

164. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

205. Mitteilung¹⁾

Isolierung und Struktur von Streptazolin

von **Hannelore Drautz** und **Hans Zähner**

Institut für Biologie II, Lehrstuhl für Mikrobiologie I der Universität, D-7400 Tübingen

Ernst Kupfer und **Walter Keller-Schierlein**

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule, CH-8092 Zürich.

(9. VI. 81)

Summary

Streptazolin, a lipophilic neutral compound giving a yellow colour reaction with *Ehrlich* reagent, was isolated from cultures of *Streptomyces viridochromogenes*, strain Tü-1678. On the basis of a "chemical screening". Its structure, **1**, was determined by spectroscopic investigations and chemical degradations. Dihydrostreptazolin **3** exhibits limited antimicrobial activities. Pharmacological investigations are in progress.

In einer Durchsichtung von 25 *Streptomyces*-Stämmen, in der eine Selektion der zu bearbeitenden Stoffe aufgrund von chemischen Reaktionen mit verschiedenen Sprühreagenzien durchgeführt wurde (vgl. z. B. [2]), fiel Streptazolin aus dem Stamm Tü-1678 durch die starke Gelbfärbung mit *Ehrlich*-Reagens auf. Der Stamm Tü-1678 gehört gemäss seinen artbestimmenden Merkmalen zur Species *Streptomyces viridochromogenes*.

Die Züchtungen wurden im Massstab bis zu 200 l in Fermentern durchgeführt. *Fig. 1* zeigt den typischen Fermentationsverlauf in einer 10-l-Kultur. Die Produktion von Streptazolin beginnt während der logarithmischen Wachstumsphase, erreicht das Maximum aber erst in der stationären Phase. Die beobachtete antibakterielle Wirkung, die ihr Maximum nach 120 Std. erreicht, ist auf die Bildung von Chartreusin [3] zurückzuführen, das durch seine Spektren identifiziert wurde.

¹⁾ 204. Mitt., s. [1].

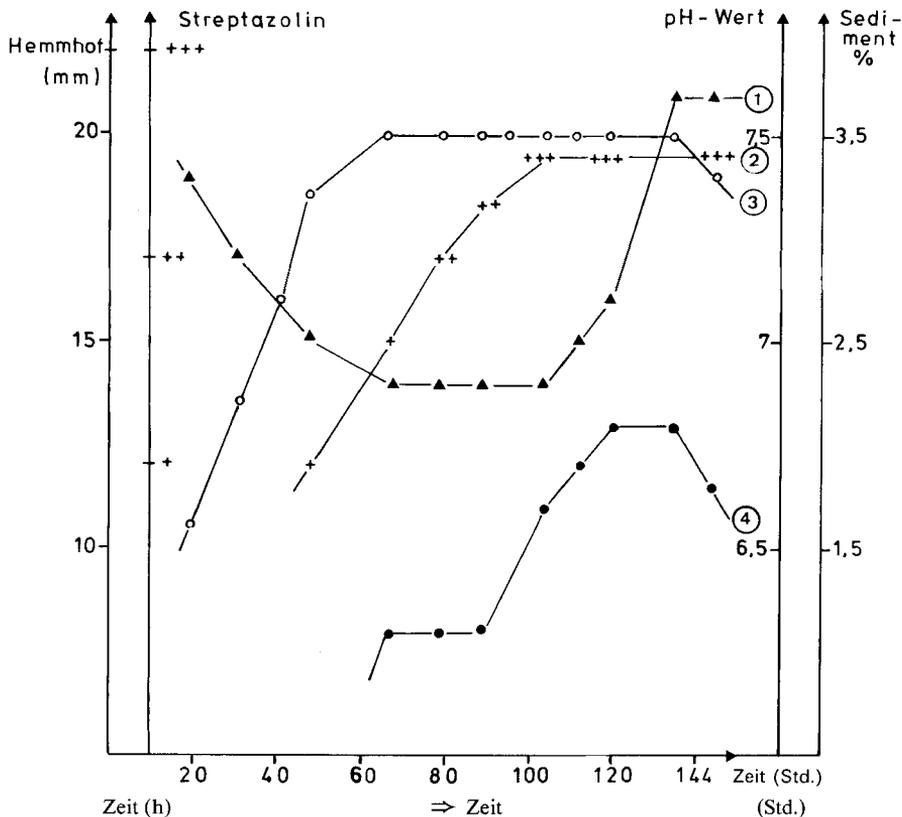
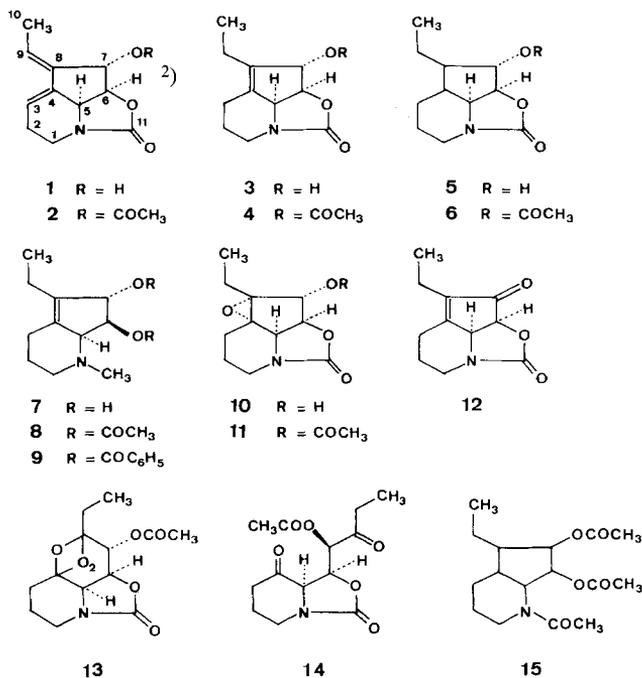


Fig. 1. Fermentationsverlauf mit *Streptomyces viridochromogenes*, Stamm Tü-1678, im 10-l-Fermenter.
 ① pH-Wert; ② Streptazolin; ③ Sediment; ④ Chartreusin (antibiotische Aktivität gegen *Bacillus brevis*).

Die Reinigung von Streptazolin (1) erwies sich als schwierig, weil sich die Verbindung in konzentrierter Form teilweise polymerisierte. Durch Chromatographie von Rohextrakten an Kieselgel liessen sich zwar leicht gemäss DC. einheitliche Fraktionen erhalten. Nach dem völligen Eindampfen der Eluate löste sich aber jeweils nur ein Teil des zähflüssigen Rückstandes wieder auf, während ein in den meisten gebräuchlichen Lösungsmitteln unlöslicher Rückstand zurückblieb. Dieser wurde aus Dimethylformamid mit Wasser als farbloses Pulver ausgefällt und charakterisiert (s. unten).

In verdünnter Lösung war das Streptazolin dagegen längere Zeit einigermaßen haltbar. Nachdem orientierende Versuche Hinweise gegeben hatten, dass die Verbindung ein konjugiertes Dien ist, haben wir Extrakte in einem frühen Stadium der Reinigung über Pd/C hydriert. Darauf konnte das stabile Dihydrostreptazolin 3 (s. *Schema 1*) leicht durch Chromatographie gereinigt werden. Die Dihydroverbindung 3 und vor allem deren kristallisiertes *O*-Acetylderivat 4 waren daher die ersten gut charakterisierten Verbindungen der Reihe und bildeten den Ausgangspunkt für die hier beschriebene Strukturaufklärung.

Schema 1



Das kristalline *O*-Acetyldihydrostreptazolin **4** besitzt die Bruttoformel C₁₃H₁₇NO₄, die durch das Massenspektrum (M^+ bei 251) gestützt wird. Es ist aufgrund des ¹H-NMR.-Spektrums ein Monoacetylderivat eines sekundären Alkohols (je *s* bei 2,04 und 5,61 ppm) und besitzt ferner eine CH₃CH₂-Gruppe (¹H-NMR.: *t* bei 1,00 ppm; ¹³C-NMR.: *qa* bei 12,8 ppm), 3 weitere Methylengruppen und eine tetrasubstituierte Doppelbindung. Im ¹H-NMR. von **1** und seinem Acetylderivat **2**

Erst wesentlich später gelang es, von Streptazolin (**1**) und seinem Acetylderivat **2** Lösungen zu bereiten, die sich für eine spektroskopische Untersuchung eigneten, indem völliges Eindampfen von Extrakten und Chromatogramm-Fractionen strikte vermieden wurden. Durch mehrfaches partielles Einengen im Vakuum und Ersetzen der Lösungsmittel durch Chloroform bzw. Deuteriochloroform wurden Lösungen erhalten, in denen Fremdlösungsmittel die Interpretation der Spektren nicht mehr erheblich störten. Die Hydrierung von chromatographisch reinem, aber nicht ganz polymerenfreiem Streptazolin gab die gleiche Dihydroverbindung **3**.

2) Die in Formel **1** angegebene Numerierung des Streptazolingerüsts wurde von den Autoren aufgrund biogenetischer Gesichtspunkte gewählt, die in späteren Mitteilungen dieser Reihe besser zum Ausdruck kommen werden. Die Redaktion der *Helv. Chim. Acta* ist der Ansicht, dass die Bezifferung von Gerüsten unabhängig von biogenetischen Gesichtspunkten, rein nach systematischen Regeln vorgenommen werden sollte. Demnach wäre das Grundgerüst des Streptazolins und seiner Derivate wie in der nebenstehenden Formel zu numerieren. Streptazolin wäre entsprechend als 1-Aza-3-oxatricyclo [5.2.1.0^{4,10}] dec-6-en-2-on zu benennen.

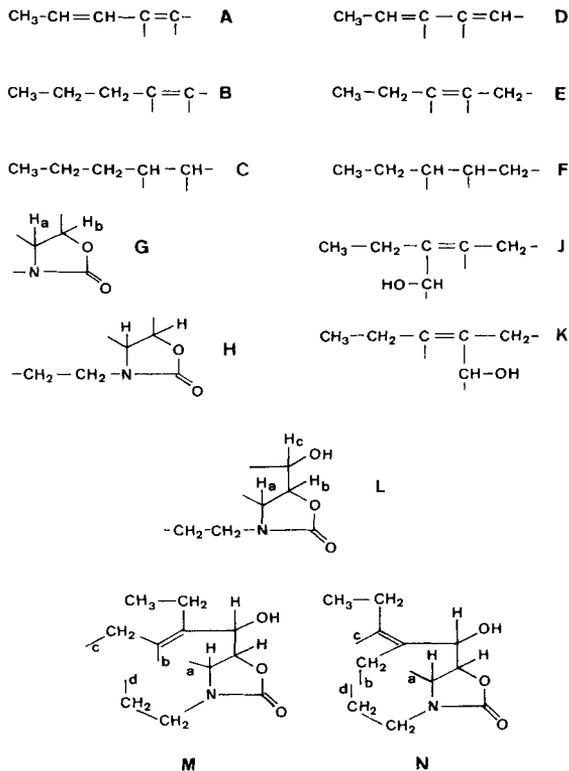


liegt das Signal der Methylgruppe bei 1,8 ppm und ist ein Dublett ($J_{ca.} 7 \text{ Hz}$). Die Methylgruppe liegt demnach an einer hydrierbaren Doppelbindung. Im ^{13}C -NMR. von **2** geben die 4 olefinischen C-Atome 4 Signale, von denen im 'off-resonance'-Spektrum 2 als Singulette und 2 als Dublette erscheinen.

Bei der Hydrierung von **1** entsteht neben **3** in geringerer Menge ein Tetrahydroderivat **5**, das als kristallines Acetylderivat **6** charakterisiert wurde. Im ^{13}C -NMR. sind keine Signale von olefinischen C-Atomen enthalten, dagegen finden wir im Vergleich zu **4** zwei zusätzliche Signale ('off-res.': d) bei 38,1 und 48,8 ppm, während die andern Signale nur unwesentlich verändert sind.

Dass die zunächst aus den spektroskopischen Beziehungen vermuteten, scheinbar plausiblen Partialformeln **A**, **B** und **C** für die Verbindungen **1**, **3** und **5** falsch sind und durch die Partialformeln **D**, **E** und **F** zu ersetzen sind (s. *Schema 2*), ergab sich mit Sicherheit erst aus einer Röntgenstrukturanalyse von **4**, die wegen gewisser Unstimmigkeiten in den ^1H -NMR.-Spektren von **3** und **4** (s. unten) veranlasst wurde. Über die Röntgenanalyse erscheint demnächst eine separate Abhandlung. Die Hydrierung von **1** zu **3** ist demnach eine 1,4-Addition von Wasserstoff an ein Dien.

Schema 2



Das N-Atom von Streptazolin und der bisher beschriebenen Derivate besitzt keine basischen Eigenschaften (potentiometrische Titration). Das ^{13}C -NMR.-Signal eines Carbonyl-C-Atoms liegt bei den Verbindungen **2**, **4** und **6** im Bereich von 156 bis 159 ppm und entspricht damit am ehesten einer Carbamat-Gruppe (N-CO-O; vgl. z. B. Novobiocin [4]).

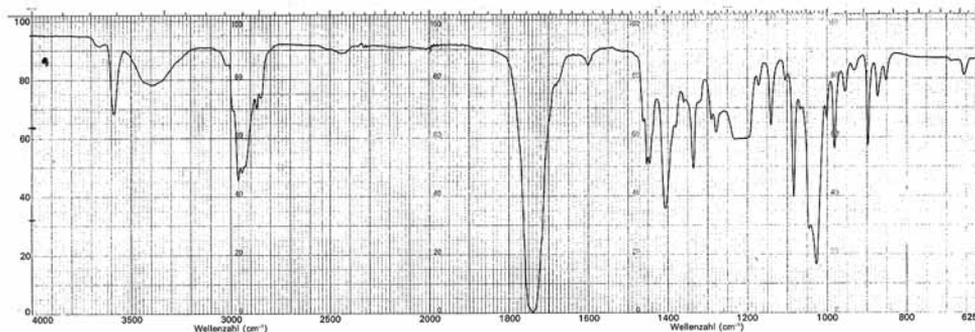


Fig. 2. IR.-Spektrum von Dihydrostreptazolin **3** in CHCl_3

Tabelle. ^{13}C -NMR.-Spektren einiger Derivate und Abbauprodukte von Streptazolin (**1**) in CDCl_3

Zuordnung	2	4	6	10	14
C(1)	39,7 <i>t</i>	42,4 <i>t</i>	39,2 <i>t</i>	40,9 <i>t</i>	39,6 <i>t</i>
C(2)	22,6 <i>t</i>	24,4 <i>t</i> ^{b)}	21,0 <i>t</i> ^{b)}	24,3 <i>t</i> ^{b)}	32,3 <i>t</i> ^{b)}
C(3)	124,1 <i>d</i> ^{a)}	27,0 <i>t</i> ^{b)}	20,4 <i>t</i> ^{b)}	21,0 <i>t</i> ^{b)}	38,7 <i>t</i> ^{b)}
C(4)	135,2 <i>s</i> ^{b)}	133,4 <i>s</i> ^{a)}	38,1 <i>d</i> ^{a)}	72,1 <i>s</i> ^{a)}	204,0 <i>s</i> ^{a)}
C(5)	59,1 <i>d</i>	64,5 <i>d</i>	58,1 <i>d</i>	60,0 <i>d</i>	60,2 <i>d</i>
C(6)	76,1 <i>d</i> ^{c)}	77,8 <i>d</i> ^{c)}	81,0 <i>d</i> ^{c)}	79,4 <i>d</i> ^{c)}	74,4 <i>d</i> ^{c)}
C(7)	79,7 <i>d</i> ^{c)}	82,8 <i>d</i> ^{c)}	81,4 <i>d</i> ^{c)}	83,1 <i>d</i> ^{c)}	76,5 <i>d</i> ^{c)}
C(8)	142,7 <i>s</i> ^{b)}	140,1 <i>s</i> ^{a)}	48,8 <i>d</i> ^{a)}	75,1 <i>s</i> ^{a)}	204,7 <i>s</i> ^{a)}
C(9)	119,0 <i>d</i> ^{a)}	18,7 <i>t</i> ^{b)}	21,6 <i>t</i> ^{b)}	24,7 <i>t</i> ^{b)}	22,1 <i>t</i> ^{b)}
C(10)	14,8 <i>qa</i>	12,8 <i>qa</i>	13,1 <i>qa</i>	9,7 <i>qa</i>	6,9 <i>qa</i>
C(11)	158,6 <i>s</i>	156,8 <i>s</i>	156,1 <i>s</i>	156,2 <i>s</i>	155,4 <i>s</i>
CH_3CO	20,5 <i>qa</i>	20,9 <i>qa</i>	21,0 <i>qa</i>	–	20,3 <i>qa</i>
CH_3CO	169,8 <i>s</i>	170,2 <i>s</i>	169,6 <i>s</i>	–	169,2 <i>s</i>

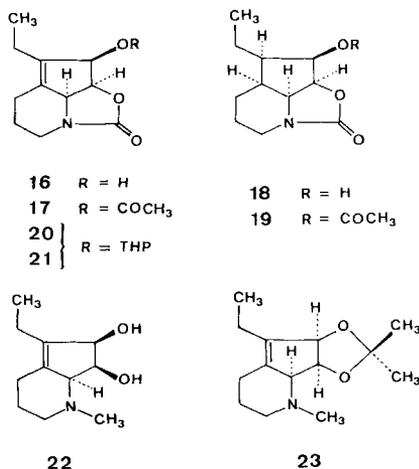
a) b) c) Signale, die vertauscht werden können.

Da die Carbonylfrequenz in den IR.-Spektren von **1** und **3** 1740–1760 cm^{-1} beträgt (vgl. Fig. 2; bei den Acetylderivaten fällt die Carbamatbande mit der Esterbande zusammen), muss die Carbamat-Gruppe einem 5gliedrigen Ring angehören. Streptazolin ist demnach ein Oxazolidin-2-on [5], wie unter anderem das Pactamycin, eine Nebenkomponente des Antibiotikums Pactamycin [6]. Chemisch wurde das Vorliegen einer cyclischen Carbamat-Gruppe durch eine reduktive Ringöffnung mit Lithiumaluminiumhydrid nachgewiesen. Aus dem Acetylderivat **4** entstand dabei ein kristallines Diol **7**, $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_2$, mit einer basischen Gruppe mit $\text{p}K_a$ 8,63 (Methylcellosolve/Wasser 4 : 1). Die Aminogruppe von **7** ist tertiärer Natur, denn bei der Acetylierung wurden nur die beiden sekundären Hydroxylgruppen

acetyliert; das Diacetylderivat **8**, $C_{15}H_{23}NO_4$, zeigt in den Spektren keine Anzeichen eines Amids. Die Carbonylgruppe des Oxazolidinon-Ringes von **4** ist mit $LiAlH_4$ offensichtlich zu einer *N*-Methylgruppe reduziert worden, die sich durch ein Singulett bei 2,21 ppm im 1H -NMR. von **7** zu erkennen gibt. Eine starke Bande bei 2790 cm^{-1} im IR. von **7** muss wohl als *Bohlmann*-Bande gedeutet werden [7]. Aufgrund dieser Ergebnisse lässt sich für **1** und seine Hydrierungsprodukte eine weitere Partialformel **G** angeben (s. *Schema 2*). Die Anwesenheit eines H-Atoms am C-Atom neben dem N-Atom (H_a in **G**) ergibt sich dabei aus den 1H -NMR.-Spektren der Verbindungen **1–6**. Dem zur OH-Gruppe geminalen Proton muss z. B. bei **3** (*Fig. 3*) das verbreitete Singulett bei 4,64 ppm zugeordnet werden, da dieses Signal beim Acetylderivat **4** nach 5,62 ppm verschoben wird. Dem Proton neben dem Ring-O-Atom (H_b) entspricht demnach das Dublett bei 4,58 ppm (bei **4** 4,61 ppm), das eine Kopplung von 6 Hz mit dem verbreiterten Dublett von H_a bei 4,40 ppm zeigt. Die ungewöhnlich starke chemische Verschiebung dieses Signals wird aus Zusammenhängen klar, auf die weiter unten einzugehen sein wird.

Die weitere Nachbarschaft des N-Atoms und damit die Erweiterung der Partialformel **G** zu **H** ergibt sich aus dem Triplett bei 42,4 ppm im ^{13}C -NMR. (CH_2N) und den Signalen bei 3,05 und 3,86 ppm im 1H -NMR. von **4**, Signalen für die Struktur CH_2N . Die geminale Kopplung von 14 Hz zeigt ebenfalls, dass diese beiden H-Atome einer Methylengruppe angehören, und ihr Aufspaltungsmuster ($d \times d \times d$) zeigt, dass unmittelbar neben dieser eine weitere CH_2 -Gruppe liegen muss (Formel **H**).

Schema 3



Die am Signal bei 3,05 ppm in den 1H -NMR.-Spektren von **3** und **4** (*Fig. 3*) messbaren Kopplungskonstanten von 14 (geminal), 12 und 4 Hz sprachen stark dafür, dass die Gruppe CH_2CH_2N Teil eines 6gliedrigen Ringes ist. Die Kopplungskonstante von 12 Hz entspricht derjenigen axial-antiperiplanaren Protonen und gab Anlass für die erwähnte Röntgenstrukturanalyse, da sich bei der Weiterführung der Strukturableitung ausgehend von der Partialformel **A** für diesen Bereich zwangsläufig ein 5gliedriger Ring ergab.

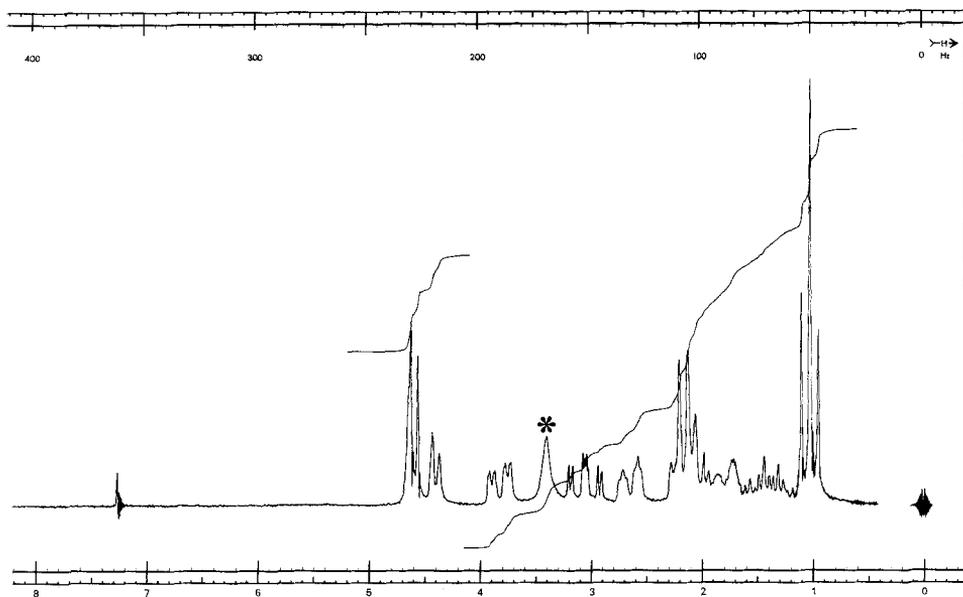


Fig. 3. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (100 MHz) von Dihydrostreptazolin **3** in CDCl_3 (*: mit D_2O austauschbar)

Um die Nachbarschaft der sekundären Alkoholgruppe näher zu ergründen, haben wir versucht, sie zur Ketogruppe zu oxydieren. Bei der Behandlung von **3** mit Jones-Reagens wurde aber nur in sehr geringer Menge (ca. 5%) das α,β -ungesättigte Keton **12** erhalten. Das Hauptprodukt war ein Epoxyalkohol **10**, $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_4$, dessen Natur sich vor allem durch das $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum zu erkennen gibt. Dieses zeigt an Stelle von 2 Singulett olefinischer C-Atome (133,4 und 140,1 ppm bei **4**) 2 Singulette bei 72,1 und 75,1 ppm. Die alkoholische Gruppe ist unverändert erhalten, was sich – ausser aus den Spektren – auch aus der Bildung eines Acetylderivates **11** ergibt.

Bei der Oxydation von **3** mit frisch vorbereitetem Mangandioxid entstand dagegen als Hauptprodukt das Keton **12**, dessen UV.-Spektrum (235 nm, $\log \epsilon$ 4,00) das eines α,β -ungesättigten Ketons ist. Das Dihydrostreptazolin **3** ist demnach ein sekundärer Allylalkohol, dem eine erweiterte, von der Partialformel **E** abgeleitete Partialformel **I** oder **K** zuzuteilen ist.

Dass die sekundäre Alkoholgruppe auch dem O-Atom des Oxazolidinon-Ringes benachbart ist (Partialformel **L**), ergibt sich nicht ohne weiteres aus den Spektren der bisher diskutierten Umwandlungsprodukte, da zwischen H_b und H_c keine Spin-Spin-Wechselwirkung erkennbar ist. Fehlende Kopplung zwischen vicinalen Protonen wird oft bei *trans*-ständigen H-Atomen an 5gliedrigen Ringen beobachtet (vgl. [8]). Da wir die Doppelbindung von **3** in einem solchen Ring vermuteten, strebten wir eine Ringöffnung an dieser Doppelbindung an. Ozonolyse von **4** ergab zunächst ein kristallines *O*-Acetylazonid **13** (s. *Schemata 1* und *4*), in dem sich die Nachbarschaft von H_b und H_c durch eine Kopplung von 4 Hz zu erkennen gibt (*d*, ($J=4$) bei 5,16 ppm; *d* × *d*, ($J_1=9$, $J_2=4$) bei 4,78), während die *cis*-vicinale Kopplung

$J_{a,b}$ 9 Hz beträgt (H_a bei 3,86 ppm). Die reduktive Spaltung des Ozonids **13** führte schliesslich zum Diketon **14** mit geöffnetem Ring ($J_{a,b}=9,5$, $J_{b,c}=3$ Hz).

Die Partialformeln **H**, **L** und **I** bzw. **K** können nun zusammengefasst werden zu Partialformeln **M** bzw. **N** für das Dihydrostreptazolin **3**, in denen alle Strukturelemente mit Ausnahme von 2 Ringen enthalten sind.

Die Partialformel **M** lässt sich formell zur Konstitutionsformel **3** (*Schema 1*) cyclisieren, die sich aus *Dreiding*-Modellen ohne grossen Zwang aufbauen lässt. Die andern formellen Cyclisierungsmöglichkeiten von **M** und **N** führen zu Formeln, die mit der *Bredtschen* Regel nicht vereinbar sind, oder zu Alkyliden-cyclopropan- oder Cyclopropen-Strukturen, in denen die Gruppe HCH_2CH_2 in einen Vierring statt in einen Sechsring zu liegen kommt. Die Konstitutionsformel **3** für Dihydrostreptazolin erklärt auch die ungewöhnlich starke chemische Verschiebung von $H-C(4)$ (4,40 ppm, *Fig. 3*) durch die α -Stellung zur Doppelbindung.

Aus der Konstitutionsformel **3** des Dihydrostreptazolins folgt zwangsläufig die Formel **1** für Streptazolin. Die übrigen bereits diskutierten Umwandlungsprodukte sind im *Schema 1* zusammengefasst.

Carbamate lassen sich im allgemeinen alkalisch spalten [2]. Das 7-*O*-Acetyl-3,4,8,9-tetrahydrostreptazolin (**6**) gab mit NaOH ein Hydrolyseprodukt, das ohne weitere Reinigung in ein flüssiges Acetylierungsprodukt **15** (s. *Schema 1*) umgewandelt wurde. Das IR.- und das Massenspektrum des chromatographierten und gemäss DC. scheinbar einheitlichen Acetylderivates passen auf die Konstitution **15**, doch zeigt das 1H -NMR., dass ein Gemisch von Diastereomeren vorliegt.

Über die relative Konfiguration des Streptazolins geben die nachfolgenden Versuche Aufschluss (s. *Schema 3*). Man darf sicher davon ausgehen, dass der Oxazolidin-Ring und der carbocyclische Fünfring miteinander *cis*-verknüpft sind. Das Problem reduziert sich damit auf die Bestimmung der relativen Lage der beiden O-Atome am Cyclopenten-Ring. Wegen der fehlenden Kopplung zwischen $H-C(5)$ und $H-C(6)$ in den 1H -NMR.-Spektren haben wir schon oben auf die wahrscheinliche *trans*-Stellung dieser beiden Substituenten hingewiesen.

Das Keton **12** wurde mit Natriumborhydrid zu einem Allylalkohol **16** reduziert, dessen kristallines Acetylderivat **17** vom Isomeren **4** verschieden ist. Es handelt sich demnach um 7-*O*-Acetyl-8,9-dihydro-7-epistreptazolin. Das bei der Reduktion als Nebenprodukt gebildete Tetrahydroderivat **18**, das ebenfalls durch ein kristallines Acetylderivat **19** näher charakterisiert wurde, ist von 3,4,8,9-Tetrahydrostreptazolin (**5**) verschieden und gehört demnach ebenfalls der 7-*epi*-Reihe an. Im Ringsystem von **12** ist die «Innenseite» gegen Angriff von aussen stark abgeschirmt, so dass für die 7-*epi*-Reihe eine *cis*-Stellung der Hydroxylgruppe zum Carbamat-O-Atom anzunehmen ist. Damit vereinbar ist das 1H -NMR.-Spektrum von **17**, das erwartungsgemäss eine Kopplung von 5 Hz zwischen $H-C(6)$ und dem *cis*-ständigen $H-C(7)$ erkennen lässt. Daneben zeigt das Signal von $H-C(7)$ (5,70 ppm) eine weitere Kopplung von 3 Hz, offensichtlich eine homoallylische Kopplung mit dem α -ständigen Proton an C(3). Diese beiden ($H-C$)-Bindungen sind gemäss räumlichem Modell nahezu parallel und stehen praktisch senkrecht auf der Doppelbindungsebene, was eine gute Voraussetzung für eine homoallylische Kopplung ist.

Eine direkte Reduktion von **17** mit Lithiumaluminiumhydrid (analog **4** \rightarrow **7**, s. oben) gab das schwer zu reinigende Diol **22** in schlechter Ausbeute. Bessere

Resultate gab die Reduktion, wenn die Hydroxylgruppe von **16** durch eine Tetrahydropyranylgruppe geschützt wurde. Von den beiden diastereomeren Derivaten **20** und **21** liess sich eines nach der chromatographischen Trennung in kristalliner Form gewinnen, während das andere als Öl anfiel. Für die Reduktion wurde das Gemisch **20/21** eingesetzt und nach der Reduktion ohne Charakterisierung des Zwischenprodukts die Tetrahydropyranylgruppe abgespalten. Das als viskose Flüssigkeit erhaltene Diol **22** reagierte leicht mit 2,2-Dimethoxypropan zum cyclischen Acetal **23**, das isomere *trans*-Diol **7** der natürlichen Reihe gab unter den gleichen Bedingungen kein Aceton-Derivat. Damit ist die *trans*-Anordnung von OH-Gruppe und Carbamat-O-Atom in **3** bewiesen. Die gleiche relative Konfiguration ergab sich später auch aus der Röntgenstrukturanalyse von **4**.

Hinweise auf die Chiralität von **3** wurden mit Hilfe des Dibenzoylderivates **9** von **7** erhalten. Die CD.-Kurve von **9** zeigt bei 236 nm einen starken positiven Cotton-Effekt ($\Delta\epsilon = +3,39$). Nach einer Regel von *Nakanishi* [9] kann daraus auf eine «rechtsschraubige» Anordnung der beiden O-Atome geschlossen werden, was für Streptazolin (**1**) die (5*S*, 6*S*, 7*S*)-Chiralität ergibt. Für die Konfiguration an der Doppelbindung der Seitenkette von **1** bestehen dagegen keine Anhaltspunkte.

Darauf, dass der schwerlösliche Rückstand (**24**) nach dem Eindampfen von Lösungen von **1** wirklich ein Polymerisationsprodukt des Streptazolins ist, kann aus folgenden Beobachtungen geschlossen werden: Die Elementarzusammensetzung von **24** stimmt mit derjenigen von **1** überein, aber nur unter der Annahme, dass beim Umfällen von **24** aus Dimethylformamid/Wasser pro C_{11} -Einheit 0,5 mol Wasser aufgenommen werden. Im IR.-Spektrum von **24** ist die Carbamat-Bande bei 1740 cm^{-1} vorhanden. Das in Deuteriodimethylformamid aufgenommene $^1\text{H-NMR}$. zeigt dagegen nur drei breite Signalhaufen, die keine detaillierte Zuordnung erlauben. Bei tieferem Feld als ca. 5 ppm sind keine Signale erkennbar, ein Zeichen dafür, dass an der Polymerenbildung die Doppelbindungen beteiligt sind. Im DC. wandert **24** nicht mit Lösungsmitteln, in denen **1** einen Rf-Wert von 0,5–0,8 besitzt. Die Anwesenheit von **1** und **24** in den gleichen Chromatogramm-Fractionen kann daher nur dadurch erklärt werden, dass sich **24** aus **1** laufend neu bildet.

Das 3,9-Dihydrostreptazolin (**3**) zeigte in unseren Testen eine begrenzte antibakterielle und antifungische Wirkung. Breitere Untersuchungen zur Erfassung andersartiger biologischer Wirkungen sind noch im Gange. Erste Versuche an Milzlymphozyten von Mäusen deuten darauf hin, dass Dihydrostreptazolin in Konzentrationen von 0,5 bis $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ stimulierend auf den Einbau von ^3H -Thymidin wirkt, während Konzentrationen über $17\text{ }\mu\text{g/ml}$ eine starke Hemmung dieses Einbaus verursachen [11].

Experimenteller Teil

Allgemeines s. [12]. Ausserdem: Die Ehrlich-Sprühhlösung wurde durch Auflösen von 1 g 4-(Dimethylamino)benzaldehyd in 100 ml konz. HCl-Lösung/Methanol 1:3 hergestellt [13]. Nach dem Besprühen wurden die DC.-Platten einige Min. auf einer Heizplatte von 100° erwärmt.

Artbestimmung: Diese erfolgte nach den von Hütter [14] angegebenen Artmerkmalen und nach [15]. Der Stamm Tü-1678 gehört zur Art *Streptomyces viridochromogenes*.

Fermentationen. a) Je 100 ml Nährlösung (2% Sojamehl und 2% Mannit) wurden in 500-ml-Erlenmeyerkolben mit einem seitlichen Einstich aus einer Schrägagarkultur beimpft und auf einer rotierenden Schüttelmaschine bei 120 U/Min. und 27° 4 Tage lang inkubiert. Als Vorkultur für den 10-l- und 20-l-Fermenter dienten 48 Std. alte Schüttelkulturen.

b) Fermenter, Modell MF-14 (*New Brunswick Scientific Co.*, New Brunswick, USA), von 10 l Nutzinhalt wurden mit 9 l Nährlösung (2% Sojamehl, 2% Mannit) beschickt und 30 Min. bei 134° sterilisiert.

Nach der Impfung aus 5 Erlenmeyerkolben wurde bei 27° inkubiert und gleichzeitig bei 250 U/Min. des Rührers 5 l sterile Luft pro Min. eingeleitet. Durch wiederholte Zugabe weniger Tropfen äthanolischer Polyol-Lösung wurde die Schaumbildung unterdrückt. Fermentationsverlauf, s. *Figur 1*.

c) Für die Vorkultur für den 200-l-Fermenter (s. unten) wurden in einem Laborfermenter b 20 (20 l) mit Intensor-Rührsystem von *Giovanola Frères SA*, Monthey, Schweiz, 19 l Nährlösung (wie oben) 20 Min. bei 120° sterilisiert und mit 10 Erlenmeyer-Kulturen (s. oben) beimpft. Bei 27° und 800 U/Min. wurden während der Inkubation 10 l Luft pro. Min. eingeleitet.

d) Im Fermenter Modell 200 (*AG für biologische Verfahrenstechnik*, Basel; *Giovanola Frères SA*, Monthey) wurden 180 l Nährlösung 30 Min. bei 120° sterilisiert und mit 20 l Inokulum (s. oben, 48 Std. alt) 4 Tage bei 27° inkubiert (800 U/Min., Umwurfsystem; 3000 l Luft pro Std.). Vor dem Autoklavieren und mehrmals während der Fermentation wurde die Schaumbildung mit je einigen Tropfen Polyol unterdrückt.

Fermentationsanalyse. Während der Inkubation wurden in bestimmten Zeitabständen (s. *Fig. 1*) Proben entnommen und folgende Werte bestimmt: a) pH: Labor-pH-Meter, pH 70, *Knick*, Berlin; b) Mycel-Volumen: durch Zentrifugieren einer Probe von 10 ml in graduieren Zentrifugengläsern (*Heraeus-Christ*), Cryofuge 6–6, 20°, 3000 U/Min., 10 Min.); c) Chartreusin-Konzentration: mit Hilfe eines Platten-Diffusionstestes mit *Bacillus brevis*; d) Streptazolin-Konzentration: Aliquote Volumina wurden mit Essigester extrahiert, die Extrakte eingengt und gemessene Proben auf Kieselgel-DC-Platten (*Merck* Nr. 5554) mit CHCl₃/MeOH 9:1 chromatographiert. Anschliessend wurde mit *Ehrlich*-Reagens entwickelt und das Streptazolin halbquantitativ durch Abschätzung der Farbtintensität bestimmt.

Isolierung. Das Filtrat aus 180 l Kultur wurde 3mal mit Essigester extrahiert und die Lösung i. V. auf ca. 50 ml eingengt. In dieser Form war das Material bei 0° einige Wochen haltbar. Ein Anteil von 7 ml des Rohextraktes, der ca. 370 mg Trockensubstanz enthielt, wurde auf 2 ml eingengt und auf eine Säule aus 100 g Kieselgel aufgetragen. Die mit CHCl₃/CH₃OH 19:1 eluierten, gemäss DC. einheitlichen Fraktionen (Rf 0,54 mit CHCl₃/CH₃OH 9:1) gaben beim Eindampfen i. V. 180 mg öligen Rückstand, der sich nach dem Trocknen i. HV. nur etwa zur Hälfte wieder in Chloroform oder Methanol auflösen liess, während der Rest als glasige Masse zurückblieb, die sich nur in Dimethylformamid einigermassen lösen liess. Die in Chloroform löslichen Anteile zeigten im DC. das gleiche Verhalten wie die Hauptkomponente des Rohextraktes, während der unlösliche Anteil unter den gleichen Bedingungen am Start zurückblieb.

Für die Analytik wurden die in gleicher Weise aus 7 ml Rohextrakt bereiteten einheitlichen Eluatfraktionen nur bis zu einer Konzentration von ca. 20–30% eingengt, wieder in CHCl₃ (für die NMR-Spektren in CDCl₃) aufgenommen, noch mehrmals auf ein kleines Volumen eingengt und wieder gelöst. Auf diese Weise wurden Lösungen von **1** erhalten, die sich erst nach tagelangem Stehen langsam trübten. $[\alpha]_D^{25} = +22^\circ$ ($c=2,8$, CHCl₃). – UV. (EtOH): 256 (3,93). – IR. (CHCl₃): 3590, 3400 br., 1745, 1655. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 1,84 (*d*, *J*=7, 3 H); 1,8–2,7 (*m*, 2 H); 3,35 (*m*, 2 H); 3,71 (*br. s*, 1 H); 4,25 (*br. d*, *J*=7, 1 H); 4,67 (*d*, *J*=7, 1 H); 4,79 (*br. s*, 1 H); 5,9–6,25 (*m*, 2 H).

Herstellung von 7-O-Acetylstreptazolin² (2). Eine wie oben durch Chromatographie frisch bereitete Lösung von **1** wurde weitgehend eingedampft, sofort in wenig Dimethylformamid gelöst und mit 6 ml Essigsäureanhydrid/Pyridin 1:2 15 Std. bei RT. acetyliert. Nach dem Eindampfen wurde der Rückstand durch präp. DC. auf Kieselgel (CHCl₃/AcOMe 9:1) gereinigt, Rf 0,46. Auch **2** polymerisierte sich nach dem vollständigen Eindampfen rasch. Probelösungen für die Spektroskopie wurden wie oben bereit. $[\alpha]_D = +53^\circ$ ($c=0,65$, CHCl₃). – UV. (EtOH): 256 (3,90). – IR. (CHCl₃): 1750, 1650; kein OH oder NH. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 1,76 (*d*, *J*=7,5, 3 H); 1,7–2,7 (*m*, 2 H); 2,06 (*s*, 3 H); 3,40 (*m*, 2 H); 4,43 (*br. d*, *J*=7, 1 H); 4,72 (*d*, *J*=7, 1 H); 5,59 (*br. s*, 1 H); 6,10 (*m*, 2 H). – ¹³C-NMR.: s. *Tabelle*. – MS: 249 (7, M⁺), 223 (11), 221 (8), 207 (9), 206 (9), 205 (12).

Herstellung von 7-O-Acetyl-3,9-dihydrostreptazolin (4) und 7-O-Acetyl-3,4,8,9-tetrahydrostreptazolin (6²). Ein Rohextrakt, der ca. 2,7 g Trockensubstanz enthielt, wurde i. V. nicht ganz zur Trockne eingedampft, mit Äthanol aufgenommen und wieder weitgehend eingedampft. Nach 4maliger Wiederholung war das Chloroform weitgehend verdrängt. Es wurde in 25 ml Äthanol aufgenommen und mit 1,35 g 10proz. Pd/C bei RT. hydriert. Nach 1 Std. war gemäss DC. das Ausgangsmaterial verschwunden. Der Katalysator wurde über *Celite* abfiltriert, das Filtrat i. V. eingedampft und das Rohmaterial an 400 g Kieselgel chromatographiert. Mit CHCl₃/MeOH 9:1 wurden 1,64 g Gemisch von **3** und **5** eluiert. Nach der Acetylierung mit Essigsäureanhydrid/Pyridin (15 Std., RT.) wurden 1,65 g **4/6** erhalten (Rf 0,64 bzw. 0,55 mit CHCl₃/AcOMe 4:1) und an 200 g Kieselgel chromatographisch getrennt. Mit CHCl₃/AcOMe 19:1 wurden zuerst 1,20 g **4**, dann 88 mg Mischfraktion und dann 180 mg **6** eluiert.

Das Dihydroderivat **4** gab aus AcOEt/Hexan farblose Kristalle, Smp. 76–77°, $[\alpha]_D^{25} = +143^\circ$ ($c=0,47$,

CHCl_3). - UV.: kein Maximum oberhalb 210. - IR. (CHCl_3): 1745. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 1,00 (*t*, $J=7$, 3 H); 1,1-2,3 (*m*, 5 H); 2,04 (*s*, 3 H); 2,68 (*d* \times br. *t*, $J_d=13,5$, J_t ca. 3, 1 H); 3,05 (*d* \times *d* \times *d*, $J_1=14$, $J_2=12$, $J_3=4$, 1 H); 3,86 (br. *d* \times *d*, $J_1=14$, $J_2=5$, $J_3 < 2$, 1 H); 4,39 (br. *d*, $J=6,5$, 1 H); 4,61 (*d*, $J=6,5$, 1 H); 5,62 (br. *s*, 1 H). - $^{13}\text{C-NMR}$.: s. *Tabelle*. - MS.: 251 (0,7, M^+), 210 (8), 209 (66), 208 (12), 194 (20), 192 (25), 191 (98), 180 (16).

$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_4$ (251,28) Ber. C 62,14 H 6,82 N 5,57% Gef. C 61,96 H 6,75 N 5,49%

Das Eluat mit Rf 0,55 gab aus AcOEt/Hexan **6** als farblose Kristalle, Smp. 101-102°, $[\alpha]_D^{25} = +48^\circ$ ($c=0,6$, CHCl_3). - UV.: keine Maxima oberhalb 210. - IR. (CHCl_3): 1747. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 0,98 (*t*, $J=7$, 3 H); 1,1-2,1 (*m*, 7 H); 2,02 (*s*, 3 H); 2,37 (*m*, 1 H); 2,95 (*m*, 1 H); 3,76 (*m*, 1 H); 4,15 (*d* \times *d*, $J_1=8$, $J_2=7$, 1 H); 4,69 (*d* \times *d*, $J_1=8$, $J_2=2,5$, 1 H); 5,16 (*d* \times *d*, $J_1=4,5$, $J_2=2,5$, 1 H). - $^{13}\text{C-NMR}$.: s. *Tabelle*. - MS.: 253 (22, M^+), 211 (4), 210 (5), 209 (7).

$\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ (253,30) Ber. C 61,64 H 7,56 N 5,53% Gef. C 61,58 H 7,58 N 5,53%

Die Acetylderivate **4** und **6** sind in kristalliner Form monatelang haltbar und zeigen keine Neigung zur Polymerisation.

Herstellung von 3,9-Dihydrostreptazolin² (**3**). Eine Lösung von 30 mg **4** in 1 ml Methanol und 5 Tropfen konz. NH_3 -Lösung wurde 12 Std. bei RT. desacetyliert. Durch Chromatographie an Kieselgel wurde **3** als farblose viskose Flüssigkeit erhalten, $[\alpha]_D^{25} = +94^\circ$ ($c=0,25$, CHCl_3). - IR. (CHCl_3): s. *Fig. 2*. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): s. *Fig. 3*. - MS.: 210 (14), 209 (100, M^+), 192 (32), 181 (37), 180 (57).

Durch Acetylierung von reinem **3** wurde wieder **4** erhalten.

Herstellung von 2-Methyl-7-äthyl-2-azabicyclo[4.3.0]non-6-en-8,9-diol (**7**). Zu 47 mg LiAlH_4 in 2 ml abs. Tetrahydrofuran wurden 100 mg **4** in 3 ml abs. Tetrahydrofuran gegeben und 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach der Zersetzung mit ges. Ammoniumsulfatlösung wurde mit Tetrahydrofuran extrahiert, der kristalline Eindampfrückstand aus AcOEt/Hexan umkristallisiert und bei 65-70°/0,05 Torr sublimiert, Smp. 88-89°, $[\alpha]_D^{25} = +3^\circ$ ($c=0,45$, CHCl_3). - Mikrotitration mit 0,1N HCl in Methylcellosolve/Wasser 4:1 ergab pK_a' 8,63. - IR. (CHCl_3): 3590, 3315, 2790 br.; kein C=O. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 1,02 (*t*, $J=8$, 3 H); 1,2-3,5 (*m*, 11 H, davon 2 HO); 2,21 (*s*, 3 H, CH_3N); 3,91 (*d*, $J=5$, 1 H); 4,41 (*s*, 1 H). - MS.: 197 (25, M^+), 180 (100), 168 (39), 166 (10), 152 (10), 150 (24).

$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ (197,28) Ber. C 66,97 H 9,71 N 7,10% Gef. C 66,97 H 9,75 N 6,99%

Herstellung von Diessigsäure-[2-methyl-7-äthyl-2-azabicyclo[4.3.0]non-6-en-8,9-diy]ester (**8**). Das aus 107 mg **4** wie oben hergestellte rohe Reduktionsprodukt **7** wurde wie üblich mit Essigsäureanhydrid/Pyridin acetyliert. Nach der Chromatographie an 10 g Kieselgel mit $\text{CHCl}_3/\text{AcOME}$ 7:3 wurden 74,5 mg **8** als farblose Flüssigkeit erhalten und durch Destillation bei 85° i. HV. gereinigt. - IR. (CHCl_3): 1735; kein OH oder NH. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 0,97 (*t*, $J=7$, 3 H); 1,4-3,2 (*m*, 9 H); 2,02 (*s*, 3 H); 2,10 (*s*, 3 H); 2,15 (*s*, 3 H); 5,32 (*d*, $J=5$, 1 H); 5,54 (*s*, 1 H). - MS.: 281 (0,9, M^+), 252 (1,3), 238 (1,8), 222 (72), 196 (7), 180 (100), 178 (97).

$\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ (281,35) Ber. C 64,04 H 8,24 N 4,98% Gef. C 63,89 H 8,45 N 4,86%

Herstellung von Dibenzoessäure-[2-methyl-7-äthyl-2-azabicyclo[4.3.0]non-6-en-8,9-diy]ester (**9**). Zu 70 mg **7** in 2 ml Pyridin wurde bei 0° 1 ml Benzoylchlorid gegeben. Nach 15 Min. Erwärmen auf dem Wasserbad wurde mit Eiswasser zersetzt, mit Chloroform ausgezogen und die mit Natriumhydrogencarbonat und ges. NaCl-Lösung gewaschene Lösung eingengt. Durch Chromatographie an 10 g Kieselgel ($\text{CHCl}_3/\text{AcOME}$ 4:1) und Destillation bei 170°/0,05 Torr wurden 88 mg **9** als blass-gelbes zähes Öl erhalten. - UV. (EtOH): 231 (4,46), 274 (3,32); 281 (3,23). - IR. (CHCl_3): 1710, 1605, 1585. - CD. (EtOH): $\Delta\epsilon + 3,39$ bei 236 nm. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 1,03 (*t*, $J=7,5$, 3 H); 1,4-3,1 (*m*, 8 H); 2,18 (*s*, 3 H); 3,25 (br. *d*, $J=5$, 1 H); 5,69 (*d*, $J=5$, 1 H); 5,88 (br. *s*, 1 H); 7,2-8,1 (*m*, 10 H).

Herstellung von 4,8-Epoxy-3,4,8,9-tetrahydrostreptazolin² (**10**). Bei RT. wurden 83 mg **3** in 2 ml Aceton bis zur bleibenden Orangefärbung mit Jones-Reagens versetzt. Nach dem Verdünnen mit Wasser wurde mit Chloroform ausgeschüttelt. Aus der gewaschenen und getrockneten Lösung wurden nach dem Eindampfen 75 mg kristallines Rohprodukt erhalten. Umkristallisation aus AcOME/Hexan gab 55 mg **10** als farblosen Nadelfilz, Smp. 166-167°, $[\alpha]_D^{25} = +41^\circ$ ($c=0,49$, CHCl_3). - UV.: keine Absorption oberhalb ca. 190. - IR. (CHCl_3): 3545, 3430 br., 1752. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 1,07 (*t*, $J=7$, 3 H); 1,3-2,3 (*m*, 6 H); 2,82 (br. *d*, $J=10$, 1 HO); 2,90 (*d* \times *d* \times *d*, $J_1=14$, $J_2=12$, $J_3=2$, 1 H); 3,90 (*d* \times *m*, $J_d=14$, 1 H); 4,06 (*d*, $J=7$, 1 H); 4,32 (*d* $J=10$, 1 H); 4,48 (*d*, $J=7$, 1 H); das Signal bei 2,90 ist erst nach Austausch von

HO mit D₂O vollständig erkennbar. Das *d* bei 4,32 wird nach dem Austausch zu einem *s*. – ¹³C-NMR.: s. Tabelle.

C₁₁H₁₅NO₄ (225,24) Ber. C 58,65 H 6,71 N 6,22% Gef. C 58,49 H 6,63 N 6,15%

Die Mutterlaugen von **10** wurden durch präp. DC. (CHCl₃/AcOMe 4:1) aufgetrennt in weitere 7 mg **10** (Rf 0,08 mit CHCl₃/AcOMe 19:1) und 3 mg **12** (Rf 0,16). Das letztere stimmte nach UV., IR., ¹H-NMR. und Rf überein mit einem auf anderem Weg bereiteten Präparat (s. unten).

Herstellung von 7-O-Acetyl-4,8-epoxy-3,4,8,9-tetrahydrostreptazolin² (**11**). Das aus 18 mg **10** auf üblichem Weg bereitete Acetylderivat gab aus AcOEt/Hexan Kristalle mit Smp. 137°, [α]_D²⁵ = +106° (c=0,38, CHCl₃). – IR. (CHCl₃): 1755; kein OH. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 1,04 (*t*, J=7,5 3 H); 1,2–2,3 (*m*, 6 H); 2,12 (*s*, 3 H); 2,92 (*d* × *d* × *d*, J₁=14, J₂=12, J₃=3, 1 H); 3,92 (*d* × *d* × *d*, J₁=14, J₂=4, J₃ ca. 1, 1 H); 4,07 (*d*, J=7,5, 1 H); 4,52 (*d* × *d*, J₁=7,5, J₂=1, 1 H); 5,41 (*d*, J=1, 1 H).

C₁₃H₁₇NO₅ (267,28) Ber. C 58,42 H 6,41 N 5,24% Gef. C 58,33 H 6,49 N 5,24%

Herstellung von 3,9-Dihydro-7-O-didehydrostreptazolin² (**12**). Während 2 Std. wurden 42 mg **3** mit 500 mg frisch bereitetem MnO₂ in 2 ml Tetrahydrofuran geschüttelt. Nach Abfiltrieren des Braunsteins wurde die Lösung eingedampft. Chromatographie an Kieselgel (CHCl₃/AcOMe 19:1) und Umkristallisieren aus AcOEt/Hexan gaben 30 mg reines **12** als farblose Kristalle, Smp. 91°, [α]_D = +233° (c=0,49, CHCl₃). – UV. (EtOH): 235 (4,00). – IR. (CHCl₃): 1757, 1720, 1650. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 1,01 (*t*, J=7, 3 H); 1,4–2,7 (*m*, 5 H); 3,0 (*m*, 1 H); 3,23 (*d* × *d* × *d*, J₁=14, J₂=12, J₃=3,5, 1 H); 3,94 (*d* × *d* × *d*, J₁=14, J₂=5, J₃=1,5, 1 H); 4,37 (*br. d*, J=6, 1 H); 4,54 (*d*, J=6, 1 H). – MS.: 207 (100, M⁺), 179 (25), 165 (10), 164 (21), 163 (18).

C₁₁H₁₃NO₃ (207,23) Ber. C 63,75 H 6,32 N 6,76% Gef. C 63,71 H 6,45 N 6,77%

Herstellung von 7-O-Acetyl-3,4,8,9-tetrahydrostreptazolin-(4,8-ozonid)² (**13**). In eine Lösung von 150 mg **4** in 10 ml Methylenchlorid wurde während 10 Min. ein ozonhaltiger Sauerstoffstrom eingeleitet (entspr. ca. 0,5 g O₃). Nach weiteren 5 Min. Spülen mit reinem Sauerstoff wurde eingedampft und der Rückstand aus AcOEt/Hexan umkristallisiert zu 171 mg farblosen Nadeln, Smp. 139–140°, [α]_D = +37° (c=0,9, CHCl₃). – IR. (CHCl₃): 1760. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 0,97 (*t*, J=7, 3 H); 1,6–2,2 (*m*, 6 H); 2,11 (*s*, 3 H); 2,80 (*m*, 1 H); 3,86 (*d*, J=9, 1 H); 3,90 (*m*, 1 H); 4,78 (*d* × *d*, J₁=9, J₂=4, 1 H); 5,16 (*d*, J=4, 1 H).

C₁₃H₁₇NO₇ (299,28) Ber. C 52,17 H 5,73 N 4,68% Gef. C 52,05 H 5,92 N 4,67%

Herstellung von 7-O-Acetyl-3,9-dihydro-4,8-secostreptazolin-4,8-dion² (**14**). Eine bei –15° bereitete Lösung von 150 mg **13** und 0,5 ml Dimethylsulfid in 5 ml Methanol wurde 17 Std. bei 0–4° aufbewahrt. Nach dem Zufügen von weiteren 0,5 ml Dimethylsulfid wurde noch 2 Std. bei RT. gehalten und dann eingedampft. Der Eindampfrückstand gab durch Umkristallisieren aus AcOEt 88 mg farblose Kristalle, Smp. 135–137°, [α]_D = +227° (c=0,54, CHCl₃). – IR. (CHCl₃): 1760, 1735, 1720. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 1,04 (*t*, J=8, 3 H); 1,9–2,8 (*m*, 6 H); 2,08 (*s*, 3 H); 3,28 (*d* × *t*, J_d=13, J_t=6,5, 1 H); 3,96 (*d* × *t*, J_d=13, J_t=5,5 1 H); 4,40 (*d*, J=9,5, 1 H); 5,22 (*d* × *d*, J₁=9,5, J₂=3, 1 H); 5,52 (*d*, J=3, 1 H). – ¹³C-NMR.: s. Tabelle.

C₁₃H₁₇NO₆ (283,28) Ber. C 55,12 H 6,05 N 4,95% Gef. C 55,05 H 6,01 N 4,87%

Hydrolyse zu Triessigsäure-[7-äthyl-2-azabicyclo[4.3.0]nonan-2,8,9-triyl]ester² (**15**). Durch 30 Min. Erwärmen (85°) von 30 mg **6** in 2 ml Methanol/10proz. wässr. NaOH-Lösung 1:1, Ansäuern mit 1N HCl (pH 4), Eindampfen i. V., Extraktion des Rückstandes mit EtOH/Toluol 1:1 und wieder Eindampfen wurde ein Rohprodukt erhalten, das direkt zu **15** acetyliert wurde. Präp. DC. mit CHCl₃/AcOMe 4:1 gab 14 mg **15** als farblose viskose Flüssigkeit. – IR. (CHCl₃): 1737, 1640. – ¹H-NMR. (CDCl₃): u. a. 0,91 und 0,94 (je *t*, J=7, 3 H); 1,99, 2,01, 2,02, 2,10 (je *s*, zusammen 9 H); 5,35 (*d* × *d*, J₁=8, J₂=3,5, 1 H). – MS.: 312 (0,5), 311 (0,5, M⁺, C₁₆H₂₅NO₅), 268 (7), 251 (5), 226 (5), 208 (12), 192 (87), 191 (89).

Herstellung von 7-O-Acetyl-3,9-dihydro-7-epistreptazolin² (17) und 7-O-Acetyl-3,4,8,9-tetrahydro-7-epistreptazolin² (19). Eine Lösung von 194 mg **12** in 10 ml 2-Propanol wurde bei 0° zu 35,5 mg NaBH₄ in 5 ml 2-Propanol getropft und 30 Min. gerührt. Nach dem Zersetzen mit einigen Tropfen Essigsäure wurde eingedampft und der Rückstand wie üblich acetyliert. Durch Chromatographie an 40 g Kieselgel mit CHCl₃/AcOMe 19:1 wurden 121 mg **17**, 26 mg Mischfraktion und 87,5 mg **19** erhalten. Rf mit CHCl₃/AcOMe 9:1 0,36 für **17** und 0,29 für **19**. Aus AcOEt/Hexan **17** als farblose Kristalle, Smp. 103°, [α]_D²⁵ = +200° (c=0,75, CHCl₃). – IR. (CHCl₃): 1745. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 0,97 (*t*, J=7, 3 H); 1,4–2,4, *m*, 5 H); 2,10 (*s*, 3 H); 2,65 (*d* × *br. t*, J_d=13, J_t=3, 1 H); 3,10 (*d* × *d* × *d*, J₁=14, J₂=12, J₃=4, 1 H); 3,86

($d \times m$, $J_d=14$, 1 H); 4,23 (d , $J=6,5$, 1 H); 5,02 ($d \times d$, $J_1=6,5$, $J_2=5$, 1 H); 5,70 ($d \times d$, $J_1=5$, $J_2=3$, 1 H). – MS.: 251 (3, M^+), 210 (14), 209 (100), 194 (19), 192 (8), 191 (8), 180 (9).

$C_{13}H_{17}NO_4$ Ber. C 62,14 H 6,82 N 5,57% Gef. C 62,02 H 6,82 N 5,63%

Aus AcOEt/Hexan wurde **19** als farblose Kristalle erhalten, Smp. 137° , $[\alpha]_D = +186^\circ$ ($c=0,75$, $CHCl_3$). – IR. ($CHCl_3$): 1740. – 1H -NMR. ($CDCl_3$): 0,92 (t , $J=7$, 3 H), 1,1–2,4 (m , 8 H), 2,08 (s , 3 H); 2,81 (m , 1 H); 3,88 (m , 1 H); 4,04 ($d \times d$, $J_1=7$, $J_2=4,5$, 1 H); 4,55 ($d \times d$, $J_1=10,5$, $J_2=6$, 1 H); 4,96 ($d \times d$, $J_1=7$, $J_2=6$, 1 H). – MS.: 253 (49, M^+), 211 (23), 210 (18), 196 (13), 194 (45), 193 (82).

$C_{13}H_{19}NO_4$ Ber. C 61,64 H 7,56 N 5,53% Gef. C 61,57 H 7,55 N 5,68%

Herstellung von 3,9-Dihydro-7-epistreptazolin² (**16**). Die Desacetylierung von **18** erfolgte durch Umsetzung mit einigen Tropfen konz. NH_3 -Lösung in 1 ml Methanol (12 Std. RT.), Aufarbeitung und Reinigung wie bei **3:16** als farblose Flüssigkeit. – IR. ($CHCl_3$): 3565, 1750. – 1H -NMR. ($CDCl_3$): 1,01 (t , $J=7$, 3 H); 1,4–2,4 (m , 6 H); 2,60 ($d \times br. t$, $J_d=13$, $J_c=3$, 1 H); 3,10 ($d \times d \times d$, $J_1=14$, $J_2=12$, $J_3=4$, 1 H); 3,84 ($br. d$, $J=14$, 1 H); 4,20 (d , $J=6$, 1 H); 4,79 (t , $J=6$, 1 H); 4,88 (m , 1 H). – MS.: 209 (100, M^+), 194 (5), 192 (29), 181 (34), 180 (49).

Herstellung von 7-O-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3,9-dihydro-7-epistreptazolin² (**20/21**). Aus 76 mg **17** durch Ammonolyse wie oben bereitetes rohes **16** wurde in 2 ml Methylenchlorid mit 180 mg Dihydropyran und 80 mg Pyridinium-*p*-toluolsulfonat 3,5 Std. bei RT. stehengelassen. Die mit Äther verdünnte, mit NaCl-Lösung gewaschene und mit $MgSO_4$ getrocknete Lösung gab beim Eindampfen 90 mg Rohprodukt, das gemäss DC. ($CHCl_3/AcOMe$ 9:1) 2 diastereomere Tetrahydropyranyläther enthielt: Rf 0,33 und 0,29. Durch Chromatographie an 10 g Kieselgel ($CHCl_3/AcOMe$ 9:1) und Kristallisation wurde ein Teil der Komponente **20** mit Rf 0,33 rein abgetrennt, Smp. 116 – 118° . – IR. ($CHCl_3$): 1740–1755 *br.* – MS.: 293 (8, M^+), 209 (71), 208 (8), 192 (36), 180 (43), 148 (27), 85 (100). Das Diastereomere **21** wurde aus späteren Fraktionen als chromatographisch einheitliches Öl erhalten. – IR.: nur wenig verschieden von IR. von **20**. – MS.: Übereinstimmung mit MS. von **20**.

Herstellung von 2-Methyl-7-äthyl-2-azabicyclo[4.3.0]non-6-en-8,9-diol (**22**). Das Gemisch **20/21** (88 mg) wurde mit 23 mg Lithiumaluminiumhydrid in 4 ml abs. Tetrahydrofuran 2,5 Std. unter Rückfluss gekocht. Darauf wurde feuchtes Tetrahydrofuran zugegeben und 12 Std. bei RT. gerührt. Der Niederschlag wurde abzentrifugiert und 3mal mit etwas Tetrahydrofuran nachgewaschen. Die Auszüge wurden eingeeignet zu 80 mg Rohprodukt, gemäss DC. ein Gemisch zweier diastereomerer Tetrahydropyranyläther mit Rf 0,53 und 0,42 (DC. mit $CHCl_3/MeOH/konz. NH_3$ -Lösung 90:10:1). Das rohe Gemisch wurde mit 2 ml Eisessig/Wasser 4:1 5 Std. auf 50 – 60° erwärmt, die Lösung i. V. eingedampft und der Rückstand an 10 g Kieselgel chromatographiert. Mit $CHCl_3/MeOH/konz. NH_3$ -Lösung 90:10:1 wurden 23 mg **22** eluiert, das gemäss DC. einheitlich war, Rf 0,21. – MS.: 197 (27, $C_{11}H_{19}NO_2$, M^+), 180 (100), 168 (53).

Herstellung von Aceton-[2-methyl-7-äthyl-2-azabicyclo[4.3.0]non-6-en-8,9-ylen]acetat (**23**). Ein Gemisch von 20 mg **22** in 1 ml 2,2-Dimethoxypropan, 0,2 ml Dimethylformamid und 26 mg *p*-Toluolsulfonsäure wurde 9 Std. bei RT. umgesetzt. Nach dem Verdünnen mit Chloroform, Waschen mit Natriumhydrogencarbonat und Trocknen wurde i. V. eingedampft zu 18,9 mg **23**. Durch präp. DC. ($CHCl_3/MeOH/konz. NH_3$ -Lösung 90:10:1, Rf 0,30) wurde die Verbindung als farbloses Öl rein erhalten. – IR. ($CHCl_3$): kein OH, kein C=O. – 1H -NMR. ($CDCl_3$): 1,00 (t , $J=7$, 3 H); 1,34 (s , 3 H); 1,38 (s , 3 H); 1,5–3,1 (m , 9 H); 2,34 (s , 3 H); 4,60 (t , $J=5$, 1 H); 4,93 ($d \times d$, $J_1=5$, $J_2=3$, 1 H).

Isolierung von polymerem Streptazolin (**24**). Durch Eindampfen von gemäss DC. einheitlichen Chromatogrammfraktionen von Streptazolin (**1**) und Trocknen i. HV. wurden 2,2 g Rückstand erhalten. Beim Verrühren mit $CHCl_3/MeOH$ 1:1 ging **1** in Lösung, während ein farblos-flockiger Rückstand (0,85 g) zurückblieb. Dieser war in $CHCl_3$, MeOH, Aceton, Benzol und Äther unlöslich, in Dimethylsulfid schwer, in Dimethylformamid rel. gut löslich. Aus Dimethylformamid liess sich das Polymerisationsprodukt **24** durch Zutropfen von Wasser ausfällen. Nach dem Trocknen i. HV. farbloses amorphes Pulver, das sich oberhalb 265° langsam zersetzt, $[\alpha]_D = +213^\circ$ ($c=0,51$, DMF). – IR. (KBr): 3420, 1740, 1650. – 1H -NMR. (DMF- d_7): 1–1,8, 3,0–3,8 und 4,3–5,0 (3 *br.* Signalhaufen, Verh. ca. 3:7:3).

$(C_{11}H_{13}NO_3, 0,5 H_2O)_n$ Ber. C 61,10 H 6,53 N 6,48% Gef. C 61,01 H 6,36 N 6,68%

Die NMR.-Spektren verdanken wir dem instrumental-analytischen Laboratorium der ETH (Leitung Prof. Dr. J. F. M. Oth), die Massenspektren Herrn Prof. Dr. J. Seibl und die Mikroanalysen den Herren W. und D. Manser.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *H. Laatsch*, *Liebigs Ann. Chem.*, im Druck.
- [2] *H. U. Naegeli & H. Zähner*, *Helv. Chim. Acta* **63**, 1400 (1980).
- [3] *B. E. Leach, K. M. Calhoun, L. E. Johnson, C. M. Teeters & W. G. Jackson*, *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 4011 (1953); *J. Berger, L. H. Sternbach, R. G. Pollock, E. R. La Sala, S. Kaiser & M. W. Goldberg*, *ibid.* **80**, 1636 (1958); *L. H. Sternbach, S. Kaiser & M. W. Goldberg*, *ibid.* **80**, 1639 (1958); *E. Simonsch, W. Eisenhuth, O. A. Stamm & H. Schmid*, *Helv. Chim. Acta* **47**, 1459 (1964).
- [4] *L. Dolak*, *J. Antibiot.* **29**, 710 (1976).
- [5] *M. E. Dyen & D. Swern*, *Chem. Rev.* **67**, 197 (1967).
- [6] *D. D. Weller & K. L. Rinehart*, *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 6757 (1978).
- [7] *F. Bohlmann*, *Chem. Ber.* **91**, 2157 (1958); *K. Nakanishi*, 'Infrared Spectroscopy' Holden-Day, San Francisco, & Nankodo Co. Ltd., Tokyo 1962, S. 40.
- [8] *F. Benz, F. Knüsel, J. Nüesch, H. Treichler, W. Voser, R. Nyfeler & W. Keller-Schierlein*, *Helv. Chim. Acta* **57**, 2459 (1974).
- [9] *N. Harada & K. Nakanishi*, *J. Am. Chem. Soc.* **91**, 3989 (1969).
- [10] *E. Breitmaier & W. Voelter*. ¹³C-NMR Spectroscopy' Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstrasse 1974; S. 126 f.
- [11] *W. Bessler*, persönliche Mitteilung.
- [12] *W. Keller-Schierlein & E. Kupfer*, *Helv. Chim. Acta* **62**, 1501 (1979).
- [13] *R. A. Heacock & M. E. Mahon*, *J. Chromatogr.* **17**, 338 (1965).
- [14] *R. Hütter*, »Systematik der Streptomyceten« Karger AG, Basel 1967.
- [15] *R. Buchanan & N. Gibbons* 'Bergey's Manual of Determinative Bacteriology' The Williams & Wilkins Co., Baltimore 1974.