

7,10-xanthoptérine déjà décrite⁷⁾). Par réoxydation de cette dihydroxanthoptérine à l'air on n'obtient que de la xanthoptérine, caractérisée par son spectre et les Rf dans les solvants habituels.

Réduction des ptérides V ou VI. La ptérine VI est stable vis-à-vis de NaBH_4 . La réduction réussit par contre avec l'hydrogène en présence de Pt: 10 mg de ptérine V ou VI sont dissous dans 5 ml de NaOH 0,04N, puis hydrogénés en présence de 20 mg de PtO_2 préalablement réduits. La réduction est terminée en 10 min après absorption d'une mol. d' H_2 . Le produit hydrogéné VII obtenu est incolore et à fluorescence bleue. Son spectre UV. et celui de la dihydro-7,10-xanthoptérine (IX) sont pratiquement superposables (Fig. 3).

Le produit VII est extrêmement instable. Par réoxydation à l'air il fournit un peu d'amino-2-hydroxy-6-ptérine (I), de l'amino-2-dihydroxy-6,8-dihydroxy-7,10-ptéridine (VI) et en majeure partie de la xanthoptérine (VIII). Ces trois produits ont été caractérisés, après séparation, à l'aide de la chromatographie sur papier dans les solvants habituels; de plus la xanthoptérine a été caractérisée par son spectre UV.

RÉSUMÉ

La réoxydation à l'air et en présence de NH_3 de l'amino-2-hydroxy-6-tétrahydro-7,8,9,10-ptéridine (II) fournit en premier lieu la diamino-2,8-hydroxy-6-dihydro-7,10-ptéridine (V) qui s'hydrolyse en milieu aqueux pour donner l'amino-2-dihydroxy-6,8-dihydro-7,10-ptéridine (VI). Les deux produits ont été isolés à l'état pur, caractérisés et leur structure a pu être démontrée.

Zurich, Institut de chimie organique
de l'Université

74. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten

35. Mitteilung¹⁾

Über die Konstitution der Makrotetrolide Monactin, Dinactin und Trinactin

von J. Beck, H. Gerlach, V. Prelog und W. Voser

(18. I. 62)

Bei der Bereitstellung grösserer Mengen von Nonactin, welche für die Aufklärung seiner Konstitution und die Bestimmung seiner Konfiguration²⁾ notwendig waren, wurden Nonactin-haltige Rohprodukte aus den Kulturen gewisser Streptomyceten-Stämme³⁾ mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie an Kieselgel⁴⁾ untersucht. Es konnte dabei festgestellt werden, dass diese Rohprodukte neben Nonactin weitere Stoffwechselprodukte in Mengen enthalten, welche mit denjenigen des Nonactins vergleichbar waren. Drei davon liessen sich durch Chromatographie an Kieselgel in reinem Zustand erhalten. Die Analysen sowie die IR.- und NMR.-Spektren und be-

¹⁾ 34. Mitt.: Helv. 45, 590 (1962).

²⁾ J. DOMINGUEZ, J. D. DUNITZ, H. GERLACH & V. PRELOG, Helv. 45, 129 (1962). Über Untersuchungen, welche zur Bestimmung der Konfiguration der Nonactinsäure und der Homononactinsäure ausgeführt wurden, werden wir in einer späteren Mitteilung berichten.

³⁾ Es handelt sich um die Stämme ETH. A 7796, A 9828, A 23112. Über die Zuordnung dieser Stämme und über das Verhältnis der einzelnen Homologen in Kulturen unter verschiedenen Züchtungsbedingungen wird in einem anderen Zusammenhang berichtet.

⁴⁾ E. STAHL, Chemiker Ztg. 82, 323 (1958), Arch. Pharm. 292/64, 411 (1959).

sonders auch der chemische Abbau zeigten, dass es sich um Homologe des Nonactins handelt, welche sich von diesem durch Mehrgehalt von 1, 2 bzw. 3 Methylen-Gruppen unterscheiden; wir haben sie deshalb Monactin, Dinactin und Trinactin genannt.

Ebenso wie im Nonactin waren auch in seinen Homologen Hydroxyle und reaktive Carbonyle abwesend; es liessen sich dagegen im IR.-Absorptionsspektrum die Carboxyl-Banden nachweisen. Die typischen Eigenschaften, durch welche sich Nonactin und seine Homologen unterscheiden, sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Die NMR.-Spektren⁵⁾ des Nonactins und seiner Homologen sind in der Fig. dargestellt. Sie unterscheiden sich voneinander in sehr typischer Weise im Gebiet von $\delta < 2,2$, in dem sich die Signale der Methyl- und der Methylen-Gruppen befinden. Die 2 Doublette, welche im Nonactin zwei verschiedenen Typen von Methyl-Gruppen entsprechen, findet man auch bei seinen Homologen. Eines davon $\delta 1,02$ ist in allen

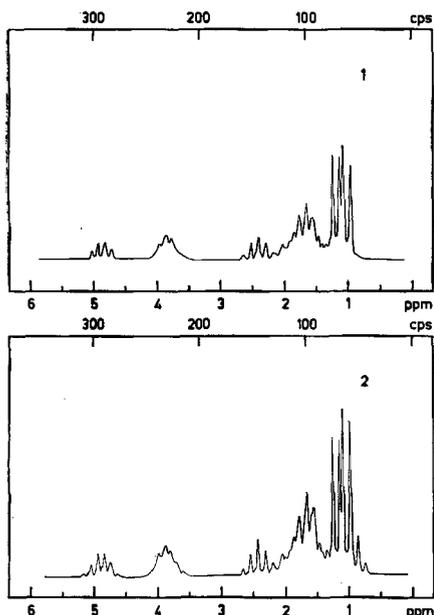


Fig. 1a

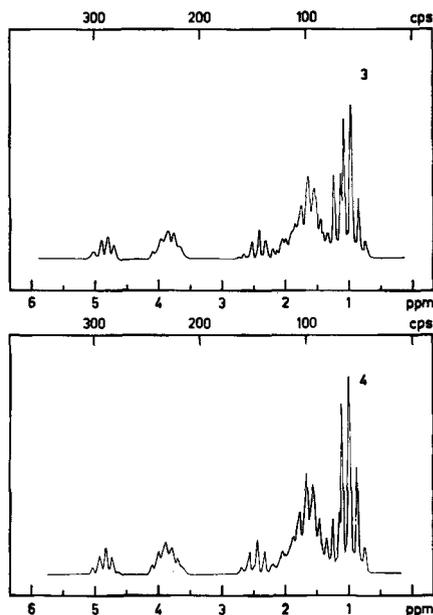


Fig. 1b

NMR.-Spektren des Nonactins und seiner Homologen

- | | |
|------------|-------------|
| 1 Nonactin | 3 Dinactin |
| 2 Monactin | 4 Trinactin |

vier Verbindungen gleich, das zweite $\delta 1,19$ wird in der Reihenfolge Nonactin, Monactin, Dinactin, Trinactin immer kleiner und zwar im Verhältnis 4:3:2:1. Gleichzeitig treten bei den Homologen des Nonactins Triplette $\delta 0,91$ ($J = 7$) im Verhältnis 1:2:3 auf. Das Integral des Signalhaufens, welchem im Nonactin 12 Methylen-Gruppen (24 H) zugeordnet werden können, wird bei den Homologen immer grösser und zwar

⁵⁾ Vergleichswerte für chemische Verschiebungen $\delta = 10 - \tau$ in ppm [$\delta(\text{CH}_3)_4\text{Si} = 0$] und für Spin-spin-Wechselwirkungen J in cps findet man in J. L. JACKMAN, Application of Nuclear Magnetic Spectroscopy in Organic Chemistry, Pergamon Press, London, 1959. Abkürzungen s = Singlett, d = Doublett, t = Triplet.

im Verhältnis 13:14:15. Die Signale mit $\delta > 2,2$ zeigen bei allen 4 Verbindungen eine auffallende Ähnlichkeit. Man kann daraus mit Vorbehalt schliessen, dass in den Homologen des Nonactins 1 bzw. 2 bzw. 3 Methyl-Gruppen durch Äthyl-Gruppen ersetzt sind; die Konstitution in dem Rest der Molekel kann sich dagegen kaum stark unterscheiden. Dieser Hinweis konnte durch die Ergebnisse des Abbaus voll bestätigt werden.

Tabelle 1. *Nonactin und seine Homologen*

	Smp.	Formel*)	$[\alpha]_D$ (CHCl_3)	Rf**)
Nonactin	148°	$\text{C}_{40}\text{H}_{64}\text{O}_{12}$	0°	0,62
Monactin	63–64°	$\text{C}_{41}\text{H}_{66}\text{O}_{12}$	+ 2°	0,48
Dinactin	66,5–67°	$\text{C}_{42}\text{H}_{68}\text{O}_{12}$	+ 2,5°	0,32
Trinactin	67–68°	$\text{C}_{43}\text{H}_{70}\text{O}_{12}$	+ 1,5°	0,15

*) Die Molekularformeln stehen im Einklang mit den analytischen Daten, mit Sicherheit konnten sie jedoch erst auf Grund der Abbauergebnisse und der NMR.-Spektren abgeleitet werden.
**) Fließmittel Chloroform-Äthylacetat 1:2; die Rf-Werte sind stark abhängig von den Versuchsbedingungen.

Ebenso wie das Nonactin lassen sich auch seine Homologen mit Lithiumaluminiumhydrid spalten. Während das Nonactin dabei ein einheitliches optisch inaktives, racemisches Diol $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_3$ liefert, entstehen aus seinen Homologen zwei Diole, welche durch Verteilungschromatographie glatt getrennt werden konnten. Das eine davon besitzt ebenfalls die Zusammensetzung $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_3$ und das gleiche IR.-Absorptionsspektrum wie das Diol aus Nonactin. Zum Unterschied von dem letzteren ist es aber rechtsdrehend. Das andere Diol $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_3$, stellt ein Homologes des ersten dar und ist linksdrehend. In Tabelle 2 sind die Zahl Molekeln der beiden Diole, die aus den vier Makrotetroliden erhalten werden und ihr spezifisches Drehungsvermögen angegeben.

Tabelle 2. *Art und Zahl der aus Nonactin und seinen Homologen durch LiAlH_4 entstehenden Diole*

	$\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_3$ Mol.	$[\alpha]_D$ *)	$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_3$ Mol.	$[\alpha]_D$ *)
Nonactin	4	0	—	—
Monactin	3	+ 13°	1	– 32°
Dinactin	2	+ 31°	2	– 30°
Trinactin	1	+ 34°	3	– 10°

*) In Benzol.

Das linksdrehende Diol $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_3$ aus Monactin zeigt dasselbe spezifische Drehungsvermögen wie dasjenige aus Dinactin und wir nehmen deshalb an, dass es sich um den optisch reinen Enantiomer handelt. Ebenso zeigt das rechtsdrehende Diol $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_3$ aus Dinactin und Trinactin praktisch dasselbe spezifische Drehungsvermögen, woraus sich schliessen lässt, dass auch hier der optisch reine Enantiomer vorliegt. Der absolute Wert der spezifischen Drehungsvermögen der beiden Diole ist, obwohl sie einen verschiedenen Drehungssinn besitzen, praktisch gleich, was darauf hinweist,

dass es sich um Verbindungen mit der gleichen relativen aber verschiedenen absoluten Konfiguration handelt.

Das rechtsdrehende Diol $C_{10}H_{20}O_3$ aus Monactin ist auf Grund der Dünnschichtchromatogramme und IR.-Absorptionsspektren identisch mit dem Diol $C_{10}H_{20}O_3$ aus Dinactin, sein spezifisches Drehungsvermögen beträgt jedoch nur $\frac{1}{3}$ desjenigen der optisch reinen Verbindung und das gleiche gilt für das linksdrehende Diol $C_{11}H_{22}O_3$ aus Trinactin. Man kann daraus schliessen, dass diese Diole Gemische darstellen, in welchen die entsprechenden Enantiomere im Verhältnis 2:1 vorliegen.

Die alkalische Hydrolyse der Nonactin-Homologen wurde eingehender am Beispiel des Dinactins untersucht. Sie ergab ein Gemisch von Hydroxycarbonsäuren, das zuerst durch Verteilungschromatographie in zwei Komponenten aufgetrennt wurde. Die erste, nichtkristalline Komponente wurde mit Diazomethan verestert; die erhaltenen Methylester wurden mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie untersucht. Diese zeigte, dass es sich sehr wahrscheinlich um Nonactin- und 2-*epi*-Nonactinsäuremethylester handelt, die durch präparative Chromatographie an Kieselgel getrennt werden konnten. Die IR.-Absorptionsspektren und die NMR.-Spektren der Verbindungen aus Nonactin und Dinactin waren identisch; der Nonactinsäuremethylester aus Dinactin war jedoch zum Unterschied vom Ester aus Nonactin optisch aktiv und zwar linksdrehend. Die 2-*epi*-Nonactinsäuremethylester aus Nonactin und Dinactin zeigen auch dieselben IR.-Absorptionsspektren, die Verbindung aus Dinactin ist jedoch optisch aktiv und rechtsdrehend. Durch Oxydation des linksdrehenden Nonactinsäuremethylesters mit Chrom(VI)-oxid erhielt man einen linksdrehenden Ketosäure-ester. Derselbe Ester konnte optisch reiner erhalten werden durch Oxydation des Diol-Gemisches aus Dinactin, Trennung des erhaltenen Ketosäure-Gemisches durch Verteilungschromatographie und Veresterung mit Diazomethan. Dieser Versuch zeigt, dass die Nonactinsäure ein genuiner Bestandteil des Dinactins ist, die 2-*epi*-Nonactinsäure dagegen ein Artefakt darstellt, das durch Einwirkung von Alkalien entsteht.

Die zweite saure Komponente, welche durch die Verteilungschromatographie aus dem Hydroxycarbonsäure-Gemisch nach der alkalischen Hydrolyse des Dinactins erhalten werden konnte, kristallisierte aus Pentan und besitzt die Zusammensetzung $C_{11}H_{20}O_4$. Wie eine dünn-schichtchromatographische Untersuchung des mit Diazomethan hergestellten Methylesters zeigte, handelt es sich um ein Gemisch von zwei isomeren Verbindungen, deren Verhältnis ähnlich demjenigen des Nonactinsäuremethylesters zum 2-*epi*-Nonactinsäuremethylester ist. Die homologe Säure, welche als Hauptprodukt isoliert wurde, nannten wir Homononactinsäure und die isomere Säure *epi*-Homononactinsäure. Durch Oxydation des Homononactinsäuremethylesters mit Chrom(VI)-oxid entsteht ein Ketosäuremethylester $C_{12}H_{20}O_4$, der auch durch Oxydation des Diol-Gemisches aus Dinactin erhalten werden konnte. Es folgt daraus, dass die Homononactinsäure ein genuiner Baustein des Dinactins ist und die *epi*-Homononactinsäure wieder ein Artefakt darstellt. Besonders bemerkenswert ist es, dass die Drehungsvermögen des Nonactinsäuremethylesters und des Homononactinsäuremethylesters bei fast gleichen absoluten Werten entgegengesetztes Vorzeichen aufweisen (vgl. Zusammenstellung Tabelle 3), was die auf Grund des Drehungsvermögens der Diole $C_{10}H_{20}O_3$ und $C_{11}H_{22}O_3$ gemachte Schlussfolgerung, dass es sich um

Verbindungen mit gleicher relativer aber entgegengesetzter absoluter Konfiguration handelt, bestätigt.

Das kristalline Gemisch der epimeren Homononactinsäuren ergab bei der Oxydation mit Chrom(VI)-oxid ein Ketosäure-Gemisch. Durch Dünnschichtchromatographie der daraus mit Diazomethan hergestellten Methylester liess sich leicht zeigen, dass es aus zwei Komponenten besteht, von welchen die überwiegende mit dem Ketosäure-methylester aus Homononactinsäure-methylester identisch ist.

Tabelle 3. *Drehungswerte der Methylester*

	$[\alpha]_D$ (CHCl ₃)
(-)-Nonactinsäure-methylester C ₁₁ H ₂₀ O ₄	-12,0°
Ketosäure-methylester C ₁₁ H ₁₈ O ₄	-13,6°
(+)-Homononactinsäure-methylester C ₁₂ H ₂₂ O ₄	+12,9°
Ketosäure-methylester C ₁₂ H ₂₀ O ₄	+12,2°

Über die Konstitution der beiden epimeren Homononactinsäuren und ihr Verhältnis zu den entsprechenden Nonactinsäuren, deren Konstitution III (R = R' = H) in einer vorhergehenden Mitteilung dieser Reihe²⁾ bestimmt wurde, geben besonders die NMR.-Spektren der vier Methylester eine wichtige Auskunft. Diese sind praktisch gleich im Gebiet $\delta > 2,2$ und unterscheiden sich wesentlich im Gebiet $\delta < 2,2$. Die Unterschiede sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

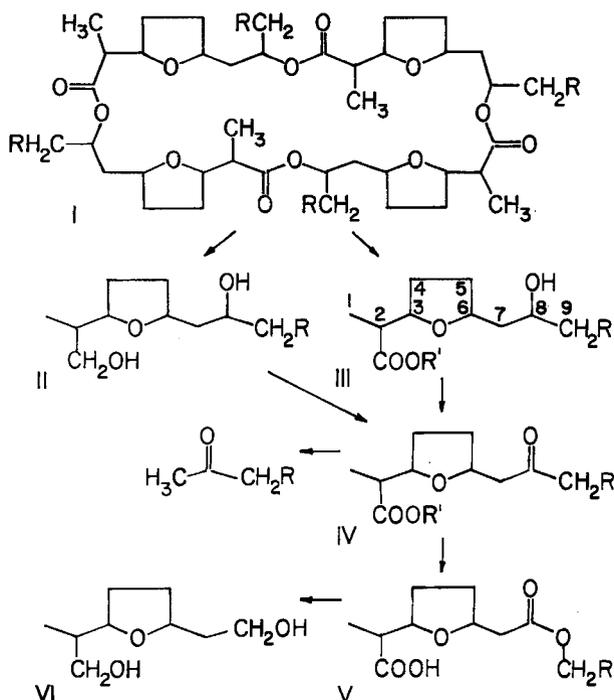
Tabelle 4. *NMR.-Spektren der Methylester*

	$\delta(d, J = 7)$	$\delta(d, J = 7)$	$\delta(t, J = 7)$
Nonactinsäure-methylester	1,08	1,12	—
2-epi-Nonactinsäure-methylester	1,18	1,12	—
Homononactinsäure-methylester	1,08	—	0,91
2-epi-Homononactinsäure-methylester	1,18	—	0,92

Die beiden epimeren Nonactinsäure-methylester weisen im Gebiet δ 1,3 bis 2,2 einen Signalhaufen auf, dessen Integral 6 Protonen entspricht, während das Integral des gleichen Gebietes bei dem entsprechenden homologen Ester 8 Protonen anzeigt.

Ausgehend von der Formel III (R = R' = H) für die epimeren Nonactinsäuren kann man aus den NMR.-Spektren folgende Schlussfolgerungen ziehen. Das erste Doublett entspricht in beiden Reihen den Protonen am C-1, da sich seine Lage durch den Konfigurationswechsel am C-2 ändert. Das zweite Doublett, welches in Nonactinsäure-methylestern den Protonen am C-9 zugeschrieben werden muss, ist in den Homononactinsäure-methylestern abwesend, da darin anstelle der zweiten Methyl-Gruppe eine Äthyl-Gruppe vorliegt, der ein 3 Protonen entsprechendes Triplett und ein Zuwachs von 2 Protonen im Signalhaufen δ 1,4 bis 2,2 entspricht. Da der Rest des Spektrums praktisch gleich ist, besitzen die vier Verbindungen allem Anschein nach sonst die gleiche Konstitution und Konfiguration. Daraus folgt für die Homononactinsäure die Konstitution III (R = CH₃, R' = H), für das Diol C₁₁H₂₂O₃ die Konstitution II (R = CH₃) und für die Ketosäure, welche durch Oxydation von Homononactinsäure mit Chrom(VI)-oxid entsteht, die Konstitution IV (R = CH₃, R' = H).

Diese Schlussfolgerungen werden durch die Ergebnisse der chemischen Untersuchungen bestens bestätigt. Eine dünnschichtchromatographische Untersuchung zeigte, dass das Diol $C_{11}H_{22}O_3$ (II, $R = CH_3$) bei der Oxydation nach KUHN-ROTH ein Gemisch von Essigsäure und Propionsäure liefert, während aus dem Diol $C_{10}H_{20}O_3$ (II, $R = H$) ausschliesslich Essigsäure entsteht. Die Ketosäuren IV ($R = CH_3$, $R' = H$), welche durch milde Oxydation des kristallinen Homononactinsäure-Gemisches mit Chrom(VI)-oxid entstehen, werden durch Behandlung mit Alkali auf analoge Weise fragmentiert, wie die entsprechende Ketosäure in der Nonactinsäure-Reihe. Als flüchtiges Fragmentierungsprodukt entsteht in der Homononactinsäure-Reihe erwartungsgemäss Methyläthylketon, welches als 2,4-Dinitrophenylhydrazon gefasst wurde.



Die homologen Diole $C_{10}H_{20}O_3$ (II, $R = H$) und $C_{11}H_{22}O_3$ (II, $R = CH_3$) wurden durch Oxydation mit Chrom(VI)-oxid in die einheitlichen homologen Ketosäuren $C_{10}H_{16}O_4$ (IV, $R = H$, $R' = H$) bzw. $C_{11}H_{18}O_4$ (IV, $R = CH_3$, $R' = H$) übergeführt, die man mit Pertrifluoressigsäure⁶⁾ umsetzte. Die beiden Reaktionsprodukte V ($R = H$ bzw. $R = CH_3$) gaben bei der Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid Reaktionsgemische, aus welchen sich in beiden Fällen durch Verteilungschromatographie ein Diol $C_9H_{18}O_3$ isolieren liess. Auf Grund des Verhaltens bei Dünnschichtchromatographie und der IR.-Absorptionsspektren besitzt das rechtsdrehende Diol

⁶⁾ Vgl. M. F. HAWTHORNE, W. D. EMMONS & K. S. MCCALLUM, J. Amer. chem. Soc. 80, 6393 (1958).

$C_9H_{18}O_3$ aus dem rechtsdrehenden Diol $C_{10}H_{20}O_3$ (entsprechend der Nonactinsäure) die gleiche Konstitution wie das linksdrehende Diol $C_9H_{18}O_3$ aus dem linksdrehenden Diol $C_{11}H_{22}O_3$ (entsprechend der Homononactinsäure), es handelt sich demnach um die Enantiomeren der Verbindung VI. Dies ist ein eindeutiger Beweis dafür, dass die Nonactinsäure (III, $R = H$) und die Homononactinsäure (III, $R = CH_3$) nicht nur eine homologe Konstitution besitzen, sondern auch in ihrer relativen Konfiguration an den asymmetrischen Kohlenstoffatomen 2,3 und 6 übereinstimmen.

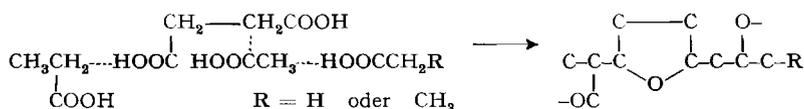
Auf Grund der Konstitution, des Drehungsvermögens und der Mengenverhältnisse der Abbauprodukte kann man über den Aufbau der Nonactin-Homologen folgendes aussagen. Alle vier Makrotetrolide besitzen die allgemeine Konstitutionsformel I ($R = H$ oder CH_3). Die Nonactin-Homologen sind entweder nach dem Schema A oder nach dem Schema B aufgebaut, wobei X entweder Nonactinsäure-Reste (Ns) oder Homononactinsäure-Reste (Hns) sind.



Im Monactin ist X_1, X_2 und $X_3 = Ns$, $X_4 = Hns$, im Dinactin ist X_1 und $X_2 = Ns$, X_3 und $X_4 = Hns$, im Trinactin ist $X_1 = Ns$, und X_2, X_3 und $X_4 = Hns$. Wenn das Nonactin kein Racemat ist, so weist es einen analogen Bau auf, wobei X_1, X_2, X_3 und $X_4 = Ns$ ist.

Es drängt sich der Gedanke auf, dass ein solcher Bau biogenetisch bedingt ist, indem die flachen, scheinchenförmigen Makrotetrolide besonders günstig aus zwei Paaren von Hydroxycarbonsäuren entgegengesetzter Chiralität aufgebaut werden können. Beobachtungen in ähnlicher Richtung wurden auch bei anderen makrocyclischen Naturstoffen⁷⁾ gemacht.

Das Kohlenstoffgerüst und die Verteilung der Sauerstoff-Funktionen in den vier Makrotetroliden weisen darauf hin, dass Essigsäure, Propionsäure und evtl. Bernsteinsäure⁸⁾ als biogenetische Vorläufer in Frage kommen:



Einer von uns (J. B.) dankt der NATIONAL SCIENCE FOUNDATION in Washington, D. C., für ein Research Fellowship, welches ihm die Beteiligung an dieser Arbeit ermöglichte.

⁷⁾ So sind z. B. gewisse 12-gliedrige Cyclotetradepsipeptide wie *Enniatine* und verwandte Antibiotica aus 2 D- α -Hydroxy-säuren und 2 L- α -Aminosäuren aufgebaut: PL. A. PLATTNER, U. NAGER & A. BOLLER, *Helv.* 37, 594 (1948), PL. A. PLATTNER & U. NAGER, *Helv.* 37, 665, 2192 (1948). Das 14-gliedrige Cyclotetradepsipeptid *Serratamolid* enthält 2 D- β -Hydroxysäuren und 2 L- α -Aminosäuren: H. H. WASSERMAN, J. J. KEGGI & J. E. MCKEON, *J. Amer. chem. Soc.* 83, 4107 (1961). Das 24-gliedrige Cyclooctapeptid *Fungisporin* besteht aus je 2 Molekeln D- und L-Valin, und D- und L-Phenylalanin: K. MIYAO, *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan* 24, 23 (1960).

⁸⁾ Bernsteinsäure wurde als ein wichtiger biogenetischer Vorläufer der Carolinsäure, eines Stoffwechselproduktes des *Penicillium charlesii* NRRL 778 erkannt: R. BENTLEY, J. G. KEIL & D. S. BHATE, *J. Amer. chem. Soc.* 83, 3716 (1961).

Experimenteller Teil⁹⁾

Trennung von Nonactin-Homologen. Die beim Umkristallisieren des rohen Nonactins aus den Kulturen von *Streptomyces* Stamm ETH. A 23112 anfallenden Mutterlaugen wurden durch Eindampfen im Vakuum von Methanol befreit und der ölige Rückstand mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie mit dem Fließmittel Chloroform-Äthylacetat 1:2 untersucht. Es wurden dabei 7 Flecke mit Rf-Werten 0,70, 0,62 (Nonactin), 0,48, 0,36, 0,32, 0,28 und 0,15 beobachtet. Die Verbindungen mit den Rf-Werten 0,70, 0,36 und 0,28 lagen in so geringen Mengen vor, dass sie bisher nicht eingehender untersucht werden konnten. Beim langsamen Eindunsten der Lösung des öligen Rückstandes in Pentan bei Zimmertemperatur bildeten sich schön ausgebildete zentimeterlange monokline Kristalle, welche unscharf bei 70–76° schmolzen und praktisch kein Nonactin mehr enthielten. 2,0 g dieses Kristallisates wurden an 600 g Kieselgel chromatographiert, wobei zuerst Chloroform-Äthylacetat, 2:1, als Elutionsmittel diente. Fraktionen von je 150 ml wurden getrennt aufgefangen und durch Dünnschichtchromatographie analysiert. Die Fraktionen 15–17 enthielten 850 mg *Monactin*, Rf 0,48. Nach einer Zwischenfraktion von 80 mg wurden aus den Fraktionen 19–23 530 mg reines *Dinactin*, Rf 0,32, erhalten. Mit dem stärkeren Eluierungsmittel Chloroform-Äthylacetat, 1:1, konnten schliesslich in den Fraktionen 27–35 370 mg reines *Trinactin*, Rf 0,15, eluiert werden.

Die chromatographisch reinen Nonactin-Homologen erstarrten bei längerem Stehen wachsartig und wurden durch Umkristallisieren aus Pentan bei –15° in Form mikrokristalliner Pulver erhalten. Aus äquimolaren Mischungen von Monactin mit Dinactin bzw. Trinactin erhält man beim Umkristallisieren aus Pentan bei +10° schön ausgebildete Kristalle, welche höher schmelzen als die einzelnen Komponenten: Monactin-Dinactin Smp. 78–79°, Monactin-Trinactin Smp. 80–81°.

Monactin. Smp. 63–64° aus Pentan. $[\alpha]_D = +1,5^\circ$ ($c = 5,5$, CHCl_3). IR.-Absorptionsspektrum (in CCl_4): ν_{max} 1740 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (in CCl_4): Fig. 1, Kurve 2.

$\text{C}_{41}\text{H}_{66}\text{O}_{12}$ Ber. C 65,58 H 8,85% M.-G. 737,0 Gef. C 64,99 H 8,69% M.-G.¹⁰⁾ (CH_2Cl_2) 726

Dinactin. Smp. 66,5–67° aus Pentan, $[\alpha]_D = +2,5^\circ$ ($c = 4,2$, CHCl_3). IR.-Absorptionsspektrum (in CCl_4): ν_{max} 1740 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (in CCl_4): Fig. 1, Kurve 3.

$\text{C}_{42}\text{H}_{68}\text{O}_{12}$ Ber. C 65,94 H 8,96% M.-G. 765,0 Gef. C 66,05 H 8,92% M.-G.¹⁰⁾ (CH_2Cl_2) 752

Trinactin. Smp. 67–68° aus Pentan, $[\alpha]_D = +2,0^\circ$ ($c = 5,8$, CHCl_3). IR.-Absorptionsspektrum (in CCl_4): ν_{max} 1740 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (in CCl_4): Fig. 1, Kurve 4.

$\text{C}_{43}\text{H}_{70}\text{O}_{12}$ Ber. C 66,28 H 9,06% M.-G. 779,0 Gef. C 66,24 H 9,10% M.-G.¹⁰⁾ (Benzol) 735

Spaltung von Monactin, Dinactin und Trinactin mit Lithiumaluminiumhydrid. Diole $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_3$ (II, $R = H$) und $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_3$ (II, $R = \text{CH}_3$). Die Nonactin-Homologen wurden in ätherischer Lösung mit einem Überschuss von Lithiumaluminiumhydrid reduziert, wie üblich aufgearbeitet und die entstandenen Diole durch Verteilungschromatographie aufgetrennt. Die Säule bestand aus 30 g Celite, die man mit 27 ml der wässrigen Phase des Lösungsmittelsystems Heptan-Chloroform-Methanol-Wasser, 3:1:2:2, tränkte. Eluiert wurde mit 30 ml der organischen (oberen) Phase des Gemisches pro Fraktion. Die Analyse der einzelnen Fraktionen erfolgte durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel mit Äthylacetat-Alkohol, 19:1. In den Fraktionen 3–5 war das Diol $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_3$, Rf 0,60, enthalten, während das Diol $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_3$, Rf 0,52, in den Fraktionen 8–11 eluiert wurde.

⁹⁾ Alle Dünnschichtchromatogramme wurden mit «Kieselgel G für Dünnschichtchromatographie 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 mit dem VARIAN A-60-Spektrometer (60 MHz) aufgenommen. – Alle Smp. sind nicht korrigiert, als Sdp. im Hochvakuum ist die Badtemperatur angegeben.

¹⁰⁾ 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 Molekulargewichtsbestimmung Hrn. Dr. W. SIMON.

a) 370 mg Monactin lieferten 80 mg des Diols $C_{11}H_{22}O_3$, $[\alpha]_D = -32^\circ$ ($c = 3,73$, Benzol) und 235 mg des Diols $C_{10}H_{20}O_3$, $[\alpha]_D = +13^\circ$ ($c = 3,34$; 6,91, Benzol).

$C_{11}H_{22}O_3$	Ber. C 65,31	H 10,96%	Gef. C 65,39	H 10,96%
$C_{10}H_{20}O_3$	Ber. „ 63,79	„ 10,71%	Gef. „ 63,84	„ 10,71%

Das IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 war identisch mit demjenigen des optisch inaktiven Diols $C_{10}H_{20}O_3$ aus Nonactin.

b) 590 mg Dinactin ergaben 275 mg Diol $C_{11}H_{22}O_3$, $[\alpha]_D = -30^\circ$ ($c = 3,93$, Benzol) und 280 mg Diol $C_{10}H_{20}O_3$, $[\alpha]_D = +31^\circ$ ($c = 2,16$; 6,28, Benzol).

$C_{11}H_{22}O_3$	Ber. C 65,31	H 10,96	2(C)CH ₃ 14,84%
	Gef. „ 65,08	„ 10,91	(C)CH ₃ 14,30%

Die flüchtigen Säuren, welche beim KUHN-ROTH-Abbau erhalten worden sind, wurden in ihre *p*-Phenylphenacyl-ester übergeführt und durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel mit Benzol-Äthylacetat, 19:1, als ein Gemisch des *Essigsäure*- und *Propionsäure*-Derivates identifiziert.

$C_{10}H_{20}O_3$	Ber. C 63,79	H 10,71%	Gef. C 63,85	H 10,69%
-------------------	--------------	----------	--------------	----------

Das IR.-Absorptionsspektrum des Diols $C_{10}H_{20}O_3$ in CCl_4 war identisch mit demjenigen des optisch inaktiven Diols aus Nonactin. Sein *Bis-p-nitrobenzoyl-Derivat* schmolz nach Umkristallisieren aus Heptan bei 86–87° und gab mit dem optisch inaktiven *Bis-p-nitrobenzoyl-Derivat* aus Nonactin vom Smp. 85–86° einen Misch-Smp. 68–80°. $[\alpha]_D$ des *Bis-p-nitrobenzoyl-Derivates* ist +39° ($c = 1,57$, $CHCl_3$).

$C_{24}H_{26}O_9N_2$	Ber. C 59,25	H 5,39%	Gef. C 58,97	H 5,46%
----------------------	--------------	---------	--------------	---------

c) Aus 460 mg Trinactin wurden 290 mg Diol $C_{11}H_{22}O_3$, $[\alpha]_D = -10^\circ$ ($c = 6,05$, Benzol), und 105 mg Diol $C_{10}H_{20}O_3$, $[\alpha]_D = +34^\circ$ ($c = 3,96$, Benzol) erhalten.

$C_{11}H_{22}O_3$	Ber. C 65,31	H 10,96%	Gef. C 65,15	H 10,78%
$C_{10}H_{20}O_3$	Ber. „ 63,79	„ 10,71%	Gef. „ 63,94	„ 10,59%

Alkalische Hydrolyse des Dinactins. 90 mg reines Dinactin wurden 15 Std. bei 70° mit 10 ml 1 N Kaliumhydroxid in 50-proz. Alkohol erwärmt. Die Lösung wurde dann schwach angesäuert und im Vakuum zur Trockene eingedampft. Der Eindampfrückstand wurde erschöpfend mit Chloroform ausgezogen und das Öl, welches nach dem Eindampfen der Chloroformextrakte zurückblieb, zuerst durch Verteilungschromatographie in zwei Komponenten getrennt. Die Säule bestand aus 25 g Celite, welche mit 22 ml der wässrigen Phase eines Gemisches Heptan-Chloroform-Methanol-Wasser, 10:10:11:9, getränkt waren. Die organische Phase eluierte zuerst 44 mg eines kristallinen Produktes, welches aus Benzol-Pentan in Nadeln vom Smp. 71–73° kristallisierte, nachher liessen sich 44 mg eines zweiten öligen Produktes eluieren.

Homononactinsäure und *2-epi-Homononactinsäure* (III, $R = CH_3$, $R' = H$). Die kristalline Säure, welche durch Verteilungschromatographie der sauren Produkte der alkalischen Hydrolyse von Dinactin erhalten worden war, gab folgende Analysenwerte:

$C_{11}H_{20}O_4$	Ber. C 61,09	H 9,32%	Gef. C 61,03	H 9,22%
-------------------	--------------	---------	--------------	---------

Elektrometrische Mikrotitration: $pK_{MCS}^* = 7,13$; Äqu.-Gew. ber. 216, gef. 213¹¹⁾. Die Dünnschichtchromatographie der mit Diazomethan hergestellten Methylester an Kieselgel mit Benzol-Äthylacetat, 1:1, als Fließmittel zeigte, dass es sich um ein Gemisch von zwei isomeren Verbindungen handelte, was durch präparative Chromatographie bestätigt werden konnte. 270 mg des Methylester-Gemisches wurden an 50 g Kieselgel mit Benzol-Äthylacetat, 3:1, als Fließmittel chromatographiert. Es wurden damit zuerst 25 mg des reinen *2-epi-Homononactinsäure-methylesters* und dann 132 mg des reinen *Homononactinsäure-methylesters* eluiert.

(+)-*Homononactinsäure-methylester*: Sdp. 90°/0,04 Torr, $[\alpha]_D = +12,9^\circ$ ($c = 5,51$, $CHCl_3$). IR.-Absorptionsspektrum (in CCl_4): ν_{max} 3500, 1735 cm^{-1} . NMR.-Spektrum (in CCl_4): δ 0,91 (*t*, *J* = 7, 3H), 1,08 (*d*, *J* = 7, 3H), Signalhaufen 1,3 bis 2,2 (8H), 2,49 («Quintuplett», *J* = 7, 1H) 2,90 (nach Zusatz von HCl, *s*, 1H), 3,62 (*s*, 3H), Signalhaufen 3,3 bis 4,3 (3H).

$C_{12}H_{22}O_4$	Ber. C 62,58	H 9,63%	Gef. C 62,53	H 9,53%
-------------------	--------------	---------	--------------	---------

¹¹⁾ Vgl. W. SIMON, E. KOVÁTS, L. H. CHOPARD-DIT-JEAN & E. HEILBRONNER, *Helv.* 37, 1872 (1954).

(-)-2-epi-Homononactinsäure-methylester: Sdp. 90°/0,04 Torr, $[\alpha]_D = -9^\circ$ ($c = 3,45$, CHCl_3). NMR.-Spektrum (in CCl_4): δ 0,92 (t , $J = 7$, 3H), 1,18 (d , $J = 7$, 3H), Signalhaufen 1,3 bis 2,2 (8H), 2,48 («Quintuplett», $J = 7$, 1H), 2,52 (nach Zusatz von HCl, s , 1H), 3,63 (s , 3H), Signalhaufen 3,3 bis 4,3 (3H).

$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_4$ Ber. C 62,58 H 9,63% Gef. C 62,68 H 9,60%

Nonactinsäure und 2-epi-Nonactinsäure (III, $R = R' = H$). Die bei der Verteilungschromatographie der Produkte der alkalischen Hydrolyse von Dinactin erhaltenen Säuren wurden ebenfalls mit Diazomethan verestert und die Methylester wie bei dem homologen Ester-Gemisch beschrieben an Kieselgel getrennt. Aus 206 mg des Gemisches konnten 33 mg 2-epi-Nonactinsäuremethylester und 114 mg Nonactinsäuremethylester isoliert werden.

(-)-Nonactinsäure-methylester: Sdp. 80°/0,03 Torr, $[\alpha]_D = -12^\circ$ ($c = 6,04$, CHCl_3). IR.-Absorptionsspektrum (in CCl_4): ν_{max} 3520, 1740 cm^{-1} , identisch mit demjenigen des optisch inaktiven Nonactinsäure-methylesters aus Nonactin. NMR.-Spektrum (in CCl_4): identisch mit dem Spektrum der optisch inaktiven Verbindung aus Nonactin.

$\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_4$ Ber. C 61,09 H 9,32% Gef. C 61,29 H 9,00%

(+)-2-epi-Nonactinsäure-methylester: Sdp. 80°/0,03 Torr. NMR.-Spektrum (in CCl_4): identisch mit dem Spektrum des optisch inaktiven 2-epi-Nonactinsäure-methylesters aus Nonactin.

$\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_4$ Ber. C 61,09 H 9,32% Gef. C 61,03 H 9,34%

(+)-Ketosäure $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$. Methylester (IV, $R = R' = \text{CH}_3$). 100 mg (+)-Homononactinsäuremethylester wurden in 15 ml Aceton bei 0° mit 0,3 ml 7N Chrom(VI)-oxid in 30-proz. Schwefelsäure versetzt, nach 5 Min. mit 50 ml Wasser verdünnt und 2mal mit je 50 ml Chloroform extrahiert. Die gewaschenen und getrockneten Chloroformextrakte hinterliessen beim Eindampfen 86 mg eines Öls; Sdp. 85°/0,04 Torr, $[\alpha]_D = +9,1^\circ$ ($c = 6,29$, CHCl_3)¹². IR.-Absorptionsspektrum (in CCl_4): ν_{max} 1740, 1720 cm^{-1} , keine $\nu(\text{OH})$ -Bande. NMR.-Spektrum (in CCl_4): δ 0,99 (t , $J = 7$, 3H), 1,06 (d , $J = 7$, 3H), Signalhaufen 1,4 bis 2,2 (4H), 2,40 («Quintuplett», $J = 7$, 2H), Signalhaufen 2,2 bis 2,9 (3H), 3,63 (s , 3H), Signalhaufen 3,7 bis 4,3 (2H).

$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_4$ Ber. C 63,13 H 8,83% Gef. C 62,90 H 9,01%

2,4-Dinitrophenylhydraxon: Smp. 96–97,5° aus Methanol.

$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_7$ Ber. C 52,93 H 5,92 N 13,72% Gef. C 53,03 H 6,22 N 13,78%

Die freie Ketosäure $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$ (IV, $R = \text{CH}_3$, $R' = H$) wurde durch Oxydation des reinen Diols $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_3$ erhalten. 152 mg des Diols wurden in 15 ml Aceton bei 0° mit 10% Überschuss an 7N Chrom(VI)-oxid-Lösung in 30-proz. Schwefelsäure versetzt. Nach 5 Min. Rühren wurden 100 ml Benzol zugegeben, vom ausgefallenen Niederschlag abdekantiert, mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Ausbeute 128 mg farblose, ölige Ketosäure vom Sdp. 125°/0,03 Torr.

$\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$ Ber. C 61,66 H 8,47% Gef. C 61,68 H 8,43%

(-)-Ketosäure $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4$. Methylester (IV, $R = H$, $R' = \text{CH}_3$). Auf gleiche Weise wie bei der homologen Verbindung beschrieben, erhielt man aus 201 mg (-)-Nonactinsäure-methylester 180 mg des öligen Ketosäure-esters, Sdp. 80°/0,04 Torr, $[\alpha]_D = -10,3^\circ$ ($c = 5,10$, CHCl_3)¹². Das IR.-Absorptionsspektrum und das NMR.-Spektrum, beide in CCl_4 , waren praktisch identisch mit den entsprechenden Spektren der optisch inaktiven Verbindung aus Nonactin.

$\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$ Ber. C 61,66 H 8,47% Gef. C 61,50 H 8,32%

Die freie Ketosäure $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4$ (IV, $R = R' = H$) wurde auf analoge Weise erhalten wie das höhere Homologe. 195 mg des Diols $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_3$ ergaben 173 mg Ketosäure, Sdp. 125°/0,03 Torr.

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4$ Ber. C 59,98 H 8,05% Gef. C 59,76 H 8,12%

Oxydation der Ketosäuren $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4$ und $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$ mit Pertrifluoressigsäure⁶). Enantiomere Diole $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_3$ (VI). Die Ketosäuren wurden mit 100% Überschuss einer etwa 1N Pertrifluoressigsäure-Lösung in Methylenchlorid 30 Min. am Rückfluss gekocht. Zur Aufarbeitung wurde das

¹²) Optisch reinere Ester liessen sich aus den freien Ketosäuren $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$ und $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4$ bereiten, welche durch Oxydation der reinen Diole $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_3$ bzw. $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_3$ hergestellt worden waren; sie besitzen etwas höhere spezifische Drehungsvermögen, die in Tabelle 3 angegeben sind.

Methylenchlorid bei Zimmertemperatur im Vakuum entfernt, der Rückstand in Äther gelöst und mit einem Überschuss an Lithiumaluminiumhydrid 4 Std. am Rückfluss gekocht. Die auf übliche Weise isolierten Reaktionsprodukte wurden durch Verteilungschromatographie an einer Säule aus 11 g Celite getrennt, die mit 10 ml der oberen (wässrigen) Phase des Lösungsmittelgemisches Heptan-Chloroform-Methanol-Wasser, 1:1:1:1, getränkt worden war. Eluiert wurde mit der unteren Phase des Lösungsmittelsystems, wobei man Fraktionen von 20 ml getrennt auffing und durch Dünnschichtchromatographie mit dem Fließmittel Äthylacetat-Alkohol, 19:1, untersuchte.

116 mg der Ketosäure $C_{11}H_{18}O_4$ ergaben 95 mg Reduktionsprodukte mit den Rf-Werten 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 und 0,85. Die Hauptkomponente, 53 mg, Rf 0,40, war in den Fraktionen 5 und 6 des Verteilungschromatogramms enthalten. Sie wurde zur Analyse im Hochvakuum destilliert, Sdp. $100^\circ/0,03$ Torr, und erstarrte wachstartig bei Zimmertemperatur, $[\alpha]_D = -5^\circ$ ($c = 2,92$, Benzol). Das IR.-Absorptionsspektrum (in $CHCl_3$) weist eine starke Bande bei 3550 cm^{-1} auf und ist leer im $6\text{-}\mu$ -Gebiet.

$C_9H_{18}O_3$ Ber. C 62,04 H 10,41% Gef. C 62,08 H 10,50%

155 mg der Ketosäure $C_{10}H_{16}O_4$ lieferten 135 mg Reduktionsprodukte mit Rf-Werten 0,2, 0,32, 0,4, 0,52, 0,8 und 0,85. Die Reaktion mit Pertrifluoressigsäure verlief hier weniger glatt und einheitlich. In den Fraktionen 3 und 4 des Verteilungschromatogramms befanden sich 57 mg eines Diols, Rf 0,52, welches offenbar durch Reduktion der nicht umgesetzten Ketosäure entstand. Aus der Fraktion 6 wurden 18 mg des Diols $C_9H_{18}O_3$ erhalten, Sdp. $100^\circ/0,03$ Torr., $[\alpha]_D = +6^\circ$ ($c = 2,5$, Benzol). Das IR.-Absorptionsspektrum (in $CHCl_3$) war identisch mit demjenigen des Diols $C_9H_{18}O_3$ aus der homologen Ketosäure.

$C_9H_{18}O_3$ Ber. C 62,04 H 10,41% Gef. C 61,91 H 10,31%

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

SUMMARY

Three homologs, monactin $C_{41}H_{66}O_{12}$, dinactin $C_{42}H_{68}O_{12}$ and trinactin $C_{43}H_{70}O_{12}$, have been isolated from the mother liquors of the *Streptomyces* metabolite nonactin $C_{40}H_{64}O_{12}$ ²). These compounds are macrocyclic tetralactones («macrotetrolides») I of optically active nonactic and homononactic acids. The structure III ($R = CH_3$, $R' = H$) determined for homononactic acid $C_{11}H_{20}O_4$ from spectral data and degradation experiments, shows a close relationship to the structure III ($R = R' = H$) of the known nonactic acid $C_{10}H_{18}O_4$ ²).

Monactin is built up from 2 (-)-nonactic acids, 1 (+)-nonactic acid and 1 (+)-homononactic acid, dinactin from 2 (-)-nonactic acids and 2 (+)-homononactic acids, trinactin from 1 (-)-nonactic acid, 1 (-)-homononactic acid and 2 (+)-homononactic acids.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich
und
Forschungslaboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT,
Pharmazeutische Abteilung, Basel