

Antibiotika aus Basidiomyceten, XX¹⁾

Synthese von Strobilurin A und Revision der Stereochemie der natürlichen Strobilurine

Timm Anke^b, Georg Schramm^a, Barbara Schwalge^a, Bert Steffan^a und Wolfgang Steglich^{*a}

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn^a,
Gerhard-Domagk-Straße 1, D-5300 Bonn 1

Abteilung Biotechnologie der Universität Kaiserslautern^b,
Paul-Ehrlich-Straße 22, D-6750 Kaiserslautern

Eingegangen am 12. Januar 1984

Kondensation von Zimtaldehyd (**5**) mit 2-Oxobuttersäure (**6**) liefert die (*E,E*)-Ketosäure **7**, die nach Überführung in den Methylester **9** und Wittig-Reaktion mit (Methoxymethylen)triphenylphosphoran (*9E*)-Strobilurin A (**1a**) ergibt. Inversion der 9-Doppelbindung durch Belichten führt zu Strobilurin A (**1b**), das mit dem Naturprodukt identisch ist. Danach besitzen alle natürlichen Strobilurine **1b–4b** im Gegensatz zu früheren Angaben die (*9Z*)-Konfiguration. Diese Zuordnung wird durch den spektroskopischen Vergleich von **1a** und **1b** sowie durch thermische Cyclisierung von **1b** zum Biphenyl-Derivat **11** gesichert. **11** kann auch durch Reaktion von 2-(Methoxymethylen)acetessigsäure-methylester (**13**) mit Cinnamylidetriphenylphosphoran (**12**) erhalten werden. Kondensation von **13** unter basischen Bedingungen liefert 4-Hydroxyisophtalensäure-dimethylester (**14**).

Antibiotics from Basidiomycetes, XX¹⁾. – Synthesis of Strobilurin A and Revision of the Stereochemistry of Natural Strobilurins

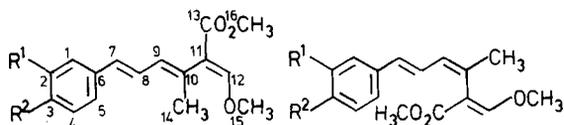
Condensation of cinnamaldehyde (**5**) with 2-oxobutyric acid (**6**) leads to the (*E,E*)-keto acid **7** which is converted into (*9E*)-strobilurin (**1a**) via methyl ester **9** and Wittig reaction of the latter with (methoxymethylene)triphenylphosphorane. On irradiation **1a** undergoes inversion at the double bond in position 9 and yields strobilurin A (**1b**) which is identical with the natural product. Due to this result the (*9Z*) stereochemistry has to be assigned to all natural strobilurins **1b–4b**, contrary to former formulations. This assignment is further supported by spectral comparison of **1a** and **1b** as well as by thermal cyclization of **1b** to the biphenyl derivative **11**. The latter can also be obtained by condensation of methyl 2-(methoxymethylene)acetoacetate (**13**) with cinnamylidetriphenylphosphorane (**12**). Base-catalyzed condensation of **13** yields dimethyl 4-hydroxyisophtalate (**14**).

A) Einleitung

Aus Kulturen von *Strobilurus tenacellus* wurden 1977 zwei antifungische Wirkstoffe, Strobilurin A und B, isoliert²⁾, für die wir die Formeln **1a** und **2a** ableiteten³⁾.

Später wurden diese Verbindungen auch in Mycelkulturen von Pilzen der Gattungen *Mycena*, *Oudemansiella*, *Hydropus*, *Cyphellopsis* und *Xerula* aufgefunden^{3,4)}, wobei

mit Strobilurin C (**3a**) aus *Xerula longipes* ein neuer Vertreter dieses Strukturtyps hinzukam⁵). Von tschechischen Autoren wurde die Identität von Strobilurin A und



	R ¹	R ²	
1a	H	H	1b
2a	H ₃ CO	Cl	2b
3a	(H ₃ C) ₂ C=CHCH ₂ O	H	3b
4a	H	H ₃ CO	4b

Mucidin⁶ festgestellt⁷) und Verbindung **4a** als weitere Strukturvariante aus Kulturen von *Oudemansiella mucida* isoliert⁸). Die Strobilurine und Oudemansine^{5,9}) haben in letzter Zeit als sogenannte Moa-Inhibitoren biochemisches Interesse erlangt^{10,11}). Wir beschreiben nun die Synthese von Strobilurin A und als Folge davon eine Korrektur der früher vorgeschlagenen Stereochemie. Danach müssen alle bisher in der Natur gefundenen Strobilurine mit einer *Z*-konfigurierten Doppelbindung in 9-Stellung (**1b**–**4b**) formuliert werden. In einer von der tschechischen Arbeitsgruppe¹²) in einer Patentschrift niedergelegte Strobilurin-Synthese wird auf die stereochemischen Probleme bei der Bildung der trisubstituierten Doppelbindung nicht näher eingegangen¹³).

B) Synthese von Strobilurin A

Ausgangspunkt der Synthese von Strobilurin A ist die Kondensation von Zimtaldehyd (**5**) mit 2-Oxobuttersäure (**6**), bei der unter Einwirkung von methanolischer KOH bei 45°C das Kaliumsalz der Ketosäure **7** in 59% Ausbeute erhalten wird.

Die *E*-Konfiguration der trisubstituierten Doppelbindung folgt aus der chemischen Verschiebung des Methylsignals ($\delta = 10.4$) im ¹³C-NMR-Spektrum der Säure **7**, sowie aus der Kopplungskonstanten zwischen 4-H und dem Kohlenstoff der 2-Carbonylgruppe, die mit 7.6 Hz einen für die *cis*-Anordnung der beiden Substituenten charakteristischen Wert besitzt^{14,15}). In Übereinstimmung damit führt der Abbau mit alkalischem Hydrogenperoxid zur bekannten (*E,E*)-Säure **8**¹⁶).

Auch bei der Kondensation von **6** mit Benzaldehyd entsteht bei 45°C das Kaliumsalz der *E*-Ketosäure **15**, während bei 10°C überwiegend das Salz des sterisch einheitlichen Aldols **16** gebildet wird.

Die Konfigurationen dieser Verbindungen ergeben sich aus dem oxidativen Abbau zu (*E*)-2-Methylzimsäure¹⁷) bzw. *threo*-3-Hydroxy-2-methyl-3-phenylpropansäure¹⁸). Danach entstehen unter den von uns angewandten Bedingungen jeweils die thermodynamisch stabileren Produkte¹⁹).

Zur Überführung in den Methylester **9** wird das Kaliumsalz **7** mit Thionylchlorid in Methanol²⁰) umgesetzt. Dabei erhält man nach dem ¹H-NMR-Spektrum ein Gemisch

sich das Edukt vollständig in das Stereoisomere **1b** umgewandelt, das mit Strobilurin A identisch ist.

C) Zur Stereochemie der Strobilurine

Nach der vorgestellten Synthese besitzt Strobilurin A die Formel **1b** mit *Z*-Konfiguration der mittleren Doppelbindung. Da alle anderen Strobilurine in Lage und Aufspaltung der NMR-Signale im Trienteil mit **1b** übereinstimmen³⁻⁸⁾, ist auch ihre Stereochemie im Sinne der Formeln **2b** – **4b** zu revidieren.

Tab. 1. ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Daten (δ -Werte, Kopplungen in Hz) von (*9E*)-Strobilurin A (**1a**) und Strobilurin A (**1b**) (400 bzw. 100.12 MHz, [D₆]Aceton als Lösungsmittel und innerer Standard, δ = 2.04 bzw. 29.8)

¹ H-NMR	1a	1b		1a	1b
7-H	6.54 dm	6.48 dm	14-H	1.98 dd	1.92 m
8-H	7.19 dd	6.70 ddq	15-H	3.87 d	3.85 s
9-H	6.14 ddq	6.19 ddq	16-H	3.64 s	3.65 s
12-H	7.36 s	7.46 s	Ar-H	7.20 – 7.49 m	7.17 – 7.37 m
<i>J</i> _{7,8}	15.1	15.7	<i>J</i> _{8,9}	11.0	10.8
<i>J</i> _{7,9}	0.9	0.7	<i>J</i> _{8,14}	–	0.55
<i>J</i> _{7,14}	0.5	0.7	<i>J</i> _{9,14}	1.45	1.4

¹³ C-NMR ^{a)}	δ	1a	<i>J</i>	δ	1b	<i>J</i>
C-7	132.8	Dddd	152.0, 9.1, 4.6, 2.0	131.2	Dddd	152.0, 9.0, 4.5, 2.1
C-8	126.1	br. D	149.6	127.9	br. D	150.0
C-9	131.9	Dm	153.7	130.3	Dm	152.1
C-10	131.7	m		132.5	m	
C-11	115.4	m		111.1	m	
C-12	159.9	Dq	180.6, 5.3	159.9	Dq	180.0, 5.0
C-13	168.3	dq		167.6	dq	
C-14	17.5	Qd	127.1, 8.0	23.9	Qd	127.0, 6.5
C-15	62.2	Qd	145.6, 6.3	62.0	Qd	145.5, 6.1
C-16	51.4	Q	146.5	51.3	Q	146.3
C-1,5	127.2	Ddd	159.0, 6.3, 6.1	126.9	Ddd	159.5, 6.2, 6.0
C-2,4	129.4	Dd	160.8, 7.6	129.3	Dd	161.0, 7.5
C-3	128.1	Dt	161.0, 7.5	128.0	Dt	161.0, 7.4
C-6	138.8	m		138.8	m	

^{a)} Zuordnungen wurden durch Selektivkopplungen bestätigt.

Die *E*-Konfiguration der mittleren Doppelbindung war auf Grund eines vorgetäuschten Nuclear-Overhauser-Effektes zwischen der 14-Methylgruppe und 8-H angenommen worden. Differenz-NOE-Messungen²²⁾ bei höherer Feldstärke lieferten nun die in Abb. 1 gezeigten Signalverstärkungen, die nur mit der angegebenen Stereochemie vereinbar sind.

Ein Vergleich der hochaufgelösten ¹H-NMR-Spektren (Tab. 1) zeigt interessante Unterschiede im Aufspaltungsmuster des 14-Methyl-Signals. Beim synthetischen Produkt **1a** erscheint es als Doppeldublett durch Fernkopplungen zu 9-H (*J* = 1.45 Hz)

und 7-H (0.5 Hz), während sich bei **1b** durch eine zusätzliche 0.55-Hz-Kopplung zum 8-H ein komplizierteres Bild ergibt.

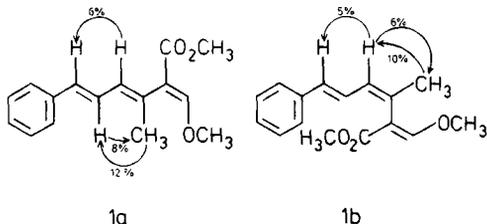


Abb. 1. Beobachteter Nuclear-Overhauser-Effekt bei **1a** und **1b**

Das Vorliegen der *Z*-Konfiguration in den natürlichen Strobilurinen wird auch durch den Vergleich der chemischen Verschiebungen der Methylsignale im ¹³C-NMR-Spektrum von **1a** und **1b** nahegelegt. Wie zu erwarten, liegt das Signal der sterisch stärker beanspruchten CH₃-Gruppe von **1a** bei $\delta = 17.5$, im *Z*-Isomeren **1b** dagegen bei $\delta = 23.9$ ²³⁾. Ein Vergleich der Kopplungskonstanten $J_{C-14,9-H}$ von **1a** (8.0 Hz) und **1b** (6.5 Hz) entspricht den nach Lit.¹⁴⁾ für transoide und cisoido Kopplungen zu erwartenden Werten.

Da in **1b** eine starke sterische Wechselwirkung zwischen den Substituenten an der terminalen Doppelbindung und 8-H auftritt, müssen die natürlichen Strobilurine um die C(10) – C(11)-Bindung verdrillt sein. Damit in Übereinstimmung ist die bathochrome Verschiebung des langwelligen UV-Maximums von **1a** (305 nm) im Vergleich zu **1b** (293 nm). Durch die Verdrillung kommt 8-H bei **1b** in den Abschirmungsbereich der β -Methoxyacrylat-Gruppierung und erleidet gegenüber **1a** eine Hochfeldverschiebung ($\Delta\delta = 0.49$ ppm).

Schließlich kann die Stereochemie auch noch auf chemischem Wege bewiesen werden. Erhitzt man Strobilurin A in Dimethylformamid 9 h auf 240 °C, so bildet sich unter electrocyclischem 6- π -Ringschluß und anschließender Methanol-Eliminierung das Biphenyl-Derivat **11**²⁴⁾. In **1a** liegt die 9-Doppelbindung dagegen in der für den Ringschluß ungeeigneten *E*-Konfiguration vor, so daß unter analogen Bedingungen nur Edukt und Zersetzungsprodukte zu beobachten sind.

Strobilurin A (**1b**) und (9*E*)-Strobilurin A (**1a**) unterscheiden sich auffällig in ihren biologischen Aktivitäten. So bewirken bereits 0.2 $\mu\text{g/ml}$ **1b** bei *Penicillium notatum* eine Atmungshemmung von 100%²⁾, während bei **1a** dazu 17 $\mu\text{g/ml}$ notwendig sind. Über die Synthese einfacherer Strobilurin-Modelle und ihre biologische Aktivität wird in einer gesonderten Mitteilung berichtet.

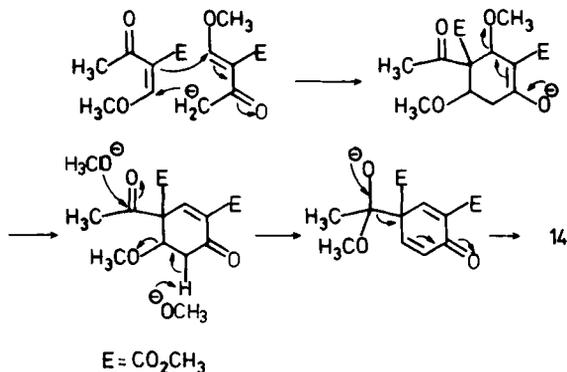
D) Ein weiterer Versuch zur Synthese von Strobilurin A

Beim Versuch, Strobilurin A durch Kondensation von Cinnamylidetriphenylphosphoran (**12**) mit 2-(Methoxymethylen)acetessigsäure-methylester (**13**) herzustellen, entstand als Hauptprodukt 2-Methyl-4-phenylbenzoesäure-methylester (**11**) neben geringen Mengen von 4-Hydroxyisophthalsäure-dimethylester (**14**). Durch geeignete Wahl der Reaktionsbedingungen kann **11** in 48% Ausbeute erhalten werden.

Die Bildung von **11** ist durch γ -Addition des Ylids an die β -Methoxyacrylat-Gruppe von **13** mit anschließender Methanol- und Triphenylphosphanoxid-Abspaltung zu erklären. Analoge Reaktionen wurden bereits von Büchi²⁵⁾ und Bohlmann²⁶⁾ beobachtet.

Präparativ interessant ist die basenkatalysierte Dimerisierung von **13** zum 4-Hydroxyisophthalsäure-dimethylester (**14**), der bei Einwirkung von Kalium-*tert*-butylat in 49% Ausbeute erhalten werden kann. Wir schlagen dafür den in Schema 2 gezeigten Mechanismus vor.

Schema 2



Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die großzügige Förderung dieser Arbeit und die Gewährung eines Bruker-WM-400-NMR-Spektrometers.

Experimenteller Teil

UV-Spektren: Beckman-Modell 25. – IR-Spektren: Pye Unicam SP 1100 (Intensitätsangaben in Klammern: sst = sehr stark, st = stark, m = mittel, w = schwach, sh = Schulter). – ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren: Bruker WH 90 und WM 400 (TMS als innerer Standard, δ -Werte); ¹H-NMR-Spektren von **1a** und **1b**: 400 MHz, 64 K Datenpunkte, Gauß-Multiplikation. – Massenspektren: AEI MS 50 mit Datenverarbeitung, Direkteinlaß, 70 eV. – Schmelzpunkte: Heiztischmikroskop, Reichert; unkorrigierte Temperaturwerte. – Säulenchromatographie: Kieselgel 60, Fa. Merck; Sephadex LH-20, Fa. Pharmacia; MN-Polyamid SC 6-AC, Fa. Macherey, Nagel & Co. – DC: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄, Fa. Merck; Fließmittelsystem A: *n*-Hexan/CCl₄/CHCl₃/Essigester = 4:3:1:1, B: CCl₄/Essigester = 3:1, C: Cyclohexan/Essigester/HCO₂H = 120:40:5. Zur Bestrahlung wurde eine Quecksilberhochdrucklampe (HPK 125 W, Fa. Philips) und ein Bestrahlungskarussell der Fa. Dema (Bornheim) mit Solidex-Filter verwendet.

(3*E*,5*E*)-3-Methyl-2-oxo-6-phenyl-3,5-hexadiensäure: Zu einer Lösung von 5.10 g (0.05 mol) 2-Oxobuttersäure (**6**) in 6.60 g (0.05 mol) Zimtaldehyd (**5**) tropft man unter Rühren und Eiskühlung 4.2 g KOH in 13 ml Methanol und achtet darauf, daß die Innentemp. nicht über 25°C steigt. Nach Zusatz von 2/3 der KOH-Lösung gibt man den Rest schnell zu, wobei die Temp. auf ca. 45°C ansteigt und ein gelber Niederschlag ausfällt. Nach 12stdg. Stehenlassen im Kühlschrank wird das Kaliumsalz **7** abfiltriert, je dreimal mit wenig Methanol und Ether gewaschen und i. Vak. getrocknet; Ausb. 7.53 g (59%), hellgelbes Pulver, Schmp. 210–215°C (Zers.). – ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 1.87 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H), 6.91 (d, *J* = 14.7 Hz, 1H), 7.12 (dq, *J* = 9.3 und 0.8 Hz, 1H), 7.20, 7.40, 7.60 (jeweils m, 6H).

Durch Verteilen zwischen 2 N HCl und Essigester, Trocknen der organischen Phase und Eindampfen läßt sich die freie Säure gewinnen; Ausb. 10.4 g (96%), hellgelbe Kristalle, Schmp. 115–116°C. – UV (Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 346 (4.56), 251 (3.76, sh), 247 (3.80), 242 nm (3.76, sh). – IR (KBr): 3100 (m, br.), 1711 (st), 1660 (st), 1652 (st, sh), 1618 (sst), 1593 (st), 1432 (w), 1294 (m), 1268 (m), 1047 (m), 991 (m), 981 (m), 745 (st), 687 (st), 603 cm^{-1} (m). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ Aceton, 400 MHz): δ = 1.99 (dd, J = 1.3 und 0.35 Hz, 3H), 6.99 (dm, J = 15.1 Hz, 1H), 7.28 (dd, J = 15.1 und 11.0 Hz, 1H), 7.30–7.34 (m, 4H), 7.37 (ddq, J = 11.0, 1.3 und 0.35 Hz, 1H), 7.55 (m, 2H). – $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ Aceton): δ = 10.7 (Qd, J = 7 Hz, CH_3), 124.2 (br. D, C-5), 128.3 (Dm, C-2',6'), 129.4 (Dd, C-3',5'), 130.2 (Ddd, C-4'), 132.4 (dq, J = 2.3 und 6 Hz, C-3), 136.7 (m, C-1'), 143.5 (Dm, C-6), 146.9 (Dm, 4-H), 166.4 (s, C-1), 190.2 (dq, $J_{\text{C-2,4-H}}$ = 7.6 Hz, C-2). – MS: m/e = 216 (M^{\oplus} , 54.5%), 171 (100, $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}$), 143 (15.5, $\text{C}_{11}\text{H}_{11}$), 128 (80, C_{10}H_8).

$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_3$ (216.2) Ber. C 72.21 H 5.59 Gef. C 72.00 H 5.60

Oxidation von 7 zu (3E,5E)-2-Methyl-5-phenyl-2,4-pentadiensäure (8): 1.00 g (3.9 mmol) 7 wird in 48 ml Dioxan gelöst und mit 1proz. wäßriger Sodalösung auf pH = 8 eingestellt. Man tropft 40 ml 30proz. H_2O_2 zu, wobei sich die gelbe Lösung entfärbt. Nach 4stdg. Rühren bei 25°C wird mit 2 N HCl angesäuert und der weiße Niederschlag mit Dichlormethan ausgeschüttelt. Trocknen und Eindampfen der organischen Phase ergeben 0.34 g (46%) 8, Schmp. 160°C (Lit.¹⁶) 161–163°C; Lit.²⁷) 159–161.5°C). Die $^1\text{H-NMR}$ -Daten stimmen mit denen von Lit.^{16,27}) überein.

(3E)-3-Methyl-2-oxo-4-phenyl-3-butensäure (Kaliumsalz) (15): Aus 4.25 g (0.04 mol) Benzaldehyd und 4.08 g (0.04 mol) 6 analog der Darstellung von 7; Ausb. 7.20 g (78%), blaßgelbes Pulver, Schmp. 319°C (Zers.). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): δ = 1.91 (d, J = 2 Hz, 3H), 7.42 (m, 6H). – $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): δ = 11.7 (q), 128.4 (d), 128.5 (d, 2C), 129.5 (d, 2C), 133.5 (s), 135.8 (s), 140.7 (d), 170.1 (s), 200.0 (s).

Bei der Oxidation mit alkalischem H_2O_2 analog 7 \rightarrow 8 werden 40% (2E)-2-Methylzimtsäure erhalten; Schmp. 80°C (Lit.¹⁷) 81–82°C).

threo-4-Hydroxy-3-methyl-2-oxo-4-phenylbutensäure (Kaliumsalz) (16): Analog 15, allerdings mit anfänglicher Kühlung auf –10°C und Temperaturanstieg auf 10°C; Ausb. 9.40 g (76%), weißes Pulver, Schmp. 319°C (Zers.). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): δ = 0.71 (d, J = 7 Hz, 3H), 2.91 (dq, J = 8 und 7 Hz, 1H), 4.46 (dd, J = 8 und 3.6 Hz, 1H), 7.29 (m, 5H). – $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO): δ = 12.9, 51.6, 75.1, 126.8, 127.7, 144.0, 169.3, 206.8.

Bei der Oxidation mit alkalischem H_2O_2 analog 7 \rightarrow 8 werden 55% *threo*-3-Hydroxy-2-methyl-3-phenylpropanensäure erhalten, Schmp. 96°C (Lit.¹⁸) 96–97°C). Die $^1\text{H-NMR}$ -Daten stimmen mit denen von Lit.²⁸) überein.

Veresterung von 7 mit Methanol/Thionylchlorid: Zu 84 ml absol. Methanol werden bei –5°C 4.58 g (38.5 mmol) Thionylchlorid getropft. Danach gibt man 9.0 g (35 mmol) Kaliumsalz 7 zu, läßt auf 25°C erwärmen und erhitzt anschließend 20 min unter Rückfluß. Nach dem Abkühlen wird das ausgefallene KCl abfiltriert und das Filtrat i. Vak. eingedampft. Der gelbe Rückstand (7.50 g) enthält nach dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum neben 82–85% des Methylesters 9 18–15% des isomeren Furanons 10. Die Auftrennung der Komponenten erfolgt durch Chromatographie an Sephadex LH-20 mit Methanol als Eluent.

(3E,5E)-3-Methyl-2-oxo-6-phenyl-3,5-hexadiensäure-methylester (9): Ausb. 6.40 g (72%), Schmp. 48–50°C, R_F = 0.40 (A), der Fleck färbt sich mit konz. H_2SO_4 rot. – UV (Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 339 (4.56), 242 (3.73), 236 nm (3.74). – IR (CHCl_3): 1750 (st), 1665 (st), 1618 (sst), 1593 (st), 1452 (w), 1400 (w), 1340 (w), 1306 (m), 1266 (m), 1200 (m), 1062 (st), 978 cm^{-1} (st). –

$^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ Aceton): $\delta = 2.04$ (d, $J = 1.2$ Hz, 3H), 3.92 (s, 3H), 7.18 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.24 (dq, $J = 9.4$ und 1.2 Hz, 1H), 7.4, 7.5, 7.7 (jeweils m, 6H). – $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ Aceton): $\delta = 10.1$ (q), 52.2 (q), 124.0 (d), 128.1 (d, 2C), 129.2 (d, 2C), 129.9 (d), 132.3 (s), 136.5 (s), 143.3 (d), 146.7 (d), 166.1 (s), 189.5 (s). – MS: $m/e = 230$ (M^\oplus , 29%), 171 (100, $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}$), 143 (16.5, $\text{C}_{11}\text{H}_{11}$), 128 (63, C_{10}H_8).

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_3$ (230.2) Ber. C 73.03 H 6.13 Gef. C 72.83 H 6.13

3-Methoxy-4-methyl-5-styryl-2(5H)-furanon (**10**): Ausb. 1.07 g (12%), Schmp. 51 °C, $R_F = 0.30$ (A), mit konz. H_2SO_4 orangerot. – UV (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 292 (3.26), 281 (3.43), 254 (4.37), 209 (4.41), 205 nm (4.44). – IR (CHCl_3): 1772 (sst), 1691 (st), 1683 (st, sh), 1462 (m, sh), 1451 (m), 1332 (m), 1300 (m), 1240 (w), 1145 (sst), 1130 (sst, sh), 1060 (st), 1009 (st), 970 (sst), 695 (m), 615 (w), 558 cm^{-1} (w). – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.92$ (d, $J = 1.2$ Hz, 3H), 4.00 (s, 3H), 5.20 (m, 1H), 5.88 (dd, $J = 8.1$ und 15.7 Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 7.3 (m, 5H). – MS: $m/e = 230$ (M^\oplus , 100%), 215 (14, $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{O}_3$), 199 (24, $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{O}_2$), 187 (29, $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_2$), 131 (87, $\text{C}_9\text{H}_7\text{O}$).

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_3$ (230.2) Ber. C 73.03 H 6.13 Gef. C 72.73 H 6.08

(*9E*)-*Strobilurin A* (**1a**): Zu 10.27 g (28 mmol) (Methoxymethylen)triphenylphosphoniumchlorid²⁹ in 30 ml wasserfreiem Ether werden unter Argon und Rühren 15 ml einer 2 M Lösung von Phenyllithium in Benzol/Ether (7:3) gegeben. Man läßt noch 10 min Stehen, kühlt auf –30 °C und tropft 4.90 g (20 mmol) des 8:2-Gemischs von **9** und **10** (s.o.) in 10 ml Ether zu. Nach 12 h wird abfiltriert, gründlich mit Ether gewaschen und das Filtrat i. Vak. eingedampft. Der ölige Rückstand wird auf eine Kieselgel-Säule (15 × 5 cm) gegeben und mit $\text{CCl}_4/\text{Aceton}$ (40:1) eluiert. Die Strobilurin-Fractionen (R_F s.u.) werden zusammengefaßt und an einer kurzen Säule mit Sephadex LH-20 von Kieselgel befreit. Eindampfen i. Vak. liefert einen blaßgelben, festen Rückstand, der gründlich mit Methanol/Wasser (3:1) digeriert wird. Abfiltrieren und Trocknen ergeben 2.0 g (39%), dazu kommen durch Wiederholen der Prozedur mit der Mutterlauge noch weitere 0.75 g; Gesamtausb. 2.75 g (53%), blaßgelbe Kristalle vom Schmp. 75–77 °C, $R_F = 0.34$ (A), Fleck färbt sich mit konz. H_2SO_4 gelborange und mit Molybdätosphorsäure graublau. – UV (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 314 (4.32, sh), 305 (4.34), 237 (3.98), 229 (4.02), 224 (4.00), 207 nm (4.03). – IR (KBr): 1709 (sst), 1626 (st, sh), 1620 (st), 1447 (m), 1258 (st), 1247 (st), 1140 (st), 1070 (st), 979 (st), 929 (m), 767 (st), 748 (st), 740 (st), 689 cm^{-1} (st). – $^1\text{H-NMR}$ - und $^{13}\text{C-NMR}$ s. Tab. 1. – MS: $m/e = 258.1246$ (M^\oplus , 62.3%, ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_3$ 258.1256), 199 (54.8, $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{O}$), 167 (36.0, $\text{C}_{13}\text{H}_{11}$), 121 (100, $\text{C}_8\text{H}_9\text{O}$), 75 (95.3, $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2$).

$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_3$ (258.3) Ber. C 74.40 H 7.02 Gef. *) C 73.06 H 6.90

Strobilurin A (**1b**): 300 mg **1a** werden in 6 ml Aceton und 0.6 ml Benzol gelöst und 1 h mit einer Quecksilberhochdrucklampe unter Verwendung eines Solidex-Filters (90% Intensität bei 300 nm) bestrahlt. Nach DC-Kontrolle ist die Isomerisierung nach 1 h vollständig abgelaufen. Man dampft die Lösung im Rotationsverdampfer ein und reinigt das Strobilurin A an einer Säule mit Sephadex LH-20 (63 × 2.8 cm) durch Elution mit Methanol; Ausb. 255 mg (85%), $R_F = 0.40$ (A). Nach chromatographischem Verhalten, spektroskopischen Daten und Atmungshemmung bei *Penicillium notatum* identisch mit dem Naturstoff^{2,3}).

*Thermolyse von 1b*²⁴): 2 mg **1b** werden in 1 ml Dimethylformamid unter Stickstoff 9 h auf 240 °C erhitzt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels i. Ölpumpenvak. wird der braune Rückstand durch DC gereinigt (Kieselgel G, Fließmittel Essigester/ CCl_4 , 3:1). Das hellgelbe Öl, $R_F = 0.63$ (C), wird durch direkten Vergleich als 2-Methyl-5-phenylbenzoesäure-methylester (**11**) identifiziert (s.u.).

Unter den gleichen Bedingungen liefert **1a** neben Zersetzungsprodukten das Edukt zurück.

*) Die Substanz hält hartnäckig Methanol fest.

2-Methyl-5-phenylbenzoesäure-methylester (11): Unter Argon werden zu 2.98 g (6.3 mmol) Cinnamyltriphenylphosphoniumbromid in 20 ml Tetrahydrofuran 850 mg (6.3 mmol) Kalium-*tert*-butylat gegeben. Anschließend wird bei 15°C eine Lösung von 1.00 g (6.3 mmol) 2-(Methoxymethylen)acetessigsäure-methylester (**13**) in 10 ml Tetrahydrofuran innerhalb von 5 min zugepfropft. Man erhitzt 10 h unter Rückfluß, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und verteilt den Rückstand zwischen Wasser und Essigester. Die organische Phase wird getrocknet und durch Chromatographie an Sephadex LH-20 (Eluent: Methanol) gereinigt; Ausb. 611 mg (43%), hellgelbes Öl, $R_F = 0.63$ (B). – IR (CHCl₃): 1725 (sst), 1483 (m), 1445 (m), 1310 (st), 1250 (st), 1095 (st), 698 cm⁻¹ (m). – ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 2.62$ (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 7.33–7.63 (m, 7H), 8.16 (d, $J = 2$ Hz, 1H). – MS: $m/e = 226$ (M⁺, 100%), 211 (12, C₁₄H₁₁O₂), 195 (80, C₁₄H₁₁O), 166 (88, C₁₃H₁₀), 152 (33, C₁₂H₈).

C₁₅H₁₄O₂ (226.3) Ber. C 79.62 H 6.24 Gef. C 79.27 H 6.23

Alkalische Verseifung ergibt in 82% Ausb. 2-Methyl-5-phenylbenzoesäure; Schmp. 205–206°C (Ethanol) (Lit.³⁰) 211–212°C).

4-Hydroxyisophthalsäure-dimethylester (14): Zu einer Suspension von 390 mg (2.9 mmol) Kalium-*tert*-butylat in 10 ml Toluol wird unter Stickstoff 1.00 g (6.3 mmol) 2-(Methoxymethylen)acetessigsäure-methylester (**13**) getropft. Es wird 3 h bei Raumtemp. gerührt, wobei die Farbe nach Gelborange wechselt. Danach versetzt man mit Wasser, säuert mit verd. Salzsäure an und trennt die organische Phase ab. Die wäßrige Phase wird noch zweimal mit Essigester extrahiert. Aus den vereinigten organischen Phasen gewinnt man nach Trocknen, Eindampfen und Chromatographie des Rückstands an acetyliertem Polyamid mit Petrolether (40–60°C)/Essigester (95:5) als Eluent 315 mg (49%) farblose Nadeln mit Schmp. 95°C (Lit.³¹) 96°C; $R_F = 0.71$ (B). – ¹H-NMR ([D₆]Aceton): $\delta = 3.88$ (s, 3H), 4.03 (s, 3H), 7.08 (dd, $J = 8.8$ und 0.4 Hz, 1H), 8.15 (dd, $J = 2.3$ und 8.8 Hz, 1H), 8.53 (dd, $J = 2.3$ und 0.4 Hz, 1H). – MS: $m/e = 210$ (M⁺, 73.5%), 179 (47), 147 (76).

- 1) XIX. Mitteilung: S. Backens, B. Steffan, W. Steglich, L. Zechlin und T. Anke, Liebigs Ann. Chem. **1984**, 1332.
- 2) T. Anke, F. Oberwinkler, W. Steglich und G. Schramm, J. Antibiot. **30**, 806 (1977).
- 3) G. Schramm, W. Steglich, T. Anke und F. Oberwinkler, Chem. Ber. **111**, 2779 (1978).
- 4) J. Bäuerle, Dissertation, Univ. Tübingen 1981.
- 5) T. Anke, H. Besl, U. Mocek und W. Steglich, J. Antibiot. **36**, 661 (1983).
- 6) V. Mucilik, J. Črná, V. Šašek, M. Semeržieva und M. Vondráček, Folia Microbiol. (Prag) **14**, 377 (1969).
- 7) P. Sedmera, F. Nerud, V. Musílek und M. Vondráček, J. Antibiot. **34**, 1069 (1981); F. Nerud, P. Sedmera, Z. Zouchová, V. Mucílek und M. Vondráček, Collect. Czech. Chem. Commun. **47**, 1020 (1982).
- 8) M. Vondráček, J. Vondráčková, P. Sedmera und V. Musílek, Collect. Czech. Chem. Commun. **48**, 1508 (1983).
- 9) T. Anke, H.-J. Hecht, G. Schramm und W. Steglich, J. Antibiot. **32**, 1112 (1979).
- 10) G. Schramm, W. Steglich und T. Anke, Abstracts XIIIth International Congress of Microbiology, S. 153, Boston 1982.
- 11) W. F. Becker, G. v. Jagow, T. Anke und W. Steglich, FEBS Lett. **132**, 329 (1981); G. v. Jagow und W. D. Engel, ebenda **136**, 19 (1981); G. v. Jagow und W. F. Becker, Bull. Mol. Biol. Med. **7**, 1 (1982); vgl. auch J. Šubic, M. Behún und V. Musílek, Biochim. Biophys. Res. Commun. **57**, 17 (1974).
- 12) M. Vondráček, J. Čapková und K. Čulík, Czech. Pat. 180775 (1979) [Chem. Abstr. **93**, 204286 (1980)].
- 13) In der Patentschrift wird für das Strobilurin A entsprechende Antibiotikum ohne nähere Begründung die (9Z)-Konfiguration angegeben. In späteren Mitteilungen der Arbeitsgruppe^{7,8} wird jedoch die (9E)-Konfiguration bevorzugt.
- 14) U. Vögeli und W. v. Philipsborn, Org. Magn. Reson. **7**, 617 (1975); U. Vögeli, D. Harz und W. v. Philipsborn, ebenda **13**, 200 (1980).

- 15) S. Braun, *Org. Magn. Reson.* **11**, 191 (1978).
- 16) R. H. Wiley, C. E. Stapler und T. H. Crawford, *J. Org. Chem.* **29**, 2986 (1964).
- 17) R. Bisson, R. B. Yeats und E. W. Warnhoff, *Can. J. Chem.* **50**, 2851 (1972).
- 18) J. Canceill, J. Cabard und J. Jacques, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1966**, 2653.
- 19) Unter Annahme der (9E)-Konfiguration für Strobilurin A war in einer Kurzmitteilung der Synthese [W. Steglich, *Pure Appl. Chem.* **53**, 1233 (1981)], 7 und 9 irrtümlich die (9Z)-Konfiguration zugeordnet worden.
- 20) S. Guttmann und R. A. Boissonas, *Helv. Chim. Acta* **41**, 1852 (1958).
- 21) G. Wittig, W. Böll und K.-H. Krück, *Chem. Ber.* **95**, 2514 (1962).
- 22) M. P. Williamson und D. H. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 6580 (1981).
- 23) D. M. Grant und E. G. Paul, *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 2984 (1964); vgl. auch L. Carey, J. M. Clough und G. Pattenden, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1983**, 3005.
- 24) S. Backens, Dissertation, Univ. Bonn 1983.
- 25) G. Büchi und H. Wüest, *Helv. Chim. Acta* **54**, 1767 (1971); G. Büchi und M. Pawlak, *J. Org. Chem.* **40**, 100 (1975).
- 26) F. Bohlmann und C. Zdero, *Chem. Ber.* **106**, 3779 (1973).
- 27) D. R. Brittelli, *J. Org. Chem.* **40**, 2514 (1981).
- 28) J. Mulzer, M. Zippel, G. Büntrup, J. Segner und J. Finke, *Liebigs Ann. Chem.* **1980**, 1108.
- 29) G. Wittig und M. Schlosser, *Chem. Ber.* **94**, 1373 (1961).
- 30) V. Georgian und J. Lepe M., *J. Org. Chem.* **29**, 40 (1964).
- 31) C. Schall, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **12**, 828 (1879).

[11/84]