ketol $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_2$ (LXXI) (IR-Banden bei 3470 und 1730 cm^{-1} in Nujol), welches bei Titration mit Perjodsäure 2,9 Äquivalente verbraucht. Reduktion von LXXI mit Lithiumaluminiumhydrid führt zu einem kristallinen Diol $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_2$ (LXXII) (keine IR-Banden im Carbonylgebiet), welches auch durch direkte Reduktion von LXX erhältlich ist. Als α -Glykol verbraucht LXXII in Eisessiglösung 1,2 Mole Blei(IV)acetat. Das nicht charakterisierte Spaltprodukt weist im IR-Spektrum eine breite Bande bei 1700 cm^{-1} (Chloroform) auf.

H) Biogenetische Betrachtungen

Im Zusammenhang mit dem experimentell erwiesenen Einbau von ¹⁴C-(2)-Mevallonsäure in Pleuromutilin ist abschliessend eine kurze Erörterung der Biogenese dieses Naturstoffes berechtigt. Die Aufstellung eines hypothetischen Mechanismus für die Biogenese des Pleuromutilins ist unter Berücksichtigung folgender Faktoren möglich:

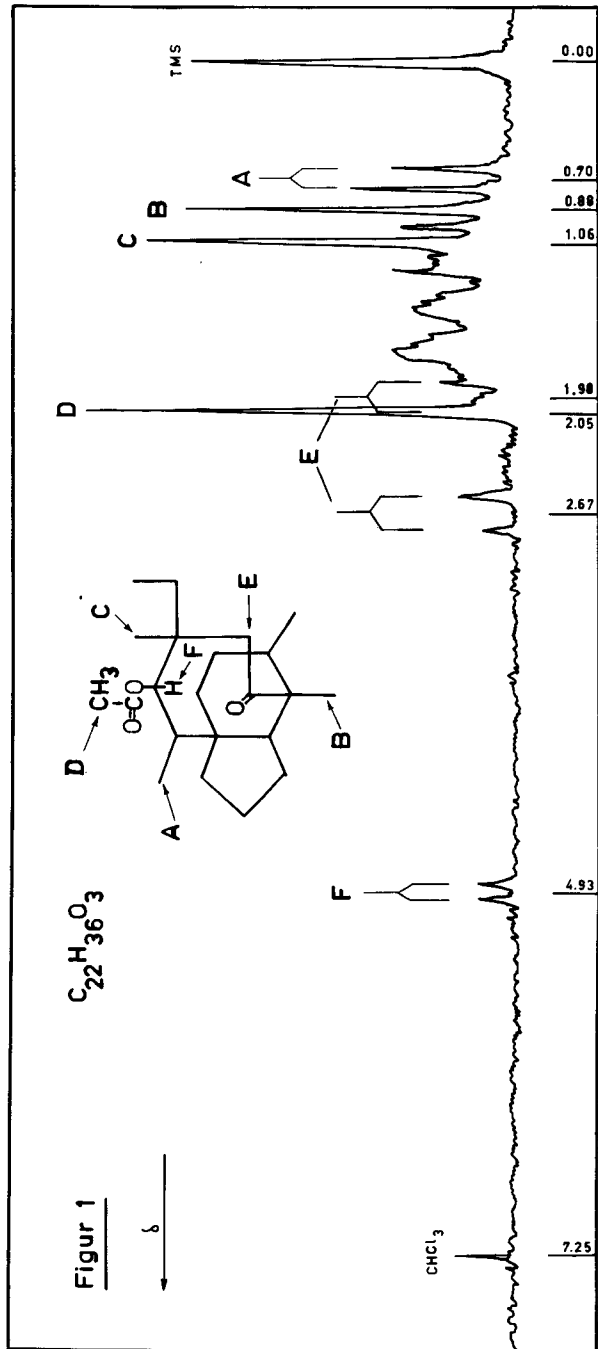
- Im Lichte der bekannten Theorie³⁸⁾ lässt sich annehmen, dass das tricyclische Gerüst von Pleuromutilin durch Cyclisation eines aliphatischen Vorläufers entsteht und dass dieser Vorläufer mit Geranylgeraniol bzw. dessen Pyrophosphat identisch ist.
- Eine der fünf im Vorläufer enthaltenen Methylgruppen muss im Laufe der Biosynthese als Ringglied eingebaut werden, da Pleuromutilin nur vier Methylgruppen aufweist.
- Die Vinylseitenkette von Pleuromutilin stammt mit grosser Wahrscheinlichkeit aus der endständigen Isopentaneinheit des aliphatischen Vorläufers.

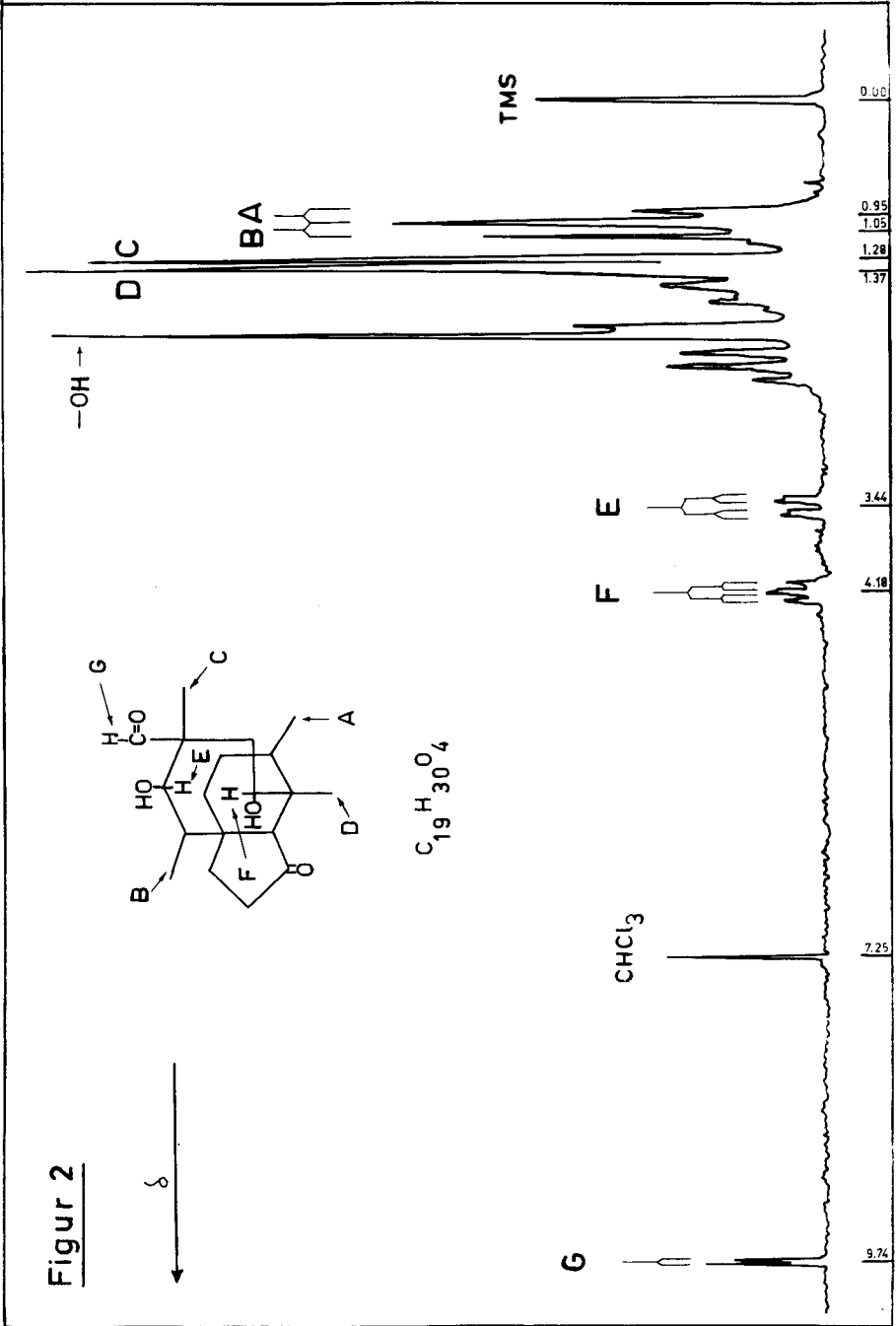
Auf dieser Grundlage lässt sich für das Kohlenstoffgerüst des Mutilins das in den Formeln (a) - (d) dargestellte Biogeneseschema vorschlagen, bei welchem gleichzeitig die Abstammung einzelner Kohlenstoffatome aus dem C-2 der Mevalonsäure graphisch hervorgehoben wird.

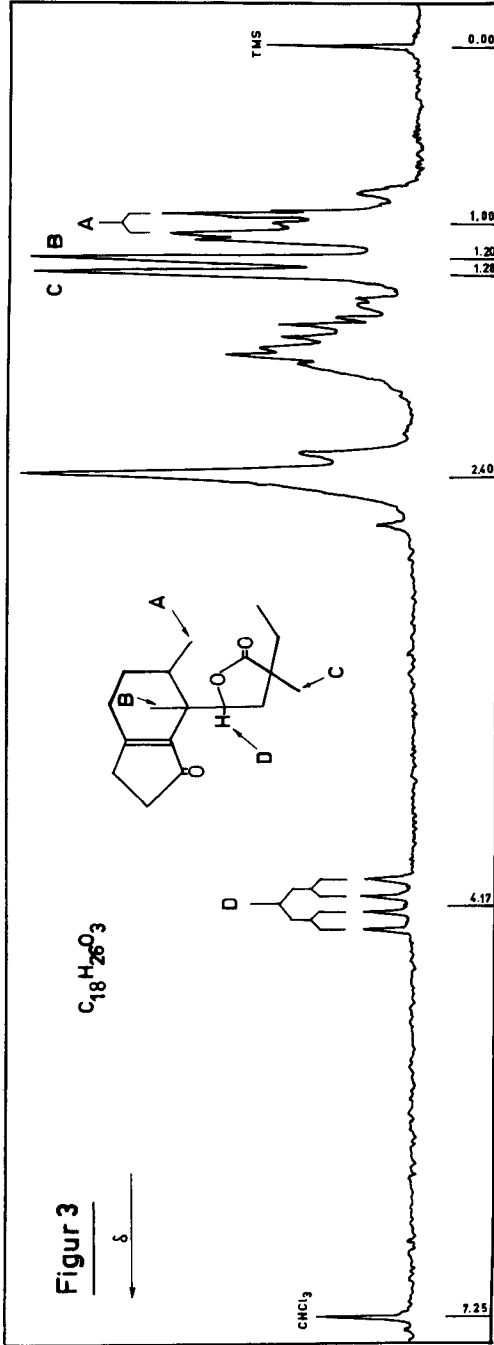


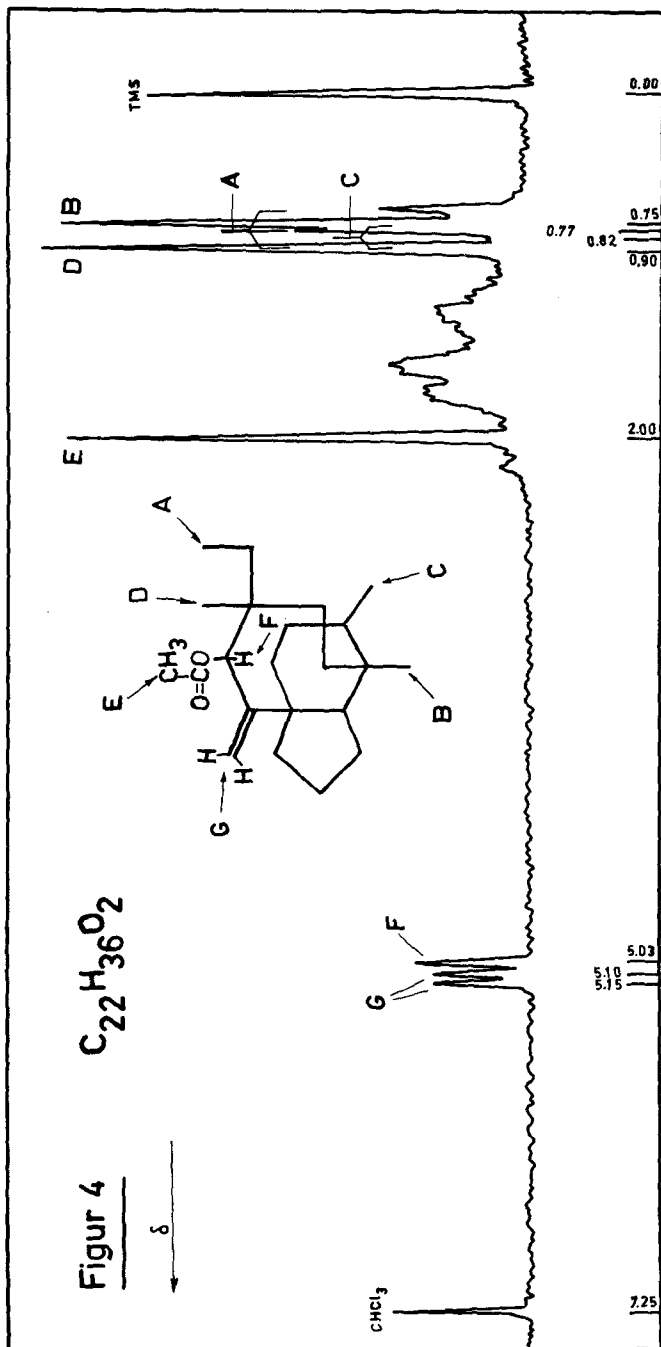
1) Anhang: Kernresonanzspektren

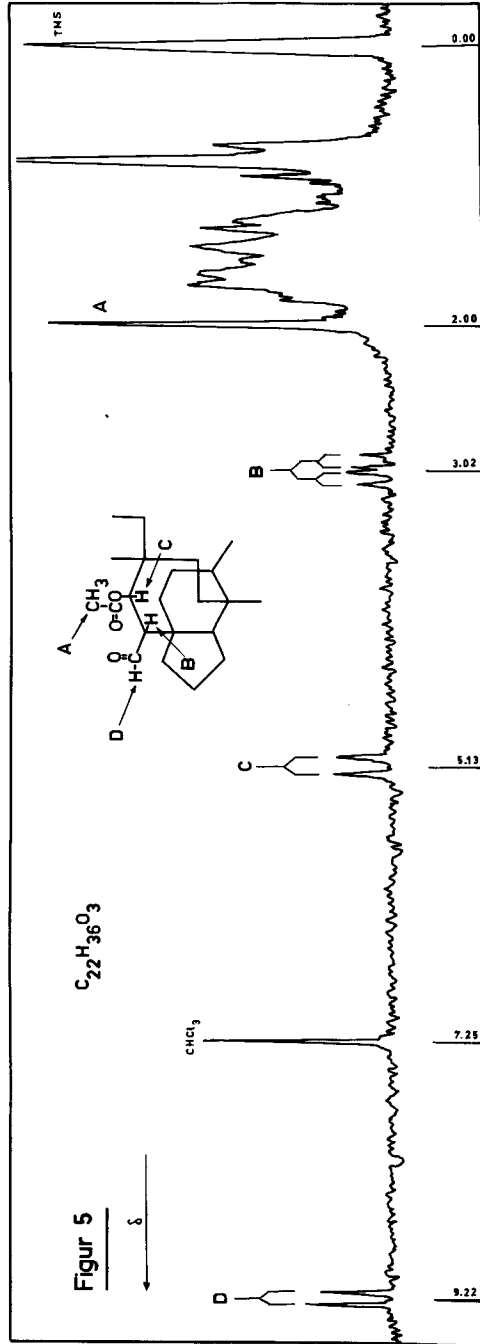
Anschliessend werden jene NMR-Spektren wiedergegeben, die in den vorangehenden Kapiteln ausführlich diskutiert worden sind.

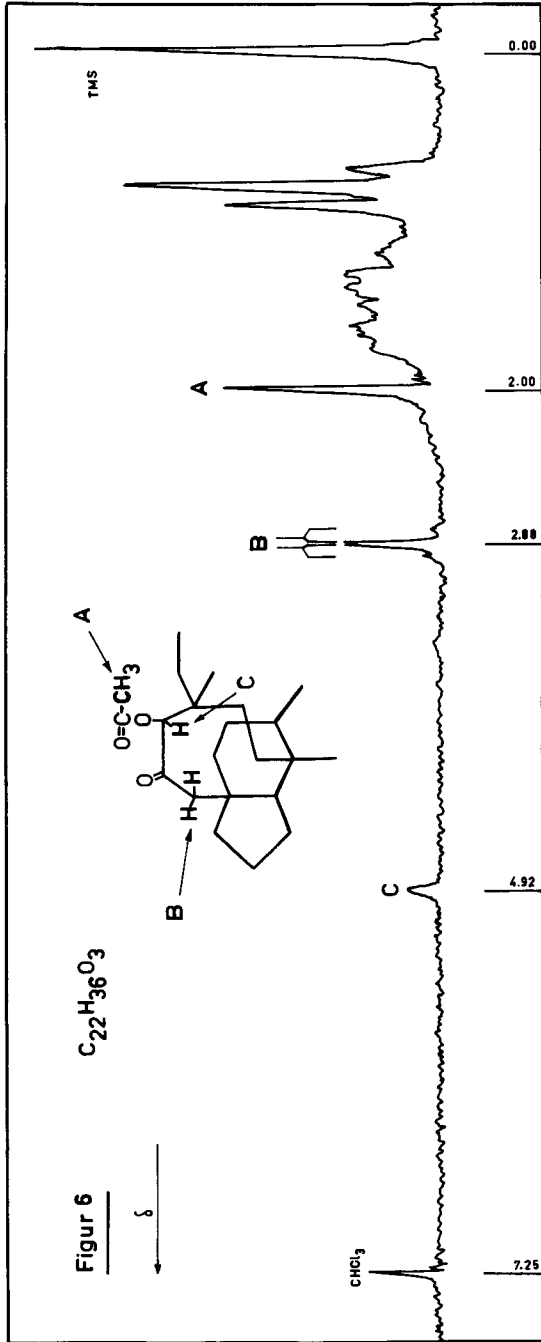












EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Bemerkungen

Die Schmelzpunkte wurden jeweils in einer im Hochvakuum abgeschmolzenen Kapillare bestimmt und sind nicht korrigiert.

Die Bestimmungen der optischen Drehung wurden in Chloroformlösung in einem Rohr von 10 cm Länge ausgeführt.

Die UV-Absorptionsspektren wurden mit einem Beckman-Spektrographen (Modell DK 1) und, wenn nicht anders vermerkt, in Feinspritzlösung, aufgenommen.

Die IR-Absorptionsspektren wurden mit einem Perkin-Elmer-Spektrophotometer (Modell 21) aufgenommen.

Solange nicht anders angegeben, sind die NMR-Spektren bei 60 MHz in Deuteriochloroformlösung mit TMS als interne Referenz aufgenommen.

Unter "normaler Aufarbeitung" soll folgendes Vorgehen verstanden werden: Extraktion der auf Wasser oder Eis gegossenen Reaktionslösung mit Aether in 2-3 Scheidetrichtern, wenn nötig Trennung in saure, basische und neutrale Anteile, Neutralwaschen der ätherischen Phase mit Wasser oder gesättigter Kochsalzlösung und Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat.

Unter "üblicher Acetylierung" wird verstanden: Die Verbindung wird in einem Ueberschuss von Pyridin-Acetanhydrid-Gemisch (1:1) gelöst und über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen.

Züchtung von *Pleurotus mutilus*

In Anlehnung an die Arbeiten von F. Kavanagh et al.¹⁾ wurde *Pleurotus mutilus*^{*)} in einer Corn-Steep-Nährlösung von pH = 4,5 - 4,8 gezüchtet. Diese Nährlösung enthielt auf einen Liter Leitungswasser:

- 1,5 g KH_2PO_4 (sog. primäres Kaliumphosphat)
- 0,5 g KCl
- 0,5 g NaNO_3
- 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (sog. kristallisiertes Magnesiumsulfat)

*) Die Kulturen von *Pleurotus mutilus* auf Malz-Agar stammten aus dem CENTRAAL-BUREAU VOOR SCHIMMELCULTURES, Baarn (Niederland).

40 g Glucose (Dextropur)
5 ml Corn-Steep-Liquor

Das weisse, feinfädige Mycel wurde alle sechs bis acht Wochen frisch auf Malz-Agar-Nährböden überimpft, die folgendermassen bereitet wurden: 20 g Malzextrakt (Difco oder Oxoid), 17 g Agar-Agar und 1000 g Wasser erhitzt man langsam zum Sieden, füllt die Mischung in Pyrex-Reagensgläser und sterilisiert sie nach Verschliessen mit ungebleichter Rohwatte während 20 Minuten im Autoklaven bei 120⁰.

Für einen Züchtungsansatz füllte man 10 - 12 Erlenmeyer-Kolben von 200 ml Inhalt mit 75 ml der Corn-Steep-Nährlösung, verschloss sie mit Rohwatte und sterilisierte sie 20 Minuten im Autoklaven bei 120⁰. Darauf wurden die Kolben mit Mycel von *Pleurotus mutilus* auf Malz-Agar infiziert und während einer Woche auf der Schüttelmaschine inkubiert. Diese Zeit liess sich auf 3 - 4 Tagen verkürzen, wenn für Ueberimpfungen statt Mycel von Malz-Agar-Nährböden mycelhaltige Nährlösung direkt aus dem vorherigen Erlenmeyer-Züchtungsansatz verwendet wurde. Für die weitere Züchtung füllt man 10 Schüttelenten mit je 4 Liter der gleichen Nährlösung, verschloss und sterilisierte sie in derselben Weise und infizierte jede Ente mit dem Inhalt eines Erlenmeyerkolbens. Die Enten wurden eine Woche lang unter ständiger Durchleitung eines schwachen Luftstromes bei 22⁰ - 25⁰ geschüttelt. Je nach Wachstumsstadium des Mycels hatte der Pilz das Aussehen von pelzigen Kugeln oder von stark ineinander verhängten Fäden. Die Kulturen filtrierte man durch Tuch und trocknete den schwach beigefarbenen Pilz bis zur Gewichtskonstanz unter der Infrarotlampe. Durchschnittlich erhielt man 40 g getrocknetes Mycel pro Ente. Das Filtrat zeigte einen pH-Wert von 6,2 - 6,6.

Isolierung von Pleuromutilin (I)

Je 2 Liter Kulturfiltrat extrahierte man dreimal mit 200 ml Chloroform. Die sich ergebende Emulsion wurde an einer Schicht von geglühtem Seesand gebrochen, die Chloroformschicht abgetrennt und mit Natriumsulfat getrocknet. Diese Aufarbeitungsart ergab bei gut gewachsenen Züchtungsansätzen pro Ente 2 g klarbraunes, viskoses Rohprodukt. Oft begann das Rohprodukt nach längerem Stehenlassen zu kristallisieren. Durch Extraktion der ätherischen Lösung dieses Rohproduktes mit 2-n Natriumcarbonatlösung liessen sich ca 3 % saure Anteile isolieren, die nicht weiter untersucht wurden. Den Neutralteil löste man in Aethylacetat und gab bis zur Trübung Hexan zu. Sobald die Trübung eintrat, wurde die heisse Lösung durch Celite abgenutscht, wobei gewisse, die Kristallisation hindernde, schmierige Stoffe grösstenteils entfernt wurden. Aus Aethylacetat-Hexan und darauf aus Aether-Hexan oder Methylenchlorid-Hexan liess

sich Pleuromutilin langsam in kompakt verwachsenen Plättchen kristallisieren. Das kristalline Rohprodukt hatte einen Schmelzpunkt von 162° - 165° , der sich durch zwei bis drei Umkristallisationen auf 167° - 168° erhöhen liess. Die durchschnittliche Ausbeute an kristallinem Pleuromutilin betrug 300 mg pro Liter Kulturfiltrat. Pleuromutilin liess sich aus der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II) mit Benzol-Aether-Gemisch (5:1), aus der 60-fachen Menge sauer vorbehandeltem Silicagel³⁹⁾ mit Benzol-Aether-Gemisch (9:1) eluieren. Zur Analyse gelangten fünfmal umkristallisierte, entweder 48 Std. im HV bei 70° getrocknete oder im HV bei 150° sublimierte Präparate. 1-proz. Kaliumpermanganatlösung (Aceton) wird von Pleuromutilin sofort verfärbt. Die Farbreaktion mit TNM ist schwach hellgelb. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +55^{\circ}$ (c = 1,257). UV-Spektrum: $\lambda_{\text{Max.}} = 295 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 1,66$) und Endabsorption ($\log \epsilon = 2,43$ bei $210 \text{ m}\mu$).

IR-Spektrum: 3510, 3410, 3100, 2735, 1730-45, 1638, 1235, 1217, 934 und 919 cm^{-1} (Nujol).

3575, 1725-30, 1630, 1230-45, 933 und 914 cm^{-1} (Chloroform).

$\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_5$	Mittel aus 6 Bestimmungen:	gef. C 69,74	H 9,07 %
		ber. C 69,81	H 9,05 %
	Mittel aus 3 Bestimmungen:	gef. 10,47 % (C)- CH_3	
		ber. 3,97 %	

Aufarbeitung des radioaktiven Pilzmaterials aus einem Züchtungsversuch mit methylmarkierter Essigsäure

Nach viertägigem Wachstum wurde eine Schüttelente mit 100 μC sterilisierter ^{14}C -(2)-Essigsäure versetzt und 6 Tage damit inkubiert^{*)}. Nach normaler Chloroformextraktion des Kulturfiltrats erhielt man ohne Auswaschen saurer Anteile durch zweifache Kristallisation aus Aether-Hexan und Aethylacetat-Hexan 1,760 g Pleuromutilin der Aktivität 10,3 ipm/mg (Messung der Aktivität auf Tracerlab-100-Scaler). Zweifache Umkristallisation aus Aethylacetat-Petroläther ergab 950 mg Pleuromutilin vom Smp. 165° mit der Aktivität 9,2 ipm/mg. Zur Analyse gelangte eine Probe, welche 20 Std. im HV bei 90° getrocknet worden war.

*) $1 \mu\text{C} = 2,22 \cdot 10^6 \frac{\text{Ereignisse}}{\text{Minute}}$.

$C_{22}H_{34}O_5$	a) gef. C 69,64	H 8,89 %
	b) gef. C 69,88	H 8,83 %
	ber. C 69,81	H 9,05 %

Spezifische Radioaktivität *): a) 11.619 ipm/mMol C
b) 11.599 ipm/mMol C

Aufarbeitung des radioaktiven Pilzmaterials aus einem
Züchtungsversuch mit ^{14}C -(2)-Mevalonsäure **)

Eine Schüttelente wurde mit 10,5 mg = 0,081 mMol Mevalolacton (spez. Akt. = 7,85 μ C/mg), welches mit 3 ml 0,05-n Natriumhydroxydlösung sterilisiert worden war, während 6 Tagen inkubiert. Der konstante Belüftungsstrom wurde aus Sicherheitsgründen durch eine Flasche mit konz. Lauge geleitet. Nach normaler Aufarbeitung der Nährlösung mit Chloroform erhielt man 2,800 g viskoses Rohprodukt, welches sich aus ätherischer Lösung direkt kristallisieren liess. Man erhielt 1,600 g Pleuromutilin mit der Aktivität 320 ipm/mg. Nach Umkristallisation aus Aethylacetat-Hexan verblieben 1,280 g Pleuromutilin vom Smp. 165° - 166° . Direkte Messung der Aktivität von 9 mg auf einem 1 cm^2 -Plättchen ergab 1525 ipm.

39 g getrocknetes und fein zerriebenes Mycel wurden im Soxhletapparat mit Chloroform erschöpfend extrahiert. Der eingedampfte Extrakt wurde zu einer Lösung von 12 g Kaliumhydroxyd in 250 ml 90-proz. Methanol gegeben und 2 Std. unter Rückfluss verseift. Aus der normalen Aufarbeitung resultierten 357 mg Oel, welches man an neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III) filtrierte. Die eluierten 270 mg Oel lieferten nach Kristallisation und Umkristallisation aus Methylenchlorid-Hexan 37 mg Mutilin (IV) vom Smp. 193° und einer Aktivität von 1900 ipm (9 mg auf 1 cm^2).

Acetylierung von Pleuromutilin (I)

250 mg Pleuromutilin (I) wurden in einer Mischung von 10 ml Pyridin und 10 ml Acetanhydrid während 3 Tagen bei Zimmertemperatur stengelassen. Nach normaler Aufarbeitung erhielt man 300 mg Oel, welches beim Bespritzen mit Aether kristallisierte. Der Smp. von 144° - 145° änderte sich durch zwei weitere Umkristallisationen aus Aether-Hexan nicht mehr. Zur Analyse wurde das Präparat über Nacht im HV bei

*) Gemessen als CO_2 im Proportional-Zählrohr.

**) Herrn Dr. O. Isler, Hoffmann-LaRoche, Basel, seifür die Ueberlassung einer Probe radioaktiver Mevalonsäure bestens gedankt.

90° getrocknet. $[\alpha]_D^{20} = + 35^{\circ}$ (c = 1,078).

IR-Spektrum: 1730-45, 1640, 1255-60 und 918 cm^{-1} (Chloroform)

$\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_7$	gef. C 67, 11	H 8, 20 %
	ber. C 67, 51	H 8, 28 %

Es liegt Pleuromutilindiacetat (II) vor.

Hydrierung von Pleuromutilindiacetat (II)⁺

100 mg Pleuromutilindiacetat (II) wurden mit 120 mg 10-proz. Palladiumkohle in äthanolischer Lösung hydriert. Nach zweimaligem Umkristallisieren des kristallinen Rohproduktes aus verd. Aethanol erhielt man 50 mg feine Kristallnadeln vom Smp. 183°. Zur Analyse wurde das Präparat 30 Std. im HV bei 75° getrocknet.

$[\alpha]_D^{20} = + 52^{\circ}$ (c = 0,880).

IR-Spektrum: 1730-50, 1245 und 1205 cm^{-1} (Kaliumbromid).

$\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_7$	gef. C 67, 23	H 8, 60 %
	ber. C 67, 21	H 8, 68 %

Es liegt Dihydropleuromutilindiacetat (XIX) vor.

Katalytische Hydrierung von Pleuromutilin (I)

55 mg Pleuromutilin (I) wurden in 15 ml Aethanol gelöst und mit 100 mg vorhydrierter 10-proz. Palladiumkohle als Katalysator hydriert. Die Wasserstoffaufnahme betrug 5 ml. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators über Celite verblieben 58 mg weisser Schaum, der an der 40-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert wurde. Mit Benzol-Aether-Gemischen eluierte man 50 mg Kristalle, die nach zweimaliger Umkristallisation aus Aether-Hexan einen Smp. von 150,5° aufwiesen. Zur Analyse trocknete man eine Probe über Nacht im HV bei 90°. $[\alpha]_D^{20} = + 23^{\circ}$ (c = 0,980). TNM-Probe negativ. Oxydationsgeschwindigkeit: $k^* = 17$. 1-proz. Kaliumpermanganatlösung wird nicht entfärbt. Die Verbindung sublimiert im HV nur langsam.

IR-Spektrum: 3620, 3540, 1725-30, 1240 und 914 cm^{-1} (Chloroform).

$\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_5$	gef. C 69, 22	H 9, 45 %
	ber. C 69, 44	H 9, 54 %

Es liegt Dihydropleuromutilin (III) vor.

⁺ Alle mit diesem Zeichen versehenen Experimente wurden von Frl. R. Wanger, Diplomarbeit 1960, mitbearbeitet.

Dieselbe Verbindung lässt sich auch durch katalytische Hydrierung von Pleuromutilin (I) mit Platinoxid in Aethanollösung gewinnen.

Alkalische Hydrolyse von Pleuromutilin (I)

1, 200 g Pleuromutilin (I) wurden in 20 ml 5-proz. methanolischer Kaliumhydroxyd-lösung während 2 Std. unter Rückfluss gekocht.

Nach normaler Aufarbeitung resultierte 1 g kristallines, neutrales Rohprodukt vom Smp. 187°-189°, welches nach zweimaliger Umkristallisation aus Methylenchlorid-Hexan bei 192°-193° schmolz. Zur Analyse gelangte ein im HV bei 155° sublimiertes Präparat. $[\alpha]_D^{20} = +74^\circ$ (c = 0,937). Die Farbreaktion mit TNM war schwach gelb. Bei der Mikrooxydation verbrauchte die Verbindung 4 Äquivalente Chrom(VI)oxyd. Rotationsdispersionskurve (Chloroform): positiver Cottoneneffekt mit einer Amplitude von $\Delta[M]_{324-280} = 9000^\circ$.

IR-Spektrum: 3630, 1730, 1636 und 923 cm^{-1} (Chloroform)
3580, 3480, 3090, 1732, 1642 und 914 cm^{-1} (Kaliumbromid)
3560, 3480, 3100, 1728, 1640 und 920 cm^{-1} (Nujol)

$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_3$	gef. C 74,67	H 9,96 %
	ber. C 74,96	H 10,06 %
	gef. 11,07 %	(C)- CH_3
	ber. 4,69 %	

Es liegt Mutilin (IV) vor.

Der wässrig-alkalische Auszug der Aufarbeitung wurde im Rotationsdünnschichtverdampfer auf 150 ml eingengt und mit verd. Schwefelsäure auf pH = 2 angesäuert. Darauf extrahierte man das Konzentrat im Kutscher-Stuedel-Apparat während 3 Tagen mit 800 ml Aether. Nach dem Trocknen und Abdampfen des Lösungsmittels erhielt man 195 mg kristallines Rohprodukt vom Smp. 180°. Nach Umkristallisation aus Aceton-Hexan in der Kälte ergaben sich 112 mg Kristalle vom Smp. 82°-83°. Zur Analyse sublimierte man das Produkt im HV bei 70°. Die Mischprobe mit Glykolsäure zeigte keine Depression. Das IR-Spektrum in Nujol war identisch mit jenem einer authentischen Probe. Äquivalentgewicht: gef. 75, ber. 76.

$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_3$	gef. C 30,71	H 5,28 %
	ber. C 31,58	H 5,30 %

Acetylierung von Mutilin (IV)

500 mg Mutilin (IV) wurden wie üblich acetyliert und in normaler Weise aufgearbeitet. Chromatographie des Rohproduktes an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III) lieferte

a) mit Petroläther-Benzol (9:1) 40 mg Kristalle, die nach zweimaliger Umkristallisation aus Methanol bei 199^o-200^o schmolzen. Die Farbreaktion mit TNM war schwach gelb. IR-Spektrum: 1720-35, 1640, 1250-60 und 920 cm⁻¹ (Chloroform).

Es liegt Mutilin-A, B-diacetat (VI) vor.

b) mit Petroläther-Benzol (9:1) 400 mg Kristalle vom Smp. 162^o-167^o, welche nach zwei Umkristallisationen aus Methylenchlorid-Hexan und Aceton-Hexan 200 mg Kristalle vom Smp. 173^o-174^o ergaben. Zur Analyse wurde das Präparat über Nacht im HV bei 70^o getrocknet. Die Farbreaktion mit TNM war schwach gelb. $[\alpha]_D^{20} = +69^{\circ}$ (c = 0,948). IR-Spektrum: 3630, 1725-35, 1640, 1255 und 925 cm⁻¹ (Chloroform).

C ₂₂ H ₃₄ O ₄	gef. C 72,43	H 9,39 %
	ber. C 72,89	H 9,45 %

Es liegt Mutilin-B-acetat (V) vor.

Oximierung von Mutilin (IV)

100 mg Mutilin (IV) wurden in 2 ml Aethanol und 1,5 ml Pyridin gelöst und mit 110 mg Hydroxylaminhydrochlorid 2 Std. bei 85^o gehalten. Das Reaktionsgemisch wurde normal aufgearbeitet. 90 mg Neutralteil wurden aus Methylenchlorid-Hexan kristallisiert. Nach zweimaliger Umkristallisation verblieben 34 mg Kristalle vom Smp. 206^o-210^o; weitere Kristallisation aus Aether und dann aus Methylenchlorid ergab 10 mg Kristalle vom Smp. 216^o-220^o, die zur Analyse über Nacht im HV bei Zimmertemperatur getrocknet wurden. IR-Spektrum: 3650 cm⁻¹ (Chloroform).

C ₂₀ H ₃₃ O ₃ N	gef. C 71,60	H 9,86 %
	ber. C 71,60	H 9,92 %

Es liegt das Oxim VII vor.

Mutilin-B-monobromacetat (VIII)

320 mg Mutilin (IV) wurden in 30 ml Benzol erwärmt, darauf gab man 360 mg Bromacetanhydrid (Fluka purum) zu und hielt die Mischung 10 Minuten lang im heißen Wasserbad. Darauf wurde 1 ml Pyridin zugefügt, wobei sich die Lösung trübte und eine gelbe Fällung ausschied. Nach weiterem Erwärmen während 30 Minuten auf 75° wurde die Mischung normal aufgearbeitet. Man erhielt 350 mg öliges Rohprodukt, das durch Kristallisation aus verd. Methanol in der Kälte 120 mg Kristalle vom Smp. 163°-165° ergab. Umkristallisation aus verd. Methanol lieferte 62 mg harte Kristallkörner vom Smp. 170° - 171°. Sublimation der Verbindung im HV bei 145° ergab Kristallnadeln vom Smp. 171°. $[\alpha]_D^{20} = +53^\circ$ (c = 1, 150). Beilsteinprobe positiv. Die röntgenographische Vermessung der Verbindung ergab folgende Konstanten der monoklinen Einheitszelle: a. sin β = 10,08 Å, b = 11,47 Å und c = 9,38 Å. Daraus ergibt sich das Volumen V = 1084,5 Å³. Die Dichtemessung ergab einen Durchschnittswert von d = 1,364 g/cm³. Aus V und d errechnet sich das Molekulargewicht zu 445,4 (ber. für C₂₂H₃₃O₄Br: 441,3).

C ₂₂ H ₃₃ O ₄ Br	gef. C 59,86	H 7,54 %
	ber. C 59,86	H 7,54 %

A, B, C-Trihydroxyderivat (IX)

a) 400 mg Pleuromutilin (I) wurden in 25 ml abs. Dioxan mit 600 mg Natriumborhydrid über Nacht unter Rückfluss gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde in 100 ml kalte 0,2-n Schwefelsäure getropft, die Lösung mit 2-n Natriumhydroxydlösung alkalisch gemacht und normal aufgearbeitet. Man erhielt 390 mg neutrales, farbloses Oel, das beim Bespritzen mit Methylenchlorid kristallisierte. Nach Umkristallisation aus Methylenchlorid-Hexan lag der Smp. bei 186°-188°. Chromatographie an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III) lieferte mit Benzol 250 mg Kristalle vom Smp. 189°-190°, die nach Umkristallisation aus Methylenchlorid-Aether-Hexan bei 191° schmolzen. Zur Analyse wurde eine Probe über Nacht im HV bei 70° getrocknet. $[\alpha]_D^{20} = -53^\circ$ (c = 0,890). Die Farbreaktion mit TNM war schwach gelb.

IR-Spektrum: 3625, 3460-3500, 1632, 1230-50 und 925 cm⁻¹ (Chloroform).
3610, 3440, 3060, 1638 und 901 cm⁻¹ (Nujol).

C ₂₀ H ₃₄ O ₃	Mittel aus 4 Bestimmungen	gef. C 74,27	H 10,54 %
		ber. C 74,49	H 10,63 %

Dieselbe Verbindung (IX) gewinnt man auch durch analoge Behandlung von Mutilin (IV).

b) 2,1 g Pleuromutilin (I) wurden in 250 ml abs. Aether mit 4,5 g Lithiumaluminiumhydrid 7 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen zersetzte man das überschüssige Hydrid durch Zutropfen von Aethylacetat und anschliessend von Wasser. Das Reaktionsgemisch wurde in verd. Schwefelsäure gelöst und mit Aether normal aufgearbeitet. Die resultierenden 1,870 g kristallines Rohprodukt wurden an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert. Mit Benzol und mit Benzol-Aether (9:1) wurden 1,370 g Kristalle eluiert. Nach Umkristallisation aus Methylchlorid-Hexan verblieben 1,110 g feine Kristallschuppen vom Smp. 190° , welche bei der Mischprobe mit dem unter a) beschriebenen Produkt keine Depression ergaben.

A, B, C-Trioxoderivat (X)

1,200 g Mutilin (IV) wurden in 100 ml 80-proz. Essigsäure mit 1 g Chrom(VI)-oxyd gelöst und 6 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Das Reaktionsgemisch wurde auf Eis gegossen, der Ueberschuss des Oxydationsmittels mit Natriumsulfit zerstört und die Lösung normal aufgearbeitet. Man erhielt 930 mg viskoses, klares Oel, welches beim Bespritzen mit Pentan durchkristallisierte. Durch Umkristallisation aus Hexan in der Kälte erhöhte sich der Smp. von ca. 103° auf 106° - 107° . Zur Analyse wurde eine Probe im HV bei 100° sublimiert. Die Farbreaktion mit TNM war schwach gelb und mit Eisen(III)chloridlösung zeigte die Verbindung keine Färbung.

$$[\alpha]_D^{20} = -12^{\circ} (c = 1, 264).$$

IR-Spektrum: 1738, 1700, 1635 und 925 cm^{-1} (Chloroform).

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$	Mittel aus 2 Bestimmungen:	gef. C 75,81	H 8,95 %
		ber. C 75,91	H 8,92 %

Verbindung X lässt sich durch analoge Behandlung auch aus A, B, C-Trihydroxyderivat (IX), A-Hydroxy-B, C-dioxoderivat (XIII) und A, C-Dihydroxy-B-oxoderivat (L) gewinnen.

Ein in der üblichen Art hergestelltes 2,4-Dinitrophenylhydrazon wies nach zwei Umkristallisationen aus Methylchlorid-Methanol einen Smp. von 250° - 251° auf. Zur Analyse trocknete man das Präparat 20 Std. im HV bei 90° .

IR-Spektrum: 3330, 3100, 1704, 1625, 1600, 925 und 835 cm^{-1} (Chloroform)

$C_{26}H_{32}O_6N_4$	gef.	C 62,49	H 6,52	N 11,38 %
	ber.	C 62,89	H 6,50	N 11,28 %

Es liegt das Mono-2, 4-Dinitrophenylhydrazon von Verbindung X vor.

Dihydro-A, B, C-trioxoderivat (XXII)

200 mg von Verbindung X wurden in Aethanolösung mit 10-proz. Palladiumkohle als Katalysator hydriert. Die Wasserstoffaufnahme betrug 17 ml. Nach Filtration an Celite erhielt man 118 mg Kristalle vom Smp. 112° - 114° . Nach dreifacher Umkristallisation aus Methanol erhielt man feine Kristallnadeln vom Smp. $114,5^{\circ}$. Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 110° . $[\alpha]_D^{20} = +40^{\circ}$ ($c = 0,527$).
IR-Spektrum: 1739 und 1698 cm^{-1} (Chloroform).

$C_{20}H_{30}O_3$	gef.	C 75,36	H 9,55 %
	ber.	C 75,43	H 9,50 %

Oxydation von Pleuromutilin (I) mit Chrom(VI)oxyd

750 mg Pleuromutilin (I) wurden mit 300 mg Chrom(VI)-oxyd in 18 ml 90-proz. Essigsäure 6 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach Zerstörung des überschüssigen Oxydationsmittels mit Methanol und normaler Aufarbeitung erhielt man 600 mg kristallines Rohprodukt. Nach Umkristallisation aus Methylenchlorid-Hexan ergaben sich 340 mg längliche, prismaförmige Kristalle vom Smp. 181° - 182° . Zur Analyse wurde das Produkt im HV bei 150° sublimiert. $[\alpha]_D^{20} = -8^{\circ}$ ($c = 1,038$).
IR-Spektrum: 3500 , $1720-30$, 1690 , 1628 und 928 cm^{-1} (Chloroform)

$C_{22}H_{32}O_5$	gef.	C 69,76	H 8,45 %
	ber.	C 70,18	H 8,57 %

Es liegt Pleuromutilon (XI) vor.

Das in üblicher Weise hergestellte Acetat (XII) zeigte im IR-Spektrum keine Banden für Hydroxylgruppen.

Milde alkalische Verseifung von Pleuromutilon (XI)

100 mg Pleuromutilon (XI) wurden in 5 ml 5-proz. methanolischer Kaliumhydroxyd-lösung während 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Normale Aufarbeitung ergab 92 mg Kristalle vom Smp. 154⁰-157⁰. Nach zweifacher Umkristallisation aus Aether-Hexan verblieben 67 mg Kristalle vom Smp. 160⁰. Zur Analyse wurde das Präparat 20 Std. im HV bei Zimmertemperatur getrocknet. $[\alpha]_D^{20} = -53^{\circ}$ ($c = 1,044$).

IR-Spektrum: 3600, 1729, 1693, 1632 und 910-25 cm⁻¹ (Chloroform).

Oxydationsgeschwindigkeit: $k^* = 0,84$.

C ₂₀ H ₃₀ O ₃	gef.	C 74,96	H 9,32 %
	ber.	C 75,43	H 9,50 %

Es liegt das A-Hydroxy-B, C-dioxoderivat (XIII) vor.

Dihydro-A-hydroxy-B, C-dioxoderivat (XXXIII)

1 g von Verbindung XIII wurde in Aethanolösung mit 1 g vorhydrierter Palladiumkohle hydriert. Die Wasserstoffaufnahme betrug 85 ml. Nach Filtration an neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III) ergaben sich 950 mg Kristalle vom Smp. 164⁰ - 165⁰. Zur Analyse wurde eine Probe im HV bei 155⁰ sublimiert und ergab Kristalle vom Smp. 166⁰. $[\alpha]_D^{20} = -3^{\circ}$ ($c = 0,843$).

IR-Spektrum: 3650, 1735-40 und 1695 cm⁻¹ (Chloroform)
3480, 1738 und 1722, 1689 cm⁻¹ (Nujol).

Die Verbindung zeigt Dimorphismus, denn beim Umkristallisieren eines anderen Ansatzes aus Aether-Hexan und Aceton-Hexan ergab sich ein Smp. von 199⁰.

C ₂₀ H ₃₂ O ₃	gef.	C 74,95	H 10,00 %
	ber.	C 74,96	H 10,06 %

Oxydation von Mutilin-B-acetat (V) mit Chrom(VI)oxyd

150 mg Mutilin-B-acetat (V) wurden in einer Lösung von 200 mg Chrom(VI)oxyd in 12 ml 85-proz. Essigsäure 5 Std. bei Zimmertemperatur stengelassen. Die normale Aufarbeitung lieferte 125 mg nadelförmige Kristalle vom Smp. 205⁰. Nach Umkristallisation aus Aether-Hexan und zweimaliger Umkristallisation aus Methylenchlorid-Hexan erhielt man 32 mg Kristalle vom Smp. 208⁰. Zur Analyse trocknete man

eine Probe 4 Std. im HV bei 90°, $[\alpha]_D^{20} = + 55^\circ$ (c = 0, 983).

IR-Spektrum: 1730, 1700, 1635-45, 1255 und 920-25 cm⁻¹ (Chloroform).

C ₂₂ H ₃₂ O ₄	gef.	C 72,67	H 8,84 %
	ber.	C 73,30	H 8,95 %

Es liegt das A, C-Dioxo-B-acetoxyderivat (XIV) vor.

A, C-Dioxo-B-hydroxyderivat (XV)

140 mg von Verbindung XIV wurden in 20 ml 10-proz. äthanolischer Kaliumhydroxydlösung über Nacht unter Rückfluss gekocht. Normale Aufarbeitung ergab 82 mg viskoses, gelbes Oel, welches an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert wurde. Mit Petroläther-Benzol (1:1) eluierte man 45 mg kristallisierbares Produkt. Nach Umkristallisation aus Hexan verblieben 34 mg Kristalle vom Smp. 126°. Zur Analyse wurde eine Probe im HV bei 115° sublimiert. $[\alpha]_D^{20} = + 63^\circ$ (c = 0, 635).

IR-Spektrum: 3600, 3090, 1730, 1683, 1640, 928 und 918 cm⁻¹ (Nujol).

C ₂₀ H ₃₀ O ₃	Mittel aus 2 Bestimmungen	gef.	C 75,55	H 9,41 %
		ber.	C 75,43	H 9,50 %

Dimethylester XVII

690 mg Mutilin (IV) wurden in 100 ml abs. Benzol gelöst und mit 25 ml abs. Aethylformiat und 4 g Natriumhydrid (Fluka pract.) über Nacht bei Zimmertemperatur vibriert⁴⁰⁾. Nach Zufügen von 1 g Natriumhydrid wurde die Mischung noch 8 Std. weitervibriert. Man zerstörte das überschüssige Hydrid mit Methanol, goss das Reaktionsgemisch auf Eis und extrahierte es mit Aether. Die Aetherschicht schüttelte man dreimal mit eisgekühlter 2-n Natriumhydroxydlösung aus und säuerte den alkalischen Extrakt in der Kälte sofort mit verd. Schwefelsäure an. Nach normaler Aufarbeitung dieser Lösung erhielt man 850 mg hellbraunes, amorphes Produkt, welches ohne weitere Reinigung zur oxydativen Spaltung verwendet wurde. Das Produkt ergab mit Eisen(III)chloridlösung eine dunkelviolette Farbreaktion. UV-Spektrum:

$\lambda_{\text{Max.}} = 269 \text{ m}\mu$ (log $\epsilon = 3,57$).

Es liegt die Hydroxymethylenverbindung XVI vor.

850 mg Hydroxymethylenverbindung XVI wurden in einer Mischung von 25 ml Methanol, 40 ml 2-n Natriumhydroxydlösung und 20 ml 30-proz. Wasserstoffperoxyd über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Der Ueberschuss an Peroxyd wurde darauf mit Natriumsulfit zerstört, die Lösung angesäuert und normal aufgearbeitet. Man erhielt 915 mg weisse, amorphe saure Anteile, die man an der 100-fachen Menge sauer vorbehandeltem Silicagel³⁹⁾ chromatographierte.

Mit Benzol-Aether (1:1) konnten 550 mg weisses, amorphes Pulver mit einem Erweichungspunkt von ca. 120° und pK_{MCS}^* -Werten von 5,73 und 9,91 eluiert werden. Es liegt die seco-Dicarbonsäure XVIIb vor.

Mit Aether eluierte man 135 mg eines öligen Produktes. Nach Kristallisation und Umkristallisation aus Aceton-Chloroform-Heptan erhielt man 34 mg feine Kristallnadeln vom Smp. 233°-236° (Zers.) und mit den pK_{MCS}^* -Werten von 7,12 und 8,75. IR-Spektrum: 3570, 2700-3300, 1715, 1640 und 918 cm^{-1} (Nujol).

Es liegt die epimere seco-Dicarbonsäure (XVIIa) vor.

450 mg amorphe seco-Dicarbonsäure (XVIIb) wurden in Aether mit einer Spur Methanol gelöst und bis zur bleibenden Gelbfärbung mit frisch destillierter Diazomethanlösung versetzt. Nach 15-minütigem Stehenlassen saugte man das Lösungsmittel am Wasserstrahlvakuum ab und chromatographierte das klare, ölige Rohprodukt (450 mg) an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II). Mit Petroläther-Benzol (2:1) und mit Benzol wurden 294 mg Kristalle eluiert, welche nach Umkristallisation aus Methylenchlorid-Isopropyläther bei 144°-145° schmolzen. Zur Analyse wurde das Präparat 48 Std. im HV bei 40° getrocknet. $[\alpha]_D^{20} = +56^{\circ}$ (c = 0,900). IR-Spektrum: 3640-3580, 1725, 1640 und 922 cm^{-1} (Chloroform).

$C_{22}H_{36}O_6$	gef.	C 66,51	H 9,08 %	gef.	15,91 % -OCH ₃
	ber.	C 66,64	H 9,14 %	ber.	7,84 %

Es liegt der Dimethylester XVII vor.

110 mg Dimethylester XVII wurden in Aethanolösung mit 10-proz. Palladiumkohle hydriert. Filtration der Benzollösung des Rohproduktes an neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II) lieferte 100 mg Kristalle vom Smp. 167°-168°.

IR-Spektrum: 3500 und 1710-20 cm^{-1} (Nujol).

Es liegt der Dihydro-dimethylester XVIII vor.

Bromierung von Dihydropleuromutilindiacetat (XIX)^{12) +)}

40 mg von Verbindung XIX wurden in 10 ml einer unten beschriebenen Bromierungslösung im Dunkeln verschlossen stehengelassen. In bestimmten Zeitintervallen wurde jeweils 1 ml der Lösung entnommen, mit 5 ml 10-proz. Kaliumjodidlösung, 1 ml 1-n Schwefelsäure und 3 Tropfen Stärkelösung versetzt und mit 0,01-n Natriumthiosulfatlösung titriert. Eine Blindprobe wurde daneben genau gleich behandelt.

Tabelle des zeitlichen Verlaufs der Substitution der α -Wasserstoffatome im Fünferingketon durch Brom:

Nach dem	1. Tag:	1,64 Br	11. Tag:	2,78 Br
	6. Tag:	2,40 Br	15. Tag:	2,94 Br
	7. Tag:	2,44 Br	18. Tag:	2,94 Br
	9. Tag:	2,52 Br		

Bromierungslösung: 200 ml stab. Eisessig, 4 g Brom, 0,25 ml ges. Bromwasserstoffsäurelösung.

Selendehydrierung von Mutilin (IV)

4,4 g Mutilin (IV) wurden mit 13,2 g frisch gefälltem grauem Selen gut verrieben und in 2 Ansätzen in 25 ml-Jenaerkolben, die durch 1 m lange angeschmolzene Steigrohre mit einer Vorlage und einem Trockenturm (gefüllt mit Chlorkalk) verbunden waren, dehydriert. Man erhitze die Kolben 20 Std. lang in einem Metallbad bei 300⁰-320⁰, zertrümmerte sie und extrahierte die Scherben samt Inhalt im Soxhletapparat mit tiefsiedendem Petroläther. Man erhielt 800 mg öliges, gelbes Rohprodukt, welches im Hickmann-Kolben fraktioniert wurde.

1. Fraktion: 130⁰/10 mm Hg : 190 mg (ξ bei 252 mp: 2160)
2. Fraktion: 100⁰-120⁰/0,01 mm Hg : 380 mg (ξ bei 252 mp: 11600)
3. Fraktion: 150⁰-160⁰/0,01 mm Hg : 70 mg (ξ bei 252 mp: 7020)

Man chromatographierte Fraktion 2 an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III), wobei mit Pentan-Benzol (9:1 bis 1:1) 200 mg kristallines Material vom Smp. 42⁰ eluiert wurden. Zweimaliges Umkristallisieren aus Pentan bei tiefer Temperatur erhöhte den Smp. auf 45⁰. Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV (Kühlung!). NMR-Spektrum (25 MHz)^{*)}: 2 Singlette bei δ = 2,31 und 2,61 (2 Methyl-

*) Für die Aufnahme dieses Spektrums danke ich Herrn P. Bommer bestens.

gruppen am Benzolkern entsprechend) und Signal bei $\delta = 7,30$ (2 Benzolprotonen entsprechend).

UV-Spektrum: $\lambda_{\text{Max.}} = 307 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,51$), $252 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,12$) und $213 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,50$)
 $\lambda_{\text{Max.}} = 307 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,41$), $292 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,41$), $252 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,98$), $244 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,03$) und $216 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,11$) in Pentan.

IR-Spektrum: 3020, 1700, 1610, 1594, 1486, 1453, 1410, 1392, 1380, 835 und 810 cm^{-1} (Chloroform).

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}$	gef. C 82,42	H 7,55 %
	ber. C 82,46	H 7,55 %

Es liegt das 6,7-Dimethylindanon-(1) (XX) vor.

Ein in üblicher Weise hergestelltes 2,4-Dinitrophenylhydrazon wies nach mehrfacher Umkristallisation aus Chloroform einen Smp. von 288° (Zers.) auf. Zur Analyse wurde das Präparat über Nacht im HV bei 100° getrocknet.

$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_4$	gef. C 59,83	H 4,76	N 16,53 %
	ber. C 59,99	H 4,74	N 16,46 %

Es liegt das 2,4-Dinitrophenylhydrazon (XXI) vor.

Unter gleichen Dehydrierungsbedingungen erhielt man aus 1 g A, B, C-Trihydroxyverbindung (IX) 50 mg desselben Indanons (XX).

Unter gleichen Dehydrierungsbedingungen erhielt man aus 450 mg Dihydro-seco-A, B, C-trioxoderivat (XXIV) 25 mg desselben Indanons (XX).

Reduktion von 6,7-Dimethylindanon-(1) (XX) nach Clemmensen

7 g Zinkwolle wurden entfettet und mit 1 g Quecksilber(II)chlorid in 15 ml Wasser und 0,3 ml 2-n Salzsäure 30 Minuten heftig geschüttelt, dann mit Wasser und Methanol gewaschen und getrocknet. 95 mg von Verbindung XX wurden in 4 ml Eisessig und 1 ml Toluol gelöst, 2,25 ml konz. Salzsäure und 0,25 ml Wasser zugefügt und das Ganze mit 2 g der amalgamierten Zinkwolle 20 Std. unter Rückfluss gekocht. Dreimal während dieser Zeit fügte man 1 ml konz. Salzsäure zu. Das Gemisch wurde mit Wasser verdünnt und mit Pentan normal aufgearbeitet. Nach dem Trocknen dampfte man das Lösungsmittel über einen Widmer-Kolonnenaufsatz ab und destillierte das ölige Rohprodukt im Miniaturkragenkolben. Bei 50° - 70° Badtemperatur und 12 mm Hg erhielt man 63 mg klare, farblose Flüssigkeit. $n_{\text{D}}^{22} = 1,5357$.

UV-Spektrum: $\lambda_{\text{Max.}}$ = 279 mp ($\log \epsilon = 2,87$), 270 mp ($\log \epsilon = 2,85$) und
218 mp ($\log \epsilon = 3,95$).

IR-Spektrum: 3020, 1610, 1485, 1468, 1388, 1378, 1315, 1150 und 1010 cm^{-1}
(Tetrachlorkohlenstoff).

$\text{C}_{11}\text{H}_{14}$	gef.	C 90,50	H 9,59 %
	Ber.	C 90,35	H 9,65 %

Im Gaschromatogramm liess sich die erhaltene Verbindung auf einer Apiezonkolonne nicht von authentischem 4,5-Dimethylindan unterscheiden *) 13). Auch IR-Spektrum und Brechungsindex (Lit.: $n_{\text{D}}^{23} = 1,5367$) stimmten überein.

Oxydativer Abbau von 6,7-Dimethylindanon-(1) (XX)+)

50 mg von Verbindung XX wurden mit 0,25 ml rauchender Salpetersäure und 0,25 ml Wasser in ein Pyrexglasrohr eingeschmolzen und im Bombenrohr 14 Std. auf 120° erwärmt. Beim Abkühlen fielen spontan 14 mg Kristalle aus. Durch Extraktion der Mutterlauge mit Aether im Kutscher-Stuedel-Apparat erhielt man weitere 10 mg Kristalle. Die Substanz wurde in Aether gelöst und mit Diazomethan versetzt. Das resultierende Produkt war kristallin und wurde aus Methylenechlorid-Methanol umkristallisiert. Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 90° , Smp. 128° .

IR-Spektrum: 3440, 3020, 1730, 1600, 1580, 1475, 1440, 866, 857, 814, 807, 753,
730 und 695 cm^{-1} (Kaliumbromid).

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_8$	gef.	C 54,18	H 4,33 %
	ber.	C 54,19	H 4,55 %

Die Verbindung wurde auf Grund von Mischprobe und IR-Spektrum mit authentischem Benzol-1,2,3,4-tetracarbonsäuretetramethylester identifiziert.

Dihydro-seco-A, B, C-trioxoderivat (XXIV)

a) 800 mg von Verbindung XXII wurden in 40 ml 5-proz. methanolischer Kaliumhydroxydlösung über Nacht unter Rückfluss gekocht. Nach normaler Aufarbeitung ergaben sich 800 mg neutrales Öl, das an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert wurde. Mit Petroläther-Benzol (4:1) eluierte man 380 mg

*) Mitbearbeitet von C. R. Schnell, Diplomarbeit 1961.

Ausgangsmaterial und mit Petroläther-Benzol (1:1) 400 mg klares, farbloses Oel, welches beim Bespritzen mit Methanol kristallisierte, Smp. 102^o-104^o. Durch Umkristallisation aus Hexan erhielt man 350 mg Kristalle vom Smp. 107^o. Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 100^o. Die Farbreaktion mit TNM war gelb.

$$[\alpha]_D^{20} = + 228^{\circ} (c = 0, 770).$$

UV-Spektrum: $\lambda_{\text{Max.}} = 237 \text{ m}\mu$ ($\log \xi = 4, 08$).

IR-Spektrum: 1695 und 1650 cm^{-1} (Chloroform).
1712, 1700 und 1649 cm^{-1} (Nujol).

$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_3$	gef.	C 75, 43	H 9, 43 %
	ber.	C 75, 43	H 9, 50 %

b) Zur gleichen Verbindung gelangt man, ausgehend vom A, B, C-Trioxoderivat (X), durch analoge alkalische Behandlung und anschließende Hydrierung des entstandenen amorphen Isomeren (XXIII) (UV-Spektrum: $\lambda_{\text{Max.}} = 237 \text{ m}\mu/4, 0$; IR-Spektrum: 1698, 1650 und 924 cm^{-1} in Chloroform) mit Palladiumkohle in Aethanollösung.

Katalytische Hydrierung von Dihydro-seco-A, B, C-trioxoderivat (XXIV)

145 mg von Verbindung XXIV wurden in 20 ml Eisessig gelöst und mit 150 mg vorhydriertem Platinoxid hydriert. Die Wasserstoffaufnahme betrug 32 ml in 5 Std. Das ölige Rohprodukt wurde an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert.

a) Mit Petroläther eluierte man 70 mg klares, farbloses Oel, welches bei 80^o-85^o/0,05 mm Hg destilliert wurde. Die Farbreaktion mit TNM war stark gelb, das UV-Spektrum aber leer. $[\alpha]_D^{20} = + 5^{\circ} (c = 0, 710)$.

IR-Spektrum: 1695, (1648) cm^{-1} (Chloroform).

$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$	gef.	C 79, 31	H 11, 31 %
	ber.	C 78, 89	H 10, 59 %

Es liegt das Reduktionsprodukt XXVI vor.

b) Mit Benzol eluierte man 30 mg semikristallines Produkt, welches nach 2 Umkristallisationen aus Aether-Hexan bei 171^o-172^o schmolz. Zur Analyse sublimierte man das Präparat im HV bei 120^o.

IR-Spektrum: 3620, 1732 und 1690 cm^{-1} (Chloroform).

$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_3$	gef.	C 74,49	H 9,96%
	ber.	C 74,49	H 10,63%

Es liegt das Reduktionsprodukt XXV vor.

Ozonisation von Dihydro-seco-A, B, C-trioxoderivat (XXIV)

500 mg von Verbindung XXIV wurden in 50 ml Aethylacetat gelöst und bei -40° während 30 Minuten mit einem Ozonstrom von ca. 25 mg $\text{O}_3/\text{Min.}$ behandelt. Die tiefblaue Lösung engte man am Wasserstrahlvakuum ein und verkochte den Rückstand mit Wasser. Nach normaler Aufarbeitung erhielt man 140 mg saure Anteile, die nicht weiter charakterisiert wurden. Der Neutralteil (XXVII) (330 mg) stellte ein gelbliches, viskoses Oel dar. IR-Spektrum: 1700-1715 cm^{-1} (Chloroform). Chromatographie an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II) ergab mit Benzol-Aether (1:1) 110 mg braunes Oel, welches aus Methanol kristallisiert wurde. Umkristallisation aus Aceton-Hexan lieferte 42 mg bräunliche Kristalle vom Smp. 204° - 206° (Zers.). Zweifache Umkristallisation aus Aceton-Chloroform ergab 16 mg farblose, harte Kristallkörner vom Smp. 205° - 206° . Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 170° , Smp. 208° - 209° .

UV-Spektrum: $\lambda_{\text{Max.}}$ = 296 $\text{m}\mu$ ($\log \xi = 3,49$), Schulter bei 225 $\text{m}\mu$ ($\log \xi = 3,83$)
und Endabsorption ($\log \xi = 4,15$ bei 210 $\text{m}\mu$).
 $\lambda_{\text{Max.}}$ = 219 $\text{m}\mu$ ($\log \xi = 3,75$) in 0,01-n KOH/Feinsprit.

IR-Spektrum: 3200-3400, 1675, 1622, 1600 und 815 cm^{-1} (Nujol).

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_4$	gef.	C 71,64	H 8,50 %
	ber.	C 72,26	H 8,49 %

Es liegt das Phenol XXVIII vor.

Uebliche Acetylierung von XXVIII und Chromatographie an neutralem Aluminiumoxyd lieferte ein amorphes Phenoldiacetat (XXX) (IR-Spektrum: 1762, 1703 und 1192 cm^{-1} in Chloroform) und ein amorphes Phenolmonoacetat (XXIX) (IR-Spektrum: 3610, 3400-3500, 1756, 1700, 1660, 1600, 1197 und 810 cm^{-1} in Chloroform).

Dihydro-seco-A-Hydroxy-B, C-dioxoderivat (XXXII)

a) 910 mg von Verbindung XXXIII wurden in 60 ml 10-proz. äthanolischer Kaliumhydroxydlösung über Nacht unter Rückfluss gekocht. Nach normaler Aufarbeitung erhielt man 840 mg neutrales, viskoses Oel. UV-Spektrum: $\lambda_{\text{Max.}} = 238 \text{ m}\mu$ ($\log \xi = 4, 0$).

b) Zum selben Produkt gelangt man durch analoge Behandlung von Pleuromutilon (XI) oder A-Hydroxy-B, C-dioxoderivat (XIII) über die ölige seco-A-Hydroxy-B, C-dioxoverbindung (XXXI) (UV-Spektrum: $\lambda_{\text{Max.}} = 238 \text{ m}\mu/4, 1$; IR-Spektrum: 3300, 1695, 1620 und 925 cm^{-1} in Chloroform) und anschließende katalytische Hydrierung der letzteren mit Palladiumkohle in Aethanollösung.

Seco-bis-nor- γ -Lacton (XXXIV)+

840 mg von Verbindung XXXII wurden in 12 ml Eisessig gelöst und mit 17,5 ml 5-proz. Chrom(VI)oxydlösung versetzt (875 mg Chrom(VI)oxyd = 5 Äquivalente). Nach dem Stehenlassen über Nacht wurde das überschüssige Oxydationsmittel mit Methanol zerstört und das Reaktionsgemisch normal aufgearbeitet. Man erhielt 740 mg semikristallines, neutrales Rohprodukt, welches an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert wurde. Mit Petroläther-Benzol (4:1 und 1:1) eluierte man 450 mg Kristalle. Nach 2 Umkristallisationen aus Aether-Hexan erhielt man stäbchenförmige Kristalle vom Smp. 147° - 148° . Zur Analyse sublimierte man das Präparat im HV bei 130° . $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -16^{\circ}$ ($c = 0,974$).

UV-Spektrum: $\lambda_{\text{Max.}} = 237 \text{ m}\mu$ ($\log \xi = 4, 1$)

IR-Spektrum: 1760, 1690-95 und 1633 cm^{-1} (Nujol).

NMR-Spektrum: vgl. Fig. 3.

$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_3$	gef.	C 74, 41	H 8, 82 %
	ber.	C 74, 44	H 9, 03 %

Behandlung von Mutilin (IV) mit Osmium(VIII)oxyd

a) Darstellung des Glykols XXXV:

1 g Mutilin (IV) wurde mit 1 g Osmium(VIII)oxyd in 80 ml Pyridin während 3 Tagen bei Zimmertemperatur stehengelassen. Darauf fügte man 6 g Natriumhydrogensulfit, 25 ml Pyridin und 90 ml Wasser zu und verrührte die Lösung, bis sie klar orangefarben war (20 Minuten). Nach normaler Aufarbeitung mit Chloroform²²⁾ und Filtration des amorphen Rohproduktes an neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III) erhielt man 1,1 g weissen, amorphen Schaum.

IR-Spektrum: 3200-3500 und 1730 cm^{-1} (Chloroform).

b) Darstellung von Desvinyl-mutilin (XXXVIII):

1 g Glykol XXXV wurde in 120 ml Aethanol, 60 ml Benzol und 150 ml 2-n Natriumhydroxydlösung 4 Std. unter Rückfluss gekocht und das Reaktionsgemisch normal aufgearbeitet. Chromatographie des viskosen Rohprodukts an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III) lieferte mit Benzol 850 mg viskoses Oel, welches nach zweifacher Umkristallisation aus Methylenchlorid-Hexan 530 mg Kristallnadeln vom Smp. 83^o-87^o ergab.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +47^{\circ}$ (c = 0,735) (Produkt mit Smp. 87^o).

IR-Spektrum: 3300-3500 und 1752 cm^{-1} (Nujol)
3650 und 1733 cm^{-1} (Chloroform)

Die Verbrennungswerte von 5 Bestimmungen schwankten bis zu 3 % in den C-Werten bzw. 1,2 % in den H-Werten.

Dasselbe Produkt erhielt man aus der Zersetzung des Osmiumesters mit Mannit und Alkali⁴¹⁾.

Weitere Elution der Säule mit Benzol-Aether-Gemischen lieferte 130 mg A-Hydroxy-B-oxo-aldol (LVI).

Acetylierung von Verbindung XXXVIII und mehrmaliges Absaugen der Lösungsmittel mit Heptan ergab Kristalle vom Smp. 184^o-186^o, welche nach Umkristallisation aus verd. Methanol bei 186^o-187^o schmolzen. Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 160^o. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +77^{\circ}$ (c = 0,748).

IR-Spektrum: 1725-30 und 1250-60 cm^{-1} (Nujol).
1720-30 und 1255-60 cm^{-1} (Chloroform).

$\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_5$	gef.	C 70,14	H 8,98 %
	ber.	C 69,81	H 9,05 %

Es liegt das Desvinyl-A, B-diacetoxy-C-oxoderivat (XXXIX) vor.

Oximierung von Verbindung XXXIX mit Hydroxylaminhydrochlorid in einer Lösung von Pyridin und Aethanol in der Wärme ergab nach normaler Aufarbeitung ein öliges Rohprodukt, welches an der 100-fachen Menge neutralem Silicagel chromatographiert wurde. Mit Benzol-Aether (4:1) eluierte man eine ölige Substanz, die nach Kristallisation aus verd. Methanol in der Kälte einen Smp. von 168° - 174° aufwies. Zweifache Sublimation im HV bei 145° lieferte Kristalle vom Smp. 175° - 176° .

IR-Spektrum: 3350, 1720-25 und 1250 cm^{-1} (Nujol).

$\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{O}_5\text{N}$	gef.	C 67, 10	H 8, 87	N 3, 55 %
	ber.	C 67, 14	H 8, 97	N 3, 56 %

Es liegt das Desvinyl-A, B-diacetoxy-C-oxim (XL) vor.

Mutilin-nor-aldehyd (XXXVI)

a) 250 mg Glykol XXXV wurden in 5 ml Eisessig gelöst, mit 25 ml ges. Blei(IV)-acetatlösung (in Eisessig) versetzt und 4 Std. bei Zimmertemperatur stengelassen. Nach Zerstörung des überschüssigen Oxydationsmittels mit Kaliumjodid- und Natriumthiosulfatlösung und normaler Aufarbeitung erhielt man 195 mg Kristalle vom Smp. 203° - 205° . Nach Umkristallisation aus Aceton-Hexan und Sublimation im HV bei 180° verblieben Kristalle vom Smp. 214° - 215° . $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +13^{\circ}$ ($c = 0,668$).

IR-Spektrum: 3400-3500, 2740 und $1710-20\text{ cm}^{-1}$ (Nujol).
3400-3500, (2750) und 1715 cm^{-1} (Kaliumbromid).

NMR-Spektrum: vgl. Fig. 2.

$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_4$	Mittel aus 2 Bestimmungen:	gef.	C 70, 67	H 9, 18 %
		ber.	C 70, 77	H 9, 38 %

b) 400 mg Mutilin (IV) wurden in 30 ml Aethylacetat gelöst und bei -50° 25 Minuten mit Ozon behandelt. Nach Absaugen des überschüssigen Ozons gab man 400 mg 10-proz. Palladiumkohle zu und hydrierte mit Wasserstoff. Die Wasserstoffaufnahme betrug 56 ml in $2\frac{1}{2}$ Std. Man erhielt 328 mg öliges Rohprodukt, welches beim Bespritzen mit Hexan Kristalle vom Smp. 195° - 210° lieferte. Umkristallisation aus Chloroform-Hexan erhöhte den Smp. auf 214° - 215° .

Acetylierung von Verbindung XXXVI und zweimalige Umkristallisation des Rohprodukts aus Hexan und Aether lieferte Kristalle vom Smp. 185° - 188° . Zur Analyse trocknete man das Präparat 3 Std. im HV bei Zimmertemperatur.

IR-Spektrum: 3600, 2730, 1720-30 und $1240-50\text{ cm}^{-1}$ (Chloroform).

$C_{21}H_{32}O_5$	gef.	C 68, 59	H 8, 76 %
	ber.	C 69, 20	H 8, 85 %

Es liegt das Monoacetat XXXVII des Mutilin-nor-aldehyds vor.

A - Hydroxy - B - oxoaldol (LVI)

500 mg von Verbindung XIII wurden in 35 ml Pyridin gelöst und mit 450 mg Osmium(VIII)oxyd 80 Std. bei Zimmertemperatur stengelassen. Die Aufarbeitung mit Natriumhydrogensulfid in wässriger Pyridinlösung und Extraktion mit Chloroform ergaben 500 mg gelbliches, amorphes Produkt²².

Es liegt das Glykol LIV vor.

475 mg von Glykol LIV kochte man in einer Mischung von 40 ml Aethanol, 25 ml Benzol und 50 ml 2-n Natriumhydroxydlösung 3 Std. unter Rückfluss. Normale Aufarbeitung ergab 350 mg Kristallnadeln vom Smp. 220° - 224° , welche nach 2 Umkristallisationen aus Chloroform-Hexan bei 227° - 228° schmolzen. Zur Analyse sublimierte man das Präparat im HV bei 165° . $[\alpha]_D^{20} = -91^{\circ}$ (c = 0, 513). Oxydationsgeschwindigkeit : $k^* = 9, 26$.

IR-Spektrum: 3410, 3350 und 1707 cm^{-1} (Nujol).

$C_{18}H_{28}O_3$	gef.	C 73, 65	H 9, 56 %
	ber.	C 73, 93	H 9, 65 %

Acetylierung von Verbindung LVI ergibt Kristalle vom Smp. 169° - 170° . Nach Sublimation im HV bei 150° erhält man feine Kristallnadeln vom Smp. 172° . $[\alpha]_D^{20} = -83^{\circ}$ (c = 0, 502).

IR-Spektrum: 3480, 1727, 1693 und 1248 cm^{-1} (Nujol).

$C_{20}H_{30}O_4$	gef.	C 71, 82	H 9, 02 %
	ber.	C 71, 82	H 9, 04 %

Es liegt das A-Acetoxy-B-oxo-aldol (LVII) vor.

A, B - Dioxo - aldol (LVIII)

a) 200 mg Desvinyl-mutilin (XXXVIII) wurden in 2 ml Eisessig gelöst, mit 3 ml 5-proz. Chrom(VI)oxydlösung versetzt und über Nacht stengelassen. Nach Zerstörung des überschüssigen Oxydationsmittels mit Methanol und normaler Aufarbeitung

erhielt man 150 mg neutrales, viskoses Oel.

IR-Spektrum: 1735 und 1690 cm^{-1} (Chloroform).

Es liegt das Desvinyl-A, B, C-trioxoderivat (LIX) vor.

100 mg von Verbindung LIX wurden in einer Lösung von 4 ml Benzol, 8 ml Aethanol und 10 ml 2-n Natriumhydroxydlösung 3 Std. unter Rückfluss gekocht und darnach normal aufgearbeitet. Man erhielt 90 mg öliges Rohprodukt, welches bei der Kristallisation aus Methylenchlorid-Hexan 22 mg Kristalle vom Smp. 160° - 162° lieferte. Umkristallisation aus Aceton-Hexan und Sublimation im HV bei 135° erhöhte den Smp. auf 165° . $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -50^{\circ}$ ($c = 0,444$).

IR-Spektrum: 3580 und 1700 cm^{-1} (Chloroform).

$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_3$	gef.	C 74,39	H 8,91 %
	ber.	C 74,44	H 9,03 %

Es liegt das A, B-Dioxo-aldol (LVIII) vor.

Die Mutterlaugen der Kristallisation von Verbindung LVIII enthielten 10-15 % Desvinyl-seco-A, B, C-trioxoderivat (LVIIIa).

UV-Spektrum: $\lambda_{\text{Max.}} = 237 \text{ m}\mu$ ($\log \xi = 3,19!$).

b) Oxydation von A-Hydroxy-B-oxo-aldol (LVI) mit Chrom(VI)oxyd in Essigsäurelösung ergab ebenfalls A, B-Dioxo-aldol (LVIII).

Reduktion von Mutilin (IV) nach Huang-Minlon

6 g Mutilin (IV) wurden in 250 ml Diäthylenglykol, 90 ml Aethanol und 80 ml Hydrazinhydrat gelöst und 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wurden 40 g Kaliumhydroxydpillen zugegeben und die Temperatur unter Abdestillieren von Aethanol und Hydrazinhydrat auf 180° erhöht. Die Lösung wurde 3 Std. lang genau bei dieser Temperatur gehalten, dann auf Eis gegossen und normal aufgearbeitet. Man erhielt 5 g neutrales, viskoses Rohprodukt, welches an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert wurde. Mit Petroläther-Benzol (4:1 bis 1:1) konnten 3,8 g Kristalle eluiert werden. Dreimalige Umkristallisation aus Hexan erhöhte den Smp. auf 137° . Zur Analyse wurde das Präparat 6 Std. im HV bei 90° getrocknet. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +17^{\circ}$ ($c = 1,000$). Oxydationsgeschwindigkeit: $k^* = 19,9$.

IR-Spektrum: 3640, 1640-50 und 920 cm^{-1} (Chloroform)
3660, 3540, 1637 und 915 cm^{-1} (Kaliumbromid).

$C_{20}H_{34}O_2$	gef.	C 78,11	H 11,23 %
	ber.	C 78,38	H 11,18 %

Es liegt das A, B-Dihydroxyderivat (XLII) vor.

Diese Verbindung kann auch durch analoge Behandlung aus Pleuromutilin (I) gewonnen werden.

Weitere Elution der Säule mit polareren Lösungsmitteln ergab noch 1,1 g semikristallines Produkt, welches nicht weiter untersucht wurde.

Oxydation von Verbindung XLII mit Chrom(VI)oxyd in Essigsäurelösung und normale Aufarbeitung ergab Kristalle vom Smp. 72° - 73° (Umwandlungspunkt bei 54° - 55°). Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 50° .

IR-Spektrum: 1700-1705, 1630 und 920 cm^{-1} (Nujol). $[\alpha]_D^{20} = -39^{\circ}$ ($c = 1,090$).

$C_{20}H_{30}O_2$	gef.	C 79,52	H 10,02 %
	ber.	C 79,42	H 10,00 %

Es liegt das A, B-Dioxoderivat (XLIII) vor⁺⁾ .

Katalytische Hydrierung von Verbindung XLII mit 10-proz. Palladiumkohle in Aethanollösung ergab nach mehrfacher Umkristallisation aus Aether-Hexan Kristalle vom Smp. 155° . Zur Analyse wurde eine Probe im HV bei 135° sublimiert. $[\alpha]_D^{20} = +23^{\circ}$ ($c = 0,628$).

IR-Spektrum: 3660 und 3540 cm^{-1} (Nujol); 3640 cm^{-1} (Chloroform).

$C_{20}H_{36}O_2$	gef.	C 77,66	H 11,87 %
	ber.	C 77,86	H 11,76 %

Es liegt das Dihydro-A, B-Dihydroxyderivat (LXI) vor.

Acetylierung von A, B-Dihydroxyderivat (XLII)

5,3 g von Verbindung XLII wurden wie üblich acetyliert und normal aufgearbeitet. Die resultierenden 5,8 g kristallines Rohprodukt wurden an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert. Mit Petroläther-Benzol (9:1) wurden 1,8 g Kristalle vom Smp. 93° - 97° eluiert, welche nach Umkristallisation aus verd. Methanol in der Kälte bei 100° - 101° schmolzen. Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 95° . $[\alpha]_D^{20} = +14^{\circ}$ ($c = 1,264$).

IR-Spektrum: 1727, (1630-35), 1240-50 und 910 cm^{-1} (Nujol).

$C_{24}H_{38}O_4$	gef.	C 73, 59	H 9, 55 %
	ber.	C 73, 80	H 9, 81 %

Es liegt das A, B-Diacetoxyderivat (XLV) vor.

Mit Petroläther-Benzol (4:1 und 1:1) eluierte man 3, 450 g Kristalle, welche nach 2 Umkristallisationen aus Aether-Hexan bei 148° schmolzen. Zur Analyse trocknete man das Präparat über Nacht im HV bei 40° . $[\alpha]_D^{20} = + 30^{\circ}$ ($c = 0, 980$).

IR-Spektrum: 3640, 1725, 1638, 1258 und 923 cm^{-1} (Chloroform).
3540, 3060, 1715, 1640, $1250-55$ und 932 cm^{-1} (Nujol).

$C_{22}H_{36}O_3$	gef.	C 75, 79	H 10, 28 %
	ber.	C 75, 81	H 10, 41 %

Es liegt das A-Hydroxy-B-acetoxyderivat (XLIV) vor.

Verbindung XLIV liefert bei der katalytischen Hydrierung mit 10-proz. Palladiumkohle in Aethanollösung eine kristalline Verbindung vom Smp. $174^{\circ}-175^{\circ}$. Zur Analyse trocknete man das Präparat über Nacht im HV bei Zimmertemperatur. Oxydationsgeschwindigkeit: $k^* = 2, 24$. $[\alpha]_D^{20} = + 49^{\circ}$ ($c = 0, 797$).

IR-Spektrum: 3660, 1720 und $1250-60\text{ cm}^{-1}$ (Chloroform).
 $3590, 1710-15$ und $1260-70\text{ cm}^{-1}$ (Nujol).

$C_{22}H_{38}O_3$	gef.	C 75, 37	H 11, 05 %
	ber.	C 75, 38	H 10, 93 %

Es liegt das Dihydro-A-hydroxy-B-acetoxyderivat (LXII) vor. ⁺

Oxydation von A-Hydroxy-B-acetoxyderivat (XLIV) ⁺

227 mg von Verbindung XLIV wurden in 10 ml Eisessig gelöst, mit 1, 5 ml einer 5-proz. Lösung von Chrom(VI)oxyd in Essigsäure versetzt und 6 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach Zerstörung des überschüssigen Oxydationsmittels mit Methanol wurde normal aufgearbeitet. Man erhielt 215 mg Kristalle vom Smp. $145^{\circ}-147^{\circ}$. 3 Umkristallisationen aus Methylenechlorid-Methanol ergaben Kristalle vom Smp. 153° . Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 140° .

Rotationsdispersionskurve (Chloroform): positiver Cottoneneffekt mit $[M]_{360} = + 420^{\circ}$, $[M]_{342} = + 150^{\circ}$ und $[M]_{315} = + 1590^{\circ}$.

IR-Spektrum: 1729, 1695, $1640-50, 1253$ und 922 cm^{-1} (Chloroform).
 $[\alpha]_D^{20} = + 35^{\circ}$ ($c = 0, 680$).

$C_{22}H_{34}O_3$	gef.	C 76,18	H 9,86 %
	ber.	C 76,26	H 9,99 %

Es liegt das A-Oxo-B-acetoxyderivat (XLVI) vor.

Katalytische Hydrierung von Verbindung XLVI mit 10-proz. Palladiumkohle in Aethanolölösung ergab nach mehrfacher Umkristallisation aus Methylenchlorid-Methanol und aus verd. Methanol feine Kristallnadeln vom Smp. 140° . Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 130° .

NMR-Spektrum: vgl. Fig. 1. $[\alpha]_D^{20} = + 89^{\circ}$ ($c = 0,643$).

IR-Spektrum: 1728, 1693 und 1250 cm^{-1} (Nujol).
1723, 1690 und $1250\text{-}55\text{ cm}^{-1}$ (Chloroform).

$C_{22}H_{36}O_3$	gef.	C 76,24	H 10,29 %
	ber.	C 75,81	H 10,41 %

Es liegt das Dihydro-A-oxo-B-acetoxyderivat (LX) vor.

Behandlung von A-Oxo-B-acetoxyderivat (XLVI) mit Osmium(VIII)oxyd

170 mg von Verbindung XLVI, in 10 ml Pyridin gelöst, wurden mit 220 mg Osmium(VIII)oxyd 25 Std. stehengelassen. Zersetzung mit Natriumhydrogensulfit in wässriger Pyridinlösung und Aufarbeitung mit Chloroform²²⁾ ergab 175 mg Kristalle vom Smp. 192° . Nach Sublimation im HV bei 180° erhielt man Kristallnadeln vom Smp. 194° . $[\alpha]_D^{20} = + 35^{\circ}$ ($c = 0,703$).

IR-Spektrum: 3480, 3400, 1730, 1678 und $1240\text{-}45\text{ cm}^{-1}$ (Nujol).

$C_{22}H_{36}O_5$	gef.	C 69,81	H 9,13 %
	ber.	C 69,44	H 9,54 %

Es liegt Glykol XLVII vor.

96 mg Glykol XLVII wurden in 2 ml Eisessig gelöst, mit 5 ml einer ges. Lösung von Blei(IV)acetat in Eisessig versetzt und 3 Std. stehengelassen. Nach Zerstörung des überschüssigen Oxydationsmittels mit Kaliumjodid- und Natriumsulfitlösung und normaler Aufarbeitung erhielt man 100 mg Kristalle vom Smp. $180^{\circ}\text{-}183^{\circ}$. Zweifache Umkristallisation aus verd. Methanol erhöhte den Smp. auf $186^{\circ}\text{-}187^{\circ}$. Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 165° .

IR-Spektrum: 2710, 1730-35, 1695-1700 und 1245 cm^{-1} (Nujol). $[\alpha]_D^{20} = - 13^{\circ}$ ($c = 0,278$).

$C_{21}H_{32}O_4$	gef.	C 72, 46	H 9, 28 %
	ber.	C 72, 38	H 9, 26 %

Es liegt der A-Oxo-B-acetoxy-nor-aldehyd (XLVIII) vor.

Reduktion von A-Hydroxy-B, C-dioxoderivat (XIII)
mit Natriumborhydrid

650 mg von Verbindung XIII wurden in 100 ml abs. Dioxan gelöst und mit 1,3 g Natriumborhydrid über Nacht unter Rückfluss gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde in kalte verd. Schwefelsäure getropft, die Lösung mit verd. Natriumhydroxydlösung alkalisch gemacht und normal aufgearbeitet. Es resultierten 660 mg viskoses Oel, welches an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert wurde.

Mit Benzol eluierte man 292 mg Kristalle vom Smp. 155° - 157° , die nach zweifacher Umkristallisation aus Methylenchlorid-Hexan bei 159° - 160° schmolzen. Zur Analyse trocknete man die Probe über Nacht im HV bei 70° . Rotationsdispersionskurve (Chloroform): negativer Cottoneseffekt mit $[M]_{326} = -10700^{\circ}$. $[\alpha]_D^{20} = -113^{\circ}$ (c = 0,645).

IR-Spektrum: 3500, 1690, 1633 und 924 cm^{-1} (Nujol).

$C_{20}H_{32}O_3$	gef.	C 74, 92	H 9, 96 %
	ber.	C 74, 96	H 10, 06 %

Es liegt das A, C-Dihydroxy-B-oxoderivat (L) vor.

Mit Benzol-Aether (9:1 und 4:1) eluierte man 130 mg Kristalle vom Smp. 195° - 210° . Nach zweifacher Umkristallisation aus Aceton-Hexan lag der Smp. bei 209° - 211° und erhöhte sich durch Sublimation im HV bei 175° auf 212° - 213° .

IR-Spektrum: 3620, 3420, 1635 und 915 cm^{-1} (Nujol). $[\alpha]_D^{20} = -8^{\circ}$ (c = 0,788).

$C_{20}H_{34}O_3$	gef.	C 74, 51	H 10, 64 %
	ber.	C 74, 49	H 10, 63 %

Es liegt das A, epiB, C-Trihydroxyderivat (XLIX) vor.

Die gleiche Verbindung ist auch durch Reduktion von Verbindung L mit Lithiumaluminiumhydrid in Aetherlösung erhältlich.

Behandlung von A, C-Dihydroxy-B-oxoderivat (L)
mit Osmium(VIII)oxyd

290 mg von Verbindung L wurden in 35 ml Pyridin gelöst, mit 300 mg Osmium-(VIII)oxyd versetzt und 45 Std. stehengelassen. Zersetzung mit Natriumhydrogensulfid in wässriger Pyridinlösung und Aufarbeitung mit Chloroform²²⁾ ergab 340 mg bräunliches, amorphes Rohprodukt (wohl Glykol LI). Die Spaltung dieses amorphen Glykols (LI) mit Blei(IV)acetat in Eisessiglösung ergab 14 mg öliges Rohprodukt, das aus Aceton-Hexan kristallisiert wurde, Smp. 183⁰-186⁰; IR-Spektrum: 3580, 2740, 1725-30 und 1688 cm⁻¹ (Nujol).

310 mg von Glykol LI wurden in einem Gemisch von 25 ml Aethanol, 15 ml Benzol und 30 ml 2-n Natriumhydroxydlösung 3 Std. unter Rückfluss gekocht und die Lösung normal aufgearbeitet. Das amorphe Rohprodukt wurde an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert. Mit Benzol eluierte man 150 mg Kristalle, welche nach 2 Umkristallisationen aus Aceton-Hexan bei 175⁰ schmolzen. Zur Analyse trocknete man eine Probe über Nacht im HV bei Zimmertemperatur.

IR-Spektrum: 3630, 3560 und 1690 cm⁻¹ (Nujol). $[\alpha]_D^{20} = -9^{\circ}$ (c = 0, 784).

C ₁₈ H ₃₀ O ₃	gef.	C 73, 29	H 10, 13 %
	ber.	C 73, 43	H 10, 27 %

Es liegt das Desvinyl-A, C-dihydroxy-B-oxoderivat (LII) vor.

Dehydratisierung von Dihydro-A-hydroxy-B-acetoxyderivat (LXII)

1 g von Verbindung LXII wurde in 50 ml Pyridin gelöst, mit 15 ml Phosphoroxychlorid versetzt und 2¹/₂ Std. im kochenden Wasserbad gehalten. Das Reaktionsgemisch wurde in eisgekühlte verd. Schwefelsäure getropft und normal mit Chloroform aufgearbeitet. Man erhielt 980 mg kristallines, chlorfreies Rohprodukt, Smp. 117⁰-123⁰. Nach zweifacher Umkristallisation aus Methanol verblieben 600 mg Kristallnadeln vom Smp. 135⁰-136⁰. Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 125⁰. Die Farb-reaktion mit TNM war gelb. NMR-Spektrum: vgl. Fig. 4.

IR-Spektrum: 1725-30, 1628-30, 1240-50 und 922 cm⁻¹ (Nujol). $[\alpha]_D^{20} = +68^{\circ}$ (c = 0, 659).

C ₂₂ H ₃₆ O ₂	gef.	C 79, 49	H 10, 94 %
	ber.	C 79, 46	H 10, 92 %

Es liegt das Allylacetat LXIII vor.

53 mg von Verbindung LXIII wurden in 5 ml Eisessig gelöst, mit 0,2 ml konz. Salzsäure versetzt und während 4 Std. verschlossen im siedenden Wasserbad gehalten. Nach normaler Aufarbeitung resultierten 46 mg Oel, welches an neutralem Aluminiumoxyd filtriert und im HV bei 110° destilliert wurde. Die Farbreaktion mit TNM war braun. UV-Spektrum: $\lambda_{\text{Max.}} = 257 \text{ m}\mu$ ($\log \xi = 3,68$) und $264 \text{ m}\mu$ ($\log \xi = 3,62$). IR-Spektrum: 1620-30, 1590-95 und 933 cm^{-1} (Chloroform).

$\text{C}_{20}\text{H}_{32}$	gef.	C 86,92	H 11,54 %
	ber.	C 88,16	H 11,84 %

Es liegt ein konjugiertes Dien vor.

Allylalkohol LXIV

210 mg Allylacetat LXIII wurden in 25 ml abs. Aether gelöst und langsam zu 200 mg Lithiumaluminiumhydrid in abs. Aether getropft. Nach 6-stündigem Kochen zerstörte man das überschüssige Hydrid mit Aethylacetat und darauf mit Wasser und löste das Gemisch durch Zugabe von ges. Seignettesalzlösung. Nach normaler Aufarbeitung und Chromatographie des resultierenden Rohproduktes an der 30-fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Akt. I) erhielt man 165 mg klare Flüssigkeit. Zur Analyse destillierte man eine Probe im HV bei 115-120°. Die Farbreaktion mit TNM war gelb.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +12^{\circ} \text{ (c = 0,723)}.$$

UV-Spektrum: Endabsorption ($\log \xi = 3,8$ bei $210 \text{ m}\mu$)

IR-Spektrum: 3630, 1627 und 910 cm^{-1} (Chloroform)

$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$	gef.	C 80,75	H 11,33 %
	ber.	C 82,69	H 11,80 %

Es liegt eine verunreinigte Probe von Allylalkohol LXIV vor.

25 mg von Verbindung LXIV wurden in 10 ml abs. Benzol mit 400 mg Mangan(IV)oxyd 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Darauf wurde mit frischem Mangan(IV)oxyd (200 mg) 1 Std. weitergekocht. Nach Filtration an neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II) verblieben 19 mg klares Oel. UV-Spektrum: Endabsorption ($\log \xi = 3,67$ bei $210 \text{ m}\mu$), Schulter bei $225\text{-}230 \text{ m}\mu$ ($\log \xi = 3,44$).

IR-Spektrum: 1667-70, 1618, 908 und 845 cm^{-1} (Chloroform).

Es liegt das α, β -ungesättigte Keton LXVI vor.

Eine Lösung von 15 mg der Verbindung LXVI in 25 ml n-Butanol wurde zum Sieden gebracht und darauf während 30 Min. mit kleinen Natriumstücken versetzt. Nach normaler Aufarbeitung resultierten 12 mg öliges Rohprodukt, welches im HV bei 60°

getrocknet wurde. IR-Spektrum: 3650, keine Banden zwischen 1750 und 1600 cm^{-1} (Chloroform). Es liegt das gesättigte B-Hydroxyderivat vor.

Epoxyketon LXV

200 mg Allylalkohol (LXIV) wurden in 10 ml Eisessig gelöst, mit 2,5 ml einer 5-proz. Lösung von Chrom(VI)oxyd in Essigsäure versetzt und 3 Std. stehen gelassen. Nach Zerstören des überschüssigen Oxydationsmittels mit Methanol wurde normal aufgearbeitet. Man filtrierte das semikristalline Rohprodukt an neutralem Aluminiumoxyd (Akt. II). Nach dreifacher Umkristallisation des Eluates aus Methylenchlorid-Methanol verblieben 60 mg Kristalle vom Smp. 131° . Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 115° , Smp. 131° - 132° . Die TNM-Probe fiel negativ aus. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -107^{\circ}$ ($c = 0,677$).

IR-Spektrum: 1685 und 950 cm^{-1} (Chloroform)
1680 und 945 cm^{-1} (Nujol)

$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$	gef.	C 78,68	H 10,68 %
	ber.	C 78,89	H 10,59 %

Ozonbehandlung von Allylacetat LXIII

210 mg Allylacetat (LXIII) wurden in einer Mischung von 60 ml Chloroform-Aethylacetat (1:1) während 15 Min. bei -50° einem Ozonstrom von ca. 25 mg $\text{O}_3/\text{Min.}$ ausgesetzt. Danach wurde am Wasserstrahlvakuum auf die Hälfte eingengt und die Lösung mit Wasserstoff und 200 mg vorhydrierter 10-proz. Palladiumkohle längere Zeit behandelt. Man stellte keine Wasserstoffaufnahme fest. Es resultierten 185 mg weisses, kristallines Produkt vom Smp. 144° - 150° , welches mit TNM keine Farb-reaktion ergab. Nach Umkristallisation aus Methylenchlorid-Hexan und Methylenchlorid-Methanol erhielt man 70 mg Kristalle vom Smp. 155° - 160° , der durch 2 weitere Umkristallisationen aus Aether-Hexan auf 169° - 171° erhöht wurde. Zur Analyse wurde das Präparat über Nacht im HV getrocknet. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +28^{\circ}$ ($c = 1,083$).

IR-Spektrum: 1737 und 1235-40 cm^{-1} (Nujol)

NMR-Spektrum: vgl. Fig. 6.

$\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_3$	gef.	C 75,49	H 10,33 %
	ber.	C 75,81	H 10,41 %

Es liegt das α -Oxoacetat LXX vor.

Aus Verbindung LXX lässt sich ein 2, 4-Dinitrophenylhydrazon herstellen, dessen Smp. nach fünffacher Umkristallisation aus Methylenechlorid-Methanol bei 240^o-241^o lag (Umwandlungspunkt bei 193^o). Zur Analyse trocknete man das Präparat 48 Std. im HV bei 100^o.

C ₂₈ H ₄₀ O ₆ N ₄	gef.	C 63,98	H 7,87	N 10,36 %
	ber.	C 63,61	H 7,63	N 10,60 %

Die Mutterlaugen der Kristallisation von LXX wurden an der 100-fachen Menge neutralem Silicagel chromatographiert. Mit Benzol eluierte man 120 mg semikristallines Produkt, welches nach Umkristallisation aus Methanol und Sublimation im HV bei 105^o einen Smp. von 110^o-111^o aufwies. NMR-Spektrum: vgl. Fig. 5. $[\alpha]_D^{20} = -12^{\circ}$ (c = 0,888).

IR-Spektrum: 2730, 1720-30, 1715-20 und 1235 cm⁻¹ (Nujol).

C ₂₂ H ₃₆ O ₃	gef.	C 75,32	H 10,06 %
	ber.	C 75,81	H 10,41 %

Es liegt der β -Acetoxyaldehyd LXVII vor.

Verbindung LXVII ergibt bei Verseifung mit 10-proz. methanolischer Kaliumhydroxydlösung den öligen Retrodialdehyd LXIX, welcher ein bis-2, 4-Dinitrophenylhydrazon vom Smp. 140^o-142^o bildet. Zur Analyse trocknete man das Präparat über Nacht im HV bei 70^o.

C ₃₂ H ₄₂ O ₈ N ₈	gef.	C 57,93	H 6,25 %
	ber.	C 57,66	H 6,31 %

α -Ketol LXXI

130 mg von Verbindung LXX wurden in 10 ml 10-proz. äthanolischer Kaliumhydroxydlösung unter Stickstoffatmosphäre 2 Std. verseift. Normale Aufarbeitung ergab 103 mg kristallines Rohprodukt, welches nach Filtration an neutralem Aluminiumoxyd (Akt. III) bei 115^o-116^o schmolz. Nach Umkristallisation aus Aether-Methanol in der Kälte erhielt man Kristallnadeln vom Smp. 115^o-116^o. Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 110^o. $[\alpha]_D^{20} = +2^{\circ}$ (c = 0,532). Die Verbindung zeigte mit Eisen(III)chloridlösung keine Farbreaktion.

IR-Spektrum: 3470 und 1730 cm⁻¹ (Nujol).

C ₂₀ H ₃₄ O ₂	Mittel aus 2 Bestimmungen:	gef.	C 78,23	H 10,95 %
		ber.	C 78,38	H 11,18 %

vic-Diol LXXII

28 mg von Verbindung LXXI wurden in 40 ml abs. Aether mit 110 mg Lithium-aluminiumhydrid 3 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Zerstörung des überschüssigen Hydrids mit Aethylacetat und Wasser löste man das Gemisch mit ges. Seignettesalzlösung und arbeitete normal auf. Man erhielt 25 mg viskoses, farbloses Oel, das beim Bespritzen mit Hexan kristallisierte. Nach Umkristallisation aus Hexan verblieben 18 mg Kristalle vom Smp. 139° . Zur Analyse sublimierte man eine Probe im HV bei 130° . $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -20^{\circ}$ ($c = 0,742$).

IR-Spektrum: $3000-3550 \text{ cm}^{-1}$ (Chloroform).

$\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_2$	gef.	C 77,93	H 11,53 %
	ber.	C 77,86	H 11,76 %

18 mg von Verbindung LXXII wurde in 2 ml Eisessig gelöst, 3 ml einer ges. Lösung von Blei(IV)acetat in Eisessig zugegeben und die Mischung über Nacht stehen gelassen. Die jodometrische Titration ergab einen Verbrauch von 1,2 Mol Blei(IV)acetat. Normale Aufarbeitung der Titrationslösung ergab 19 mg öliges Rohprodukt.

IR-Spektrum: breite Bande 1700 cm^{-1} (Chloroform).

Die Analysen wurden in der mikroanalytischen Abteilung des organisch-chemischen Laboratoriums der ETH unter der Leitung von Herrn W. Manser ausgeführt.

Die IR-Spektren wurden von Frl. V. Klopstein und Herrn R. Dohner aufgenommen.

Die radioaktiven Analysen und Messungen wurden im Isotopenlabor des organisch-chemischen Laboratoriums der ETH unter der Leitung von P.-D. Dr. P. Jordan ausgeführt.

Die Bestimmung der pK^* -Werte verdanke ich P.D. Dr. W. Simon, die Bestimmung von Oxydationsgeschwindigkeiten Herrn Dr. J. Schreiber.

Die Rotationsdispersionskurven wurden unter der Leitung von Herrn Dr. T. Bürer gemessen, die Massenspektrogramme nahm Herr Dr. J. Seibl auf.

Freundschaftliche Hilfe wurde mir bei der Züchtung der Pilze von Herrn Dr. W. Acklin zuteil.

Für diese wertvolle Mitarbeit möchte ich allen Beteiligten bestens danken.

Besonders zu Dank verpflichtet fühle ich mich den Herren Dr. A. Melera, Varian AG Zürich, für die Aufnahme und Interpretation einer ganzen Reihe von NMR-Spektren sowie H. Grossmann für die Aufarbeitung grosser Mengen Kulturfiltrat.

ZUSAMMENFASSUNG

Für Pleuromutilin, den in verschiedenen Basidiomyceten vorkommenden Glykolsäureester eines Diterpens der Zusammensetzung $C_{20}H_{32}O_3$, konnte durch zahlreiche Abbaureaktionen die Partialformel N gesichert werden. Diese liess sich anhand verschiedenartiger physikalischer Bestimmungen zu einer der vollständigen Formeln Ia und Ib erweitern, auf deren Grundlage weitere unerwartete chemische Umsetzungen von Pleuromutilin gedeutet werden konnten.

Pleuromutilin stellt ein neuartiges tricarbo-cyclisches Diterpenderivat dar und ist der erste Vertreter dieser Körperklasse, für welchen die Anwesenheit eines Ringes mittlerer Grösse nachgewiesen werden konnte.

Die Möglichkeit der Entstehung von Pleuromutilin aus aliphatischen Vorläufern ist auf Grund der abgeleiteten Formeln kurz erläutert worden.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) F. Kavanagh, A. Hervey und W. J. Robbins, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 37, 570 (1951).
- 2) F. Kavanagh, A. Hervey und W. J. Robbins, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 38, 555 (1952).
- 3) N. Hejtamankova-Uhrova und Th. Martinec, Publ.fac.sci.univ. Masaryk 378, 391 (1956).
- 4) M. Anchel, J.Biol.Chem. 199, 133 (1952).
- 5) J. J. Britt, Diss. ETH Nr. 2948 (1959).
- 6) M. Tsutsui und E. Tsutsui, Chem.Rev. 1031 (1959).
- 7) P. de Mayo, "The Higher Terpenoids", Intersc. Publ. 1959.
- 8) W. J. Van den Heuvel, C. C. Sweeley und E. C. Horning, Am.Soc. 82, 3481 (1960).
- 9) C. G. Swain, R. A. Wiles und R. F. W. Bader, Am.Soc. 83, 1945 (1961).
- 10) J. Schreiber und A. Eschenmoser, Helv. 38, 1529 (1955).
- 11) W. Simon, E. Kovats, L. H. Chopard-dit-Jean und E. Heilbronner, Helv. 37, 1872 (1954).
- 12) C. S. Barnes, D. H. R. Barton, A. R. H. Cole und J. S. Fawcett, Soc. 1953, 571.
- 13) W. Herz und J. L. Rogers, Am.Soc. 75, 4498 (1953).
- 14) R. Granger, H. Orzalesi und A. Muratelle, Bull.soc. 1961, 893.
- 15) H. Ménard und O. Jeger, Helv. 36, 335 (1953).
- 16) E. J. Corey, Exper. 9, 329 (1953).
- 17) N. Tarköy, Diss. ETH Nr. 2534 (1957).
- 18) W. Keller-Schierlein, V. Prelog und M. Lj. Mihailović, Helv. 41, 220 (1958).
- 19) H. S. French, Am.Soc. 74, 514 (1952).
- 20) B. Kamber, G. Cainelli, D. Arigoni und O. Jeger, Helv. 43, 347 (1960)
vgl. auch J. Schmidlin und A. Wettstein, Helv. 42, 2636 (1959).
- 21) V. Sykora, L. Novotny, M. Holub, V. Hérout und F. Šorm, Coll. Czech. 26, 788-817 (1961).
- 22) J. S. Baran, J.Org. 25, 257 (1960).
- 23) H. Jackson, Soc. 77, 129 (1900).
- 24) W. Acklin, Diss. ETH Nr. 2840 (1958)
- 25) D. Arigoni, D. H. R. Barton, E. J. Corey und O. Jeger, Exp. 16, 41 (1960).

- 26) D. Dvornik und O. E. Edwards, Proc.Chem.Soc. 1958, 280.
- 27) D. R. Davies, R. P. Lutz und J. D. Roberts, Am.Soc. 83, 246 (1961).
- 28) E. Wettstein, Diss. ETH Nr. 2833 (1959).
- 29) G. Brownlie, F. S. Spring und R. Stevenson, Soc. 1959, 216.
- 30) K. Wiesner, R. Armstrong, M. F. Bartlett und J. A. Edwards, Am.Soc. 76, 6068 (1954).
- 31) A. S. Rao, G. R. Kelkar und S. C. Bhattacharyya, Tetrah. 9, 275 (1960).
- 32) J. Meier, Diss. ETH Nr. 2806 (1958).
- 33) E. Romann, Diss. ETH Nr. 2907 (1960).
- 34) D. Dvornik und O. E. Edwards, Proc.Chem.Soc. 1958, 305.
- 35) V. Prelog in A. Todd: "Perspectives in Organic Chemistry", Intersc. Publ. New York, London 1956.
- 36) J. D. Dunitz und V. Prelog, Angew.Chem. 72, 896 (1960).
- 37) P. Naffa und G. Ourisson, Bull.soc. 1954, 1115.
- 38) G. Popják und J. W. Cornforth, Advances in Enzymology 22, 281 (1960).
- 39) H. Brockmann und H. Muxfelt, Ber. 89, 1393 (1956).
- 40) H. J. Ringold, E. Batres, O. Halpern und E. Necochea, Am.Soc. 81, 427 (1959).
- 41) R. Criegee, B. Marchand und H. Wannowius, Ann. 550, 99 (1941).

Curriculum vitae

Am 8. April 1934 wurde ich in Neuhausen (SH) geboren. Nach dem Besuch der Primarschule absolvierte ich das Gymnasium der Kantonsschule in Winterthur, das ich im Herbst 1953 mit dem Maturitätszeugnis Typus B verliess. Anschliessend immatrikulierte ich mich an der Abteilung für Chemie der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich und schloss im Frühjahr 1958 mit dem Diplom als Ingenieur-Chemiker ab. Seit dem Herbst desselben Jahres arbeitete ich unter der Leitung von Herrn P.-D. Dr. D. Arigoni hauptsächlich an der vorliegenden Promotionsarbeit.

Zürich, im September 1961

Peter Naegeli