

8.3. *cis-* und *trans*-2-Crotyl-3,5-dimethyl-phenyl-methyläther (ersterer 10% *trans*-Äther enthaltend) wurden mit D₂O 92 bzw. 86 Std. erhitzt. Die Äther wurden unisomiert zurückisoliert; der *cis*-Äther enthielt 1,0 D/Mol. (Verbrennung) bzw. 0,9 D/Mol. (NMR.), der *trans*-Äther 1,2 D/Mol. (Verbrennung) bzw. 1,1 D/Mol. (NMR.), wobei in beiden Fällen alles D in Stellung 4 und 6 lokalisiert war.

Wir danken Herrn Prof. Dr. K. GROB (Zürich) für seine stete Hilfe und Ratschläge bei gaschromatographischen Problemen, Herrn FROHOFFER für D-Analysen und Herrn PD Dr. v. PHILIPSBORN für seine Hilfe bei der Aufnahme von NMR.-Spektren. Ferner danken wir dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für die Unterstützung dieser Arbeit auf das beste.

SUMMARY

Cis- and *trans*-2-crotyl-3,5-dimethyl-phenol, and likewise *cis-* and *trans*-2-(α , γ -dimethylallyl)-3,5-dimethyl-phenol, can be interconverted by heating at 200°. By deuteration experiments the mechanism of this reaction is shown to be that of the "anomalous" CLAISEN rearrangement with *spiro*-cyclopropyl-cyclohexadienones as intermediates.

Zürich, Organisch-Chemisches Institut der Universität

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 2. Mitteilung: A. HABICH, R. BARNER, W. VON PHILIPSBORN & H. SCHMID, *Helv.* 48, 1297 (1965).
- [2] A. HABICH, G. FRÄTER & H. SCHMID, *Chimia* 19, 177 (1965).
- [3] E. C. HORNING, M. G. HORNING & G. N. WALKER, *J. Amer. chem. Soc.* 71, 169 (1949).
- [4] S. STERNHELL, *Rev. pure appl. Chemistry* 14, 15 (1964).
- [5] E. N. MARVELL, D. R. ANDERSON & J. ONG, *J. org. Chemistry* 27, 1109 (1962).
- [6] R. M. ROBERTS & R. G. LANDOLT, *J. Amer. chem. Soc.* 87, 2281 (1965); R. M. ROBERTS, R. N. GREENE, R. G. LANDOLT & E. W. HEYER, *ibid.* 87, 2282 (1965).
- [7] A. SCHRIESHEIM & C. A. ROWE, jr., *J. Amer. chem. Soc.* 84, 3160 (1962).
- [8] K. GROB, *Helv.* 48, 1362 (1965).
- [9] J. HORÁČEK, *Collect. czechoslov. chem. Commun.* 26, 772 (1961).

236. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

54. Mitteilung [1]

Über die Zuckerbausteine des Angolamycins: L-Mycarose, D-Mycinose und D-Angolosamin

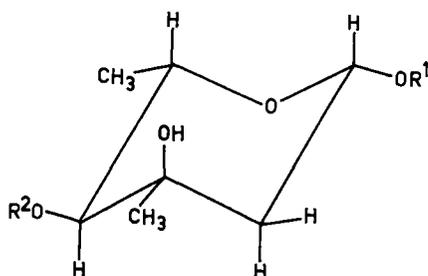
von M. Brufani und W. Keller-Schierlein

(7. VII. 66)

Das Antibioticum *Angolamycin* wurde vor über 10 Jahren aus den Kulturen von drei Actinomycetenstämmen isoliert [2]. Auf Grund seiner Eigenschaften – es handelt sich um eine lipophile, farblose Base C₅₀±₁H₈₉±₂O₁₈N mit antibiotischer Wirksamkeit gegen GRAM-positive Bakterien – wurde auf eine nahe Verwandtschaft zu den wenigen damals bekannten Makrolid-Antibiotica geschlossen. Die Zugehörigkeit zu dieser Gruppe von Verbindungen wurde später erhärtet durch eine mit andern Makroliden

gemeinsame charakteristische Farbreaktion und auf Grund einer – damals ziemlich oberflächlichen – Untersuchung von Zuckerbausteinen [3]. In der vorliegenden Arbeit berichten wir über die Isolierung von drei Zuckern aus Angolamycin, von denen zwei, die *L*-Mycarose und die *D*-Mycinose, mit bekannten Makrolidzuckern identisch sind, während der neue Dimethylaminozucker, *D*-Angolosamin, mit bekannten basischen Zuckern aus Makroliden nahe verwandt ist.

Bei der milden säurekatalysierten Methanolyse des Angolamycins wurde vorwiegend ein Methylglykosid (I) erhalten, das wir zunächst in Form seines Acetylierungsproduktes charakterisierten. Während wir durch Extraktion der wässrigen Lösung des rohen Acetylderivates mit Benzol ein Gemisch der beiden anomeren Glykoside erhielten, blieb in der wässrigen Lösung das β -Anomere stark angereichert und konnte daraus mit Äthylacetat praktisch rein gewonnen werden.



- I: $R^1 = CH_3$; $R^2 = H$
 II: $R^1 = CH_3$; $R^2 = CH_3CO$
 III: $R^1 = R^2 = H$

Das flüssige Acetylderivat II besitzt die Bruttozusammensetzung $C_{10}H_{18}O_5$. Das NMR.-Spektrum lässt die Anwesenheit einer einzigen Acetylgruppe (δ 2,14 ppm) und einer Methoxygruppe (δ 3,49 ppm) erkennen. Das IR.-Absorptionsspektrum zeigt durch eine Bande bei 3500 cm^{-1} an, dass eine – offenbar tertiäre – Hydroxylgruppe nicht acetyliert worden ist. Von den beiden durch das NMR.-Spektrum nachweisbaren C-Methylgruppen gibt die eine zu einem Singlett, die andere zu einem Dublett Anlass. Die somit nachgewiesenen Strukturelemente ($CH-CH_3$, $C-CH_3$, $C-OH$, $CH-OAc$ und OCH_3) sowie die im NMR.-Spektrum ebenfalls nachweisbare CH_2 -Gruppe und die für den freien Zucker berechnete Bruttoformel $C_7H_{14}O_4$ sprechen dafür, dass das Acetat II ein Derivat der *L*-Mycarose (III) oder eines Stereoisomeren davon ist.

Für den Vergleich mit authentischer *L*-Mycarose, die wir aus einem Foromacidin-(Spiramycin-)Gemisch bereiteten [4], wurde das Methylglykosid I aus Angolamycin mit Schwefelsäure hydrolysiert und der freie Zucker destilliert. Das Destillat kristallisierte, wie das aus Foromacidin gewonnene Vergleichspräparat, beim Stehen langsam zu farblosen Prismen vom Smp. $80-83^\circ$, Misch-Smp. mit der Vergleichsprobe ebenso. Die IR.-Absorptionsspektren und Rf-Werte waren gleich. Die optische Drehung stimmt innerhalb der Fehlergrenze mit den Literaturwerten überein. Das NMR.-Spektrum (in D_2O) ist in allen Einzelheiten mit dem von GRISEBACH *et al.* publizierten [5] identisch.

Die Mikroanalyse des Zuckers zeigt, dass es sich bei den Kristallen vom Smp. $80-83^\circ$ um ein Hydrat mit ca. 1 Mol. Kristallwasser handelt. Die *L*-Mycarose ist früher

als wasserfreies Kristallinat vom Smp. 127° beschrieben worden¹⁾. Sie ist als Baustein verschiedener Makrolid-Antibiotica bekannt (Zusammenstellung s. z. B. bei [6]) und auch totalsynthetisch hergestellt worden [7]. Auch die D- [8] und die D, L-Mycarose sind synthetisiert worden [6] [9].

Die Isolierung des zweiten neutralen Zuckers, der D-Mycinose, gestaltete sich anfangs deshalb schwierig, weil er im Dünnschichtchromatogramm praktisch den gleichen Rf-Wert besitzt wie die L-Mycarose, und auch die Methylglykoside der beiden Zucker liessen sich auf der Kieselgel-Platte nicht trennen. Bei den milden Bedingungen, die für die Isolierung von Methylmycarosid angewandt wurden, wurde die Mycinose wahrscheinlich nur zum Teil abgespalten und ihre Derivate blieben bei der Destillation der Mycarosederivate als Destillationsrückstand zurück und konnten dort dünn-schichtchromatographisch durch die von Mycarose stark verschiedene Farb-reaktion mit Schwefelsäure nachgewiesen werden (s. exp. Teil).

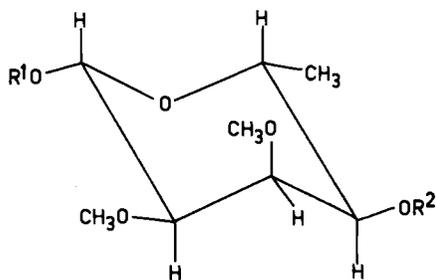
Die Isolierung reiner D-Mycinose (IV) gelang, als wir für die Hydrolyse Bedingungen anwandten, unter denen die Mycarose weitgehend zerstört wurde. Bei der energischen sauren Hydrolyse wurde vorwiegend ein Gemisch von D-Mycinose und D-Angolosamin (s. unten) erhalten und durch Verteilungschromatographie an Cellulosepulver getrennt. Durch Sublimation wurde der Zucker $C_8H_{16}O_5$ in Kristallen vom Smp. $98-102^{\circ}$ erhalten. Gemäss NMR.-Spektrum enthält er eine CH_3-CH -Gruppierung und zwei O-Methylgruppen. Ein flaches Dublett bei δ 2,43 ppm, das im NMR.-Spektrum des Acetylderivates V nicht vorhanden ist, ist einem schwer austauschbaren Hydroxylproton zuzuschreiben. Die Signale von weiteren drei Wasserstoffatomen liegen im Bereiche von δ ca. 3 bis 5 ppm. Eine CH_2 -Gruppe ist nicht vorhanden. Das Signal des Wasserstoffatoms an C-1 liegt zur Hauptsache als Dublett ($J_{1a,2a} = 7,6$ cps) bei δ 4,95 ppm vor. Daneben ist ein sehr schwaches Signal mit kleiner Kopplungskonstante bei δ 5,33 ppm zu erkennen. Der Zucker liegt demnach in Lösung weitgehend als β -Anomeres vor. Der geringe Anteil an α -Anomerem ist auch im Bereich des C-Methylsignals durch schwache Nebensignale zu erkennen.

Die Zuordnung der Signale gelingt besser anhand des Spektrums des kristallinen Diacetylderivates V, das auch die Ableitung der relativen Konfiguration an allen Chiralitätszentren erlaubt. Die Zuordnungen konnten durch Spinentkopplung bestätigt werden.

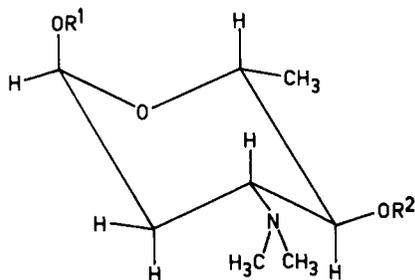
Das Signal der C-Methylgruppe bei δ 1,18 ppm steht in Wechselbeziehung mit einem der beiden sich weitgehend überlagernden Signale bei δ 4,0 ppm, wo durch Spinentkopplung eine Aufspaltung mit $J = 9,5$ cps aufgehoben wird. Die Wasserstoffatome an C-5 und C-4 sind demnach beide axial angeordnet. Die axiale Lage des Protons an C-1 (es liegt zu über 90% das β -Anomere vor) geht aus der Kopplungskonstanten von 8,5 cps des Signals bei δ 5,90 (H-1) hervor, die auch die axiale Lage von H-2 festlegt. Das Signal von H-2 liegt bei δ 3,23 ppm als Doppeldublett ($J_{2,1} = 8,5$ cps; $J_{2,3} = 2,5$ cps) vor. Die zweite Kopplungskonstante von 2,5 cps fordert eine äquatoriale Lage des Protons an C-3, das gemäss der Spinentkopplung ein Signal bei δ 4,0 gibt. Für H-4 bleibt demnach nur noch das Signal bei δ 4,45 übrig, das als

¹⁾ Schon vor längerer Zeit hat E. KYBURZ in unserem Laboratorium die L-Mycarose aus Angolamycin erhalten (unpubliziert, vgl. [3]). Der Zucker wurde damals in der wasserfreien Form vom Smp. $126-128^{\circ}$ isoliert und mit einer Probe aus Foromacidin [4] verglichen.

Doppeldublett mit $J_{4,5} = 9,5$ cps und $J_{4,3} = 2,5$ cps auftritt, was die oben abgeleitete axiale Lage von H-4 und die äquatoriale Lage von H-3 bestätigt. Das Signal der beiden Acetylgruppen ist als Singlett bei δ 2,13 ppm zu finden; die beiden Methoxyle geben Singlette bei δ 3,48 und 3,55 ppm. Von allen Signalen erleiden infolge der Acetylierung nur diejenigen von H-1 und H-4 eine erhebliche Verschiebung nach tieferem Feld. Im Zucker sind demnach die Hydroxylgruppen an C-1 und C-4 frei, während die Stellungen 2 und 3 von den beiden Methoxylgruppen besetzt sind. Für den Zucker ergibt sich die Konstitution einer 2,3-Di-O-methyl-6-desoxy-hexapyranose und die in Formel IV angegebene relative Konfiguration. Ein Zucker dieser Formel, die D-Mycinose (IV), ist bereits aus 3 neutralen Makrolidantibiotica, dem Chalcomycin [10], dem Neutramycin [11] und dem Aldgamycin E [12], isoliert und auch synthetisch hergestellt worden [13]. Die Eigenschaften des Zuckers aus Angolamycin stimmen mit den für D-Mycinose angegebenen [10] [13] sehr gut überein, und die optische Drehung ist nach Richtung und Betrag gleich der von D-Mycinose. Damit ist dieser Zucker zum ersten Mal als Baustein eines basischen Makrolides nachgewiesen worden.



IV: $R^1 = R^2 = H$
V: $R^1 = R^2 = CH_3CO$



VI: $R^1 = R^2 = H$
VII: $R^1 = R^2 = CH_3CO$

Der dritte Zucker, eine Base $C_8H_{17}O_3N$, wurde als kristallisiertes Hydrochlorid erhalten. Die Verbindung ist isomer mit dem Dimethylaminozucker Desosamin, der als Baustein von Makroliden verbreitet ist [14]. Das NMR.-Spektrum zeigt u. a. das Vorhandensein von 2N-Methylgruppen durch zwei fast zusammenfallende Singlette bei δ 2,9 ppm (in D_2O) an (die Aufspaltung in zwei Singlette ist durch das Vorliegen eines Gleichgewichtsgemisches der beiden Anomeren in wässriger Lösung zu erklären). Bei der Aufnahme in Trifluoressigsäure liegt das Signal der Dimethylamino-gruppe bei δ ca. 3,15 ppm und ist in zwei Dublette aufgespalten.

Dass es sich nicht um Desosamin handeln kann, zeigte ein papierchromatographischer Vergleich mit authentischem Desosamin-hydrochlorid, das wir aus Pikromycin [15] hergestellt hatten. Auch das IR.-Absorptionsspektrum und das NMR.-Spektrum des Desosamin-hydrochlorids unterscheiden sich erheblich von den Spektren unseres Zuckers, der demnach neu ist und Angolosamin genannt wird. Die Konstitution und relative Konfiguration des neuen Zuckers VI geht eindeutig aus dem NMR.-Spektrum des Di-O-acetylderivates VII hervor. Das rohe Acetylierungsprodukt erwies sich als Gemisch der beiden anomeren Formen, da verschiedene Signale (CH_3-C , CH_3-CO , H-1) eine komplexere Aufspaltung zeigen, als man für eine einheitliche Verbindung erwarten würde. Eine vollständige Trennung der beiden Anomeren

(bei der Dünnschichtchromatographie ist nur ein einziger Fleck erkennbar) gelang nicht, doch konnte durch Chromatographie an Kieselgel wenigstens das eine Anomere in ca. 90-proz. Reinheit abgetrennt werden, was für eine eingehende Analyse des NMR.-Spektrums ausreichte (Fig. 1).

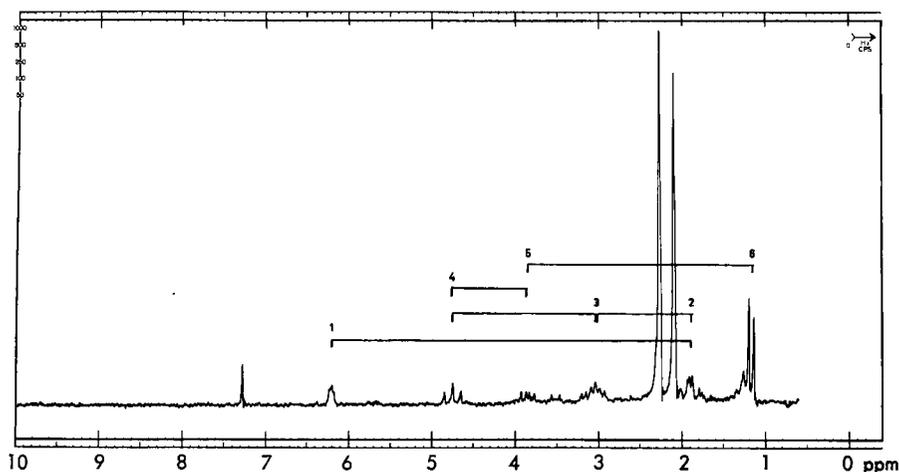


Fig. 1. NMR-Spektrum von α -1,4-Di-O-acetyl-angolosamin in CDCl_3 (100 Mc)

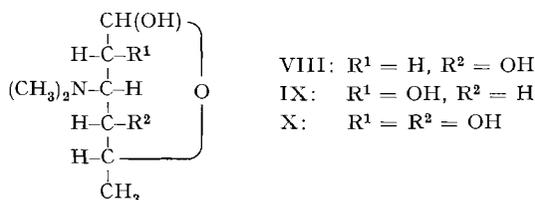
Das praktisch rein gewonnene Diacetylderivat zeigt bei δ 6,22 ppm (Signal von H-1e), ein Triplet mit der Kopplungskonstante $J_{1e,2a} = J_{1e,2e} = 2,5$ cps. Daraus geht hervor, dass die Acetoxygruppe an C-1 axiale Lage besitzt, und dass, da H-5 axial angeordnet ist (s. unten), das α -Anomere vorliegt. Ein Gemisch der beiden Anomeren zeigt im NMR.-Spektrum zusätzlich zum erwähnten Signal ein solches für das axiale Wasserstoffatom an C-1 bei δ 5,74 ppm in Form eines Doppeldoublets mit $J_{1a,2a} = 9,5$ cps und $J_{1a,2e} = 2,5$ cps. Durch Spinentkopplung (in Fig. 1 durch Querverbindungen angedeutet) lässt sich eine Wechselwirkung zwischen H-1e und zwei Protonen aufzeigen, die eine Signalgruppe bei δ ca. 1,9 ppm hervorrufen. Aus diesen Wechselwirkungen ergibt sich, dass am C-Atom 2 eine Methylengruppe vorliegt. Das Angolosamin ist ein 2-Desoxyzucker.

Weitere Spinentkopplungen zeigen, dass das Signal bei δ 3,05 ppm dem Wasserstoffatom an C-3 zuzuordnen ist. Die chemische Verschiebung entspricht derjenigen eines Wasserstoffs neben Aminostickstoff. Diese Zuordnung wird dadurch bestätigt, dass dieses Signal als Folge der Acetylierung keine Verschiebung nach kleineren Feldstärken erlitten hat. Das Angolosamin ist demnach ein 3-Desoxy-3-dimethylaminosucker.

Wegen der Kompliziertheit der Signale von H-2 und H-3 ist die Art ihrer Wechselwirkung nicht ohne weiteres zu erkennen. Die axiale Lage von H-3 geht aber klar aus der Form des Signals von H-4 bei δ 4,76 ppm hervor. Dessen Zuordnung erfolgte wieder durch Spinentkopplung. Das Signal ist ein Triplet mit $J_{4,3} = J_{4,5} = 9,5$ cps. Dies entspricht einer zweifachen diaxialen Anordnung der drei zugehörigen Protonen an den C-Atomen 3, 4 und 5, und für das Angolosamin lässt sich somit die relative Konfiguration VI ableiten.

Die diaxiale Anordnung von H-4 und H-5 wird bestätigt durch das Signal von H-5 bei δ 3,87 ppm, ein Doppelquadruplett mit $J_{5,4} = 9,5$ cps und $J_{5,6} = 6$ cps. Dieses Signal wird entkoppelt einerseits durch Einstrahlung der Frequenz des C-Methyl-Signals, andererseits durch die Frequenz von H-4.

Die absolute Konfiguration des Angolosamins liess sich nach der Isorotationsregel für acetylierte Zucker von HUDSON [16] ableiten. Das ca. 90-proz. α -Anomere besitzt in Aceton eine spez. Drehung von $+93^\circ$, ein Gemisch der beiden Anomeren im Verhältnis von ca. 1:1 eine solche von $+56^\circ$. Für das reine β -Anomere ist demnach eine noch kleinere positive Drehung zu erwarten, schätzungsweise etwa $+10^\circ$. Eine solche Rotationsverschiebung trifft für die D-Reihe der Zucker zu, welcher das Angolosamin demnach angehört. Dass die HUDSON'schen Isorotationsregeln in der Reihe der Aminozucker anwendbar sind, hat sich in letzter Zeit wiederholt bestätigt (vgl. z.B. [17]).



VIII: $\text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = \text{OH}$

IX: $\text{R}^1 = \text{OH}, \text{R}^2 = \text{H}$

X: $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{OH}$

Das D-Angolosamin (VI = VIII) ist demnach die 2,3,6-Tridesoxy-3-dimethylamino-D-glucose und steht in sehr naher Beziehung zum Desosamin (IX) [18] und zur Mycaminose (X) [19], den beiden 3-Dimethylaminozuckern, die bisher als Bausteine basischer antibakterieller Makrolide nachgewiesen worden sind.

Ein Diastereomeres des D-Angolosamins ist dagegen das L-Rhodosamin aus Anthracyclin-Antibiotica [20].

Herrn Prof. Dr. H. ZÄHNER, Tübingen, danken wir für das Angolamycin. – Diese Arbeit wurde durch die CIBA AKTIENGESellschaft, Basel, und das «CENTRO NAZIONALE DI RICERCHE ITALIANO» unterstützt, wofür wir unseren besten Dank aussprechen.

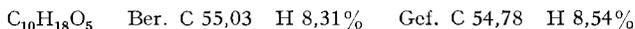
Experimenteller Teil

Allgemeines. Die Smp. wurden in offener Kapillare bestimmt und sind nicht korrigiert. Die IR.-Absorptionsspektren wurden mit einem PERKIN-ELMER-Spektrophotometer, Modell «Infracord», oder mit einem PERKIN-ELMER-Spektrophotometer, Modell 21, (Fig. 2) aufgenommen. Die NMR.-Spektren wurden mit einem VARIAN-Spektrographen, Modell A 60, Spin-Entkopplungsexperimente mit einem VARIAN-Spektrographen, Modell HA 100, ausgeführt. Die chemischen Verschiebungen sind in δ -Werten gegenüber Tetramethylsilan als internem Standard, Kopplungskonstanten in cps angegeben. Es bedeuten: s = Singlett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quadruplett, m = Multiplett, b = schlecht aufgelöste Signalaufen, dd = Doppeldublett usw.

Für die Dünnschichtchromatographie (DC) verwendeten wir Kieselgel G «MERCK». Die Chromatogramme wurden durch Besprühen mit konz. Schwefelsäure und Erhitzen auf 140° entwickelt. Für präparative Chromatographie verwendeten wir Kieselgel 0,05 bis 0,20 mm «MERCK».

4-O-Acetyl-methyl-L-mycarosid. 600 mg Angolamycin wurden in 100 ml abs. Methanol und 10 ml einer 1,3 N abs. methanolischen Chlorwasserstofflösung 6 Std. bei 20° stehengelassen und dann durch Schütteln mit frisch gefälltem Silbercarbonat neutralisiert. Die filtrierte Lösung wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit Essigsäureanhydrid und Pyridin (je 2 ml) bei Zimmertemperatur 24 Std. lang behandelt. Das Gemisch wurde dann mit Eiswasser versetzt und dreimal mit je 20 ml Benzol ausgezogen, die Extrakte wurden mit wenig Wasser gewaschen und nach dem Trocknen mit Natriumsulfat im Vakuum eingedampft. Das zurückbleibende Öl

wurde an 10 g Kieselgel mit Äthylacetat-Methanol 8:2 als Eluierungsmittel chromatographiert. Das Eluat, 70 mg chromatographisch einheitliches farbloses Öl (DC mit Äthylacetat-Methanol 8:2, Rf 0,70), wurde im Hochvakuum bei 80° destilliert.



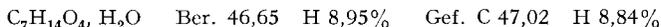
IR.-Absorptionsspektrum in Chlf. ($c = 5\%$): ν (OH) 3500 cm^{-1} ; ν (CO) 1730 cm^{-1} . Das NMR.-Spektrum in CDCl_3 zeigt, dass es sich um ein Gemisch der beiden anomeren Acetylderivate im Verhältnis ca. 1:1 handelt: u. a. 2 Singlette zu ca. 1,5 H bei δ 3,39 und 3,49 ppm. Auch die Multiplizität der übrigen Signale ist z. T. komplexer als man für eine einheitliche Verbindung erwarten würde.

Die wässrigen Phasen der Benzolextraktion wurden mit 1N Natronlauge neutralisiert, im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand dreimal mit Äthylacetat ausgezogen. Durch Chromatographie an Kieselgel wurden 30 mg Substanz erhalten, die im Dünnschichtchromatogramm das gleiche Verhalten zeigte wie das oben beschriebene Produkt. Das IR.-Absorptionsspektrum war im «Fingerprint»-Gebiet verschieden. Gemäss dem NMR.-Spektrum (in CDCl_3) handelt es sich um ein praktisch einheitliches Anomeres des Di-O-Acetyl-methylmycarosids: δ 1,16 ppm (s, 3 H), δ 1,18 ppm (*d*, $J = 6,3$ cps, 3 H), δ 1,3 bis 2,0 ppm (*b*, 3 H), δ 2,14 ppm (s, 3 H), δ 3,49 ppm (s, 3 H), δ 3,7 bis 4,1 ppm (*m*, 1 H), δ 4,5 bis 4,9 ppm (*b*, 2 H).

L-Mycarose. 2 g Angolamycin wurden wie oben 24 Std. bei Zimmertemperatur methanolysiert. Der Eindampfrückstand der mit Silbercarbonat neutralisierten Lösung wurde mit 200 ml Eiswasser versetzt und viermal mit Äthylacetat ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand, 221 mg Öl, zeigte im DC nur einen Fleck (Rf 0,57 mit Äthylacetat-Methanol 8:2) und stimmte mit authentischem Methylmycarosid aus Foromacidin (Spiramycin) überein.

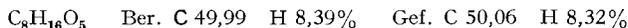
65 mg des Methylmycarosids wurden im Vakuum destilliert (ca. 60° bei 0,01 Torr) und dann mit 7 ml Dioxan und 8 ml 0,1N Schwefelsäure 3 Std. bei 85° im Wasserbad hydrolysiert. Die Lösung wurde darauf mit Bariumcarbonat neutralisiert, filtriert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand destillierte bei 110°/0,01 Torr als farbloses Öl, das beim Stehen langsam kristallisierte und dabei ca. 1 Mol. Wasser aus der Luft aufnahm.

Die Kristalle schmolzen, wie eine Vergleichsprobe, die man in gleicher Weise aus Foromacidin hergestellt hatte, bei 80–83° und gaben im Gemisch keine Smp.-Erniedrigung. Für wasserfreie Mycarose wird ein Smp. von 128–129° angegeben. $[\alpha]_D = -28,3^\circ$ ($c = 0,87\%$ in Wasser). Die Rf-Werte im DC sowie die IR.-Absorptionsspektren und NMR.-Spektren der beiden Präparate waren identisch.



Bei der Destillation blieb ein geringer Rückstand, der auf Grund der gelben Farbreaktion mit Schwefelsäure im DC als Mycinose (s. unten) identifiziert wurde. Mycarose und Mycinose einerseits sowie Methylmycarosid und Methylmycinosid andererseits geben praktisch gleiche Rf-Werte, aber verschiedene Farbreaktionen mit Schwefelsäure: Mycarose und Derivate blaugrau, Mycinose und Derivate gelb.

D-Mycinose. 2 g Angolamycin wurden in 80 ml 6N Salzsäure 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Die braunschwarze Lösung wurde von etwas unlöslichem braunem Harz abfiltriert, zweimal mit wenig Chloroform ausgeschüttelt, im Vakuum eingedampft und der Rückstand an einer Säule aus Cellulosepulver mit *n*-Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:1 chromatographiert. Ein erstes Eluat von 370 mg gelbem Öl zeigte im DC (Äthylacetat-Methanol 8:2) einen Hauptfleck mit Rf 0,45 und mehrere Verunreinigungen. Das Öl wurde an einer Säule aus 20 g Kieselgel mit Äthylacetat-Methanol 8:2 nochmals chromatographiert. Die Hauptfraktion, 135 mg, wurde bei 110°/0,01 Torr destilliert. Beim Stehen kristallisierte das Destillat langsam: Smp. 96–100°. Nach nochmaligem Sublimieren wurde reine D-Mycinose vom Smp. 98–102° erhalten. $[\alpha]_D = -36^\circ$ (10 Min.) $\rightarrow -28^\circ$ (16 Std., $c = 1,55\%$ in Wasser). NMR.-Spektrum in CDCl_3 : δ 1,2 ppm (*d*, $J = 6$ cps, 3 H), δ 2,43 ppm (unscharfes *d*, $J = 10$ cps, 1 H), δ 3,01 ppm (*dd*, $J_{2,1} = 7,5$ cps; $J_{2,3} = 2,5$ cps, 1 H), δ 3,54 ppm (s, 3 H), δ 3,62 ppm (s, 3 H), δ 3,55 bis 4,30 ppm (*b*, 4 H), δ 4,95 ppm (*d*, $J_{1,2} = 7,5$ cps, 1 H).



1,4-Di-O-acetyl-D-mycinose. 47 mg Mycinose wurden mit 3 ml Essigsäureanhydrid und 2 ml Pyridin über Nacht bei 20° behandelt. Das Gemisch wurde in Eiswasser gegossen und dreimal

mit Benzol extrahiert. Die mit wenig verd. Salzsäure und Wasser gewaschenen und mit Natriumsulfat getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen einen Rückstand, den man an Kieselgel mit Äthylacetat als Elutionsmittel chromatographierte. Es wurden 55 mg eines Öls erhalten, das im DC (Äthylacetat-Methanol 8:2) einen einheitlichen Fleck mit R_f 0,70 gab; nach der Destillation bei 70°/0,01 Torr Kristalle vom Smp. 73–75°.

$C_{12}H_{20}O_7$ Ber. C 52,16 H 7,30% Gef. C 52,33 H 7,40%

NMR.-Spektrum in $CDCl_3$: δ 1,18 ppm (*d*, $J = 6$ cps, 3 H), δ 2,13 ppm (*s*, 6 H), δ 3,23 ppm (*dd*, $J_{2,1} = 8,5$ cps; $J_{2,3} = 2,5$ cps, 1 H), δ 3,48 ppm (*s*, 3 H), δ 3,55 ppm (*s*, 3 H), δ 3,8 bis 4,45 ppm (*m*, $J_{5,4} = 9,5$ cps; $J_{5,6} = 6$ cps, 2 H), δ 4,45 ppm (*dd*, $J_{4,5} = 9,5$ cps; $J_{4,3} = 2,5$ cps, 1 H), δ 5,90 ppm (*d*, $J_{1,2} = 8,5$ cps, 1 H).

Spin.-Entkopplung bei 100 MC:

Nachgewiesene Wechselwirkung zwischen			J des entkoppelten Signals	Zuordnung
1,18 ppm	und	4,0 ppm	6 cps	CH_3 in 6: H-5
3,23 ppm		5,90 ppm	8,5 cps	H-2 <i>a</i> : H-1 <i>a</i>
3,23 ppm		4,0 ppm	2,5 cps	H-2 <i>a</i> : H-3 <i>e</i>

D-Angolosamin-hydrochlorid. Nach der Elution der Mycinose bei der Chromatographie an Cellulosepulver (s. oben) wurde mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch weiter eluiert, wobei 400 mg Öl erhalten wurden, die nach Zugabe von Alkohol und etwas Äther farblose Kristalle lieferten. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Alkohol-Äther, Smp. 172–174°. Papierchromatographie mit *n*-Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:1, Entwicklung mit Anilin-Phtalsäure in Butanol: $R_D = 1,23$ (bezogen auf Desosamin = 1). $[\alpha]_D = +4,6^\circ$ ($c = 0,627$ in Wasser, Endwert nach 5 Std).

$C_8H_{17}O_3N, HCl$ Ber. C 45,38 H 8,57 N 6,62% Gef. C 45,28 H 8,54 N 6,58%

Das IR.-Absorptionsspektrum (Fig. 2) und das NMR.-Spektrum unterscheiden sich deutlich von denen des Desosamin-hydrochlorids. Das NMR.-Spektrum in D_2O zeigt, dass in Lösung ein Gemisch der beiden Anomeren im Verhältnis von ca. 3:1 vorliegt.

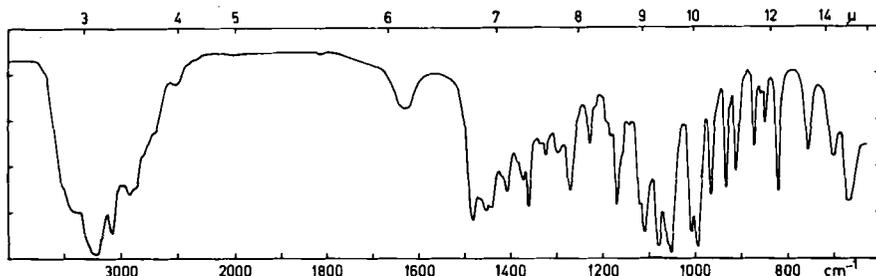


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektrum von *D*-Angolosamin-hydrochlorid in KBr

Di-O-acetyl-D-angolosamin. 260 mg Angolosamin-hydrochlorid wurden mit 6 ml Essigsäureanhydrid und 6 ml Pyridin $1\frac{1}{2}$ Std. auf dem Wasserbad erwärmt und darauf die Lösung im Vakuum eingedampft. Den Rückstand löste man in 50 ml kaltem Wasser, neutralisierte mit Natriumhydrogencarbonat und schüttelte dreimal mit Chloroform aus. Die getrockneten Auszüge wurden eingedampft und der Rückstand an 10 g Kieselgel mit Äthylacetat-Methanol 8:2 chromatographiert. Durch Destillation im Hochvakuum wurden 250 mg eines farblosen Öls isoliert, das im DC (Äthylacetat-Methanol 8:2) nur einen Fleck gab. Aus dem NMR.-Spektrum geht hervor, dass es sich um ein Gemisch der beiden Anomeren im Verhältnis ca. 3:2 handelt.

$C_{12}H_{21}O_5N$ Ber. Mol.-Gew. 259 Gef. Mol.-Gew. 259 (Massenspektrum)

Das Präparat wurde erneut an ca. 70 g Kieselgel chromatographiert, wobei zunächst mit Äthylacetat allein und später mit Äthylacetat und zunehmenden Mengen Methanol (bis zu 20%) eluiert wurde. Es wurden 8 Fraktionen aufgefangan, von denen die erste und letzte durch das NMR.-Spektrum charakterisiert wurden. Die erste Fraktion enthielt beide Anomeren in etwa gleichen Anteilen. NMR.-Spektrum in CDCl_3 : u. a. δ 1,15 ppm (*d*, $J = 6$ cps) und δ 1,21 ppm (*d*, $J = 6$ cps), je ca. $1\frac{1}{2}$ H; δ 2,09 ppm (*s*) und 2,11 ppm (*s*), je ca. $1\frac{1}{2}$ H; δ 2,27 ppm (*s*, 3 H); δ 5,71 ppm (*dd*, $J_{1a, 2a} = 9,5$ cps, $J_{1a, 2e} = 2,5$ cps, ca. $\frac{1}{2}$ H); δ 6,22 ppm (*t*, $J_{1e, 2a} = J_{1e, 2e}$ ca. 2,5 cps, ca. $\frac{1}{2}$ H). $[\alpha]_D = +56^\circ$ ($c = 0,57$ in Aceton).

Die 8. Fraktion enthielt dagegen über 85% des α -Anomeren und wurde für Spin-Entkopplungsexperimente verwendet (Fig. 1). $[\alpha]_D = +93^\circ$ ($c = 0,39$ in Aceton).

Die Mikroanalysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung W. MANSER) ausgeführt. Die NMR.-Spektren und Spin-Entkopplungsexperimente verdanken wir Frau A. VON WARTBURG und Herrn Dr. C. PASCUAL, das Massenspektrum Herrn Dr. J. SEIBL.

SUMMARY

The sugar components of angolamycin, a basic macrolide antibiotic, are L-myca-rose, D-mycinose, and D-angolosamine (2,3,6-trideoxy-3-dimethylamino-D-glucose). The structure of the new amino-sugar has been determined by NMR.-spectroscopy.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 53. Mitteilung: H. BICKEL, P. MERTENS, V. PRELOG, J. SEIBL & A. WALSER, *Tetrahedron* (im Druck).
- [2] R. CORBAZ, L. ETTLINGER, E. GÄUMANN, W. KELLER-SCHIERLEIN, L. NEIPP, V. PRELOG, P. REUSSER & H. ZÄHNER, *Helv.* **38**, 1202 (1955).
- [3] R. HÜTTER, W. KELLER-SCHIERLEIN & H. ZÄHNER, *Arch. Mikrobiol.* **39**, 158 (1961).
- [4] R. CORBAZ, L. ETTLINGER, E. GÄUMANN, W. KELLER-SCHIERLEIN, F. KRADOLFER, E. KYBURZ, L. NEIPP, V. PRELOG, A. WETTSTEIN & H. ZÄHNER, *Helv.* **39**, 304 (1956); R. PAUL & S. TCHELITCHEFF, *Bull. Soc. chim. France* **1957**, 443.
- [5] W. HOFHEINZ, H. GRISEBACH & H. FRIEBOLIN, *Tetrahedron* **18**, 1265 (1962).
- [6] H. GRISEBACH, W. HOFHEINZ & N. DOERR, *Chem. Ber.* **96**, 1823 (1963).
- [7] D. M. LEMAL, P. D. PACTH & R. B. WOODWARD, *Tetrahedron* **18**, 1275 (1962).
- [8] B. FLAHERTY, W. G. OVEREND & N. R. WILLIAMS, *J. chem. Soc.* **1966**, C 398.
- [9] F. KORTE, U. CLAUSSEN & K. GÖHRING, *Tetrahedron* **18**, 1257 (1962).
- [10] H. W. DION, P. W. K. WOO & Q. R. BARTZ, *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 880 (1962).
- [11] M. P. KUNSTMANN & L. A. MITSCHER, *Experientia* **21**, 372 (1965).
- [12] M. P. KUNSTMANN, L. A. MITSCHER & N. BOHONOS, *Tetrahedron Letters* **1966**, 839.
- [13] J. S. BRIMACOMBE, M. STACEY & L. C. N. TUCKER, *J. chem. Soc.* **1964**, 5391.
- [14] R. CORBAZ, L. ETTLINGER, E. GÄUMANN, W. KELLER-SCHIERLEIN, F. KRADOLFER, E. KYBURZ, L. NEIPP, V. PRELOG, P. REUSSER & H. ZÄHNER, *Helv.* **38**, 935 (1955); H. ELS, W. D. CELMER & K. MURAI, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 3777 (1958); C. DJERASSI, A. BOWERS, R. HODGES & B. RINIKER, *ibid.* **78**, 1733 (1956); vgl. auch [3].
- [15] H. BROCKMANN, H.-B. KÖNIG & R. OSTER, *Chem. Ber.* **87**, 856 (1954).
- [16] C. S. HUDSON, *J. Amer. chem. Soc.* **46**, 462 (1924).
- [17] W. HOFHEINZ & H. GRISEBACH, *Tetrahedron Letters* **1962**, 377; vgl. auch K. L. RINEHART, JR., «The Neomycins and Related Antibiotics», John Wiley & Sons, Inc., New York 1964.
- [18] A. C. RICHARDSON, *J. chem. Soc.* **1964**, 5364; H. NEWMAN, *J. org. Chemistry* **29**, 1461 (1964); C. H. BOLTON, A. B. FOSTER, M. STACEY & J. M. WEBBER, *J. chem. Soc.* **1967**, 4831; W. HOFHEINZ & H. GRISEBACH, *Tetrahedron Letters* **1962**, 377; P. W. K. WOO, H. W. DION, L. DURHAM & H. S. MOSHER, *Tetrahedron Letters* **1962**, 735.
- [19] A. C. RICHARDSON, *Proc. chem. Soc.* **1967**, 430; W. HOFHEINZ & H. GRISEBACH, *Z. Naturforsch.* **17b**, 355 (1962).
- [20] H. BROCKMANN, E. SPOHLER & T. WAHNELDT, *Chem. Ber.* **96**, 2925 (1963).