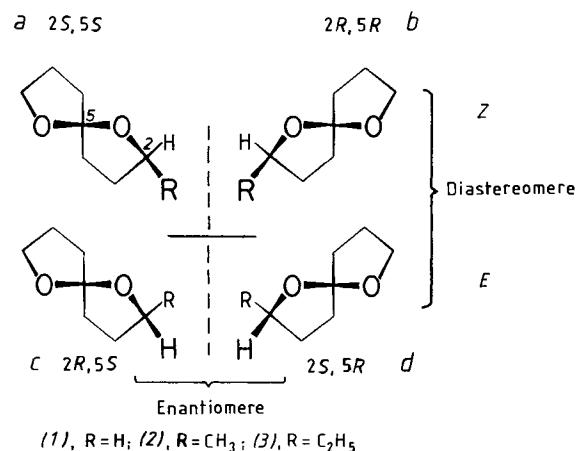


Quantitative Trennung der Enantiomerenpaare des Pheromons 2-Ethyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonan durch Komplexierungschromatographie an einem optisch aktiven Metallkomplex^[]**

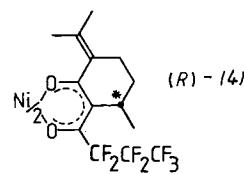
Von *Bernhard Koppenhoefer, Klaus Hintzer, Roland Weber und Volker Schurig^[*]*

Spiroketalen sind in der Natur weit verbreitet, aber über ihre chiroptischen Eigenschaften ist nur wenig bekannt. 2-Ethyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonan (Chalcogran) (3), die Hauptkomponente im Aggregationspheromon des Forstschädlings *Pityogenes chalcographus* (L.) („Kupferstecher“), wurde kürzlich identifiziert und synthetisiert^[1]. (3) enthält zwei Asymmetriezentren und kann daher in vier Konfigurationsisomeren auftreten.



Der Einfluß der Stereochemie chiraler Pheromone auf die biologische Aktivität ist nachgewiesen^[2]. Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der stereochemischen Zusammensetzung natürlich vorkommender (und biologisch aktiver) Spiroketalen interessiert im Hinblick auf die Anwendung synthetischer Lockstoffe in biologischen Feldversuchen, auf die Biosynthese aus chiralen Vorstufen und auf genetische Beziehungen zwischen Arten und Gattungen.

Bisher wurde nur die gaschromatographische Trennung der racemischen Z- und E-Diastereomere von (3) beschrieben^[1a], nicht jedoch deren weitere Trennung in die Enantiomerenpaare. Die quantitative analytische Trennung der vier Konfigurationsisomere von (3) gelang uns nunmehr durch Komplexierungsgaschromatographie, bei der die diastereo- und enantiospezifische Koordinationswechselwirkung von (3) mit dem optisch aktiven Metallchelat Nickel(II)-bis(6-heptafluorbutylyl)-(R)-pulegonat (R)-(4) ausgenutzt wird.



[*] Prof. Dr. V. Schurig, Dipl.-Chem. B. Koppenhoefer, Dipl.-Chem. K. Hintzer, Dipl.-Chem. R. Weber
Institut für Organische Chemie der Universität
Auf der Morgenstelle 18, D-7400 Tübingen

[**] Auszugsweise auf der Konferenz „Chiral Structures“ am 23. Mai 1979 in Milly la Forêt (Frankreich) vorgetragen (V. S.). Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der chemischen Industrie unterstützt. Wir danken der Firma Haarmann und Reimer, Holzminden, für (R)-Pulegon.

Die neue optisch aktive Trennphase (R)-(4) weist den Vorteil beträchtlicher Enantiomerendifferenzierung bei geringen Retentionszeiten auf und eignet sich deshalb zur Enantiomeren trennung von Substanzen, die erst bei höherer Temperatur flüchtig sind. Mit einer Nickelkapillarsäule, belegt mit einer Lösung von (R)-(4) in Squalan (0.09 m), läßt sich das unsubstituierte Spiroketal (1) (auch Oxeton genannt) bereits bei 50 °C in 150 min in die Antipoden spalten. Nachdem das Auftreten scharfer getrennter Peaks für (1) die konfigurative Stabilität des Spirokohlenstoffatoms während der Messung bewies, synthetisierten wir die Homologen (2) und (3) (Chalcogran) nach Literaturvorschriften^[1a,c] und chromatographierten die spektroskopisch charakterisierten Verbindungen an 0.12 m (R)-(4) in Squalan (Abb. 1, oben).

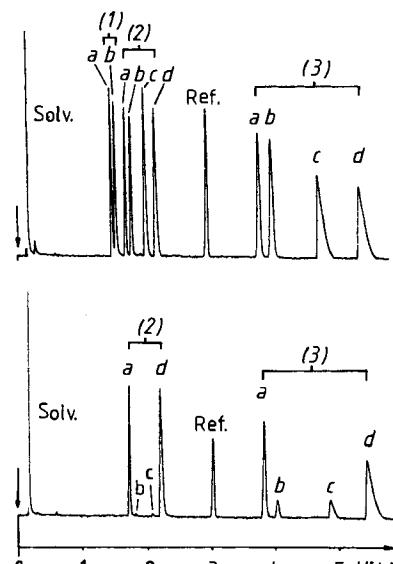


Abb. 1. Enantiomeren- und Diastereomeren-trennung chiraler Spiroketalen durch Komplexierungschromatographie an (R)-(4) (0.12 m in Squalan) bei 60 °C. Oben: Trennung der racemischen Enantiomerenpaare: (1a, b), $\alpha = 1.04$; (2a, b), $\alpha = 1.05$, (2c, d), $\alpha = 1.09$; (3a, b), $\alpha = 1.06$, (3c, d), $\alpha = 1.15$. Unten: Analyse von enantiomer-angereichertem (2S,5R/S)-(2) und (2S,5R/S)-(3). Referenzstandard: n-Decan. Solvens: Ethylacetat; Säule: 100 m × 0.5 mm Nickelkapillare. Trägergas: 2.8 ml/min N₂, Split: 1:50.

Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, werden die in unterschiedlicher Konzentration vorliegenden Z- und E-Diastereomere von (2) und (3) in je zwei Enantiomerenpaare (a, b und c, d) zerlegt. Die Trennung der vier Konfigurationsisomere wurde durch die Identität der Massenspektren aller vier Peakeluate (a-d) und deren Übereinstimmung mit authentischem (2) und (3) bewiesen^[3].

Enantiomer-angereichertes Chalcogran (2S,5R/S)-(3) wurde aus (S)-1,2-Epoxybutan (Enantiomerenreinheit 69 ± 0.5%^[4]) erhalten, welches racemisierungsfrei durch Hofmann-Eliminierung aus technischem (R)-2-Amino-1-butanol (Enantiomerenreinheit 69 ± 0.5%^[5]) über das Trimethylammoniumhydroxid dargestellt wurde; (2S,5R/S)-(2) wurde aus (S)-Epoxypropan^[4] (Enantiomerenreinheit 96.4 ± 0.2%^[4]) nach der Methode von Mori et al.^[1c] synthetisiert. Abbildung 1, unten, zeigt das Chromatogramm.

Das Auftreten von paarweise ungleichen Peakflächen (a/b = d/c) in Abbildung 1 beweist die Trennung in zwei Enantiomerenpaare. Der durch Integration bestimmte Enantiomerenüberschuß für (2S)-konfiguriertes (3) (69 ± 0.5%) und (2) (96.3 ± 0.2%) beweist darüber hinaus den racemisierungsfreien Ablauf der Synthese^[1c]. Die beiden (2S)-konfigurierten Isomere von (2) und von (3) weisen an (R)-(4) die schwächste und die stärkste Koordinationswechselwirkung auf. Daraus folgt, daß die chirale Diskriminierung der Enan-

tiomerenpaare (*a*, *b* und *c*, *d*) durch die Absolutkonfiguration am chiralen Spirozentrum C-5 determiniert ist. Unter der Voraussetzung^[1b], daß aus sterischen Gründen die *E*-Isomere von (2) und (3) die stärkere Wechselwirkung mit (*R*)-(4) eingehen, gilt folgende Peakzuordnung: *a*=2*S*,5*S*, *b*=2*R*,5*R*, *c*=2*R*,5*S* und *d*=2*S*,5*R*. Das Aufspaltungsmuster von (2) und (3) an (*R*)-(4) stimmt überein (Abb. 1, unten). Eine früher^[4] für homologe Oxirane abgeleitete Regel zur Korrelation der Absolutkonfiguration mit dem Retentionsverhalten an einem optisch aktiven Metallkomplex gilt demnach auch für Spiroketalen und kann zur Konfigurationsbestimmung an C-2 herangezogen werden.

Unseres Wissens ist dies die erste gaschromatographische Enantiomerentrennung eines chiralen Pheromons. Die Komplexierungsgaschromatographie ist anderen Verfahren^[6] überlegen, da Substanzvorrang und Derivatisierung entfallen und der Substanzbedarf sehr gering ist.

Eingegangen am 4. Dezember 1979 [Z 472]

- [1] a) W. Francke, V. Heemann, B. Gerken, J. A. A. Renwick, J. P. Vité, Naturwissenschaften 64, 590 (1977); b) L. R. Smith, H. J. Williams, R. M. Silverstein, Tetrahedron Lett. 1978, 3231; c) K. Mori, M. Sasaki, S. Tamada, T. Suguro, S. Masuda, Tetrahedron 35, 1601 (1979).
 [2] a) R. Rossi, Synthesis 1978, 413, zit. Lit.; b) J. P. Vité, J. A. A. Renwick, Z. Angew. Entomol. 82, 112 (1976).
 [3] Varian MAT 111, GC-MS-Kopplung, *m/e* (M^+): 128 (1), 142 (2), 156 (3).
 [4] V. Schurig, B. Koppenhoefer, W. Bürkle, Angew. Chem. 90, 993 (1978); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 17, 937 (1978).
 [5] Als Trifluoressigsäure-Derivat bestimmt an Chirasil-Val: H. Frank, G. J. Nicholson, E. Bayer, Angew. Chem. 90, 396 (1978); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 17, 363 (1978).
 [6] Die Anwendung chiraler NMR-Verschiebung reagenten [7a] ist bei Pheromonen durch Reinheitskriterien, Substanzbedarf und Spektrenkomplexität eingeschränkt. Die gaschromatographische Diastereomerenmethode [7b] setzt die Anwesenheit *racemisierungsfrei* derivatisierbarer funktioneller Gruppen voraus.
 [7] a) T. E. Stewart, E. L. Plummer, L. L. Mc Candless, J. R. West, R. M. Silverstein, J. Chem. Ecol. 3, 27 (1977); b) K. Kruse, W. Francke, W. A. König, J. Chromatogr. 170, 423 (1979).

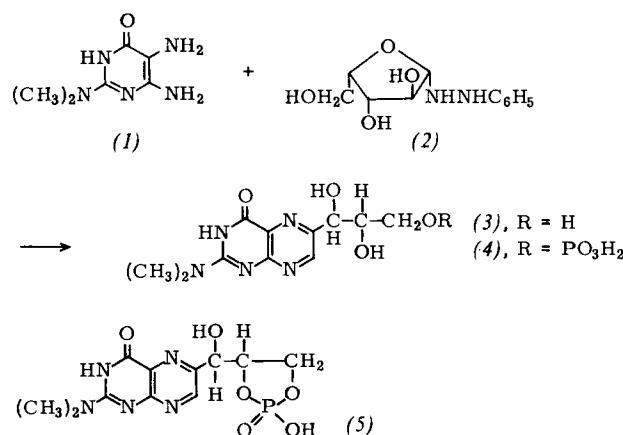
Euglenapterin – ein neues, ungewöhnliches natürliches Pteridin-Derivat aus *Euglena gracilis*

Von Manfred Böhme, Wolfgang Pfleiderer, Erich F. Elstner und Wilhelm J. Richter^[*]

Die Phytoflagellate *Euglena gracilis* weist Eigenschaften sowohl des tierischen als auch des pflanzlichen Stoffwechsels auf. Bei Untersuchungen der Inhaltsstoffe^[1] dieses Organismus wurden nach MnO_2 -Behandlung des nativen Materials in essigsaurer Milieum drei gelblich fluoreszierende Komponenten entdeckt, die als mögliche unkonjugierte Pteridine angesehen wurden^[1]. Da sich jedoch keines dieser Produkte chromatographisch und spektral als eines der natürlichen Pterine identifizieren ließ, haben wir diese Naturstoffe erneut untersucht. Zunächst wurde die im Chromatographie-System *n*-Propanol/1proz. Ammoniak (2/1) auf Cellulose am weitesten wandernde Komponente ($R_f=0.48$) chromatographisch angereichert und dann durch HPLC an RP-8-Trägermaterial gereinigt.

Das Felddesorptions-Massenspektrum (FD-MS) des isolierten Materials zeigte ein $M^{+\bullet}/MH^{+\bullet}$ -Doppelsignal (*m/e*

=281/282) entsprechend der Summenformel $C_{11}H_{15}N_5O_4$, die durch das hochauflöste Elektronenstoß-Massenspektrum (EI-MS) des Tetrakis(trimethylsilyl)-Derivates gesichert wurde ($M^{+\bullet}$ bei *m/e*=569, $C_{23}H_{47}N_5O_4Si_4$; erhalten durch Umsetzung mit Bis(trimethylsilyl)acetamid in Pyridin bei 60 °C). Aus der Anwesenheit von vier silylierbaren (aciden) H-Atomen, den charakteristischen massenspektrometrischen Fragmenten sowie dem im Vergleich zu den Pteridinen etwas bathochrom verschobenen UV-Spektren der verschiedenen Molekülformen ließ sich die mögliche Struktur eines 2-Dimethylamino-6-trihydroxypropyl-4-oxo-3,4-dihydropteridins herleiten. Gesichert werden konnte diese Konstitution unter gleichzeitiger Festlegung der Stereochemie der Trihydroxypropyl-Seitenkette durch chemische Synthese aller vier Stereoisomere aus 5,6-Diamino-2-dimethylamino-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin (1) und den Phenylhydrazen von D- und L-Arabinose sowie D- und L-Xylose (2) nach üblichen Methoden der Pterin-Chemie^[2].



Aus dem Vergleich der CD-Spektren der vier Syntheseprodukte mit dem des natürlichen Materials ist ersichtlich, daß die Seitenkette die *L-threo*-Konfiguration (3) hat und demzufolge eine strukturelle Analogie zum Ciliapterin, das aus *Tetrahymena pyriformis* isoliert wurde^[3], besteht.

Mit der Kenntnis der Konstitution von Euglenapterin (3) ließen sich auch die Strukturen der beiden übrigen gelblich fluoreszierenden Inhaltsstoffe, die bereits als Phosphate^[1] erkannt worden waren, als 3'-Phosphat (4) (FD-MS: $MH^{+\bullet}$ bei *m/e*=362; EI-MS nach Trimethylsilylierung: $M^{+\bullet}$ des zu erwartenden Pentakis(trimethylsilyl)-Derivates bei *m/e*=721 sowie charakteristische Fragmentbildung) und 2',3'-Cyclophosphat (5) (FD-MS: $MH^{+\bullet}$ bei *m/e*=344, $MNa^{+\bullet}$ bei *m/e*=366; EI-MS nach Trimethylsilylierung: $M^{+\bullet}$ des Tris(trimethylsilyl)-Derivates bei *m/e*=559) zuordnen. Phosphorylierung von (3) mit $POCl_3$ in Trimethylphosphat nach der Yoshikawa-Methode^[4], die bevorzugt an der primären OH-Funktion angreift, führt in guter Ausbeute je nach Aufarbeitungsbedingungen zu (4) oder (5). Beide Substanzen (als Bariumsalze isoliert) sind chromatographisch und spektrophotometrisch mit den Naturprodukten identisch.

Euglenapterin ist somit das erste Beispiel eines neuartigen natürlichen Pterin-Typs^[5]. Inwieweit die strukturelle Modifizierung der 2-Amino-Gruppe des Pterin-Systems auch von allgemeiner biologischer und physiologischer Relevanz ist, läßt sich noch nicht erkennen.

Eingegangen am 14. Januar 1980 [Z 474]

[*] Prof. Dr. W. Pfleiderer, Dipl.-Chem. M. Böhme

Fakultät für Chemie der Universität
Postfach 7733, D-7750 Konstanz

Prof. Dr. E. F. Elstner
Institut für Botanik und Mikrobiologie der Technischen Universität München
Dr. W. J. Richter
Zentrale Funktion Forschung, Ciba-Geigy AG, Basel (Schweiz)

[1] E. F. Elstner, A. Heupel, Arch. Biochem. Biophys. 173, 614 (1976).

[2] M. Visconti, R. Provenzale, S. Ohigart, J. Mallevialle, Helv. Chim. Acta 53, 1202 (1970).

[3] G. W. Kidder, V. C. Dewey, J. Biol. Chem. 243, 826 (1968).