

folgende Bedingungen gewählt werden: Verwendung von Magnesiumacetat statt Magnesiumsulfat und  $[\text{NaHCO}_3]_{\text{EV}} = 1,5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ . Es war hier nach dem Sättigen mit  $\text{CO}_2/\text{N}_2$   $\text{pH} = 7,45$ . Die Konzentrationen  $[\text{M}]$  und  $[\text{M-ATP}]$  wurden mit Hilfe der Gleichungen

$$\frac{[\text{M-ATP}]}{[\text{MgATP}]} = \frac{[\text{M}]}{[\text{Mg}]} \frac{K_{\text{MgATP}}^{\text{Mg}}}{K_{\text{MATP}}^{\text{M}}} \quad (31) \quad \text{und} \quad [\text{M}] = [\text{M}]_t \frac{1}{1 + \frac{K_{\text{MgATP}}^{\text{Mg}} \cdot [\text{MgATP}]}{K_{\text{MATP}}^{\text{M}} \cdot [\text{Mg}]}} \quad (32)$$

durch Näherung ermittelt.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde versucht, eine Erklärung der Metallionen-Spezifität von ATP-abhängigen Enzymreaktionen zu geben, die mit der Regel von IRVING-WILLIAMS im Einklang steht. Es wurde theoretisch deduziert und experimentell bestätigt, dass verschiedenartige Überlagerung von Aktivierungs- und Hemmwirkung bei verschiedenen Metallionen eine solche Erklärung ermöglicht.

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel

## 6. Über die Struktur des Chartreusins

(Vorläufige Mitteilung)

von E. Simonitsch, W. Eisenhuth, O. A. Stamm und H. Schmid

(26. X. 59)

Chartreusin<sup>1)</sup> (Antibiotikum X-465 A<sup>2)</sup>, glycosidisches Antibiotikum von ARCAMONE *et al.*<sup>3)</sup> und wahrscheinlich Chartreusin-ähnliches Antibiotikum von ISHII *et al.*<sup>4)</sup> aus *Streptomyces* wurde von STERNBACH, KAISER & GOLDBERG<sup>5)</sup> einer ersten eingehenden chemischen Untersuchung unterworfen. Das Antibiotikum  $\text{C}_{32}\text{H}_{34-36}\text{O}_{14}$  gibt bei der säurekatalysierten Hydrolyse ein gelbes Aglykon  $\text{C}_{19}\text{H}_{10-12}\text{O}_6$  und je eine Molekel D-Fucose und D-Digitalose. Das Aglykon selbst enthält zwei phenolische Hydroxylgruppen, einen Lactonring und zwei Sauerstoffatome unbestimmter Natur; Dehydrierung eines weitgehend aushydrierten Präparates lieferte x-Methyl-2-phenyl-

<sup>1)</sup> B. E. LEACH, K. M. CALHOUN, L. E. JOHNSON, C. M. TEETERS & W. G. JACKSON, J. Amer. chem. Soc. 75, 4011 (1953).

<sup>2)</sup> J. BERGER, L. H. STERNBACH, R. G. POLLOCK, E. R. LA SALA, S. KAISER & M. W. GOLDBERG, J. Amer. chem. Soc. 80, 1636 (1958); cf. XIV Internationaler Kongress für reine und angewandte Chemie, Zürich 1955, Referatenband, S. 233.

<sup>3)</sup> F. ARCAMONE, F. BIZIOLI & T. SCOTTI, Antibiotics & Chemotherapy 6, 283 (1956).

<sup>4)</sup> Y. ISHII, H. SAKAI, T. TANAKA, H. VI, M. UCHIYAMA, K. HIRAYAMA & H. YOUCHARA, J. Antibiotics (Japan), Ser. A, 8, 96 (1955).

<sup>5)</sup> L. H. STERNBACH, S. KAISER & M. W. GOLDBERG, J. Amer. chem. Soc. 80, 1639 (1958).

naphthalin und *x*-Methyl-2,3-benzfluoren. Im Chartreusin ist eine der beiden Hydroxylgruppen des Aglykons mit dem aus den zwei Zuckern bestehenden Diholosid glykosidisch verknüpft. Weitere Befunde der amerikanischen Autoren werden unten erwähnt.

Durch das grosszügige Entgegenkommen von Dr. M. W. GOLDBERG sind wir in die Lage gekommen, Chartreusin weiter zu untersuchen.

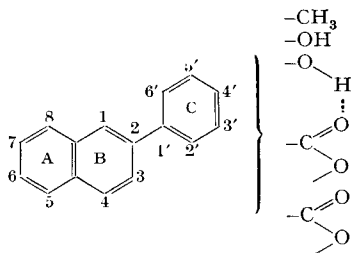
Mehrere Analysen der im Hochvakuum sublimierten Präparate von Chartreusin-Aglykon (IV) und seines durch Erwärmen mit Alkali unter Sauerstoffausschluss erhaltenen Trihydroxy-Spaltproduktes XII<sup>5)</sup> und ihrer Derivate bestätigen die Formel  $C_{19}H_{10}O_6$  für IV bzw.  $C_{18}H_{12}O_5$  für XII. Die Stoffe enthalten eine C-Methylgruppe (KUHN-ROTH; IR.-Bande in den Spektren von IV und XII bei 1374 bzw. 1381  $cm^{-1}$  (KBr)). XII enthält ausser den 3 Hydroxylgruppen (Tri-O-acetyl-<sup>5)</sup> und Tri-O-methyl-Derivat XIII und XIV) einen aromatischen  $\delta$ -Lactonring (IR: 1724  $cm^{-1}$  (Pyridin)). XIV zeigt die entsprechende Bande bei 1721  $cm^{-1}$  (Nujol). Im Spektrum von XII in fester Phase (Nujol, KBr) findet man die Lactoncarbonyl-Bande bei 1697  $cm^{-1}$  (intermolekulare Chelierung!). Der Lactonring in XII lässt sich auch chemisch nachweisen: aufspaltende Methylierung mit Dimethylsulfat und Alkali unter Sauerstoffausschluss liefert den Tetramethoxycarbonsäure-methylester XV  $C_{23}H_{24}O_6$  (IR: 1729  $cm^{-1}$  ( $CH_2Cl_2$ )), der sich zur Monocarbonsäure XVI verseifen lässt; Decarboxylierung der letzteren liefert die Tetramethoxy-Verbindung XVII,  $C_{21}H_{22}O_4$ , die im IR. in der Carbonylregion nicht absorbiert.

IV zeigt im IR. Banden eines intramolekular chelierten und eines freien Lactoncarbonyls: 1700 und 1755  $cm^{-1}$  (KBr) bzw. 1692 und 1742  $cm^{-1}$  (ca.  $1,5 \cdot 10^{-3}$  M  $CHCl_3$ -Lösung). Vom Dimethyläther VI<sup>5)</sup> wird im IR. nur eine wenig ausgelöste Doppelbande bei 1733 und 1754  $cm^{-1}$  (KBr) bzw. eine einzige Bande bei 1730 bzw. 1726  $cm^{-1}$  (ca.  $3 \cdot 10^{-3}$  M  $CHCl_3$ - bzw. Pyridin-Lösung) beobachtet. Aufspaltende Methylierung von VI führt zum Tetramethoxy-dicarbonsäure-dimethylester IX,  $C_{25}H_{26}O_8$  (intensive aromatische Esterbande bei 1724  $cm^{-1}$  ( $CH_2Cl_2$ )), der sich zur Dicarbonsäure X verseifen lässt, die sich ihrerseits durch Erhitzen mit Essigsäureanhydrid in das innere Anhydrid XI,  $C_{23}H_{20}O_7$ , mit IR.-Banden bei 1805 und 1764  $cm^{-1}$  (Nujol) umwandeln lässt. XI lässt sich durch Behandeln mit Methanol und Diazomethan in IX zurückführen. Dass bei den aufspaltenden Methylierungen keine Umlagerungen eintreten, erhellt aus der Beobachtung, dass sich IX durch  $HBr-CH_3COOH$  und nachfolgende Acetylierung in das Diacetyl-aglykon V<sup>5)</sup> zurückverwandeln lässt (Identifikation durch Mischprobe und IR.-Spektrum).

Der durch Alkali bewirkte Übergang IV  $\rightarrow$  XII ist als Hydrolyse eines Lactonringes mit nachfolgender Decarboxylierung der intermediär gebildeten Hydroxysäure zu deuten<sup>5)</sup>. Diese Art der Decarboxylierung ist mechanistisch nur möglich, wenn in IV mindestens eine, zur Carbonylgruppe des betroffenen Lactonringes *o*- oder *p*-ständige phenolische Hydroxylgruppe anwesend ist; der Aglykon-dimethyläther VI ist bei Abwesenheit von Sauerstoff Lauge-stabil. Dass bei der Alkalisplaltung von IV der intramolekular chelierte Lactonring eliminiert wird, folgt aus dem Vergleich der bereits diskutierten IR.-Spektren von IV und XII und dem Fehlen der für IV charakteristischen grünen Eisen(III)-chlorid-Reaktion bei XII.

Den Verbindungen IV und XII liegt somit ein Kohlenwasserstoff  $C_{16}H_{12}$  zugrunde, im Hinblick auf die bereits erwähnten Dehydrierungsprodukte sehr wahr-

scheinlich 2-Phenyl-naphtalin. Für IV lässt sich daher die folgende Partialformel schreiben:



Oxydation von IV mit alkalischem Wasserstoffsuperoxyd gibt 3-Hydroxy-6-methyl-phtalsäure, die in Form der Anhydride der acetylierten bzw. methylierten Verbindung durch Analyse, Mischprobe und IR.-Spektren identifiziert wurde, sowie 3-Hydroxyphtalsäure, identifiziert als 3-Acetylphtalsäure-anhydrid. Aus dem Dimethyläther VI hingegen entstehen bei der Oxydation 3-Hydroxy-6-methyl-phtalsäure und 3-Methoxyphtalsäure. Die erwähnten Abbausäuren entstammen den Ringen A und C. Von den zwei freien Hydroxylgruppen in IV haftet somit eine an A oder C, die zweite an B, während von den beiden Lactoncarbonylen eines an das C-Atom 2' oder 6' des Ringes C, das andere – wie aus der Existenz des Anhydrids XI hervorgeht<sup>6)</sup> – an das C-Atom 1 oder 3 des Ringes B gebunden ist.

Zur Abklärung der Substitutionsverhältnisse im zentralen Ring B dient das durch katalytische Hydrierung von IV zugängliche Tetrahydro-desoxy-aglykon XXIV<sup>5)</sup>,  $C_{19}H_{14}O_5$  mit aushydriertem Ring A: der Stoff enthält nurmehr *eine* freie Hydroxylgruppe (cf. XXV<sup>5)</sup>, XXVI<sup>5)</sup>), aber noch die beiden *aromatischen*  $\delta$ -Lactonringe, wovon der eine, wie in IV, intramolekular cheliert ist. (IR.-Banden bei 1692 und 1734  $cm^{-1}$  (KBr) bzw. 1695 und 1730  $cm^{-1}$  (ca.  $3,5 \cdot 10^{-3}$  M  $CHCl_3$ -Lösung); grüne Eisen(III)-chlorid-Reaktion.) Der Methyläther XXVI zeigt nur eine einzige, breite Carbonylbande bei  $\sim 1755$   $cm^{-1}$  (Nujol). XXIV lässt sich, analog zu IV, mit Lauge unter  $CO_2$ -Abspaltung zum XII entsprechenden Dihydroxymonolacton  $C_{18}H_{16}O_4$  (Smp. 304–309<sup>5)</sup>) abbauen. Aufspaltende Methylierung von XXVI führt zum Trimethoxy-dicarbonsäure-dimethylester XXVII,  $C_{24}H_{28}O_7$  (einzige IR.-Carbonylbande bei 1728  $cm^{-1}$  ( $CCl_4$ )), der nach der Verseifung zur Dicarbonsäure XXVIII und Kaliumpermanganat-Oxydation (zuerst alkalisch, dann sauer) 1,4-Dimethoxy-pyromellithsäure-anhydrid (XXIX) entstehen lässt, das durch UV.- und IR.-Spektrum mit einem authentischen<sup>7)</sup> Vergleichspräparat identifiziert wurde. Da ferner, wie schon erwähnt, durch Oxydation des Aglykon-*dimethyläthers* VI 3-Methoxy-phtalsäure und 3-Hydroxy-6-methyl-phtalsäure gebildet werden, folgt, dass erstere aus dem Ring A stammt, letztere aus dem Ring C, so dass dem Tetrahydro-desoxy-aglykon die Formel XXIV zuzuteilen ist. In der Formel für das Chartreusin-Aglykon ist nur noch die Lage der im Ring A an 5 oder 8 haftenden Hydroxylgruppe, die bei der Reduktion zu XXIV gleichzeitig mit der Absättigung des Ringes A hydrogenolytisch

<sup>6)</sup> Die Bildung eines inneren Anhydrids aus einer Dicarbonsäure mit den beiden Carboxylgruppen in den Ringen A und C ist ausgeschlossen.

<sup>7)</sup> H. SCHMID, A. EBNÖTHER & TH. M. MEIJER, *Helv.* 33, 1751 (1950).

eliminiert wird, unbestimmt. Nun geben weder IV noch XII komplexe Borsäuren (praktisch keine Änderung des pH der Lösungen von IV und XII in 80-proz. Dimethylformamid – im Gegensatz zu 1,8-Dihydroxynaphtalin-Derivaten – auf Zusatz von Borsäure), so dass die Stellung 5 mit Sicherheit ausscheidet. Es ist ferner klar, dass bei den erwähnten Alkalispartungen stets das 3-ständige Lactoncarboxyl eliminiert wird. Für Chartreusin-Aglykon und sein Decarboxylierungsprodukt treffen daher die Formeln IV und XII zu.

Die abgeleiteten Formeln werden durch einen weiteren, der Erkundung des Rings C gewidmeten Abbau gestützt. Hierfür bietet sich zunächst XVII an. Bei dessen am besten mit Pyridiniumchlorid vorgenommenen Entmethylierung – als Vorbereitung für die nachfolgend geplante Oxydation – resultiert aber ein Produkt  $C_{18}H_{14}O_3$  (kein def. Smp.), das ein Diacetylderivat  $C_{22}H_{18}O_5$  (Smp. 178–179°) liefert. Die Analysen weisen darauf hin, dass in beiden Stoffen ein Dibenzofuran-Derivat mit einer zusätzlichen C-Methylgruppe vorliegt. Infolge dieser Unsicherheit hat man einen alternativen Weg eingeschlagen: Die Lösung von XII in Alkali gibt bei der Oxydation mit Luftsauerstoff eine blutrote Lösung<sup>8)</sup>, aus der man nach dem Ansäuern aber nicht die erwartete Naphtochinoncarbonsäure, sondern zwei phenolische, nach sorgfältiger Reinigung fast farblose, in polaren Lösungsmitteln wenig beständige Substanzen derselben Summenformel  $C_{18}H_{12}O_6$  und vom gleichen, unscharfen Zersetzungs-Smp. 253–255° erhält. Die eine (XVIIIa) zeigt in fester Phase in der Carbonylregion IR.-Banden bei 1783, 1686 und 1667  $cm^{-1}$ , die andere (XVIIIb) bei 1739, 1704 und 1658  $cm^{-1}$ . Beide Stoffe geben mit Zn und Alkali XII<sup>8)</sup>, bei der reduzierenden Acetylierung XIII und bei der Acetylierung (Pyridin-Essigsäureanhydrid) die Triacetylverbindung XIX<sup>8)</sup>,  $C_{24}H_{18}O_9$ . Identisch sind ihre UV.- und IR.-Spektren in  $CH_2Cl_2$ , worin sie ohne Zersetzung mässig löslich sind; es handelt sich daher bei XVIIIa und b um verschiedene krist. Zustände ein- und derselben Verbindung. Für die Verbindung XVIII folgt aus dem UV.-Spektrum ( $\lambda_{max}$  in  $m\mu$  ( $\log \epsilon$ ): 358 (3,81), [309 (3,71)], 272 (3,84) und 236 (4,47) ( $CH_2Cl_2$ )) im Vergleich zur Absorption des  $\beta$ -Hydrojuglons (349 (3,73), 265 (3,74) und 231 (4,36) (Alkohol<sup>9)</sup>) – die [Bande] bei 309  $m\mu$  stammt von der Hydroxyphthalid-Gruppierung des Ringes C<sup>10)</sup> – sowie aus dem IR.-Spektrum in  $CH_2Cl_2$ : 1784  $cm^{-1}$  (Ringcarbonyl des Phthalidrings<sup>11)</sup>), 1701  $cm^{-1}$  (Sechsring-Arylketon) und 1664  $cm^{-1}$  (durch eine peri-Hydroxylgruppe cheliertes Sechsring-Arylketon<sup>9)</sup><sup>12)</sup>) mit infolge der benachbarten  $-C-O-CO-$ Gruppierung etwas erhöhter Frequenz), die Formel XVIII.

Für das Triacetylderivat von XVIII (IR. ( $CHCl_3$ ): 1784  $cm^{-1}$  (Phthalidcarbonyl und Acetat), 1704 (Sechsring-Arylketon) und 1681  $cm^{-1}$  ( $\Delta^3$ -Doppelbindung?)), das mit Zn XIII liefert und ein UV.-Spektrum ( $\lambda_{max}$ ;  $m\mu$  ( $\log \epsilon$ ): 342 (3,44) und 290 (3,81) ( $CH_2Cl_2$ )) besitzt, das mit demjenigen von 2,2-Diacetoxy-4-methyl- $\Delta^3$ -de-

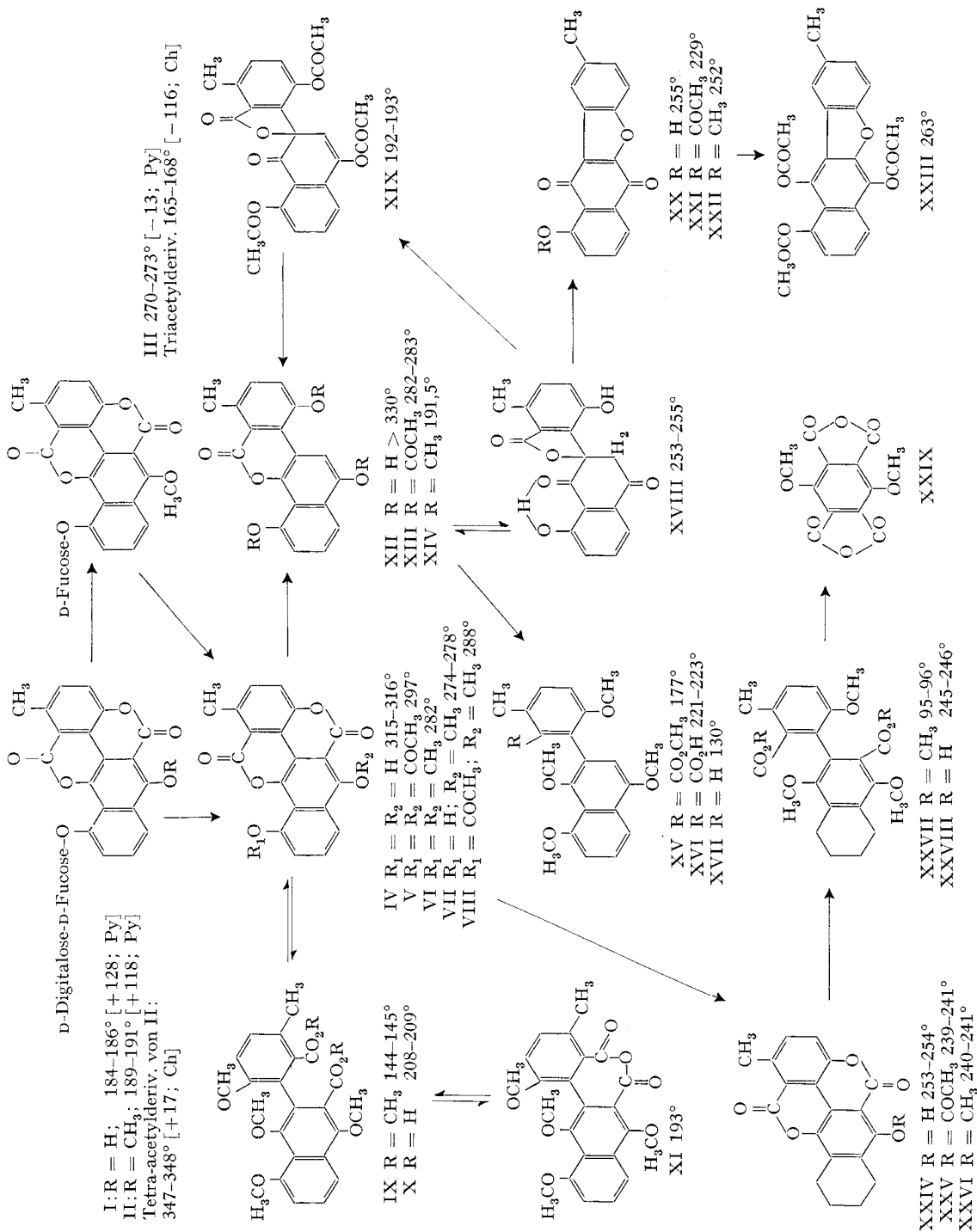
<sup>8)</sup> Diese Reaktion hat schon L. H. STERNBACH ausgeführt; den Herren Dr. M. W. GOLDBERG und Dr. L. H. STERNBACH danken wir für diese Privatmitteilung.

<sup>9)</sup> R. H. THOMSON, J. chem. Soc. 1950, 1737; 1951, 1237.

<sup>10)</sup> 7-Methoxy-3-methyl-phthalid z. B. absorbiert bei 297 (3,67) in Methanol; F. A. HOCHSTEIN & R. PASTERNAK, J. Amer. chem. Soc. 74, 3905 (1952).

<sup>11)</sup> J. F. GROVE, J. chem. Soc. 1951, 883; 1952, 3345; L. A. DUNCANSON, J. F. GROVE & J. ZEALLEY, *ibid.* 1953, 1331; A. J. S. SORRIE & R. H. THOMSON, *ibid.* 1955, 2244.

<sup>12)</sup> V. C. FARMER, N. F. HAYES & R. H. THOMSON, J. chem. Soc. 1956, 3600.



hydro-tetralon (1)<sup>13</sup>) (337 (3,27) und 289 (3,49) (CHCl<sub>3</sub>)) gut übereinstimmt<sup>14</sup>), ist die Formel XIX zu schreiben.

Decarboxylierung von XVIII mit Kupferpulver-Chinolin unter Luftzutritt liefert das Chinon XX, C<sub>17</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> (λ<sub>max</sub>: 413 mμ (log ε = 3,95) (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); IR.: 1681 und 1650 cm<sup>-1</sup>, keine OH-Bande (Nujol); positive Boessigsäure-anhydrid-Reaktion), das als Acetylverbindung XXI und als Methyläther XXII (einzige IR.-Carbonylbande bei 1666 cm<sup>-1</sup> (Nujol) weiter charakterisiert wurde. Reduzierende Acetylierung von XX führt zur farblosen Triacetylverbindung XXIII, C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub>, deren typisches UV.-Spektrum (Alkohol) mit 8 Maxima bis auf eine Rotverschiebung von 8–9 mμ grösste Ähnlichkeit mit dem Spektrum von Benzo[*b*]naphtho[2,3-*d'*]furan (Brasan)<sup>15</sup>) aufweist.

Oxydation von XX mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Alkali führt nun zu 3-Hydroxyphthalsäure (aus Ring A) und 6-Hydroxy-3-methyl-benzoessäure (aus Ring C). Beim eingangs erwähnten Dehydrierungsprodukt x-Methyl-2-phenyl-naphthalin muss es sich um die 3'-Methylverbindung handeln. Der Stoff wurde aus 2-Jodnaphthalin und 3-Jodtoluol nach ULLMANN synthetisiert und auf Grund des IR.-Spektrums (CS<sub>2</sub>) und der Mischprobe seiner 2,4,7-Trinitrofluorenon- und 1,3,5-Trinitrobenzol-Addukte mit dem Abbauprodukt identifiziert.

Im Chartreusin, C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>O<sub>14</sub>, haftet der Disaccharidrest an der 8-ständigen Hydroxylgruppe von IV, wie aus IR.-Spektrum (cheliertes und uncheliertes Lactoncarbonyl bei 1695 bzw. 1727 cm<sup>-1</sup> (CHCl<sub>3</sub>)), grüner Eisen(III)-chlorid-Reaktion, und folgendem Abbau hervorgeht: Methylierung der phenolischen Hydroxylgruppe in I liefert II, C<sub>33</sub>H<sub>34</sub>O<sub>14</sub> [einzige IR.-Carbonylbande bei 1736 cm<sup>-1</sup> (CHCl<sub>3</sub>); keine Eisen(III)-chlorid-Reaktion], das nach der Hydrolyse VII gibt (IR.-Bande bei 1746 cm<sup>-1</sup> (Nujol); keine Eisen(III)-chlorid-Reaktion; Monoacetat VIII), aus dem bei der Oxydation 3-Hydroxy-6-methyl-phthalsäure und 3-Hydroxy-phthalsäure hervorgehen. Schliesslich kann man II unter milden Bedingungen partiell zu III, C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub>, hydrolysieren, das bei vollständiger Hydrolyse in VII und D-Fucose zerfällt. Dem Chartreusin kommt daher die Formel I zu.

Von allen im Formelschema aufgeführten Substanzen liegen korrekte Analysen vor. Die etwas ungewöhnlichen Reaktionsstufen XII → XVIII → XIX → XIII sowie XVIII → XX lassen sich mechanistisch vernünftig formulieren. Mit der vollständigen Aufklärung des Disaccharidteiles sowie der Struktur einiger der von den amerikanischen Autoren<sup>5</sup>) beschriebenen Hydrierungsprodukte des Aglykons sind wir noch beschäftigt. Ebenso wird die Frage nach der möglichen Biosynthese des Chartreusins (Acetat-Schema?) z. Zt. experimentell geprüft.

Herrn Dr. M. W. GOLDBERG, HOFFMANN-LA ROCHE, Nutley, USA., möchten wir für die Überlassung von Chartreusin und Chartreusin-Aglykon auch an dieser Stelle bestens danken.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Auf Grund von Abbauversuchen ist dem Aglykon aus Chartreusin die Formel IV und dem Antibiotikum selbst die Formel I zuzuschreiben.

Zürich, Organisch-chemisches Institut der Universität

<sup>13</sup>) A. EBNÖTHER, TH. M. MEIJER & H. SCHMID, Helv. 35, 910 (1952).

<sup>14</sup>) Die Phthalidgruppierung des Ringes C bewirkt eine Verstärkung der Absorption in der Gegend von 290 mμ; Phthalid selbst zeigt λ<sub>max</sub> 280 mμ mit log ε = 3,22 (Alkohol).

<sup>15</sup>) R. A. FRIEDEL & M. ORCHIN, Ultraviolet Spectra of Aromatic Compounds, No. 435, New York 1951.