

E1 sowie dem 3'-Propyl- (XIV) und 3'-Isopropyl-1,2-cyclopentenophenanthren (XV) isomer, aber nach Mischprobe sicher verschieden von diesen. Sie ist optisch inaktiv; möglicherweise liegt ein 2'-Äthyl-3'-methyl-1,2-cyclopentenophenanthren vor. Aus der Chrysenfraktion konnten nach präparativer Papierchromatographie zwei einheitliche Chrysenderivate, O1 und O2, isoliert werden, bei denen es sich vermutlich um Mono- oder Dialkylchrysene handelt.

Organisch-chemisches Institut der Universität Basel

16. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten

32. Mitteilung¹⁾

Über die Konstitution von Nonactin

von J. Dominguez, J. D. Dunitz, H. Gerlach und V. Prelog

(1. XII. 61)

Die Fortsetzung der Untersuchungen über das neutrale, lipophile Stoffwechselprodukt Nonactin²⁾ führte zur vollständigen Aufklärung seiner Konstitution, über die wir in der vorliegenden Mitteilung berichten wollen.

Auf Grund einer röntgenographischen Untersuchung (s. Anhang) musste die früher für das Nonactin vorgeschlagene Formel $C_{30}H_{48}O_9$ in $C_{40}H_{64}O_{12}$ geändert werden. Die neue Molekularformel konnte durch thermoelektrische Molekulargewichtsbestimmung³⁾ in zwei Lösungsmitteln bestätigt werden: $C_{40}H_{64}O_{12}$ Ber. 737, Gef. in Methylenchlorid 719, in Äthylacetat 727. Sie wird auch durch die Ergebnisse der Untersuchung von Homologen des Nonactins gestützt, über die wir in einer späteren Mitteilung berichten werden.

Aus den früher veröffentlichten analytischen Daten und der neuen Molekularformel folgt, dass im Nonactin 8 C-Methyle vorhanden sind. Von den 12 Sauerstoffatomen liegen keine als acylierbare Hydroxyle oder als mit Ketonreagenzien nachweisbare Carbonyle vor. Das IR.-Absorptionsspektrum bestätigt die Abwesenheit der Hydroxyle, eine starke Bande bei 1726 cm^{-1} weist dagegen auf das Vorliegen von nichtreaktiven Carbonylen hin.

Die Konstitutionsaufklärung des Nonactins erwies sich als relativ einfach, als man fand, dass es durch alkalische Verseifung 4 Mol. einer Hydroxycarbonsäure $C_{10}H_{18}O_4$ liefert. Es muss sich demnach um ein Tetralacton handeln. Die chromatographische Untersuchung des Methylesters, $C_{11}H_{20}O_4$, welcher aus der scheinbar einheitlichen Hydroxycarbonsäure mit ätherischer Diazomethan-Lösung bereitet worden war,

¹⁾ 31. Mitt.: *Helv.* 45, 4 (1962).

²⁾ R. CORBAZ, L. ETTLINGER, E. GÄUMANN, W. KELLER-SCHIERLEIN, F. KRADOLFER, L. NEIPP, V. PRELOG & H. ZÄHNER, *Helv.* 38, 1445 (1955).

³⁾ Vgl. W. SIMON & C. TOMLINSON, *Chimia* 14, 301 (1960); D. WEGMANN, C. TOMLINSON & W. SIMON, International Symposium on Microchemical Techniques, August 13–18, 1961, The Pennsylvania State University. Wir verdanken die Molekulargewichtsbestimmungen Herrn Dr. W. SIMON.

zeigte, dass es sich um ein Gemisch von zwei isomeren Verbindungen im Verhältnis 4:1 handelt. Die beiden Isomeren liessen sich durch Chromatographie an Kieselgel rein erhalten und wurden durch ihre IR.- und NMR.-Spektren charakterisiert. Die alkalische Verseifung der chromatographisch einheitlichen Ester liefert auch unter milden Bedingungen das gleiche Gemisch der freien Hydroxycarbonsäuren, welches durch alkalische Verseifung von Nonactin erhalten wird. Es handelt sich also vermutlich um ein Gleichgewichtsgemisch von zwei epimeren Säuren, deren Ester unter Einwirkung von Alkali ineinander übergehen.

Man kann auf Grund folgender Ergebnisse zeigen, dass dasjenige Stereoisomere, welches den Hauptanteil des Gemisches darstellt und von uns Nonactinsäure genannt wird, ursprünglich im Nonactin vorkommt; sein Epimeres, die *epi*-Nonactinsäure, ist dagegen ein Artefakt, das durch Einwirkung von Alkali entsteht. Das Nonactin geht durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid in ein öliges Diol $C_{10}H_{20}O_3$ über, das ein einheitliches kristallines Di-*p*-nitrobenzoyl-Derivat liefert. Das gleiche Diol entsteht auch durch Reduktion von Nonactinsäure-methylester mit Lithiumaluminiumhydrid, der *epi*-Nonactinsäure-methylester liefert dagegen unter gleichen Bedingungen ein isomeres Diol, dessen Di-*p*-nitrobenzoyl-Derivat nicht kristallisiert.

Die Nonactinsäure und die *epi*-Nonactinsäure weisen ein sekundäres Hydroxyl auf. Das Gemisch der Methylester der beiden Säuren liefert durch milde Oxydation mit Chrom(VI)-oxid ein Gemisch der Methylester von zwei epimeren Ketocarbonsäuren $C_{10}H_{16}O_4$. Der reine Nonactinsäure-methylester gibt dagegen nur *einen* Ketocarbonsäure-methylester.

Bei der alkalischen Hydrolyse des Ketocarbonsäuremethyl-esters findet eine sehr glatt verlaufende Fragmentierungsreaktion statt, bei der etwa 0,8 Mol. Aceton als 2,4-Dinitrophenylhydrazon erfasst werden konnte⁴⁾. Aus dem Rest der Molekel entstehen in der Hauptsache saure Produkte. Auf Grund von Dünnschicht-Chromatogrammen ihrer Methylester handelt es sich um ein Gemisch von wenigstens 6 Verbindungen, welches nicht weiter untersucht wurde. Eine energische Oxydation der Nonactinsäure mit Chrom(VI)-oxid liefert Bernsteinsäure. Unter den Bedingungen der C-Methyl-Bestimmung nach KUHN-ROTH entstehen aus Nonactin fast 8 Mol. Essigsäure und aus Nonactinsäure fast 2 Mol. Essigsäure. Diese Abbauprodukte geben die erste Auskunft über das Kohlenstoffgerüst der Nonactinsäure, welche die Fragmente $CH_3CHOHCH_2-$, $(C)CH_2CH_2(C)$ und $CH_3(C)$ enthalten muss.

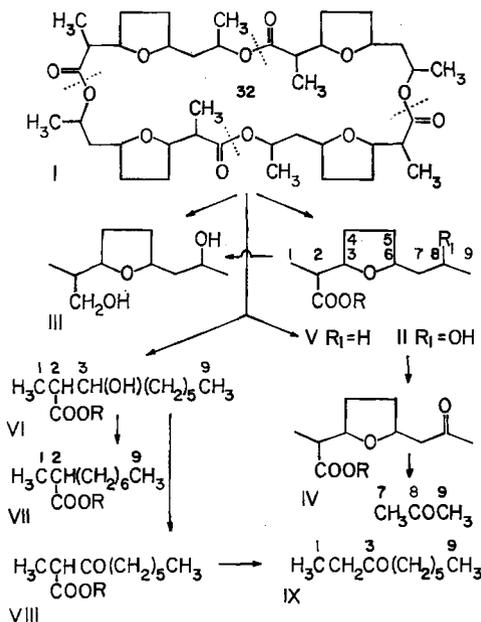
Die Festlegung des Kohlenstoffgerüsts gelang durch Erwärmen des Nonactins mit 64-proz. Bromwasserstoffsäure und Debromierung des erhaltenen Reaktionsproduktes durch katalytische Hydrierung mit 5-proz. Palladium-Kohle in Anwesenheit von Kalilauge. Neben neutralen Produkten wurde dabei ein Säuregemisch erhalten, welches man mit Diazomethan in die Methylester überführte. Durch Chromatographie an Kieselgel konnten daraus zwei Hauptkomponenten rein erhalten werden. Die eine davon liess sich als Desoxy-nonactinsäure-methylester $C_{11}H_{18}O_3$ identifizieren und durch Spektren sowie durch ein kristallines Anilid charakterisieren.

Wichtiger für die Konstitutionsaufklärung war der zweite Methylester $C_{11}H_{22}O_3$, der das Derivat einer aliphatischen Hydroxycarbonsäure darstellt. Durch Überführung in den *p*-Toluolsulfosäure-Ester, Ersetzen des *p*-Toluolsulfo-Restes durch Brom

⁴⁾ Wir verdanken die Beobachtung der Fragmentierungsreaktion Herrn Dr. R. J. HIGHER.

mit Hilfe von Lithiumbromid und katalytische Hydrierung des Brom-methylesters mit Palladium-Kohle in Anwesenheit von Kalilauge liess sich das Hydroxyl durch Wasserstoff ersetzen. Es entstand dabei eine aliphatische Säure $C_{10}H_{20}O_2$, die als kristallines Anilid gefasst und durch Vergleich mit einem synthetischen Präparat als α -Methylpelargonsäure VII identifiziert werden konnte.

Bei Reaktionen mit starken Säuren, wie bei der Behandlung des Nonactins mit konz. Bromwasserstoffsäure, ist immer die Möglichkeit einer WAGNER-MEERWEIN-schen Umlagerung des Kohlenstoffgerüsts in Betracht zu ziehen. Gegen eine solche Umlagerung beim Nonactin sprechen unter anderem besonders die NMR.-Spektren (s. später), so dass man annehmen kann, dass das Kohlenstoffgerüst der Nonactinsäure durch die Überführung in die α -Methylpelargonsäure eindeutig bestimmt ist.



Über die Lage des Hydroxyls im Hydroxycarbonsäure-methylester $C_{11}H_{22}O_3$ gab die Oxydation mit Chrom(VI)-oxid in Aceton Auskunft, die den entsprechenden Ketocarbonsäure-methylester $C_{11}H_{20}O_3$ lieferte. Durch Verseifung und Decarboxylierung des letzteren mit Wasser bei 210° entstand ein Keton $C_9H_{18}O$, das als 2,4-Dinitrophenylhydrazon gefasst, charakterisiert und durch Vergleich mit einem synthetischen Präparat als Nonanon-(3) (IX) identifiziert wurde. Daraus folgt für die Ketocarbonsäure die Formel VIII ($R = H$) und für die Hydroxycarbonsäure die Formel VI ($R = H$).

Die erwähnten Reaktionen erlauben eine eindeutige Konstitutionsbestimmung der Nonactinsäure und somit auch des Nonactins selbst. Von den 4 Sauerstoffatomen der Nonactinsäure liegen 2 im Carboxyl, eines im Hydroxyl und eines offenbar als nichtreaktiver Äthersauerstoff in einem Ring vor. Das Carboxyl sitzt am C-2 einer geraden Kette von 9 Kohlenstoffatomen. In β -Stellung zum Carboxyl am C-3 befin-

det sich eine einwertige Sauerstoff-Funktion, welche nicht identisch mit dem Hydroxyl der Nonactinsäure sein kann. Es muss sich also um eine Haftstelle des Ring-Äthersauerstoffs handeln. Das sekundäre Hydroxyl kann nur am C-8 sitzen, da es in einer $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_2$ -Teilstruktur vorliegen muss. Da die Nonactinsäure gleichzeitig das Fragment $(\text{C})\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{C})$ und, wegen der leichten Entstehung von Aceton durch Einwirkung von Alkali auf den Ketocarbonsäure-ester aus Nonactinsäure-ester, eine Sauerstoff-Funktion am C-6 enthalten muss, kommt als die zweite Haftstelle für den Ringsauerstoff nur noch dieser letzte Kohlenstoff in Frage. Die Nonactinsäure ist somit ein α, α' -disubstituiertes Tetrahydrofuran-Derivat und besitzt die Formel II ($\text{R} = \text{H}$). Für die entsprechende Ketocarbonsäure folgt daraus die Formel IV ($\text{R} = \text{H}$) und für das aus Nonactin erhaltene Diol $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_3$ die Formel III. Die Desoxynonactinsäure ist offenbar V ($\text{R} = \text{H}$). Die stereoisomere Nonactinsäure, welche durch Einwirkung von Alkali auf Nonactin oder Nonactinsäure-ester entsteht, und die daraus abgeleiteten Derivate sind offenbar epimer am C-2.

Das Nonactin selbst besitzt demnach die Konstitutionsformel I mit einem 32-gliedrigen Ring und ist Vertreter einer Gruppe von Verbindungen, die wir *Makrotetrolide* nennen wollen. Neben Nonactin wurden aus den Kulturfiltraten der Actinomyceten, welche dieses produzieren, 3 Homologe des Nonactins, das *Monactin* $\text{C}_{41}\text{H}_{66}\text{O}_{12}$, das *Dinactin* $\text{C}_{42}\text{H}_{68}\text{O}_{12}$ und das *Trinactin* $\text{C}_{43}\text{H}_{70}\text{O}_{12}$ isoliert, welche, wie wir in einer späteren Mitteilung berichten wollen, ebenfalls Makrotetrolide sind. Seitdem wir über das Nonactin berichtet haben, wurden mehrmals Stoffwechselprodukte von Actinomyceten beschrieben, von welchen man auf Grund ihrer Eigenschaften und Reaktionen vermuten kann, dass sie mit Nonactin identisch oder mit ihm nahe verwandt sind. Von diesen seien hier besonders das *Lustericin* aus einem nicht identifizierten *Streptomyces*-Stamm⁵⁾, das *Longisporin* aus *Streptomyces longisporus*⁶⁾, sowie das *Fluorin* aus Actinomyceten der *Fluorescens*-Gruppe⁷⁾ erwähnt.

Die NMR.-Spektren⁸⁾ des Nonactins und seiner Abbauprodukte stützen die auf chemischem Wege abgeleiteten Konstitutionsformeln und zeigen darüber hinaus, dass während des sauren Abbaus des Nonactins keine Umlagerungen des Kohlenstoffgerüsts stattgefunden haben. Sie waren wertvolle Wegweiser während der Konstitutionsaufklärung. Die NMR.-Spektren der Abbauprodukte, welche keiner Erklärung bedürfen, findet man im experimentellen Teil; hier sei nur das Spektrum des Nonactins im Zusammenhang mit der Formel I kurz besprochen. Zwei Doublette $\delta = 1,02$ und $1,19$ ($J = 7$, je 12H) entsprechen zwei verschiedenen Typen von je 4 CH_3CH -Gruppen. Im Signal-Haufen zwischen $\delta = 1,3$ und $2,1$ (24H) sind die Signale der 12 Methylene enthalten. Ein «Quintuplett» [ein in 4 Doublette ($J = 7$) aufgespaltenes Quadruplett ($J = 7$)] $\delta = 2,41$ ($J = 7$, 4H) entspricht den Protonen am α -Kohlenstoff zum Carboxyl. Ein breiter Signalhaufen $\delta = 3,5$ bis $4,2$ (8H) ist den Protonen in beiden

⁵⁾ M. SHIBATA & K. NAKAZAWA, Annu. Rep. Takeda Res. Lab. 17, 19 (1958).

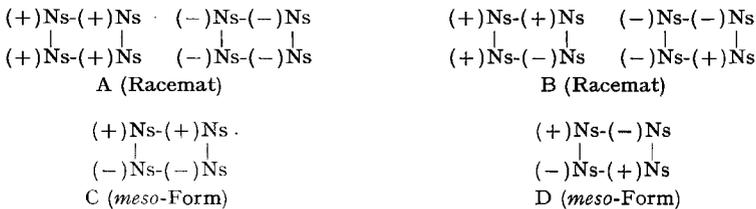
⁶⁾ G. P. MENŠIKOV & M. M. RUBINŠTEIN, Ž. obšč. Chim. 26, 2035 (1956).

⁷⁾ S. I. DENISOVA, L. P. KUČERVENKO & G. P. MENŠIKOV, Ž. obšč. Chim. 30, 332 (1960); A. I. KORENYKO, N. A. KRASILNIKOV, N. I. NIKITINA & A. I. SOKOLOVA, Trudy Inst. Mikrobiol. Akad. Nauk SSSR. 1960, No. 8, 147; Chem. Abstr. 55, 9569 (1961).

⁸⁾ Die chemischen Verschiebungen δ in ppm sind bezogen auf $\delta(\text{CH}_3)_4\text{Si} = 0$. Die Zahl der Protonen ist durch Integration erhalten und auf- bzw. abgerundet. Vergleichswerte für δ und J findet man in L. M. JACKMAN, Application of Nuclear Magnetic Spectroscopy in Organic Chemistry, Pergamon Press, London 1959.

α -Stellungen des Tetrahydrofuran-Ringes und ein Multiplett $\delta = 4,65$ bis $5,10$ (4H) ist offenbar den Protonen neben der Acyloxy-Gruppe zuzuordnen.

Es ist bemerkenswert, dass das Nonactin optisch inaktiv ist, obwohl es 4×4 asymmetrische Kohlenstoffe enthält. Alle daraus hergestellten Abbauprodukte sind ebenfalls optisch inaktiv. Die Nonactinsäure aus Nonactin, welche 4 asymmetrische Kohlenstoffatome aufweist, stellt somit ein Racemat mit einer bestimmten relativen Konfiguration dar, über die wir in einer späteren Mitteilung berichten werden. Die beiden enantiomeren Nonactinsäure-Reste [(+)Ns und (-)Ns] müssen im Nonactin in gleichen Mengen vorliegen. Diese Bedingung kann auf 4 verschiedene Weisen erfüllt werden, die im folgenden Schema dargestellt sind:



Die *meso*-Konfiguration D mit einer zweizähligen Drehachse besitzt eine vierzählige Drehspiegelungsachse. Es handelt sich hier um einen in der Natur nicht beobachteten, von McCASLAND & PROSKOW⁹⁾ realisierten Fall einer *meso*-Konfiguration, welche weder eine Symmetrieebene noch ein Symmetriezentrum besitzt.

Auf Grund der röntgenographischen Untersuchung (s. Anhang) kann das Nonactin nicht die relative Konfiguration B besitzen.

Wir danken der CIBA-AKTIENGESELLSCHAFT in Basel für die Überlassung einer grösseren Menge des rohen Nonactins.

Anhang

Röntgenographische Untersuchung des Nonactins. Eine orientierende Untersuchung der Kristalle von Nonactin lieferte folgende Ergebnisse. Alle beobachteten RÖNTGEN-Reflexionen lassen sich indizieren auf Grund einer Zelle mit den Dimensionen $a = 47,6 \text{ \AA}$, $b = 31,5 \text{ \AA}$, $c = 5,70 \text{ \AA}$, und mit allen Winkeln gleich 90° . Diese Zelle enthält 32mal die Einheit $C_{10}H_{16}O_3$, welche der einfachsten durch Elementaranalyse gegebenen Verhältnisformel des Nonactins entspricht. Dichte: Ber. 1,125, Gef. 1,11 bis 1,15.

Die Symmetrie des Beugungsbildes und die Auslöschungsbedingungen sind ungewöhnlich und lassen sich wie folgt zusammenfassen:

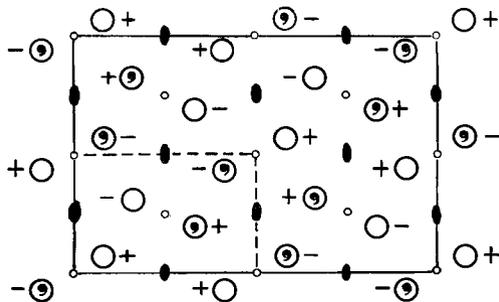
Reflexion	Auslöschungsbedingung	Symmetrieverhältnisse
hkl	$h + k \neq 2n$	$I(hkl) = I(hk\bar{l}) = I(h\bar{k}l)$ für h, k gerade $I(hkl) = I(hk\bar{l}) \neq I(h\bar{k}l)$ für h, k ungerade
$hk0$	$h \neq 2n, k \neq 2n$	$I(hk0) = I(h\bar{k}0)$
$h0l$	$h \neq 4n$	$I(h0l) = I(h0\bar{l})$
$0kl$	$k \neq 4n$	$I(0kl) = I(0k\bar{l})$
$00l$	keine	

⁹⁾ G. E. McCASLAND & S. PROSKOW, J. Amer. chem. Soc. 78, 5646 (1956).

Diese Ergebnisse zeigen 1. dass die Kristalle trotz der Winkel von 90° monoklin sind, und zwar mit c als ausgezeichneter Achse, 2. dass die erwähnte Zelle nicht primitiv, sondern basiszentriert ist, 3. dass die Raumgruppe in bezug auf diese basiszentrierte Zelle $C 2/b (C_{2h}^4)$ ist, und 4. dass die Projektion der Struktur auf die «schräge» (001)-Ebene pgg -Symmetrie besitzt mit einer scheinbaren Zelle $a' = a/2$ und $b' = b/2$. Diese projizierte Zelle enthält 8 Einheiten $C_{10}H_{16}O_3$ oder 4 Einheiten $C_{20}H_{32}O_6$ oder 2 Einheiten $C_{40}H_{64}O_{12}$, wobei im letzten Fall die Zentren der Molekeln den speziellen Lagen (0,0) und $(1/2, 1/2)$ entsprechen müssen. Die früher für das Nonactin angenommene Molekularformel $C_{30}H_{48}O_9$ ist dagegen ausgeschlossen. Von den drei auf Grund der röntgenographischen Ergebnisse möglichen Molekularformeln ist nur $C_{40}H_{64}O_{12}$ mit anderen Eigenschaften des Nonactins vereinbar. Da die beiden Molekeln $C_{40}H_{64}O_{12}$ in der projizierten Zelle zentrosymmetrisch sind, müssen sie im Raum entweder ein Symmetriezentrum oder eine 2-zählige Drehachse besitzen. Die asymmetrische Kristalleinheit besteht somit aus einer Hälfte der Nonactin-Molekel, d.h. aus einer $C_{20}H_{32}O_6$ -Einheit. Sämtliche Auslöschungen und Intensitätsverhältnisse lassen sich erklären, wenn man annimmt, dass die folgende Gruppe von 16 allgemeinen Punktlagen besetzt ist:

$$\begin{aligned} & \left(0, 0, 0; \frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0 \right) + \\ & x, y, z; \bar{x}, \bar{y}, \bar{z}; x, \frac{1}{2} + y, \bar{z}; \bar{x}, \frac{1}{2} - y, z; \frac{1}{4} + x, \frac{1}{4} - y, z; \\ & \frac{3}{4} - x, \frac{3}{4} + y, \bar{z}; \frac{1}{4} + x, \frac{3}{4} - y, \bar{z}; \frac{3}{4} - x, \frac{1}{4} + y, z \quad (\text{s. Fig.}) \end{aligned}$$

Von den vier theoretisch möglichen relativen Konfigurationen, welche für das Nonactin in Frage kommen (s. S. 133), erfüllt B (Racemat) diese Bedingung nicht und ist somit ausgeschlossen. Die Frage, ob die Nonactin-Molekel ein Symmetriezentrum (Konfiguration C) oder eine 2-zählige Drehachse (Konfigurationen A und D) besitzt, lässt sich dagegen auf Grund von vorliegenden Daten nicht beantworten.



Schematische Darstellung einer möglichen Anordnung der 16 Molekel-Hälften des Nonactins in der basiszentrierten monoklinen Zelle

Die Kreise ohne Komma und mit Komma stellen Molekel-Hälften entgegengesetzter Chiralität¹⁰⁾ dar. Die Molekeln des Nonactins lassen sich entweder aus 2 durch eine Drehachse verknüpften Molekel-Hälften derselben Chiralität oder aus 2 durch ein Symmetriezentrum verknüpften Molekel-Hälften entgegengesetzter Chiralität zusammensetzen.

¹⁰⁾ Vgl. L. L. WHYTE, *Nature* 180, 513 (1957); 182, 198 (1958). Wir verdanken den Hinweis auf diesen Ausdruck Professor E. L. ELIEL und Professor K. MISLOW.

Experimenteller Teil¹¹⁾

Alkalische Hydrolyse des Nonactins: Nonactinsäure- und 2-epi-Nonactinsäure-methylester (II, R = CH₃). 1,85 g Nonactin wurden in 10 ml Alkohol und 10 ml 2N Kalilauge 1/2 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Lösung wurde darauf eingeeengt, von neutralen Anteilen (0,15 g) durch Extraktion mit Chloroform befreit, mit konz. Salzsäure angesäuert und viermal mit Chloroform extrahiert. Der Rückstand nach dem Eindampfen des Chloroforms (1,76 g) wurde zur Analyse im Hochvakuum destilliert: Sdp. 115°/0,01 Torr, $[\alpha]_D = 0^\circ$ ($c = 5,6$, CHCl₃), pK_{MCS}^{12} 7,15.

C ₁₀ H ₁₈ O ₄	Ber. C 59,38	H 8,97	2(C)CH ₃ 14,8%	Äq.-Gew. 202,2
	Gef. „ 59,57	„ 8,98	„ 12,5%	„ 204

Durch Behandeln mit überschüssiger ätherischer Diazomethan-Lösung wurde das Säuregemisch in die Methylester übergeführt. Diese lieferten bei der Dünnschicht-Chromatographie (Benzol-Äthylacetat, 1:1) zwei Flecke, Rf = 0,30 und 0,37. 1,60 g des Methylester-Gemisches wurden an 100 g Kieselgel mit Benzol-Äthylacetat 3:1 als Elutionsmittel in die beiden Komponenten aufgetrennt. Es wurden dabei Fraktionen von je 50 ml gesondert aufgefangen. Die Fraktionen 9 und 10 enthielten 0,22 g des 2-epi-Nonactinsäure-methylesters, Rf = 0,37; nach einer Zwischenfraktion von 0,235 g liessen sich aus den Fraktionen 12 bis 17 1,04 g des Nonactinsäure-methylesters, Rf = 0,30, erhalten.

Nonactinsäure-methylester (Rf = 0,30). Zur Analyse wurde die Fraktion 16 im Hochvakuum destilliert: Sdp. 85°/0,01 Torr, $[\alpha]_D = 0^\circ$ ($c = 5,7$, CHCl₃).

C ₁₁ H ₂₀ O ₄	Ber. C 61,09	H 9,32%	Gef. C 61,28	H 9,14%
--	--------------	---------	--------------	---------

IR.-Absorptionsspektrum (in CCl₄): ν_{max} 3566, 1740 cm⁻¹. NMR.-Spektrum (in CCl₄): δ 1,07 (*d*, J = 6, 3H), 1,13 (*d*, J = 7, 3H), Signalhaufen von 1,4–2,15 (6H), 2,47 («Quintuplett», J = 7, 1H), 3,63 (*s*, 3H), 3,90 (*t*, J = 6, 2H), 3,65 bis 4,25 (*m*, 1H).

2-epi-Nonactinsäure-methylester (Rf = 0,37). Zur Analyse wurde die Fraktion 9 im Hochvakuum destilliert: Sdp. 85°/0,01 Torr, $[\alpha]_D = 0^\circ$ ($c = 4,3$, CHCl₃).

C ₁₁ H ₂₀ O ₄	Ber. C 61,09	H 9,32%	Gef. C 61,02	H 9,48%
--	--------------	---------	--------------	---------

IR.-Absorptionsspektrum (in CCl₄): ν_{max} 3525, 1735 cm⁻¹. NMR.-Spektrum (in CCl₄): δ 1,13 (*d*, J = 7, 3H), 1,16 (*d*, J = 6, 3H), Signalhaufen von 1,4–2,15 (6H), 2,47 («Quintuplett», J = 7, 1H), 3,63 (*s*, 3H), 3,90 (*t*, J = 6, 2H), 3,65 bis 4,25 (*m*, 1H).

Die Verseifung der chromatographisch reinen epimeren Methylester lieferte auch unter milden Bedingungen (Natriumhydrogencarbonat in Methanol) immer nur ein Gemisch der beiden epimeren Säuren im Verhältnis 1:4.

Oxydation des Nonactinsäure-methylesters mit Chrom(VI)-oxid: Ketosäure-methylester IV (R = CH₃). Zu 0,22 g Nonactinsäure-methylester in 10 ml Aceton tropfte man bei 0° 0,4 ml 7N Chrom(VI)-oxid-Lösung in 30-proz. Schwefelsäure. Nach 5 Min. wurde mit Benzol ausgeschüttelt und die Benzolauszüge mit Natriumcarbonat-Lösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Den Rückstand chromatographierte man an 10 g Kieselgel mit Benzol-Äthylacetat 3:1 als Elutionsmittel. Es wurde 0,185 g eines farblosen Öls, Sdp. 80°/0,01 Torr, erhalten, welches im Dünnschicht-Chromatogramm (Benzol-Äthylacetat 3:1) nur einen Fleck, Rf = 0,52, zeigte. Die Jodoform-Reaktion war positiv.

C ₁₁ H ₁₈ O ₄	Ber. C 61,66	H 8,47%	Gef. C 61,84	H 8,55%
--	--------------	---------	--------------	---------

¹¹⁾ Alle Dünnschicht-Chromatogramme wurden mit «Kieselgel G für Dünnschicht-Chromatographie MERCK», aktiviert bei 140°, ausgeführt. Die Flecke wurden durch Besprühen mit konz. Schwefelsäure und Erwärmen auf 150–160° sichtbar gemacht. Für präparative Chromatographie wurde «Kieselgel unter 0,08 mm für Chromatographie MERCK» verwendet. – Die IR.-Absorptionsspektren wurden mit einem PERKIN-ELMER-Spektrograph Modell 21, die NMR.-Spektren (vgl. ⁸⁾) mit dem VARIAN A-60-Spektrometer (60 MHz) aufgenommen. – Alle Smp. sind nicht korrigiert; als Sdp. im Hochvakuum ist die Badtemperatur angegeben.

¹²⁾ Definition und Bestimmungsmethode vgl. W. SIMON, E. KOVÁTS, L. H. CHOPARD-DIT-JEAN & E. HEILBRONNER, *Helv.* 37, 1872 (1954). Wir verdanken die Bestimmungen Herrn Dr. W. SIMON.

IR.-Absorptionsspektrum (in CCl_4): ν_{\max} 1735, 1715 cm^{-1} , keine $\nu(\text{OH})$ -Bande. NMR.-Spektrum (in CCl_4): δ 1,24 (*d*, *J* = 7, 3 H), Signalhaufen 1,2 bis 2,2 (4 H), 2,13 (*s*, 3 H), Signalhaufen 2,2 bis 3,0 (3 H), 3,67 (*s*, 3 H).

2,4-Dinitrophenylhydrazon: Smp. 107–108° aus Methanol.

$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_7\text{N}_4$ Ber. C 51,77 H 5,62% Gef. C 51,75 H 5,72%

Durch eine analoge Oxydation des Gemisches der beiden epimeren Nonactinsäure-methylester erhielt man, wie die Dünnschicht-Chromatogramme zeigten, ein Gemisch von zwei epimeren Keto-säure-methylestern, *Rf* = 0,52 und 0,60.

Alkalische Spaltung des Ketosäure-methylesters IV (R = CH_3)⁴. 0,11 g Ketoester in 30 ml 2*N* Kalilauge in 50-proz. Methanol wurde unter Durchleiten von Stickstoff auf 75° erwärmt. Den austretenden Gasstrom leitete man durch 200 ml einer gesättigten Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 1*N* Salzsäure. Man erhielt dabei 98 mg (78% d. Th.) *Aceton-2,4-dinitrophenylhydrazon*, welches durch Smp., Misch-Smp., IR.-Absorptionsspektrum, sowie durch Dünnschicht-Chromatographie (Benzol-Chloroform, 1:1) identifiziert wurde. Die alkalische Lösung schüttelte man zuerst mit Chloroform aus, wobei keine neutralen Anteile erhalten wurden. Nach Ansäuern liessen sich 85 mg saure Anteile isolieren, welche man mit ätherischer Diazomethan-Lösung in ihre Methylester überführte. Die Dünnschicht-Chromatographie (Benzol-Äthylacetat 1:1) zeigte, dass es sich um ein Gemisch von wenigstens 6 verschiedenen Verbindungen handelte.

Oxydation des Nonactinsäure-Gemisches mit Chrom(VI)-oxid. 1,0 g des rohen Nonactinsäure-Gemisches in 10 ml Eisessig wurde mit 105 ml KILIANI's Reagens langsam versetzt und 4 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Das überschüssige Reagens wurde mit Methanol zerstört und das Reaktionsprodukt mit Äther ausgeschüttelt. Der ölige Rückstand nach dem Abdestillieren des Äthers wurde in wenig heissem Benzol gelöst. Nach dem Abkühlen kristallisierten 65 mg einer farblosen Verbindung, die nach Umkristallisieren aus Aceton-Chloroform 1:1 bei 186–187° schmolz und durch Misch.-Smp., IR.-Absorptionsspektrum, Mikrotitration und Analyse als *Bernsteinsäure* identifiziert wurde.

Reduktion des Nonactins mit Lithiumaluminiumhydrid: Diol III. 1,0 g Nonactin wurde in 50 ml Äther gelöst und 2 Std. mit einem Überschuss Lithiumaluminiumhydrid gerührt. Die übliche Aufarbeitung ergab 0,98 g eines Rohproduktes, das im Hochvakuum destilliert wurde. Ausbeute 0,79 g eines gas-chromatographisch einheitlichen farblosen Öls, Sdp. 80°/0,01 Torr, welches auch im Dünnschicht-Chromatogramm (Äthylacetat-Alkohol 19:1) nur einen einzigen Fleck, *Rf* = 0,60, lieferte. $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ$ (*c* = 6,5, CHCl_3).

$\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_3$ Ber. C 63,79 H 10,71 2(C) CH_3 15,9% Gef. C 63,74 H 10,62 (C) CH_3 14,5%

IR.-Absorptionsspektrum (in CCl_4): ν_{\max} 3490 cm^{-1} , keine Banden im 6 μ -Gebiet. NMR.-Spektrum (in CCl_4): δ 0,83 (*d*, *J* = 6, 3 H), 1,13 (*d*, *J* = 6, 3 H), Signalhaufen 1,45–1,95 (6 H), 3,47 (*d*, *J* = 5, 2 H), Signalhaufen 3,8–4,0 (3 H).

Bis-p-nitrobenzoat: Smp. 85–86° aus Heptan.

$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_9\text{N}_2$ Ber. C 59,25 H 5,39 N 5,75% Gef. C 59,09 H 5,22 N 5,79%

Reduktion des Nonactinsäure-methylesters mit Lithiumaluminiumhydrid. 0,20 g Nonactinsäure-methylester wurde mit einem Überschuss von Lithiumaluminiumhydrid in Äther reduziert und das Reaktionsgemisch wie üblich aufgearbeitet. Ausbeute 0,185 g Öl, Sdp. 85°/0,01 Torr. Das *Bis-p-nitrobenzoat* schmolz nach Umkristallisation aus Heptan bei 85–86° und wurde durch Misch-Smp, IR.-Absorptionsspektrum und im Dünnschicht-Chromatogramm mit dem *Bis-p-nitrobenzoat* von Diol III aus Nonactin identifiziert.

Spaltung des Nonactins mit konz. Bromwasserstoffsäure und katalytische Hydrierung des Spaltungsproduktes: Desoxy-nonactinsäure-methylester (V, $R_1 = \text{H}$, $R = \text{CH}_3$) und β -Hydroxy- α -methylpelargonsäure-methylester (VI, $R = \text{CH}_3$). 1,85 g Nonactin wurden mit 20 ml 64-proz. Bromwasserstoffsäure 1/2 Std. auf 85° erwärmt. Das dunkelbraune zähflüssige Reaktionsgemisch wurde 3mal zwischen je 100 ml Chloroform und 50 ml Wasser verteilt. Der Rückstand nach dem Eindampfen der Chloroform-Schicht (3,1 g) wurde in 75 ml Alkohol unter Zusatz von 25 ml 2*N* Kalilauge mit 1,5 g 5-proz. Palladium-Kohle-Katalysator hydriert, wobei nach 24 Std. die Wasserstoffaufnahme (580 ml) aufhörte. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wurde stark eingengt und

¹³) C. F. KOELSCH, J. Amer. chem. Soc. 55, 3049 (1933); D. V. N. HARDY, J. chem. Soc. 1936, 398.

mit Chloroform ausgeschüttelt. Die sauren Produkte wurden nach Ansäuern der noch alkalischen wässrigen Schicht mit Chloroform ausgeschüttelt. Der Eindampfrückstand der Chloroform-Auszüge wurde mit ätherischer Diazomethan-Lösung versetzt, der Äther abgedampft und der Rückstand im Hochvakuum destilliert. Man erhielt so 0,63 g eines farblosen Öls, das noch immer Spuren von Halogen enthielt. Auf Grund des Dünnschicht-Chromatogrammes waren darin mindestens 8 Komponenten anwesend: (Benzol-Chloroform 1:1, $R_f = 0,70, 0,66, 0,51, 0,45, 0,36, 0,30, 0,10, 0,05$). Die beiden Hauptkomponenten, $R_f = 0,66$ und $0,45$, liessen sich durch Chromatographie an 75 g Kieselgel rein erhalten. Die Fraktionen (je 50 ml) 5–6 lieferten 0,24 g des Methyl-esters mit $R_f = 0,66$, Sdp. $60^\circ/0,01$ Torr, welcher durch Analyse und Derivate als Desoxy-non-actinsäure-methylester identifiziert werden konnte.

$C_{11}H_{20}O_3$ Ber. C 65,97 H 10,07% Gef. C 65,80 H 9,95%

IR.-Absorptionsspektrum (in CCl_4): ν_{max} 1735 cm^{-1} .

Das Anilid wurde aus dem Methylester mit einem 10fachen Überschuss von Magnesiumanilid in Äther hergestellt¹³). Es schmolz nach Umkristallisieren aus Pentan bei 50° .

$C_{16}H_{23}O_2N$ Ber. C 73,52 H 8,87% Gef. C 73,34 H 8,73%

Aus den Chromatogramm-Fractionen 8–10 wurde 0,225 g des β -Hydroxy- α -methylpelargonsäure-methylesters mit $R_f = 0,45$, Sdp. $70^\circ/0,01$ Torr, erhalten.

$C_{11}H_{22}O_3$ Ber. C 65,31 H 10,96% Gef. C 65,41 H 11,02%

IR.-Absorptionsspektrum (in CCl_4): ν_{max} 3550, 1720 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (in CCl_4): Signalhaufen δ 0,75–1,1 (3H), 1,15 (*d*, $J = 7, 2H$), Signalhaufen 1,1–1,5 (12H), 2,42 («Quintuplett», $J = 7, 1H$), Signalhaufen 3,3–3,8 (1H), 3,63 (*s*, 3H).

α -Methylpelargonsäure-methylester (VII, $R = CH_3$) und -anilid. 0,21 g β -Hydroxy- α -methylpelargonsäure-methylester in 7 ml abs. Pyridin versetzte man mit 0,7 g *p*-Toluolsulfochlorid. Durch Dünnschicht-Chromatographie (Benzol) wurde festgestellt, dass der Hydroxysäure-Ester ($R_f = 0,1$) nach 48 Std. vollständig zum *p*-Toluolsulfonat ($R_f = 0,35$) umgesetzt worden war. Die übliche Aufarbeitung lieferte 0,35 g rohes *p*-Toluolsulfonat, welches mit 1 g Lithiumbromid in 20 ml Aceton 2 Std. unter Rückfluss gekocht wurde. Das *p*-Toluolsulfonat war nach dieser Zeit im Dünnschicht-Chromatogramm nicht mehr nachzuweisen, dagegen waren zwei neue Verbindungen, $R_f = 0,85$ und $0,88$, entstanden. Das Reaktionsgemisch wurde eingeeengt, zwischen Wasser und Chloroform verteilt und die Chloroform-Auszüge eingedampft. Den Eindampfrückstand chromatographierte man an 15 g Kieselgel mit Benzol als Elutionsmittel. Die Chromatogramm-Fractionen 2–5 enthielten 0,155 g der Reaktionsprodukte mit den R_f -Werten $0,85$ und $0,88$. Sie wurden in 20 ml Alkohol gelöst und unter Zusatz von 2 ml 2N Kalilauge mit 0,10 g 5-proz. Palladium-Kohle-Katalysator hydriert. Nach 18 Std. (Wasserstoffaufnahme 18,5 ml) wurde der Katalysator abfiltriert, das Filtrat eingeeengt, mit Salzsäure angesäuert und 3mal mit 25 ml Äther ausgeschüttelt. Die ätherischen Auszüge wurden getrocknet, mit überschüssiger Diazomethan-Lösung in Äther versetzt und vorsichtig eingedampft. Den erhaltenen rohen Methylester führte man mit Magnesiumanilid¹³) in das Anilid über: Smp. nach dreimaligem Umlösen aus Pentan 73 – 74° . Dieses erwies sich als identisch mit einem synthetisch hergestellten α -Methylpelargonsäure-anilid. Es gab mit dem letzteren keine Smp.-Erniedrigung, und die beiden Präparate liessen sich auch im Dünnschicht-Chromatogramm nicht unterscheiden. Ihre IR.-Absorptionsspektren in KBr waren ebenfalls identisch.

$C_{16}H_{25}ON$ Ber. C 77,68 H 10,19% Gef. C 77,43 H 10,35%

Das Vergleichspräparat wurde aus dem synthetischen α -Methylpelargonsäure-methylester bereitet, der auf dem üblichen Wege aus *n*-Heptylbromid und Methylmalonsäure-diäthylester erhalten worden war. Das synthetische α -Methylpelargonsäure-anilid schmolz bei 75 – 76° (gef. C 77,60 H 10,03%).

β -Oxo- α -methylpelargonsäure-methylester (VIII, $R = CH_3$). 0,15 g β -Hydroxy- α -methylpelargonsäure-methylester wurde in 10 ml Aceton bei -10° mit 0,25 ml 7N Chrom(VI)-oxid-Lösung in 30-proz. Schwefelsäure oxydiert. Nach 5 Min. wurden 100 ml Benzol zugegeben, die Benzolschicht abgetrennt, mit Natriumcarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und

destilliert. Das erhaltene farblose Öl (0,135 g), Sdp. 80°/0,03 Torr, zeigte keine Färbung mit methanolischer Eisen(III)-chlorid-Lösung.

$C_{11}H_{20}O_3$ Ber. C 65,97 H 10,07% Gef. C 66,11 H 9,87%

IR.-Absorptionsspektrum (in CCl_4): ν_{max} 1745(s), 1720(s), 1650(w), 1615(w) cm^{-1} .

Nonanon-(3) (IX). Zur gleichzeitigen Verseifung und Decarboxylierung wurde 0,12 g des β -Oxo- α -methyl-pelargonensäure-methylesters in einem zugeschmolzenen Rohr 2 Std. mit 4 ml Wasser auf 210° erhitzt. Der Rohrinhalt wurde mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherischen Auszüge lieferten nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels 80 mg des Ketons, welches als 2,4-Dinitrophenylhydrazon vom Smp. 54–55° (aus Methanol) charakterisiert wurde.

$C_{15}H_{22}O_4N_4$ Ber. C 55,88 H 6,88% Gef. C 55,88 H 6,83%

Die Verbindung hat sich durch Misch-Smp., IR.-Absorptionsspektrum, NMR.-Spektrum und auf Grund von Dünnschicht-Chromatogrammen als identisch mit einem synthetischen Vergleichspräparat erwiesen.

Das Nonanon-(3), aus dem das Vergleichspräparat bereitet wurde, erhielt man durch Oxydation mit Chrom(VI)-oxid-Schwefelsäure aus Nonanol-(3), welches aus Önanthaldehyd mit Äthylmagnesiumbromid hergestellt worden war. Das synthetische Nonanon-(3)-2,4-dinitrophenylhydrazon schmolz nach Umkristallisieren aus Methanol bei 56–57° (gef. C 56,04, H 6,83%).

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

SUMMARY

The neutral, colourless and optically inactive metabolite *nonactin*, $C_{40}H_{64}O_{12}$, obtained from cultures of several *Actinomyces* strains, is a macrocyclic tetralactone ("macrotetrolide") I of racemic nonactic acid, $C_{10}H_{18}O_4$. The constitution II has been established for the latter by degradation. Crystallographic data for nonactin are reported.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

17. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten

33. Mitteilung¹⁾

Hydrolyseprodukte von Lankamycin: Lankavose und 4-O-Acetyl-arcanose

von W. Keller-Schierlein und G. Roncari

(24. XI. 61)

Vor einiger Zeit wurde über die Isolierung eines neuen Antibioticums, des Lankamycins, berichtet²⁾. Lankamycin ist eine neutrale, farblose, lipophile, gegen GRAM-positive Bakterien wirksame Verbindung. Aus den biologischen Eigenschaften und Farbreaktionen wurde geschlossen, dass es sich um einen neuen Vertreter der Makrolid-Reihe³⁾ handelt. Aus den analytischen Daten wurde seinerzeit die Brutto-

¹⁾ 32. Mitteilung: *Helv. 45*, 129 (1962).

²⁾ E. GÄUMANN, R. HÜTTER, W. KELLER-SCHIERLEIN, L. NEIPP, V. PRELOG & H. ZÄHNER, *Helv. 43*, 601 (1960).

³⁾ R. B. WOODWARD, *Angew. Chem. 69*, 50 (1957).