

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  $CCl_4$ ):  $\nu_{max}$  1745(s), 1720(s), 1650(w), 1615(w)  $cm^{-1}$ .

*Nonanon-(3)* (IX). Zur gleichzeitigen Verseifung und Decarboxylierung wurde 0,12 g des  $\beta$ -Oxo- $\alpha$ -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. Mitteilung<sup>1)</sup>

### 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, berichtet<sup>2)</sup>. 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-Reihe<sup>3)</sup> handelt. Aus den analytischen Daten wurde seinerzeit die Brutto-

<sup>1)</sup> 32. Mitteilung: *Helv. 45*, 129 (1962).

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

<sup>3)</sup> R. B. WOODWARD, *Angew. Chem. 69*, 50 (1957).

formel  $C_{38}H_{62}O_{14}$  abgeleitet. Molekulargewichtsbestimmungen nach einem neuen, thermoelektrischen Verfahren<sup>4)</sup> sowie neue Abbaueversuche ergaben aber, dass die Molekel des Lankamycins grösser ist, als wir früher angenommen hatten, und eine ungefähre Formel  $C_{43}H_{74}O_{17}$  besitzt, die mit den früher erhaltenen Analysenergebnissen ebenfalls vereinbar ist.

Schon früher wurde erkannt, dass bei der Hydrolyse ein Zucker  $C_7H_{14}O_4$ , die *Lankavose*, abgespalten wird. Eingehendere Untersuchungen zeigten, dass die Hydrolysegemische eine zweite zuckerartige Verbindung enthalten, die weder mit ammoniakalischem Silbernitrat noch mit Anilin-Phtalsäure auf Filterpapier eine deutliche Farbreaktion ergibt. Die Verbindung liess sich aber im Dünnschicht-Chromatogramm nach STAHL<sup>5)</sup> durch Erhitzen mit konz. Schwefelsäure leicht erkennen. Wir haben diesen neuen Zucker, der sich als Monoacetylderivat eines Monosaccharides  $C_3H_6O_4$  erwies, *Acetylarcanose*, den zugrunde liegenden acetylfreien Zucker *Arcanose* genannt.

Daneben wurde auch das Aglykon – Monoacetyllankolid,  $C_{26}H_{46}O_{10}$  – in kristallisierter Form erhalten. Ein weiteres kristallisiertes Produkt mit der wahrscheinlichen Formel  $C_{33}H_{58}O_{13}$  wurde neben Methyl-acetylarcanosid bei der Methanolyse von Lankamycin erhalten. Es handelt sich um ein Monoglykosid, das sich aus dem Aglykon und Lankavose zusammensetzt, aber keine Arcanose mehr enthält.

In der vorliegenden Abhandlung berichten wir über die Konstitution der beiden Zucker. Die Chemie des Aglykons soll Gegenstand einer späteren Mitteilung sein.

#### Die Konstitution der Lankavose

Die Lankavose,  $C_7H_{14}O_4$ , liess sich aus dem Hydrolysegemisch am besten durch Chromatographie an Kieselgel und Sublimation im Hochvakuum abtrennen. Der gereinigte Zucker kristallisierte in farblosen Stäbchen mit einem Smp. 93–94°.

Das NMR.-Spektrum (Fig. 2, Kurve 3) zeigt die Anwesenheit einer  $OCH_3$ -Gruppe (3,33 ppm; s), die auch nach ZEISEL nachgewiesen werden kann. Das Vorliegen von zwei Hydroxylgruppen lässt sich ebenfalls im NMR.-Spektrum sowie durch die Bildung eines Diacetylderivates erkennen. Die einzige nach KUHN-ROTH bestimmbare C-Methylgruppe muss neben einer CH-Gruppe liegen, da das entsprechende NMR.-Signal bei 1,16 ppm ein Dublett ( $J = 6$ ) ist. Im IR.-Absorptionsspektrum (Fig. 1, Kurve 1) ist keine Carbonylbande vorhanden. Die Lankavose muss demnach vollständig als Cyclohalbacetal (vgl. Ib) vorliegen, worauf auch das NMR.-Signal bei 5,12 ppm und das Fehlen eines solchen bei 8–10 ppm hinweisen. Dies dürfte auch der Grund dafür sein, dass die Lankavose unter üblichen Bedingungen (in Äther, 20° bis Siedetemperatur) durch Lithiumaluminiumhydrid nicht reduziert wird. Ferner gibt die Lankavose keine Farbreaktion nach KELLER-KILIANI<sup>6)</sup> und ist demnach kein 2-Desoxyzucker.

Bei der Oxydation verbraucht Lankavose ein Mol Perjodsäure und bildet dabei Ameisensäure. Diese wurde mittels Quecksilber(II)-chlorid zu Kohlendioxid oxydiert<sup>7)</sup> und als Bariumcarbonat bestimmt. Als zweites Spaltstück wurde ein Hydroxy-

<sup>4)</sup> Vgl. D. WEGMANN, C. TOMLINSON & W. SIMON.

<sup>5)</sup> E. STAHL, Chem.-Ztg. 82, 324 (1958), International Symposium on microchemical techniques, August 13–18., 1961, The Pennsylvania State University.

<sup>6)</sup> Ausführung nach J. VON EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 31, 883 (1948).

<sup>7)</sup> N. W. PIRIE, Biochem. J. 40, 100 (1946).

methoxy-aldehyd  $C_6H_{12}O_3$  gefasst, der wegen des Fehlens einer Carbonylbande im IR.-Spektrum wiederum völlig in der cyclischen Halbacetal-Form (vgl. II b) vorliegen muss. Der Aldehyd wurde zu einem Diol  $C_6H_{14}O_3$  reduziert, dessen NMR.-Spektrum neben zwei Hydroxylwasserstoffen (3,19 ppm; s) eine O-Methylgruppe (3,44 ppm) und eine C-Methylgruppe in Form eines Dubletts bei 1,21 ppm anzeigt.

Da dieses Methoxydiol gegen Perjodsäure inert war, musste vor dem weiteren Abbau eine Ätherspaltung durchgeführt werden. Das Abbau-Diol wurde mit Bromwasserstoffsäure behandelt und das Rohprodukt der Einwirkung von Perjodsäure unterworfen. Die flüchtigen Produkte wurden in ein Gemisch zweier 2,4-Dinitrophenylhydrazone übergeführt, die an Kieselgel voneinander getrennt wurden. Die beiden Produkte erwiesen sich nach Dünnschicht-Chromatogramm, Misch-Smp. und IR.-Absorptionsspektrum als identisch mit den 2,4-Dinitrophenylhydrazonen von Formaldehyd bzw. Crotonaldehyd.

Der Crotonaldehyd (VI) muss durch  $\beta$ -Elimination aus  $\beta$ -Hydroxybutyraldehyd (V) entstanden sein. Für das bei der Ätherspaltung gebildete  $C_5$ -Triol ergibt sich somit aus diesem Abbau die Formel IV und für das Methoxydiol die Formel eines 2-Methoxy-pentan-1,4-diols (III). An sich wären anstelle der Verbindung III auch Isomere mit der Methoxygruppe in Stellung 1 oder 4 denkbar. Der zweite Fall kann ausgeschlossen werden, da ein Zucker, der sich von diesem Abbauprodukt ableiten würde, bei der Perjodsäureoxydation zu einem Methoxyaldehyd  $C_6H_{10}O_2$  abgebaut worden wäre. Wenn andererseits das Methoxydiol in Stellung 1 methyliert wäre, müsste dessen Vorstufe ein  $\beta$ -Hydroxyketon sein und würde somit nicht als cyclisches Halbacetal vorliegen. Es müsste im IR.-Absorptionsspektrum eine Carbonylbande zeigen, was aber tatsächlich nicht der Fall ist. Damit steht die Formel III für das Methoxydiol fest.

Dieses Diol kann formell aus zwei  $\gamma$ -Hydroxycarbonyl-Verbindungen (II oder VII) durch Reduktion entstanden sein. Formel VII lässt sich eindeutig ausschliessen auf Grund des NMR.-Spektrums. Bei einer Verbindung der Formel VII sowie bei einem daraus abgeleiteten Zucker VIII müsste nämlich das C-Methyl-Signal als Singlett vorliegen. Tatsächlich zeigen aber die Lankavose und ihre Derivate in der C-Methyl-Region Dublette (in Fällen, wo Anomerie-Gleichgewichte möglich sind, teilweise zwei Dublette), wie es von der Formel I verlangt wird. Damit steht die Konstitutionsformel I für die Lankavose fest.

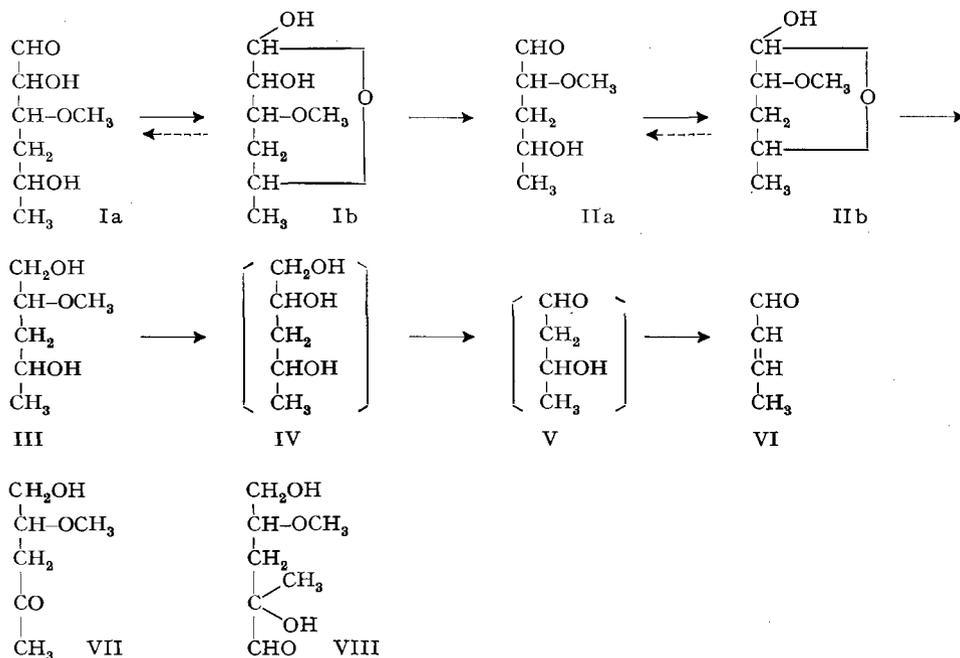
Im NMR.-Spektrum der Lankavose (Fig. 2, Kurve 3) erkennt man neben dem Hauptdublett für die C-Methylgruppe ein zweites, leicht verschobenes Dublett mit wesentlich geringerer Intensität. Das in Fig. 2 abgebildete Spektrum wurde kurz nach dem Auflösen im Deuteriochloroform aufgenommen. Nach dem Ansäuern und kurzen Stehenlassen gleichen sich die Intensitäten der beiden Dublette nahezu aus. Dies beruht offenbar darauf, dass kristallisierte Lankavose eine einheitliche Substanz darstellt, während sich in Lösung langsam, nach dem Ansäuern rascher, ein Gleichgewichtsgemisch der beiden Anomeren einstellt. Diese Erscheinung bildet somit eine Parallele zur Mutarotation.

Nachdem diese Arbeit bereits abgeschlossen war, erschien eine kurze Mitteilung von Woo, Dion & Bartz<sup>8)</sup> über die *Chalcose*, ein Hydrolyseprodukt des Anti-

<sup>8)</sup> P. W. K. WOO, H. W. DION & Q. R. BARTZ, J. Amer. chem. Soc. 83, 3352 (1961).

bioticums Chalcomycin. Die Eigenschaften dieses Zuckers stimmen mit denen der Lankavose gut überein, und es wurde für ihn auf etwas verschiedenem Wege die gleiche Konstitution I abgeleitet.

Wir haben daraufhin eine Probe Chalcomycin, die wir vor einiger Zeit aus den Kulturen eines Stammes von *Streptomyces albogriseolus* BENEDICT *et al.* (Stamm ETH 21066) isoliert hatten, der sauren Hydrolyse unterworfen. Der durch Chromatographie an Kieselgel und Hochvakuumsublimation gereinigte Zucker erwies sich nach Dünnschicht-Chromatographie, Papierchromatographie und IR.-Absorptionsspektrum als identisch mit der Lankavose.



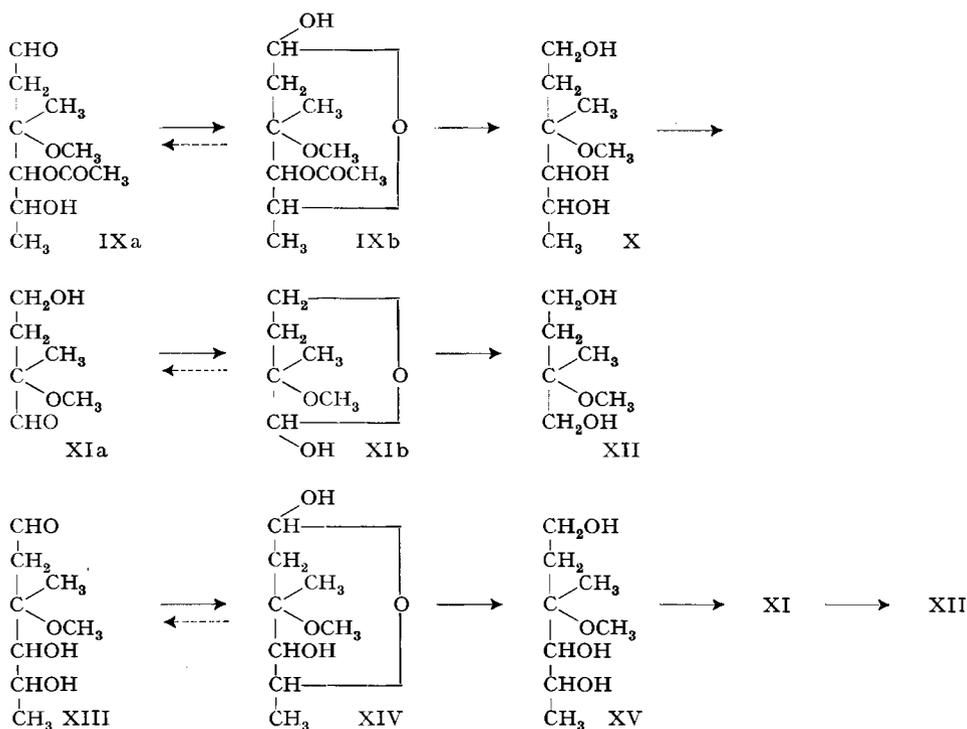
Während die 2-Desoxyzucker in digitaloiden Herzgiften häufig vorkommen<sup>9)</sup> und die 3-Desoxyzucker in letzter Zeit als Bausteine von Liposacchariden aus *Ascaris*-Eiern sowie von serologischen Substanzen aus Bakterien aufgefunden worden sind<sup>10)</sup>, bildet die Lankavose unseres Wissens den ersten Fall eines natürlich vorkommenden stickstofffreien 4-Desoxyzuckers. Hingegen liegt im *Desosamin*, einem Aminozucker, der ebenfalls als Baustein verschiedener Makrolid-Antibiotica vorkommt, ein basischer 4-Desoxyzucker vor, der sich von der Lankavose strukturell einzig dadurch unterscheidet, dass die Methoxylgruppe durch eine Dimethylamino-gruppe ersetzt ist.

<sup>9)</sup> Vgl. z. B. W. KARRER, Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe, Birkhäuser-Verlag, Basel 1958, S. 243 ff.

<sup>10)</sup> E. LEDERER, Sostanze naturali, III° corso estivo di chimica, Varenna 1958; Accad. naz. dei Lincei, Roma 1961, S. 153. O. WESTPHAL & O. LÜDERITZ, Angew. Chem. 72, 881 (1960).

### Die Konstitution der O-Acetylarcanose

Der zweite Zucker aus Lankamycin wurde nach der chromatographischen Abtrennung und Destillation im Hochvakuum als farblose Flüssigkeit erhalten, die im Dünnschicht-Chromatogramm einen einheitlichen Fleck gab. Aus den Analysen ergab sich die Formel  $C_{10}H_{18}O_5$ . Durch saure Hydrolyse wurde eine Acetylgruppe erfasst, die auch im IR.-Absorptionsspektrum (Fig. 1, Kurve 2; Banden bei 1240 und 1735  $cm^{-1}$ ) sowie im NMR.-Spektrum (Fig. 2, Kurve 4; Singlett bei 2,15 ppm) erkennbar ist. Das NMR.-Spektrum zeigte ferner die Anwesenheit einer O-Methylgruppe (3,25 ppm; s) und zweier C-Methylgruppen an. Das Vorhandensein einer einzigen Hydroxylgruppe geht aus der Bildung eines gemäss IR.-Absorptionsspektrum hydroxylfreien Monoacetylierungsproduktes hervor.



Obwohl die Verbindung auf Filterpapier weder mit ammoniakalischem Silbernitrat noch mit Anilin-Phtalsäure einen deutlichen Fleck gibt, muss es sich um eine Aldose handeln; denn FEHLING'sche Lösung wird, wenn auch relativ langsam, reduziert, und bei der Oxydation mit Bromwasser werden Lactone gebildet, auf die in anderem Zusammenhang näher einzugehen sein wird.

Bei der Methanolyse des Lankamycins erhält man das Methylglykosid der Acetylarcanose, das auch durch direkte Methylierung der Acetylarcanose bereitet werden kann. Nach dem NMR.-Spektrum und IR.-Absorptionsspektrum besitzt das Glykosid ebenfalls kein freies Hydroxyl. Perjodsäure greift die Acetylarcanose nicht an. Im Gegensatz zur Lankavose gibt die Acetylarcanose eine intensive blaue Farb-

reaktion mit dem Reagens von KELLER-KILIANI<sup>6)</sup>, woraus auf einen 2-Desoxyzucker geschlossen werden darf.

Bei der energischen Einwirkung von Lithiumaluminiumhydrid wird die Acetylarcanose an der Halbacetalgruppe reduziert unter gleichzeitiger reduktiver Abspaltung der Acetylgruppe. Bei der Reduktion unter milden Bedingungen kann daneben noch die kristalline Arcanose gefasst werden. Das unter energischen Bedingungen gebildete Methoxytriol (Arcanit) ist nun einer Perjodatoxydation zugänglich. Als Oxydationsprodukte wurden Acetaldehyd (als 2,4-Dinitrophenylhydrazon) und ein Hydroxy-methoxy-aldehyd  $C_6H_{12}O_3$  gefasst. Der letztere wurde mit Lithiumaluminiumhydrid zu einem Methoxydiol  $C_6H_{14}O_3$  reduziert.

Für die Konstitutionsermittlung dieser Verbindung erwies sich das NMR.-Spektrum von ausschlaggebender Bedeutung<sup>11)</sup>. Von den 17 chemisch plausiblen<sup>12)</sup> Verbindungen der Formel  $C_6H_{14}O_3$  wurde einzig diejenige mit der Struktur XII allen Daten des NMR.-Spektrums gerecht, welches folgende Gruppierungen erforderte: 2 Hydroxyle (4,00 ppm), eine tertiär gebundene C-Methylgruppe (Singlett bei 1,14 ppm), eine O-Methylgruppe (Singlett bei 3,22 ppm), eine  $CH_2$ -Gruppe, durch benachbartes  $CH_2$  in ein Triplett aufgespalten (1,77 ppm).

Das gleiche Methoxydiol XII konnte auf ähnlichem Wege aus der *Cladinose* (XIV)<sup>13)</sup>, einem Zuckerbaustein der *Erythromycine A* und *B*, hergestellt werden. Cladinose selbst ist unter üblichen Bedingungen gegen Perjodsäure inert, da sie vollständig in der cyclischen Halbacetal-Form vorliegt. Auch eine Reduktion der Cladinose mit Lithiumaluminiumhydrid liess sich aus demselben Grunde unter üblichen Bedingungen nicht durchführen. Erst als wir Cladinose längere Zeit mit Lithiumaluminiumhydrid in siedendem Dioxan behandelten, konnten wir in befriedigender Ausbeute den Zuckeralkohol Cladinit (XV) isolieren. Dieser reagierte mit Perjodsäure unter Bildung von Acetaldehyd und dem Aldehyd XI, der nach Dünnschicht-Chromatographie, IR.-Absorptionsspektrum und NMR.-Spektrum mit dem Cyclohalbacetal  $C_6H_{12}O_3$  aus Arcanose identisch war und bei der Reduktion das gleiche Diol XII lieferte.

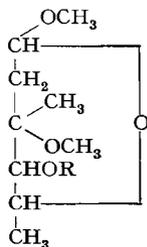
Da die Konstitution der Cladinose gesichert ist, stehen somit auch die Strukturen des Cyclohalbacetals XIb und des Diols XII fest. Aus der Identität der Aldehyde XI aus Cladinose und Arcanose folgt nun aber, dass das Reduktionsprodukt der Arcanose (Arcanit) die gleiche Konstitution besitzen muss wie Cladinit (XIX). Für die Arcanose folgt die Konstitutionsformel XIII (bzw. deren Cyclohalbacetal-Form), die strukturell mit der Cladinose übereinstimmt. Für die Acetylarcanose selber steht damit die Konstitution fest, mit Ausnahme der Lage der Acetylgruppe, die in den Stellungen 4 oder 5 stehen kann.

<sup>11)</sup> Als Hilfsmittel für die Deutung der NMR.-Spektren benützten wir hauptsächlich das Werk von L. M. JACKMAN, *Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry*, Pergamon Press, London 1959.

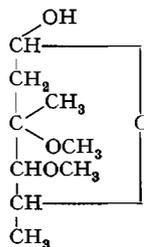
<sup>12)</sup> Plausibel hinsichtlich analytischer Daten, Gruppenbestimmungen und Entstehungsweise.

<sup>13)</sup> E. H. FLYNN, M. V. SIGAL, P. F. WILEY & K. GERZON, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 3121 (1954); P. F. WILEY & O. WEAVER, *ibid.* **77**, 3422 (1955); **78**, 808 (1956). Herrn Dr. K. GERZON, The Lilly Research Laboratories, Indianapolis, danken wir bestens für die Überlassung von Cladinose.

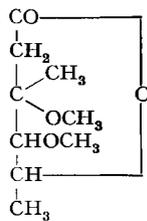
Die Frage nach der Stellung des Essigsäurerestes haben wir auf folgende Weise beantwortet: Methyl-acetylarcanosid (XVI) wurde unter Erhaltung der Methylglykosid-Bindung mit Lithiumaluminiumhydrid zu XVII desacetyliert und letzteres zum Methyläther XVIII methyliert. Die neu eingeführte Methylgruppe muss dabei an die Stelle des ursprünglichen Acetylrestes treten. Bereits das NMR.-Spektrum dieser Verbindung deutete an, dass die Änderung am C-Atom 4 vor sich gegangen sein muss, da das Signal des an C-4 sitzenden Wasserstoffatoms von 4,7 ppm bei der Acetylarcanose nach 2,48 ppm beim Methyläther verschoben ist, während das ABX<sub>3</sub>-Multipllett des Wasserstoffs an C-5 nur eine relativ geringe Verschiebung von 4,3 nach 3,83 ppm mitgemacht hat.

XVI: R = COCH<sub>3</sub>

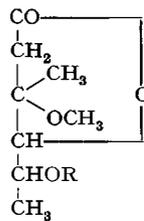
XVII: R = H

XVIII: R = CH<sub>3</sub>

XIX



XX



XXI: R = H

XXII: R = COCH<sub>3</sub>

Nach der leicht verlaufenden Glykosidspaltung wurde der Dimethyläther XIX mit Bromwasser oxydiert. Das dabei entstehende Lacton XX zeigt im IR.-Absorptionsspektrum im  $\nu(\text{CO})$ -Gebiet eine Bande bei 1725  $\text{cm}^{-1}$ . Es handelt sich demnach um ein  $\delta$ -Lacton<sup>14</sup>). Für die zusätzliche O-Methylgruppe im Lacton XX, und somit auch für die Acetylgruppe der Acetylarcanose, bleibt nur noch die Stellung 4 übrig, womit die Konstitution IX der Acetylarcanose bewiesen ist.

Ein Gemisch von 2 Lactonen konnte durch direkte Oxydation der Acetylarcanose mit Bromwasser erhalten und an Silicagel aufgetrennt werden. Die schwerer eluierbare Verbindung zeigte im IR.-Absorptionsspektrum in der  $\nu(\text{CO})$ -Gegend eine einzige Bande bei 1780  $\text{cm}^{-1}$ , die für ein Fünfring-Lacton charakteristisch ist, und in der  $\nu(\text{OH})$ -Region eine Hydroxyl-Absorption bei 3500  $\text{cm}^{-1}$ . Eine starke Bande

<sup>14</sup>) Vgl. L. J. BELLAMY, *The Infra-red Spectra of Complex Molecules*; Methuen & Co., Ltd., London 1958.

bei  $1240\text{ cm}^{-1}$  (O-Acetyl<sup>14</sup>) war nicht vorhanden. Bei dieser Verbindung (XXI) war demnach die Acetylgruppe im Verlauf der Oxydation abgespalten worden.

Das leichter eluierbare Oxydationsprodukt bildete eine chromatographisch einheitliche Verbindung mit folgenden wichtigen Charakteristika im IR.-Absorptionsspektrum: Starke Banden bei  $1732$  und  $1235\text{ cm}^{-1}$  sowie das Fehlen einer Hydroxyl-Absorption zeigen, dass die Acetylgruppe noch vorhanden ist. Eine zweite Carbonylbande bei  $1780\text{ cm}^{-1}$  mit etwa gleicher Intensität wie die Bande bei  $1732\text{ cm}^{-1}$  beweist, dass die Verbindung ein  $\gamma$ -Lacton ist. Das Lacton muss demnach die Formel XXII (5-O-Acetyl-arcanonsäurelacton) besitzen. Bei der Oxydation tritt demnach teilweise eine Abspaltung der Acetylgruppe in Stellung 4 und teilweise eine Wanderung in die Stellung 5 ein. Beide Reaktionen werden wahrscheinlich dadurch begünstigt, dass durch sie die Bildung eines gegenüber dem  $\delta$ -Lacton stabileren  $\gamma$ -Lactons ermöglicht wird.

Auch die Acetylarcanose liegt in freier Form praktisch ausschliesslich als cyclisches Halbacetal IXb vor. Dies geht einerseits aus dem völligen Fehlen einer (CH)-Bande bei  $2720\text{ cm}^{-1}$  hervor, die für echte Aldehyde charakteristisch ist, wenn sie auch meistens nicht sehr intensiv ist<sup>14</sup>). Andererseits müsste ein echter Aldehyd im NMR.-Spektrum ein Signal in der Gegend von 10 ppm geben. Tatsächlich finden wir aber lediglich die für  $-\text{O}-\text{CH}-\text{O}$ -Gruppierungen charakteristische Bande bei 5 ppm. Zudem zeigt das Auftreten einzelner Nebenbanden, die nicht durch Spin-Spin-Wechselwirkungen erklärbar sind, das Vorliegen eines Anomerengemisches an.

Die Abbauprodukte XI aus Acetylarcanose und Cladinose stimmen nicht nur in spektroskopischer Hinsicht miteinander überein, sondern sie drehen auch das polarisierte Licht in derselben Richtung. Am C-Atom 3 stimmen demnach die Cladinose und die Arcanose stereochemisch überein. Hingegen sind die Paare Diacetylarcanose und Diacetylcladinose, Arcanose und Cladinose und schliesslich Arcanin und Cladinin jeweils chromatographisch und durch das IR.-Absorptionsspektrum voneinander unterscheidbar. Es muss daher zwischen den beiden Zuckern ein stereochemischer Unterschied an den C-Atomen 4 oder 5 oder an beiden bestehen.

Die Biogenese der Acetylarcanose dürfte auf dem grundsätzlich gleichen Weg erfolgen wie diejenige der sehr ähnlich gebauten Zucker Cladinose<sup>13</sup>) und Mycarose<sup>15</sup>), von denen bekannt ist, dass sie durch C-Methylierung von Hexosen unter Mitwirkung von Methionin als C<sub>1</sub>-Donator gebildet werden<sup>16</sup>).

Der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, danken wir für die Herstellung grösserer Mengen von Lankamycin.

### Experimenteller Teil

**Allgemeines.** – Die Smp. wurden unter dem Mikroskop bestimmt und sind korrigiert. Die IR.-Absorptionsspektren wurden mit einem PERKIN-ELMER-Zweistrahlspektrographen, Mod. 21, bestimmt. Die NMR.-Spektren wurden mit einem VARIAN-Spektrometer, Mod. A-60, aufgenommen. Als interne Referenz diente Tetramethylsilan. Chemische Verschiebungen sind in  $\delta$ -Werten, Spin-Spin-Wechselwirkungen (J) in Hertz angegeben. Aufspaltungen von Signalen wurden wie folgt abgekürzt: *s* = Singlett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *q* = Quadruplett, *b* = breite Anhäu-

<sup>15</sup>) P. P. REGNA, F. A. HOCHSTEIN, R. L. WAGNER & R. B. WOODWARD, J. Amer. chem. Soc. 75, 4625 (1953); R. PAUL & S. TCHELITCHEFF, Bull. Soc. chim. France 1957, 443.

<sup>16</sup>) H. GRIEBACH, H. ACHENBACH & W. HOFHEINZ, Tetrahedron Letters 1961, 234.

fung von Banden ohne klare Auflösung. Die Anzahl der einem Signal entsprechenden Protonen ist in Klammer mit «n H» beigefügt.

Die Dünnschicht-Chromatogramme wurden nach STAHL<sup>6)</sup> ausgeführt. Für die Bereitung der Platten verwendeten wir Kieselgel G der Firma MERCK A.-G., Darmstadt. Alle Chromatogramme wurden durch Besprühen mit konz. Schwefelsäure und Erhitzen auf 160° entwickelt. Präparative Chromatogramme wurden mit Säulen aus Kieselgel (MERCK, unter 0,08 mm) ausgeführt.

**Lankamycin.** – Ein mehrmals umkristallisiertes Präparat wurde im Hochvakuum über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bei Zimmertemperatur getrocknet.

C<sub>43</sub>H<sub>74</sub>O<sub>17</sub> Ber. C 59,84 H 8,64% Gef. C 60,18; 60,04 H 8,75; 8,52%  
Mol.-Gew. Ber. 863 Gef. 899 (in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)<sup>4)</sup>; 893 (in Äthylacetat)

**Hydrolyse des Lankamycins.** – 10 g Lankamycin wurden in 100 ml Dioxan gelöst und mit 200 ml wässer. 0,1 N Schwefelsäure 2½ Std. auf dem Wasserbad (85°) erhitzt. Die heisse Lösung wurde mit Bariumcarbonat neutralisiert und vom gebildeten Bariumsulfat abfiltriert. Das Filtrat wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der farblose sirupartige Rückstand zeigte im Dünnschicht-Chromatogramm mit Äthylacetat 3 Flecke: Lankavose (Rf = 0,43), Monoacetyllankolid (Rf = 0,53) und Acetylarcanose (Rf = 0,93).

Das Hydrolysegemisch wurde an einer Säule aus 100 g Kieselgel chromatographiert. Mit 350 ml Äther wurden 2,3 g Acetylarcanose als farbloses Öl eluiert; 1,2 l Chloroform lösten 7 g eines Gemisches von Lankavose und Monoacetyllankolid heraus.

**4-O-Acetyl-arcanose (IX b).** Das Äther-Eluat wurde im Hochvakuum bei einer Blocktemperatur von 100° destilliert. Die chromatographisch einheitliche Acetylarcanose bildet ein farbloses, leichtbewegliches Öl.

C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub> Ber. C 55,03 H 8,31 OCH<sub>3</sub> 14,22 2 CH<sub>3</sub>(C) 13,78%  
Gef. „ 55,10 „ 8,35 „ 14,08 „ 11,96%

[α]<sub>D</sub> = -52,3° (c = 5,98 in Feinsprit, Ablesung nach 24 Std.). IR.-Absorptionsspektrum in CHCl<sub>3</sub>: Fig. 1, Kurve 2. NMR.-Spektrum in CDCl<sub>3</sub>: Fig. 2, Kurve 4. – Papierchromatographie in n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:1): Rf 0,9. Arcanose lässt sich mit ammoniakalischem Silbernitrat nicht, mit Anilin-Phtalsäure nur als sehr schwacher Fleck erkennen, hingegen entsteht mit Anilin-Diphenylamin-Sprühreagens (SIGMA Chem. Comp.) ein intensiver blauer Fleck. – FEHLING'sche Lösung wird in der Wärme reduziert. Die Farbreaktion nach KELLER-KILIANI<sup>6)</sup> ist tiefblau. Gegen Perjodsäure ist Acetylarcanose inert.

**Di-O-acetyl-arcanose.** 75 mg Acetylarcanose wurden mit je 2 ml Pyridin und Essigsäureanhydrid über Nacht acetyliert und dann im Vakuum eingedampft. Das chromatographisch einheitliche Reaktionsprodukt wurde im Hochvakuum bei ca. 110° destilliert und dabei als farblose Flüssigkeit erhalten.

Das IR.-Absorptionsspektrum in CCl<sub>4</sub> zeigt in der Gegend von 3500 cm<sup>-1</sup> kein Maximum, hingegen starke Banden bei 1740 und 1232 cm<sup>-1</sup>. Es ist ähnlich, aber nicht identisch, mit dem unter gleichen Bedingungen aufgenommenen Spektrum der Di-O-acetyl-cladinose<sup>14)</sup>. Das in CDCl<sub>3</sub> aufgenommene NMR.-Spektrum zeigt u. a. die Anwesenheit von 2 O-Acetylgruppen und einer O-Methylgruppe an: 1,13 (s; 3H); 1,14 (d, J = 6,5; 3H); 1,3–2,0 (b; 2H); 2,12 (s; 3H; O-Acetyl); 2,16 (s; 3H; O-Acetyl); 3,29 (s; 3H; O-Methyl); 4,23 (q, J = 6,5; die einzelnen Maxima des Quadrupletts sind nochmals in Paare aufgespalten mit J = 1,5; 1H); 4,75 (1H); 5,89 (2d, J = 9 bzw. 3; 1H). – Im Dünnschicht-Chromatogramm mit Chloroform kann die Diacetylarcanose nicht von der Diacetylcladinose unterschieden werden.

**Monoacetyllankolid.** Das Chloroform-Eluat der Hydrolyse von Lankamycin wurde in Aceton gelöst und bis zur beginnenden Trübung mit Petroläther versetzt. Im Verlauf einiger Stunden kristallisierte das Monoacetyllankolid in farblosen gebüschelten Nadeln. Ausbeute 5,0 g. Zur Analyse wurde ein viermal umkristallisiertes Präparat im Hochvakuum bei Zimmertemperatur über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Die Kristalle wandeln sich bei 100° ohne chemische Veränderung um und schmelzen bei 172–174°.

C<sub>26</sub>H<sub>46</sub>O<sub>10</sub> Ber. C 60,21 H 8,94%  
Gef. „ 60,14; 60,38 „ 9,15; 8,78 OCH<sub>3</sub> 0%

Im NMR.-Spektrum lassen sich ca. 7 C-Methylgruppen und eine O-Acetylgruppe erkennen.

*Lankavose* (Ib). Die Mutterlaugen des Monoacetylankolidis wurden eingedampft und im Hochvakuum destilliert. Das Destillat (ca. 600 mg) kristallisierte sofort und wurde zur Analyse nochmals bei 60–70°/0,01 Torr sublimiert: Derbe Stäbchen mit Smp. 93–94°.

$C_7H_{14}O_4$	Ber. C	51,85	H	8,70	1 $CH_3(C)$	9,27	1 $OCH_3$	19,14%
	Gef. „	51,95	„	8,77	„	9,29	„	19,04%

$[\alpha]_D = +121,5^\circ$  (nach 15 Min.);  $+76,8^\circ$  (nach 24 Std.;  $c = 4,1$  in Feinsprit). – IR.-Absorptionsspektrum in  $CHCl_3$ : Fig. 1, Kurve 1. NMR.-Spektrum in  $CDCl_3$ : Fig. 2, Kurve 3. – Papier-

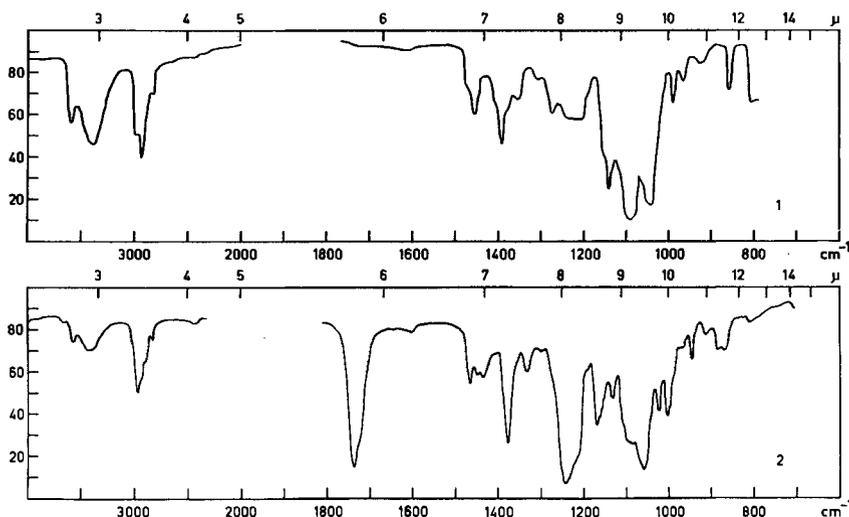


Fig. 1. IR.-Absorptionsspektren in  $CHCl_3$  von *Lankavose* (Kurve 1) und *4-O-Acetyl-arcanose* (Kurve 2)

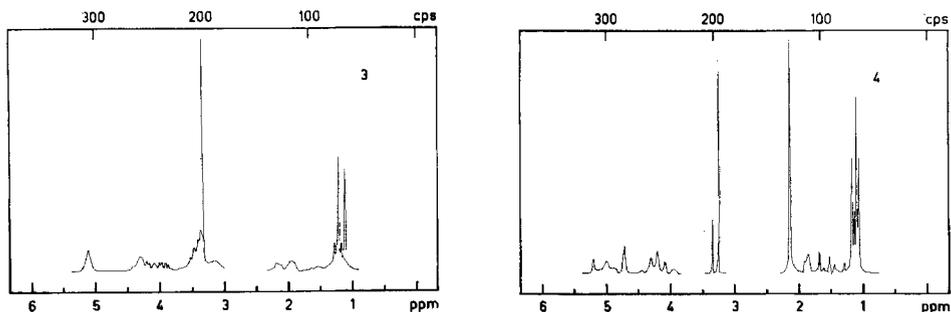


Fig. 2. NMR.-Spektrn in  $CDCl_3$  von *Lankavose* (Kurve 3) und *4-O-Acetyl-arcanose* (Kurve 4)

chromatographie in *n*-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:1):  $R_f$  0,68. *Lankavose* lässt sich sowohl mit ammoniakalischem Silbernitrat wie auch mit Anilin-Phtalsäure leicht nachweisen. Mit dem letzteren Reagens entstehen braune Flecke mit intensiver Fluoreszenz. – Die KELLER-KILIANI-Reaktion<sup>6)</sup> ist negativ.

Aus dem Destillationsrückstand der *Lankavose* konnte nach erneuter Chromatographie an Kieselgel noch etwas Monoacetylankolid gewonnen werden.

*Di-O-acetyl-lankavose*. 20 mg *Lankavose* wurden mit je 1 ml Pyridin und Essigsäureanhydrid über Nacht bei 20° stehengelassen. Die Lösung wurde im Vakuum eingedampft und der Rück-

stand bei 75° Blocktemperatur (0,01 Torr) destilliert. Man erhielt 22,5 mg chromatographisch einheitliches, farbloses Öl.

$C_{11}H_{18}O_6$  Ber. C 53,65 H 7,37  $2 CH_3CO$  34,96% Gef. C 53,78 H 7,40  $2 CH_3CO$  33,66%

Das IR.-Absorptionsspektrum in  $CHCl_3$  zeigt in der Gegend von  $3500\text{ cm}^{-1}$  kein Maximum.

**Methanolyse des Lankamycins.** – 500 mg Lankamycin wurden mit 20 ml 0,1-proz. methanolischer Salzsäure über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann wurde mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert und im Vakuum bei 20° vom Methanol befreit. Der Rückstand wurde in mehreren Portionen mit total 200 ml Chloroform ausgezogen, der Extrakt mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (490 mg Öl) enthielt gemäss Dünnschicht-Chromatogramm (Äthylacetat) im wesentlichen 2 Substanzen: Methyl-acetylarcanosid (Rf 0,83) und ein aus Monoacetyllankolid und Lankavose zusammengesetztes Monoglykosid (Rf 0,22).

*Monoglykosid.* Beim Kristallisieren des Eindampfungsrückstandes aus Aceton-Petroläther fiel die Verbindung in feinen weissen Nadelchen an. Ausbeute 180 mg; Smp. nach zweimaligem Umkristallisieren 157–159°.

$C_{33}H_{58}O_{13}$  Ber. C 59,81 H 8,82% Gef. C 59,42 H 8,70%

Bei der Hydrolyse in methanolisch-wässriger Schwefelsäure wurden aus dem Monoglykosid Monoacetyllankolid und Lankavose erhalten. Das erstere wurde durch Misch-Smp. und Dünnschicht-Chromatographie, der Zucker durch Dünnschicht- und Papier-Chromatographie identifiziert.

*Methyl-acetylarcanosid (XVI).* Die Mutterlaugen des Monoglykosids wurden an 15 g Kieselgel chromatographiert. Das Methyl-acetylarcanosid (56 mg) wurde mit Äther eluiert und durch Hochvakuum-Destillation bei 50° Blocktemperatur gereinigt.

$C_{11}H_{20}O_5$  Ber. C 56,88 H 8,68% Gef. C 56,69 H 8,65%

$[\alpha]_D = -24,3^\circ$  ( $c = 6,5$  in Feinsprit). – Das IR.-Absorptionsspektrum in  $CHCl_3$  zeigte bei  $3500\text{ cm}^{-1}$  keine Absorption, dagegen u. a. starke Banden bei 1738 und  $1240\text{ cm}^{-1}$ .

NMR.-Spektrum in  $CDCl_3$ : 1,10 (s; 3H; Methyl an C-3); 1,16 (d, J = 6; 3H; Methyl C-6); 1,25–2,1 (b; 2H an C-2); 2,14 (s; 3H; O-Acetylgruppe); 3,26 (s; 3H; O-Methyl an C-3); 3,50 (s; 3H; glykosidisches Methyl); 3,9–4,8 (b; 3H; Wasserst. an C-1, C-4 und C-5).

Methyl-acetylarcanosid mit dem gleichen IR.-Absorptionsspektrum und chromatographischen Verhalten wurde auch durch Methylierung von Arcanose mit abs. methanolischer Salzsäure (16 Std., 20°) erhalten.

**Abbau der Lankavose.** – *Bestimmung der Ameisensäure.* 40 mg Lankavose in 8 ml Wasser wurden mit 2 ml 0,5M Phosphatpuffer (pH 5,5) und 134 mg Natriummetaperjodat 3 Std. bei 20° stehengelassen. Die Lösung wurde mit verd. Schwefelsäure angesäuert, das überschüssige Perjodat durch Zugabe von festem Kaliumjodid zersetzt und vom ausgeschiedenen Jod abfiltriert. Die letzten Reste Jod wurden mit etwas 2N Natriumarsenit-Lösung zerstört. Darauf wurde die Lösung mit 50 ml Eisessig vermischt und unter Durchleiten von  $CO_2$ -freier Luft solange unter Rückfluss erhitzt, bis die entweichende Luft mit Bariumhydroxid keinen Niederschlag mehr bildete. Dann wurde die siedende Lösung tropfenweise mit Oxydationslösung nach PIRIE<sup>7)</sup> (44 ml  $CO_2$ -freies Wasser, 4 g Sublimat, 1 g krist. Natriumacetat und 1 g Eisessig) versetzt und die entweichende Luft mit frisch bereiteter Bariumhydroxid-Lösung aufgefangen. Nach 1 Std. war die Bildung von Bariumcarbonat beendet. Der Niederschlag wurde abzentrifugiert, mit Wasser und Aceton gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Man erhielt 41 mg Bariumcarbonat (84% d. Th.).

*4-Hydroxy-2-methoxy-valeraldehyd-cyclohalbacetal (IIb).* Zu 216 mg Lankavose in 10 ml Wasser wurden 500 mg Perjodsäure gegeben und das Gemisch über Nacht stehengelassen. Die Lösung wurde darauf während mehrerer Std. kontinuierlich mit Äther extrahiert, der Extrakt getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde durch Destillation bei  $85^\circ/10$  Torr gereinigt. Man erhielt 150 mg dünnflüssiges Öl. Im Dünnschicht-Chromatogramm war ein einziger Fleck mit Rf = 0,65 zu erkennen (Äthylacetat als Fließmittel). Im IR.-Absorptionsspektrum ist keine Carbonylbande vorhanden.

*2-Methoxy-pentan-1,4-diol (III).* 150 mg des Cyclohalbacetals II b wurden, in 20 ml abs. Dioxan gelöst, zu 500 mg Lithiumaluminiumhydrid in 50 ml Dioxan getropft und eine Std. auf 100° erhitzt. Das überschüssige Reagens wurde mit etwas gesättigter wässer. Natriumsulfatlösung zersetzt und die Lösung mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Beim Eindampfen erhielt man

120 mg eines zähflüssigen Öls, das im Dünnschicht-Chromatogramm 2 Flecke gab: Ausgangsmaterial (Rf 0,65) und Reduktionsprodukt (Rf 0,23).

Das Rohprodukt wurde an 10 g Kieselgel chromatographiert. Das Ausgangsmaterial (ca. 10 mg) liess sich mit Äther eluieren. Die Äthylacetat-Fractionen gaben 100 mg chromatographisch einheitliches Diol III, das man bei ca. 90°/0,01 Torr destillierte.

$C_8H_{14}O_3$  Ber. C 53,71 H 10,52  $OCH_3$  23,13% Gef. C 53,73 H 10,57  $OCH_3$  23,29%

NMR.-Spektrum in  $CDCl_3$ : 1,21 (*d*,  $J = 6,3$ ; 3H an C-5); 1,5–1,85 (*b*; 2H an C-3); 3,19 (*s*; durch Säurezugabe nach höheren Frequenzen verschoben; 2 alkoholische H); 3,44 (*s*; 3H; O-Methyl); 3,55–4,3 (*b*; 4H an den C-Atomen 1, 2 und 4).

*Abbau des Diols III.* 77 mg 2-Methoxypentan-1,4-diol aus dem Lankavose-Abbau wurden mit 1 ml 48-proz. Bromwasserstoffsäure 20 Min. auf 100° erhitzt, die braune Lösung mit 10 ml Wasser verdünnt und mit festem Silbercarbonat neutralisiert. Dann wurde vom Silberbromid abfiltriert und in das Filtrat Schwefelwasserstoff eingeleitet, bis alles Silber ausgefällt war. Die Lösung wurde filtriert, 500 mg Perjodsäure zugegeben und die Lösung langsam auf 80° erwärmt. Durch die Lösung wurde ein langsamer Stickstoffstrom in eine Vorlage mit 200 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 100 ml 1N Salzsäure geleitet. Nach 3 Std. wurden die ausgefallenen 2,4-Dinitrophenylhydrazone abgenutscht. Das Dünnschicht-Chromatogramm mit Benzol zeigte zwei Flecke, die mit Formaldehyd- bzw. Crotonaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon übereinstimmten. Die rohen Derivate wurden an 15 g Kieselgel mit Benzol chromatographisch getrennt. Die Fraktionen wurden aus Feinsprit umkristallisiert und erwiesen sich nach Misch-Smp., IR.-Absorptionsspektrum und Papierchromatographie<sup>17)</sup> als Formaldehyd- bzw. Crotonaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon.

**Lankavose aus Chalcomycin.** – Aus den Kulturen eines *Streptomyces*-Stammes (ETH 21 066), dessen artspezifische Merkmale mit denen des Typus-Stammes von *Streptomyces albogriseolus* BENEDICT *et al.*<sup>18)</sup> übereinstimmen, konnte durch Extraktion mit Äthylacetat, Chromatographie an Aluminiumoxid und Umlösen aus Äthylacetat-Petroläther ein Antibioticum abgetrennt werden<sup>19)</sup>, dessen Eigenschaften, insbesondere auch die Absorptionsspektren im UV. und IR. sowie die spezifische Drehung und die elementare Zusammensetzung, mit denen des Chalcomycins<sup>20)</sup> übereinstimmen.

280 mg Chalcomycin wurden mit 15 ml Dioxan und 20 ml 0,1N Schwefelsäure 2 Std. auf 80° erhitzt, mit Bariumcarbonat neutralisiert und filtriert. Der Eindampfungsrückstand des Filtrats wurde darauf im Hochvakuum bei 130° Badtemperatur destilliert, wobei die rohe Lankavose als farbloses Öl überging; das Aglykon blieb als bräunlicher Destillationsrückstand zurück. Das Destillat wurde an 5 g Kieselgel chromatographiert und das einheitliche Äthylacetat-Eluat erneut bei 70°/0,05 Torr destilliert. Das Destillat erstarrte kristallin und erwies sich nach IR.-Absorptionsspektrum, Dünnschicht- und Papier-Chromatographie als identisch mit Lankavose.

**Abbau der 4-O-Acetyl-arcanose.** – *Arcanose* (XIII). 1 g Acetylarcanose in 40 ml abs. Äther wurde unter Rühren in kleinen Portionen mit 500 mg Lithiumaluminiumhydrid versetzt und 3 Std. bei Zimmertemperatur weitergerührt. Das Gemisch wurde wie oben beschrieben aufgearbeitet und lieferte 669 mg öliges Reaktionsprodukt, das an 15 g Kieselgel chromatographiert wurde. Die ersten 150 ml Äther eluierten ca. 100 mg Gemisch aus Ausgangsmaterial und einem nicht näher untersuchten Nebenprodukt. Weitere 200 ml Äther enthielten 200 mg Arcanose, während die nachfolgenden Fraktionen (ca. 150 ml Äther) 200 mg Arcanit (*s. unten*) enthielten.

<sup>17)</sup> L. HORNER & W. KIRMSE, Liebigs Ann. Chem. 597, 48 (1955).

<sup>18)</sup> Systematik nach L. ETLINGER, R. CORBAZ & R. HÜTTER, Arch. Mikrobiol. 37, 326 (1958).

<sup>19)</sup> E. GÄUMANN, V. PRELOG & E. VISCHER, Deutsche Auslegeschrift 1 110 820 (1961). Das Antibioticum aus *Streptomyces albogriseolus* (ETH 21 066) wurde in dieser Patentanmeldung unter dem Namen *Mikonomycin* beschrieben, bevor die Isolierung des Chalcomycins zu unserer Kenntnis kam<sup>20)</sup>. Die Angaben über die systematische Zugehörigkeit des Stammes sowie die Herstellung des Rohmaterials verdanken wir den Herren Drs. H. ZÄHNER und R. HÜTTER, Institut für spezielle Botanik der ETH, Zürich.

<sup>20)</sup> R. P. FROHARDT, R. F. PITILLO & J. EHRLICH, Deutsche Auslegeschrift 1 109 835 (1961).

Aus den mittleren Fraktionen kristallisierte die Arcanose beim Stehen in viereckigen Tafeln aus, die bei 90° im Hochvakuum sublimiert wurden. Smp. 96–98°.

$C_8H_{18}O_4$  Ber. C 54,53 H 9,15% Gef. C 54,31 H 8,95%

$[\alpha]_D = -19,2^\circ$  (nach 15 Min.);  $-20,9^\circ$  (nach 20 Std.;  $c = 4,56$  in Feinsprit). – Das IR.-Absorptionsspektrum in  $CHCl_3$  zeigt Banden bei 3560 und 3400  $cm^{-1}$  und ist in der  $\nu$  (CO)-Region leer.

*Arcanit* (X). 1 g Acetylarcanose wurde in 50 ml trockenem Dioxan gelöst und mit 1 g Lithiumaluminiumhydrid in 100 ml Dioxan vermischt. Nach 6stdg. Kochen unter Rückfluss wurde in üblicher Weise aufgearbeitet. Das gemäss Dünnschicht-Chromatographie einheitliche Reduktionsprodukt, 750 mg zähflüssiges Öl, wurde bei 110°/0,05 Torr destilliert.

$C_8H_{18}O_4$  Ber. C 53,91 H 10,18% Gef. C 53,90 H 9,71%

$[\alpha]_D = -2,0^\circ$  ( $c = 5,76$  in Feinsprit). – Das NMR.-Spektrum in  $CDCl_3$  zeigt u. a. in der C-Methyl-Gegend ein Dublett bei 1,23 ppm ( $J = 6,5$ ; 3H) und ein Singlett bei 1,27 ppm (3H); das O-Methyl-Signal befindet sich bei 3,25 ppm.

*2-Methyl-2-methoxy-4-hydroxy-butyraldehyd-cyclohalbacetal* (XIb) und *Acetaldehyd*. 93 mg Arcanit wurden in 10 ml Wasser gelöst und 240 mg Perjodsäure beigelegt. Durch das Gemisch wurde ein langsamer Stickstoffstrom geleitet und in einer Lösung von 200 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 100 ml 1N Salzsäure aufgefangen. Nach 6 Std. wurde der Niederschlag abfiltriert. Das 2,4-Dinitrophenylhydrazon war nach Dünnschicht- und Papier-Chromatographie<sup>17)</sup> einheitlich und identisch mit dem Acetaldehyd-Derivat: Smp. nach Umkristallisieren aus Feinsprit 168°, ohne Erniedrigung im Gemisch mit authentischem Acetaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon. Ausbeute 80%.

In einem analogen Versuch mit 386 mg Ausgangsmaterial wurde die wässrige Lösung nach der Oxydation mit Äther extrahiert und der Eindampfungsrückstand an 10 g Kieselgel chromatographiert. Methylchlorid löste geringe Mengen Verunreinigungen heraus. Das Cyclohalbacetal XIb wurde mit Äther eluiert und als dünnflüssiges Öl (250 mg) erhalten. Es destillierte bei 70° Blocktemperatur (0,5 Torr).

$C_8H_{12}O_3$  Ber. C 54,53 H 9,15% Gef. C 54,53 H 9,23%

$[\alpha]_D = -64,6^\circ$  ( $c = 5,52$  in Feinsprit). – Das IR.-Absorptionsspektrum in  $CHCl_3$  zeigte in der Carbonyl-Region keine Absorptionsbanden. Die Aufspaltung einiger Signale im NMR.-Spektrum zeigt das Vorliegen eines Anomeren-Gemisches im ungefähren Verhältnis der Komponenten von 1:2 an.

*2-Methyl-2-methoxy-butan-1,4-diol* (XII). 200 mg des Cyclohalbacetals XIb in 30 ml abs. Äther wurden unter Rühren zu 300 mg Lithiumaluminiumhydrid in 50 ml Äther getropft. Nach 2 Std. wurde wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt (140 mg) wurde an 10 g Kieselgel chromatographiert. Mit Äther wurden 40 mg Ausgangsmaterial erhalten, Äthylacetat eluierte 90 mg Reduktionsprodukt, das bei 110°/10 Torr destilliert wurde.

$C_8H_{14}O_3$  Ber. C 53,71 H 10,52  $OCH_3$  23,13% Gef. C 53,58 H 10,80  $OCH_3$  23,01%

$[\alpha]_D = -1,7^\circ$  ( $c = 4,8$  in Feinsprit). – NMR.-Spektrum in  $CDCl_3$ : 1,15 (s; 3H); 1,80 (t,  $J = 6$ ; 2H); 3,24 (s; 3H); 3,4–4,2 (b; 6H).

**Abbau der Cladinose.** – *Cladinii* (XV). 520 mg Cladinose<sup>18)</sup> in 50 ml abs. Dioxan wurden mit 500 mg Lithiumaluminiumhydrid in 100 ml Dioxan 5 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde das Rohprodukt an 10 g Kieselgel chromatographiert. Die ersten 100 ml Äthereluat enthielten 134 mg Nebenprodukte, die nächsten 75 ml Äther lieferten 343 mg Cladinit, der bei 110°/0,05 Torr als farblose zähe Flüssigkeit destillierte. Das Destillat war im Dünnschicht-Chromatogramm einheitlich, Rf 0,30. Cladinit wandert deutlich weiter als Arcanit (Rf 0,16).

$C_8H_{18}O_4$  Ber. C 53,91 H 10,18% Gef. C 53,95 H 10,18%

$[\alpha]_D = -28,4^\circ$  ( $c = 5,9$  in Feinsprit). – Das IR.-Absorptionsspektrum ist verschieden von dem des Arcanits. – NMR.-Spektrum in  $CDCl_3$ : 1,27 (d,  $J = 6$ ; 3H); 1,28 (s; 3H); 1,87 (t,  $J = 5,5$ ; 2H); 3,24 (s; 3H); 3,3–4,1 (b; 6H); 4,27 (s; 1H).

*Abbau mit Perjodsäure.* 256 mg Cladinit wurden in gleicher Weise wie der Arcanit (s. oben) oxydiert. Der Acetaldehyd wurde als Dinitrophenylhydrazon identifiziert. Das 2-Methoxy-2-methyl-4-hydroxy-butyraldehyd-cyclohalbacetal wurde mit Äther extrahiert, an Kieselgel chro-

matographiert und bei 60°/0,5 Torr destilliert.  $[\alpha]_D = -65,6^\circ$  ( $c = 5,52$  in Feinsprit). Das IR.-Absorptionsspektrum in  $\text{CHCl}_3$ , das NMR.-Spektrum in  $\text{CDCl}_3$  und der Rf-Wert waren völlig identisch mit denen des Arcanose-Abbauproduktes.

140 mg dieses Halbacetals wurden wie früher mit Lithiumaluminiumhydrid zum 2-Methoxy-2-methyl-butan-1,4-diol (XII) reduziert. Das IR.-Absorptionsspektrum, das NMR.-Spektrum und der Rf-Wert stimmten mit den entsprechenden Daten des Diols aus Arcanose überein.  $[\alpha]_D = -2,3^\circ$  ( $c = 5,8$  in Feinsprit).

**Lactone aus Acetylarcanose.** – *Methylarcanosid* (XVII). 380 mg Methyl-acetylarcanosid (XVI) wurden in 70 ml Dioxan mit 1 g Lithiumaluminiumhydrid 2 Std. bei 80° reduziert und das wie üblich aufbereitete Produkt im Vakuum destilliert.

$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_4$  Ber. C 56,82 H 9,54% Gef. C 56,88 H 9,65%

*Methylarcanosid-4-methyläther* (XVIII). 300 mg Methylarcanosid (XVII) wurden in 10 ml Dimethylformamid (über BaO destilliert) gelöst, dazu wurden 2 ml Methyljodid, 2 g feingepulvertes Bariumoxid und 80 mg Bariumhydroxid gegeben und das Ganze in einem geschlossenen Gefäß 5 Std. bei Zimmertemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert, das Filtrat in 150 ml Chloroform gelöst und mehrmals mit Wasser ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung wurde getrocknet und eingedampft und der Rückstand an 10 g Kieselgel chromatographiert. Das Methylierungsprodukt liess sich mit Äther eluieren, während eine bräunliche Verunreinigung in der Säule zurückblieb. Das leicht bewegliche Öl wurde durch Destillation im Hochvakuum bei 70° gereinigt. Ausbeute 180 mg. Das NMR.-Spektrum in  $\text{CDCl}_3$  zeigte u. a. die Anwesenheit von 2 Methoxylgruppen, während ein O-Acetyl-Signal nicht vorhanden war.

*Arcanose-4-methyläther* (XIX). 180 mg Glykosid XVIII wurden in 10 ml Dioxan gelöst und mit 4 ml 0,1N Schwefelsäure 2 Std. auf 80° erwärmt. Die klare Lösung wurde mit Bariumcarbonat versetzt, filtriert und eingedampft. Das Dünnschicht-Chromatogramm mit Chloroform gab einen einzigen Fleck mit sehr ähnlichem Rf-Wert wie derjenige der 4-O-Acetylarcanose.

*Arcanonsäurelacton-4-methyläther* (XX). 150 mg roher Arcanose-4-methyläther aus dem obigen Versuch wurden in 2 ml Wasser mit 200 mg Bariumhydroxid und 0,1 ml Brom versetzt und in einem geschlossenen Gefäß über Nacht stehengelassen. Das überschüssige Brom wurde im Vakuum entfernt, die Lösung mit Silbercarbonat geschüttelt und filtriert. In das Filtrat leitete man Schwefelwasserstoff ein und filtrierte vom Silbersulfid ab. Darauf dampfte man die Lösung im Vakuum ein. Der bräunlich gefärbte Rückstand wurde an 15 g Kieselgel chromatographiert und die mit Methylchlorid eluierte Hauptfraktion (90 mg) bei 80° im Hochvakuum destilliert.

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_4$  Ber. C 57,43 H 8,57% Gef. C 57,18 H 8,27%

Das IR.-Absorptionsspektrum in  $\text{CHCl}_3$  zeigte in der  $\nu(\text{OH})$ -Region keine Absorption. In der Carbonyl-Gegend ist eine einzige starke Bande bei 1725  $\text{cm}^{-1}$  vorhanden.

NMR.-Spektrum in  $\text{CCl}_4$ : 1,28 (s; 3H); 1,35 (d, J = 7; 3H); 2,42 (s; 2H); 3,03 (d, J = 2; 1H); 3,24 (s; 3H); 3,55 (s; 3H); 4,70 (q, J = 6,5; die einzelnen Banden des Quadrupletts sind nochmals in Paare aufgespalten mit J = 2; 1H).

*5-O-Acetyl-arcanonsäurelacton* (XXII). 100 mg Acetylarcanose in 2 ml Wasser wurden mit 0,1 ml Brom 48 Std. im Dunkeln stehengelassen. Dann wurde das überschüssige Brom im Vakuum entfernt. Nach Zugabe von etwas Silbercarbonat wurde filtriert und in das Filtrat Schwefelwasserstoff eingeleitet. Nach erneutem Filtrieren wurde eingedampft. Man erhielt 70 mg Öl, das im Dünnschicht-Chromatogramm mit Chloroform-Äthylacetat (1:1) 2 Flecke gab. Bei der Chromatographie an 15 g Kieselgel wurden mit Methylchlorid 15 mg 5-O-Acetyl-arcanonsäurelacton (XXII) eluiert. Das im Vakuum destillierte Öl zeigte im IR.-Absorptionsspektrum in  $\text{CHCl}_3$  zwei etwa gleich starke  $\nu(\text{CO})$ -Banden bei 1780 und 1732  $\text{cm}^{-1}$  sowie eine starke Bande bei 1235  $\text{cm}^{-1}$ . Die  $\nu(\text{OH})$ -Region war leer.

*Arcanonsäurelacton* (XXI). Weitere Methylchlorid-Fractionen im obigen Chromatogramm lieferten 35 mg eines zweiten Lactons, das nach der Vakuumdestillation im IR.-Absorptionsspektrum eine einzige Carbonylbande bei 1780  $\text{cm}^{-1}$  sowie ein Maximum bei 3500  $\text{cm}^{-1}$  zeigte. Eine starke Acetylbande bei 1235  $\text{cm}^{-1}$  war nicht vorhanden.

$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_4$  Ber. C 55,16 H 8,10% Gef. C 55,39 H 7,87%

Die Mikroanalysen wurden in unserem Mikrolaboratorium (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

## ZUSAMMENFASSUNG

Das Antibioticum *Lankamycin* gibt bei der Hydrolyse die beiden Zucker *Lankavose* und 4-O-Acetyl-*arcanose* sowie das Aglykon Monoacetylankolid. *Lankavose* besitzt die Konstitution eines 2,5-Dihydroxy-3-methoxy-hexanal-cyclohalbacetals (Ib); Acetyl-*arcanose* diejenige eines 4-Acetoxy-5-hydroxy-3-methoxy-3-methyl-hexanal-cyclohalbacetals (IXb).

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

## 18. Ozonolyse von Di-O-acetyl-gitoxigenin

II. Mitteilung<sup>1)</sup>

von M. S. Ragab, Horst Linde und Kuno Meyer

(1. XII. 61)

Für den Abbau der Carden-(20:22)-olide hat sich vor allem das von MEYER & REICHSTEIN<sup>2)</sup> beschriebene Verfahren der Ozonolyse bewährt, das seither in zahlreichen Fällen vor allem zur Konstitutionsaufklärung solcher Naturstoffe mit Erfolg angewandt wurde. Eine Ausnahme bildete bisher einzig das Gitoxigenin, bei dem diese Abbaumethode nicht so glatt und übersichtlich verlief<sup>1)</sup>, wie dies bei den bis anhin beschriebenen Beispielen<sup>3)</sup> der Fall war. Wohl wurde die dem Gitoxigenin bzw. seinem Diacetylderivat zugrunde liegende Ätiansäure XVII gebildet, aber jeweils nur in mässiger Ausbeute. Daneben entstanden in beträchtlichen Mengen noch andere Abbauprodukte, deren Konstitution nicht geklärt werden konnte<sup>1)</sup>. Wir haben deshalb diese Abbauversuche nochmals aufgenommen und berichten im folgenden über die dabei erzielten neuen Ergebnisse.

### I. «Nebenprodukt A»<sup>1)</sup>

Nach Ozonisierung von 3,16-Di-O-acetyl-gitoxigenin (I) und reduktiver Spaltung des rohen Ozonids war – vor allem bei Einwirkung von *viel überschüssigem* Ozon – neben dem Glykolsäureester II eine als «Nebenprodukt A» bezeichnete Substanz erhalten worden, deren C- und H-Werte sehr gut auf die Formel  $C_{25}H_{38}O_7$  passen. Diese Substanz reduziert Silberdiamminlösung rasch und stark und zeigt im UV. selektive Absorption bei 282  $m\mu$  mit  $\log \epsilon = 1,72$  (in Alkohol), was für das Vorliegen eines Ketols spricht. Der nun durchgeführte Perjodatabbau gab *in geringer Menge*<sup>4)</sup> eine Säure, die durch Methylierung den bekannten 3 $\beta$ ,16 $\beta$ -Diacetoxy-14-hydroxy-5 $\beta$ ,14 $\beta$ ,17 $\alpha$ H-ätiansäure-methylester (XVIII)<sup>5)</sup> ergab. Dem «Nebenprodukt A»

<sup>1)</sup> I. Mitteilung: M. ZINGG & K. MEYER, Helv. 43, 145 (1960).

<sup>2)</sup> K. MEYER & T. REICHSTEIN, Helv. 30, 1508 (1947).

<sup>3)</sup> Eine Literaturzusammenstellung hierüber findet sich bei <sup>1)</sup> unter Anm. 14, pag. 147.

<sup>4)</sup> Solche Ketole lassen sich üblicherweise durch Perjodat quantitativ zu den entsprechenden Ätiansäuren abbauen. Wenn das vorliegende Ketol nur zu etwa 35% Säure gab, so kann dafür nur die 16 $\beta$ -ständige Estergruppe verantwortlich gemacht werden (siehe weiter unten).

<sup>5)</sup> K. MEYER, Helv. 29, 718 (1946); vgl. auch H. HIRSCHMANN & F. B. HIRSCHMANN, J. Amer. chem. Soc. 78, 3755 (1956).