

4. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

89. Mitteilung [1]

Synthese von zwei diastereomeren 2, 4, 6-Trimethylpimelinsäuren. Ein Beitrag zur Stereochemie des Borrelidins

von W. Keller-Schierlein, M. Brufani, R. Muntwyler und W. Richle

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich

(11. XI. 70)

Summary. By conventional methods a mixture of diastereomeric 2, 4, 6-trimethylpimelic acids was prepared and separated by counter-current distribution. The two *meso*-compounds were isolated in crystalline form, one of them (m.p. 130°) giving a dimethyl ester identical with a degradation product of the antibiotic borrelidin. The chirality (2-*R*, 4-*r*, 6-*S*) of the acid of m.p. 130° was determined by an X-ray structural analysis (see following paper).

Im Verlauf der Konstitutionsaufklärung des Borrelidins haben wir vor einiger Zeit durch oxydativen Abbau mit Salpetersäure neben anderen Produkten eine 2, 4, 6-Trimethylpimelinsäure erhalten und in Form ihres Dimethylesters charakterisiert. Die Konstitution des Esters konnte aus spektroskopischen Daten eindeutig abgeleitet werden [2], über die Stereochemie des Abbauproduktes bestanden jedoch bisher kaum Anhaltspunkte. Da die NMR.-Signale der beiden α -ständigen Methylgruppen zusammenfielen, konnte bestenfalls vermutet werden, dass eine der beiden möglichen *meso*-Formen VIII oder IX vorlag, denn für die *d, l*-Form X wäre eine etwas verschiedene Lage der beiden Dublette zu erwarten.

Da der Ester durch Abbau nicht in genügender Menge für eine Konfigurationsbestimmung zugänglich war, haben wir versucht, das Problem mit synthetischem Material zu lösen. Unsere Synthese ging von der *meso*-Dimethylglutarsäure aus, deren Anhydrid (I) [3] nach der Methode von *Vaughan et al.* [4] mittels Natriumborhydrid zum rac. *cis*-2, 4-Dimethyl-5-hydroxypentansäurelacton (II) reduziert wurde. Bei der Umsetzung des Lactons II mit Bromwasserstoff in Methanol [5] wurde vorwiegend der entsprechende Hydroxysäure-methylester erhalten. Hingegen verlief die Addition von Bromwasserstoff an das Lacton in Eisessig glatt, worauf die bromierte Säure III mit Bromwasserstoff in Methanol verestert wurde. Der bromierte Ester IV wurde mit Methylmalonester nach *Bailey & Sorensen* [6] umgesetzt. Der substituierte Malonester wurde ohne vorherige Reinigung verseift. Die Decarboxylierung der Tricarbonsäure durch einstündiges Erhitzen auf 170–180° lieferte ein Gemisch diastereomerer 2, 4, 6-Trimethylpimelinsäuren als gelbliche zähflüssige Masse.

Durch eine *Craig*-Verteilung über 1000 Stufen liessen sich zwei isomere Trimethylpimelinsäuren mit den Verteilungskoeffizienten 0,61 und 0,77 (Maxima in den Stufen 380 und 435) mit Ausbeuten von ca. 30 und 50% isolieren. Die aus den Fraktionen 328–386 gewonnene, in geringerer Menge anfallende Säure schmolz nach Umkristallisieren aus Wasser und aus Essigester-Heptan bei 97°, die Fraktionen 411 bis 450 gaben nach dem Umkristallisieren ein Produkt mit Smp. 130°. Die Analysen, IR.-

und NMR.-Spektren der beiden Säuren entsprechen denen von 2,4,6-Trimethylpimelinsäuren. Es handelt sich demnach zweifelsfrei um zwei der drei möglichen Diastereomeren dieser Konstitution. Ein drittes Isomeres wurde nicht beobachtet. Dieses letztere ist offensichtlich, wenn überhaupt, nur in geringer Menge entstanden und beim Umkristallisieren in den Mutterlaugen geblieben.

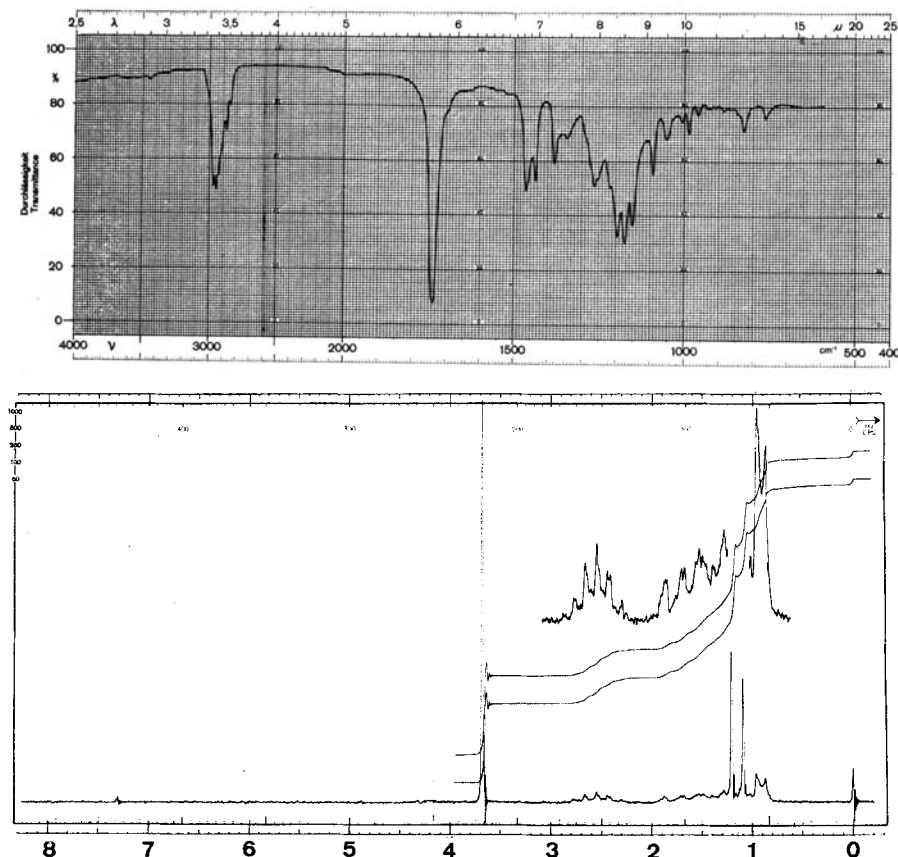


Fig. 1. IR.-Absorptionsspektrum (oben) und NMR.-Spektrum (CDCl_3 , 60 MHz, unten) des 2-(R),4-(r),6-(S)-Trimethylpimelinsäure-dimethylesters

Das dritte Isomere ist dagegen gleichzeitig von *Muxfeldt* u. Mitarb. auf anderem Wege hergestellt worden [7]. Die Verbindung von *Muxfeldt* zeigt für die beiden α -ständigen Methylgruppen im NMR.-Spektrum zwei leicht gegeneinander verschobene Dublette. Zudem liess sie sich in Enantiomere spalten. Es handelt sich demnach um die *d,l*-Form, 2-(*RS*),6-(*RS*)-Trimethylpimelinsäure, (VII + Enantiomeres), während unsere beiden Säuren vom Smp. 130 und 97° die beiden *meso*-Formen V und VI darstellen, und demgemäss je identische Lagen für die beiden α -Methylsignale im NMR.-Spektrum aufweisen.

Eine Zuordnung mit spektroskopischen oder chemischen Methoden dürfte sehr schwer zu treffen sein. Wir haben uns daher zu einer Röntgen-Strukturanalyse der gut

kristallisierbaren Säuren entschlossen, über deren Einzelheiten in einer separaten Abhandlung berichtet wird [8]. Darnach kommt der Säure vom Smp. 130° die (2-*R*,4-*r*,6-*S*)-Konfiguration (V) zu; die Säure vom Smp. 97° muss demnach die (2-*R*,4-*s*,6-*S*)-Konfiguration (VI) besitzen. Der Dimethylester der Säure vom Smp. 97° erwies sich zudem als identisch mit dem Ester eines Nebenproduktes der Synthese

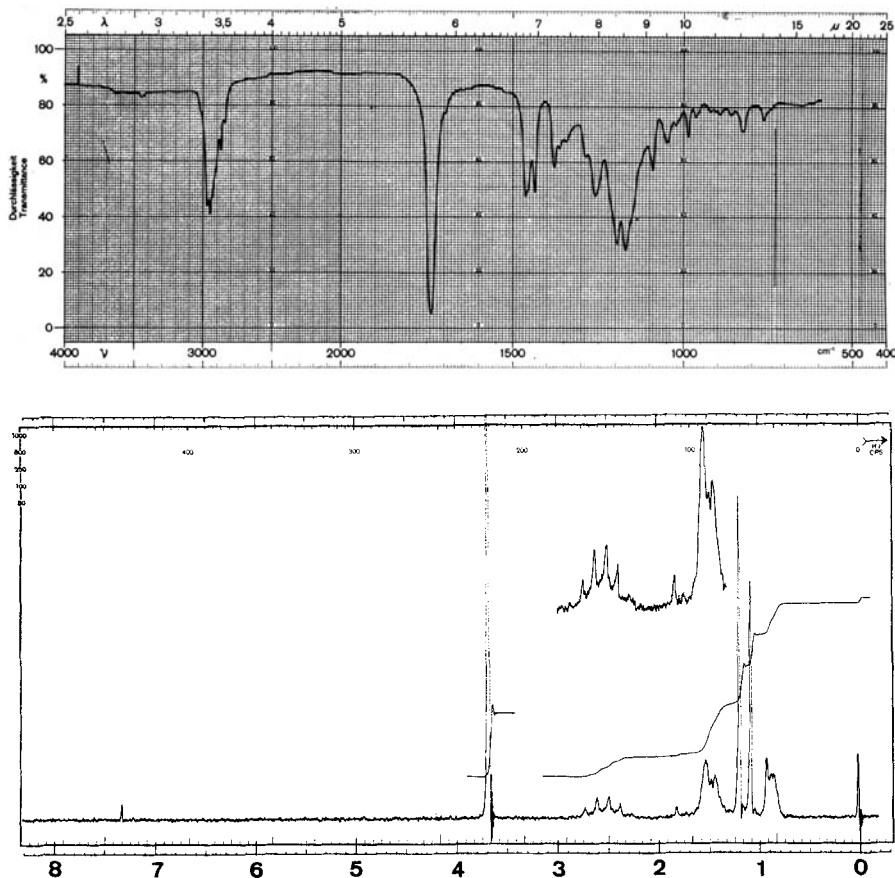
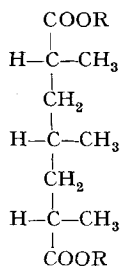
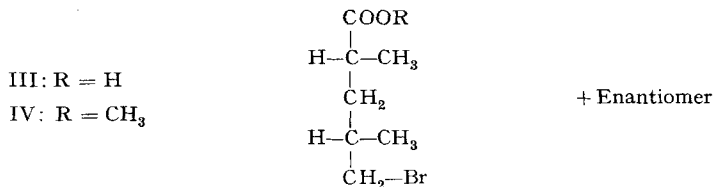


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektrum (oben) und NMR.-Spektrum (CDCl_3 , 60 MHz, unten) des 2-(*R*),4-(*s*),6-(*S*)-Trimethylpimelinsäure-dimethylesters

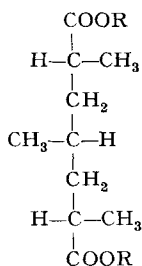
von Muxfeldt [7], dem auf Grund anderer Überlegungen unabhängig die gleiche (2-*R*,4-*s*,6-*S*)-Konfiguration zugeordnet worden war.

Der Dimethylester der Säure vom Smp. 130° stimmte in seinem IR.- und NMR.-Spektrum (Fig. 1) in allen Einzelheiten mit dem Abbauprodukt von Borrelidin überein, während die Spektren des Dimethylesters der niedriger schmelzenden Säure (Fig. 2) deutlich davon abweichen. Das Abbauprodukt ist demnach der 2-(*R*),4-(*r*),6-(*S*)-Trimethylpimelinsäure-dimethylester (VIII). Dieser bildet sich beim Abbau aus dem Bereiche der C-Atome 3 bis 11 des Borrelidins (XI) durch weiteren Abbau einer primär entstandenen 2,4,6,8-Tetramethylnonan-disäure, deren Anwesenheit im rohen

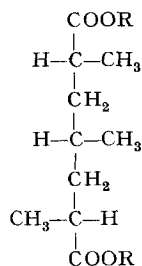
Oxydationsgemisch seinerzeit wahrscheinlich gemacht wurde [2]. Da der durch Abbau erhaltene Trimethylpimelinsäure-dimethylester offensichtlich das einheitliche Diastereomere VIII ist, muss der Tetramethylnonandisäure, die noch alle C-Methylgruppen des Borrelidins enthält, die Konfiguration XII (2-*R*, 4-*R*, 6-*S*, 8-*S*) zugeteilt werden, denn nur diese führt beim weiteren Abbau von beiden Seiten her zur sterisch



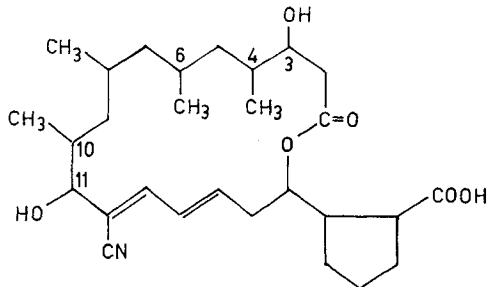
V: R = H
VIII: R = CH₃



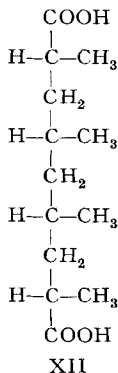
VI: R = H
IX: R = CH₃



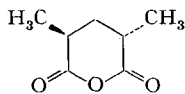
VII: R = H
X: R = CH₃



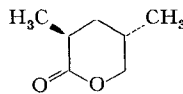
XI



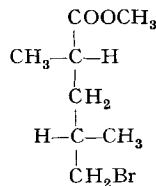
XII



XIII



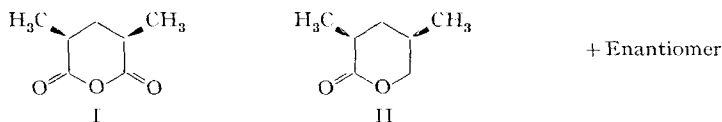
XIV



XV

einheitlichen Trimethylpimelinsäure V. Es ergibt sich demnach für die asymmetrischen C-Atome 4, 6, 8 und 10 des Borrelidins die rel. *allo*-Konfiguration. Über die absolute Konfiguration in diesem Bereich der Molekel lassen diese Versuche wegen der *meso*-Konfiguration der Abbauprodukte XII und V keine Schlussfolgerungen zu.

Ein praktisch identisches Gemisch der beiden Säuren V und VI wurde erhalten, wenn man für die Synthese vom Anhydrid der *d,l*-2,4-Dimethylglutarsäure (XIII) ausging. Hingegen lassen sich die Zwischenprodukte XIV und XV durch ihre IR.- und NMR.-Spektren von den Diastereomeren II und IV unterscheiden. Offensichtlich hat also unter den alkalischen Bedingungen der Malonesterkondensation eine Epimerisierung am zur Methoxycarbonylgruppe α -ständigen Kohlenstoffatom stattgefunden.



Experimenteller Teil

Allgemeines. Die IR.-Absorptionsspektren wurden auf einem *Perkin-Elmer* Spektrometer, Modell 21, aufgenommen. Flüssigkeiten wurden als Filme zwischen NaCl-Platten, feste Stoffe in Chloroform gelöst verwendet. Die NMR.-Spektren wurden auf einem *Varian*-Spektrographen, Modell A 60, aufgenommen. Chemische Verschiebungen sind in δ -Einheiten, Kopplungskonstanten (J) in cps angegeben. Es bedeuten: *s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *m* = Multiplett, *k* = Überlagerung von Signalen mit komplexer Struktur, *b* = breite, nicht strukturierte Signalaufen.

2-(RS), 4-(SR)-Dimethyl-5-hydroxypentansäurelacton (II). Eine Lösung von 45 g *meso*-2,4-Dimethylglutarsäureanhydrid in 150 ml Dioxan (über Calciumhydrid destilliert) wurde innerhalb 30 Min. bei 10–20° zu einer gut gerührten Suspension von 16,3 g Natriumborhydrid in 200 ml abs. Dioxan getropft. Nach 44 Std. Rühren wurde das Lösungsmittel im Vakuum abgetrieben und der pulvrige Rückstand mit 200 g Eis langsam zersetzt. Nach dem Ansäuern mit 120 ml konz. Salzsäure in 100 g Eis wurde 1 Std. bei 20° und 30 Min. bei 70–80° weitergerührt und dann die Lösung fünfmal mit Benzol ausgeschüttelt. Die getrockneten Auszüge wurden eingedampft und der Rückstand im Vakuum destilliert, Sdp. 107–109°/12 Torr, Ausbeute 26,3 g (64,8% d. Th.). Das Destillat kristallisierte beim Stehen rasch, Smp. 29–29,5°. IR.-Absorptionsspektrum (fl.): $\nu(\text{CO})$ 1730 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CCl_4 : δ 1,00 ppm (*d*, $J = 7, 3$ H), 1,20 ppm (*d*, $J = 7, 3$ H), 1,1–1,5 ppm (*k*, 1 H), 1,9–2,7 ppm (*k*, 3 H), 3,85 ppm ($J_{5a,5e} = 11$, $J_{5a,4a} = 8$, 1 H), 4,20 ppm ($J_{a,5e} = 11$, $J_{5a,4a} = 5$, $J_{5e,3e} = 2$, 1 H).

$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_2$ Ber. C 65,59 H 9,44 Gef. C 65,62 H 9,52%

2-(RS), 4-(RS)-Dimethyl-5-hydroxypentansäurelacton (XIV). In gleicher Weise wurden 42 g *d,l*-2,4-Dimethylglutarsäureanhydrid (XIII) mit Natriumborhydrid reduziert und ergaben 22 g (58%) XIV als farblose Flüssigkeit vom Sdp. 107–111°/12 Torr. IR.-Absorptionsspektrum (fl.): $\nu(\text{CO})$ 1730 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CCl_4 : δ 0,98 ppm (*d*, $J = 6, 5$, 3 H), 1,13 ppm (*d*, $J = 6, 5$, 3 H), 1,4–2,9 ppm (*k*, 4 H), 3,6–4,4 ppm (*k*, 2 H).

$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_2$ Ber. C 65,59 H 9,44 Gef. C 65,65 H 9,59%

2-(RS), 4-(SR)-Dimethyl-5-hydroxypentansäure-methylester. 1 g 2-(RS), 4-(SR)-Dimethyl-5-hydroxypentansäurelacton (II) wurde mit 5 ml abs. Methanol, das 20% HBr enthielt, 20 Std. bei Raumtemperatur stehengelassen und dann 3 Std. unter Rückfluss gekocht. Das Gemisch wurde auf Eis gegossen und dreimal mit Benzol extrahiert. Den Eindampfdruckstand chromatographierte man an 36 g Kieselgel (*Merck*, 0,05–0,2 mm). Durch Elution mit Chloroform-Methanol 99:1 wurden 655 mg (52,5%) eines farblosen Öls erhalten. IR.-Absorptionsspektrum (fl.): $\nu(\text{CO})$ 1740 cm^{-1} , $\nu(\text{OH})$ 3400–3600 cm^{-1} .

$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_3$ Ber. C 59,98 H 10,07 Gef. C 59,90 H 10,11%

2-(RS), 4-(SR)-Dimethyl-5-brompentansäure-methylester (IV). 26 g des Lactons II wurden in 150 ml Eisessig, der 33% HBr enthielt, $2\frac{1}{2}$ Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Zugabe von weiteren 40 ml HBr in Eisessig wurde weitere $1\frac{1}{2}$ Std. zum Sieden erhitzt. Darauf wurde die Essigsäure im Vakuum abdestilliert und der Rückstand mehrmals mit Benzol und zuletzt mit abs. Methanol eingedampft. Der flüssige Rückstand wurde im Hochvakuum destilliert, Sdp. $98^\circ/0,07$ Torr, und gab 37,3 g (88%) farblose Säure III; $\nu(\text{CO})$ 1705 cm^{-1} .

Das Destillat wurde mit 250 ml 5-proz. abs. methanolischer Bromwasserstoffsäure 16 Std. gekocht. Dann wurde auf Eis gegossen, dreimal mit Benzol ausgeschüttelt, der Auszug mit Kaliumhydrogencarbonat und mit 5-proz. Natriumchloridlösung gewaschen und getrocknet. Der Eindampfrückstand gab bei der Destillation, nach einem kleinen Vorlauf, 36,7 g (92,5%) Ester IV, Sdp. $102\text{--}103^\circ/12$ Torr IR.-Absorptionsspektrum (fl.): $\nu(\text{CO})$ 1735 cm^{-1} .

$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{BrO}_2$ Ber. C 43,09 H 6,78 Br 35,82% Gef. C 42,84 H 6,71 Br 35,86%

2-(RS), 4-(RS)-Dimethyl-5-brompentansäure-methylester (XV). In gleicher Weise wurden aus 22 g des Lactons XIV 32,7 g (90,5%) der entsprechenden bromierten Säure bereitet, die bei der Veresterung mit HBr in Methanol 28,2 g (82,8%) bromierten Ester XV, Sdp. $98\text{--}99^\circ/10,5$ Torr, als farblose Flüssigkeit gab. Das NMR.-Spektrum des Esters XV unterschied sich nur geringfügig von dem seines Diastereomeren IV.

$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{BrO}_2$ Ber. C 43,09 H 6,78 Br 35,82% Gef. C 43,99 H 6,93 Br 33,86%

Gemisch der 2,4,6-Trimethylpimelinsäuren. Zu einer Lösung von 12 g Natrium in 200 ml abs. Alkohol gab man 94 g Methylmalonsäure-äthylester, erhitzte die Lösung zum Sieden und tropfte 40 g 2-(RS), 4-(SR)-Dimethyl-5-brompentansäure-methylester (IV) innert 15 Min. zu. Nach 22 Std. Rühren bei Siedehitze wurde die Mischung auf 400 g Eis gegossen und viermal mit Äther extrahiert. Die gewaschenen und getrockneten Auszüge wurden eingedampft und der Rückstand im Hochvakuum destilliert. Nach dem Abtrennen des überschüssigen Methylesters wurden 48 g Produkt, Sdp. $130\text{--}132^\circ/0,1$ Torr, erhalten.

Das Destillat wurde in einer Mischung von 130 g Kaliumhydroxid in 300 ml 50-proz. wässrigem Alkohol gelöst und 22 Std. unter Rückfluss gekocht. Der grösste Teil des Alkohols wurde abdestilliert. Der Rückstand wurde mit konz. Salzsäure angesäuert, im Vakuum eingetrocknet und der salzhaltige Rückstand mehrmals mit abs. Äther ausgezogen. Die Ätherlösung wurde durch Celit und Natriumsulfat filtriert, eingedampft und der Eindampfrückstand 1 Std. bei 50° im Hochvakuum getrocknet. Für die Decarboxylierung wurde die zähe Flüssigkeit 1 Std. lang in einem Ölbad von 180° erhitzt, worauf die Gasentwicklung zum Stillstand kam. Nach 1 Std. Entgasen und Trocknen im Hochvakuum bei 100° bildete das Gemisch der Dicarbonsäuren einen blassgelben zähen Syrup. Ausbeute 26,1 g (72%).

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_4$ Äq.-Gew. ber. 202,24 gef. 201,8 (Tit. mit NaOH)

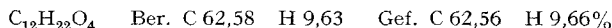
2-(R), 4-(s), 6-(S)-Trimethylpimelinsäure vom Smp. 97° (VI). Für die Craig-Verteilung wurde ein zweiphasiges Lösungsmittelgemisch aus 11 Methanol, 21 Wasser, 11 Äthylacetat und 21 Petrol-äther (40/60°) bereitet. 10 g Trimethylpimelinsäuregemisch wurden in 400 ml des Lösungsmittelgemisches gelöst und in die ersten 8 Gläser einer 200-stufigen vollautomatischen Verteilungsapparatur eingefüllt. Nach Verteilung im Kreislaufverfahren über 1000 Stufen wurde durch Eindampfen und Wägen jeder zehnten Fraktion eine Verteilungskurve erhalten, die zwei Maxima in den Stufen 380 und 435 aufwies.

Der Inhalt der Fraktionen 328–386 wurde eingedampft und gab 2,99 g Rückstand, der beim Stehen rasch kristallisierte. Die Säure wurde in 100 ml heissem Wasser gelöst und nach Zugabe von etwas Aktivkohle durch Celit filtriert. Nach 12-stdg. Stehen schieden sich 1 g Kristalle mit Smp. $91,5\text{--}92,5^\circ$ ab, die nach zweimaliger Kristallisation aus Äthylacetat-Heptan (1:10) bei $96,5\text{--}97^\circ$ schmolzen. IR.-Absorptionsspektrum in CHCl_3 : $\nu(\text{CO})$ 1706 cm^{-1} , breite OH-Bande bei $2500\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$. NMR.-Spektrum in CDCl_3 : δ 0,88 ppm (degeneriertes d, 3 H), 1,15 ppm (d, $J = 7$, 6 H), 1,35–1,65 ppm (b, 5 H), 2,50 ppm (m, J ca. 7, 2 H), 11,43 ppm (s, 2 H). Massenspektrum: $(M+1)^+$ 203 (2,56% des Basispiaks bei m/e 83). Mikrotitration in Methylcellosolve-Wasser 8:2: pK_M c s 7,64; Äq.-Gew. ber. 101,12, gef. 104.

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_4$ Ber. C 59,38 H 8,97 Gef. C 59,30 H 9,03%

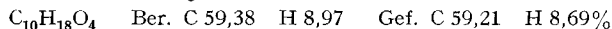
Der mit Diazomethan hergestellte Dimethylester IX, eine farblose Flüssigkeit, ergab nach Vakuumdestillation folgende Daten: IR.-Absorptionsspektrum (fl.): Fig. 2, Kurve 1. NMR.-

Spektrum in CDCl_3 : Fig. 2, Kurve 2. Massenspektrum: M^+ 230 (0,14%); weitere signifikante Signale bei m/e 215 (0,11%, $M^+ - \text{CH}_3$), 199 (12%, $M^+ - \text{OCH}_3$), 171 (8,3%, $M^+ - \text{COOCH}_3$), Basispik bei m/e 88 (*McLafferty*-Umlagerung). Das Spektrum ist sehr ähnlich dem des diastereomeren 2-(*R*), 4-(*r*), 6-(*S*)-Trimethylpimelinsäure-dimethylesters, das früher [2] eingehend diskutiert wurde.

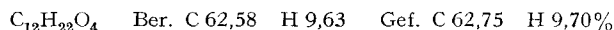


Die IR.- und NMR.-Spektren stimmen völlig überein mit denjenigen des Dimethylesters des Nebenproduktes, das *Muxfeldt* [7] im Verlauf seiner Synthese der *d, l*-Trimethylpimelinsäure erhalten hat.

2-(*R*), 4-(*r*), 6-(*S*)-Trimethylpimelinsäure vom Smp. 130° (V). Die Fraktionen 387–410 der *Craig*-Verteilung gaben 1,50 g eines zähflüssigen Gemisches der beiden diastereomeren Säuren, die Fraktionen 411–450 4,91 g kristalline Säure V. Durch Umkristallisieren aus Wasser nach Behandlung mit Aktivkohle wurden 2,1 g Kristalle vom Smp. 121–122,5° erhalten, die nach zwei weiteren Umkristallisationen aus Äthylacetat-Heptan 1:10 bei 130–130,5° schmolzen. – IR.-Absorptionsspektrum in CHCl_3 : $\nu(\text{CO})$ 1708 cm^{-1} , breite OH-Bande bei 2400–3400 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CDCl_3 : δ 0,97 ppm (degeneriertes *d*, 3 H), 1,18 ppm (*d*, $J = 7, 6$ H), 1,2–2,0 ppm (*h*, mit 3 ausgeprägten breiten Spitzen bei 1,48, 1,71 und 1,88 ppm, 5 H), 2,30–3,00 ppm (*b*, 2 H), 11,90 ppm (*b*, 2 H). Massenspektrum: ($M + 1$)⁺ 203 (0,53% des Basispiks bei m/e 129). Mikrotitration: $pK_M^* \text{ c s } 7,64$; Äq.-Gew. ber. 101,12, gef. 104.



Der mit Diazomethan hergestellte, als farblose Flüssigkeit destillierbare Dimethylester VIII stimmte im IR.-Absorptionsspektrum (Fig. 1, Kurve 1), im NMR.-Spektrum (Fig. 1, Kurve 2) und im Massenspektrum völlig mit dem durch Abbau aus Borrelidin erhaltenen Präparat überein [2].



Ausgehend vom Brommethylester XV wurde durch in gleicher Weise ausgeführte Malonesterkondensation, Verseifung und Decarboxylierung ein Säuregemisch erhalten, das bei der *Craig*-Verteilung in ähnlichem Mengenverhältnis wie oben wiederum die beiden *meso*-Trimethylpimelinsäuren vom Smp. 97° bzw. 130° lieferte.

Die Mikroanalysen wurden in unserer analytischen Abteilung (Leitung *W. Manser*) ausgeführt. Die NMR.-Spektren verdanken wir unserer Abteilung für Instrumentalanalyse (Leitung Prof. *W. Simon*), die Massenspektren Herrn PD Dr. *J. Seibl*.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 88. Mitteilung: *U. Fickenschner & H. Zähler*, Arch. Mikrobiol. (im Druck).
- [2] *W. Keller-Schierlein*, Helv. 50, 731 (1967).
- [3] *N. L. Allinger*, J. Amer. chem. Soc. 81, 232 (1959).
- [4] *W. R. Vaughan, C. T. Goetschel, M. H. Goodrow & C. L. Warren*, J. Amer. chem. Soc. 85, 2282 (1963).
- [5] *R. Lukeš & A. Zobačová*, Coll. czechoslov. chem. Commun. 22, 1649 (1957).
- [6] *W. J. Bailey & W. R. Sorenson*, J. Amer. chem. Soc. 76, 5421 (1954).
- [7] *H. Muxfeldt & Mitarb.*, in Vorbereitung¹⁾.
- [8] *M. Brufani & W. Fedeli*, Helv. 54, 51 (1971).

¹⁾ Wir danken Herrn Prof. *H. Muxfeldt* für die Überlassung seiner Ergebnisse vor der Veröffentlichung.