

23. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

219. Mitteilung¹⁾

Versuche zur Strukturaufklärung von Niphimycin, 2. Teil. Die Konstitution von Desmalonyl-niphimycin I

von Walter Keller-Schierlein, Beda Joos, Hans-Peter Kaiser und Peter Gassmann

Laboratorium für Organische Chemie der Eidgenössischen Technischen Hochschule, CH-8092 Zürich

(17.XI.82)

On the Structural Elucidation of Niphimycin, Part II. The Constitution of Demalonylniphimycin I

Summary

A stepwise degradation of copiamycin and niphimycin I with ozone and sodium periodate, partly combined with D-labelling, and intense spectroscopic investigations of the degradation products led to the structural formulae **34** for demalonyl-copiamycin (in agreement with the structure proposed by *Iwasaki et al.* for the same antibiotic) and **38** for demalonylniphimycin. The antibiotics copiamycin and niphimycin are half esters of malonic acid and the macrolide polyols **34** and **38**, resp., with uncertain positions of the malonyl residues.

A) Einleitung. – In der vorangehenden Mitteilung [1] wurde gezeigt, dass zahlreiche Produkte eines energischen Abbaus der Niphimycine **Ia** und **Iβ** mit einem makrolidartigen Aufbau der Molekeln aus Essigsäure- und Propionsäure-Einheiten vereinbar sind. Das Antibioticum Copiamycin [2], das wir kürzlich unter dem Namen Niphithricin besser charakterisiert haben [3], gab mit Salpetersäure zur Hauptsache die gleichen Abbauprodukte wie Niphimycin; die Struktur der beiden Antibiotica muss daher über weite Bereiche übereinstimmen. Andererseits ist die Molekel des Niphimycins, $C_{59}H_{103}N_3O_{18}$, um fünf C-Atome grösser als die des Copiamycins, $C_{54}H_{95}N_3O_{17}$, und enthält aufgrund des UV.-Spektrums eine konjugierte Diengruppe [1], während das UV.-Spektrum des Copiamycins [3] für eine α,β -ungesättigte Ester- oder Lactongruppe spricht. Beide Antibiotica besitzen dagegen eine Halbacetalgruppe.

Gezielte Abbauprobe haben wir zum grossen Teil parallel mit Niphimycin und Copiamycin durchgeführt, worüber im folgenden berichtet werden soll. Für das Desmalonyl-copiamycin führten diese Experimente zur gleichen Konstitutions-

¹⁾ 218. Mitteilung s. [1].

formel, die kürzlich auch *Iwasaki et al.* [4] für dieses Antibioticum vorgeschlagen haben. Für das Niphimycin ergaben unsere Untersuchungen ebenfalls eine fast vollständige Konstitutionsformel, in der lediglich noch die genaue Lage eines Malonylrestes ungeklärt bleibt (s. unten). Aus dieser Arbeit ergeben sich auch klar die Gemeinsamkeiten und Unterschiede zwischen Niphimycin und Copiamycin.

Da sich die Niphimycine Ia und Ib offensichtlich nur in der Konfiguration an einer Halbacetalgruppe voneinander unterscheiden [1], wofür nachfolgend weitere Argumente gebracht werden sollen, wurde für die Abbauprobe oft ein Gemisch der beiden (als Niphimycin I bezeichnet) eingesetzt. Das gleiche gilt für die Copiamycine A und B (Niphitricine A und B [3]), die z. T. getrennt, z. T. als Gemisch (Copiamycin) verwendet wurden.

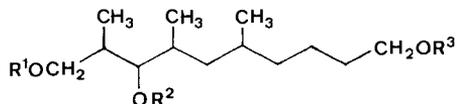
B) Abbau von Niphimycin I mit Ozon. – Nachdem die Ozonolyse von Niphimycin I mit anschließender oxydativer Ozonidspaltung und Veresterung mit Diazomethan nur zu schwer trennbaren Gemischen geführt hatten, spalteten wir ein rohes Ozonid reduktiv mit Natriumborhydrid. Dies führt hauptsächlich zu fünf gut charakterisierbaren *Produkten A-E*, von denen eines mit Chloroform und ein zweites mit Butanol aus der wässrigen Lösung extrahiert werden konnten. Die drei restlichen blieben in Wasser gelöst.

Die chloroformlöslichen Anteile gaben nach der chromatographischen Reinigung ein einheitliches, flüssiges Triol $C_{13}H_{28}O_3$ (*Verbindung A*), das durch ein Triacetylderivat (*A'*) charakterisiert wurde, bei dessen Herstellung in geringer Menge auch ein Monoacetylderivat (*A''*) erhalten wurde. Mit *p*-Brombenzoylchlorid entstand als Hauptprodukt ein Di(*p*-brombenzoesäure)ester (*A'''*).

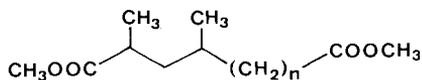
Die Bruttoformel des Triols *A* ($C_{13}H_{28}O_3$, Mol-Gew. 232) ergab sich nicht sofort aus dem Massenspektrum, denn der überragende Pik im Bereich von M^+ mit m/z 233 erwies sich später als dem Quasimolekular-Ion $(M+1)^+$ zugehörig. Hingegen sind die NMR.-Spektren der *Verbindung A* und die NMR.- und Massen-Spektren der *Derivate A'* bis *A'''* mit keiner anderen Bruttoformel vereinbar. Das ^{13}C -NMR.-Spektrum zeigt 13 Signale, von denen 3 Methyl-C-Atomen entsprechen (13,1, 13,6, 20,0 ppm). Vier Triplette zwischen 23 und 41 ppm werden CH_2 -Gruppen innerhalb einer Kohlenstoffkette zugeordnet. Drei Dublette in derselben Gegend sind den C-Atomen der Kettenverzweigungen zuzuordnen. Ferner enthält die Molekel zwei primäre und eine sekundäre Alkoholgruppe (Signale von 62–78 ppm). Mit dieser Interpretation ist das 1H -NMR.-Spektrum bestens vereinbar, das zudem zeigt, dass die drei C-Methylgruppen sekundär gebunden sind (Dublette bei 0,79, 0,84 und 0,85 ppm). Das Signal des Protons neben der sekundären Hydroxylgruppe bei 3,42 ppm ist ein Doppeldublett mit Kopplungskonstanten von 9 und 3 Hz, das zeigt, dass diese Hydroxylgruppe beidseits von Kettenverzweigungen flankiert ist. Von den CH_2 -Signalen der primären Alkoholgruppen ist eines bei 3,60 ppm ein Triplet (CH_2CH_2OH), das andere bei 3,65 ppm der *AB*-Teil eines *ABX*-Spektrums, das zeigt, dass diese zweite Alkoholgruppe einer Kettenverzweigung benachbart ist ($CH(CH_3)CH_2OH$). Noch klarer sind diese Beziehungen in den Spektren der *Derivate A'* bis *A'''* zu erkennen, da dort die entsprechenden Signale z. T. weiter voneinander entfernt sind (s. *Exper. Teil*).

Die vollständige Strukturformel für das Triol ergab sich aus seinem Abbau mit

Salpetersäure: Das mit Diazomethan veresterte Oxydationsgemisch enthielt gemäss Kapillar-GC. und GC.-MS. neben Oxalsäure-, Bernsteinsäure- und Glutarsäuredimethylester und den einfach verzweigten Methylbernsteinsäure-, 1-Methyl- und 2-Methyladipinsäuredimethylester vor allem auch die doppelt verzweigten 2,4-Dimethyladipinsäure- (5), 2,4-Dimethylpimelinsäure- (6) und 2,4-Dimethylkorksäuredimethylester (7), lauter Abbauprodukte, die auch bei der Salpetersäureoxydation von Niphimycin I erhalten worden waren [1]. Mit der Bildung der Ester 5, 6 und 7 ist nur die Konstitutionsformel **1** (1,3,10-Trihydroxy-2,4,6-trimethyldecan) für das Triol $C_{13}H_{28}O_3$ vereinbar. Den Verbindungen A' , A'' und A''' kommen entsprechend die Formeln **2**, **3** und **4** zu.



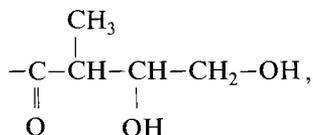
- 1** $R^1 = R^2 = R^3 = H$
2 $R^1 = R^2 = R^3 = CH_3CO$
3 $R^1 = R^2 = H, R^3 = CH_3CO$
4 $R^1 = R^3 = p\text{-}BrC_6H_4CO, R^2 = H$
10 $R^1 = R^3 = H, R^2 = HOCH_2CO$
11 $R^1 = R^3 = CH_3CO, R^2 = CH_3COOCH_2CO$
12 $R^1 = HOCH_2CO, R^2 = R^3 = H$
13 $R^1 = CH_3COOCH_2CO, R^2 = R^3 = CH_3CO$



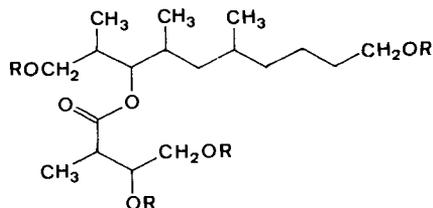
- 5** $n = 1$ **6** $n = 2$ **7** $n = 3$

Der Butanolauszug des rohen Abbaugemisches enthielt neben einer kleineren Menge **1**, das durch Chromatographie abgetrennt wurde, vor allem eine flüssige Verbindung (*Verbindung B*), die gemäss IR.-Spektrum ein Ester war, der sich mit methanolischer Salzsäure zum Triol **1** spalten liess. Im 1H -NMR.- und ^{13}C -Spektrum waren alle Signale von *Verbindung B* wieder erkennbar, mit dem Unterschied, dass das Signal von $H-C(3)$ nach 4,85 ppm verschoben war. Dies legt für *Verbindung B* die Stellung des Acylrestes an $O-C(3)$ fest. Die Natur dieses Acylrestes ergab sich aus folgenden Beobachtungen: Mit Essigsäureanhydrid bildet sich aus *Verbindung B* ein Tetraacetylderivat (*Verbindung B'*). Im Acylrest müssen demnach zwei acetylierbare Hydroxylgruppen enthalten sein. Die nicht dem Triol-Teil angehörenden NMR.-Signale sind diejenigen einer zusätzlichen sekundären

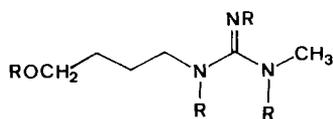
Methylgruppe, welche aufgrund der chemischen Verschiebung im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (1,22 ppm) in α -Stellung zur Carbonylgruppe liegen muss, sowie je ein Signal einer zusätzlichen sekundären und einer weiteren primären Alkoholgruppe ($^{13}\text{C-NMR}$). Spinentkopplungsversuche, die mit dem Tetraacetat B' durchgeführt wurden (s. Exper. Teil), ergaben die Sequenz



wodurch für die Verbindungen B und B' die Konstitutionen **8** bzw. **9** bewiesen werden.



8 R = H **9** R = CH₃CO

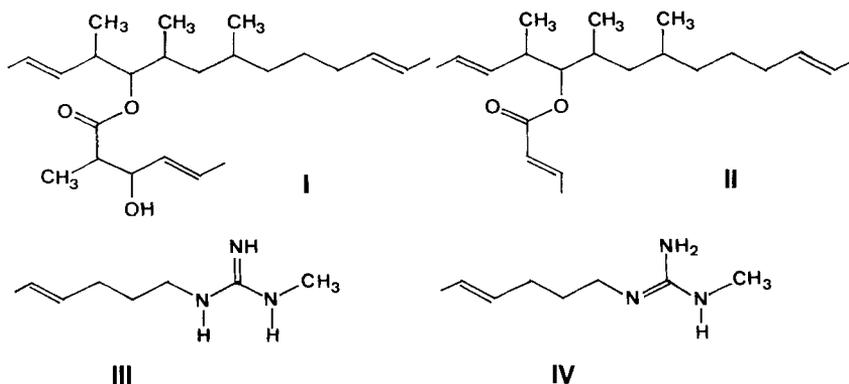


14 R = H **15** R = CH₃CO

Ein gleichartiger Abbau, der mit Copiamycin A und Copiamycin B getrennt durchgeführt wurde, gab in den chloroformlöslichen Anteilen nicht das 1,3,10-Trihydroxy-2,4,6-trimethyldecan (**1**), sondern einen Ester dieses Triols, der aber vom Ester **8** verschieden war. Der chromatographisch gereinigte Ester war gemäss DC. einheitlich. Erst die NMR.-Spektren zeigten, dass ein Gemisch zweier isomerer Ester (**10** und **12**; Verhältnis 3:1 beim Copiamycin B, 1:1 beim Copiamycin A) vorlag. Die Acetylierung des Gemischs gab ein Gemisch der beiden Triacetyl-derivate **11** und **13**, das im DC. ebenfalls nur einen Fleck gab und nicht weiter aufgetrennt werden konnte.

Die Methanolyse des Estergemischs **10/12** gab das einheitliche Triol **1**, das in allen Eigenschaften, auch in der optischen Drehung, mit demjenigen aus dem Abbau des Niphimycins übereinstimmte. Als zweites Methanolyseprodukt wurde Glykolsäuremethylester gefasst und als kristalliner 3,5-Dinitrobenzoesäureester identifiziert. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Estergemischs aus Copiamycin B zeigt durch die chemischen Verschiebungen an, dass bei der Hauptkomponente (**10**) die sekundäre Alkoholgruppe von **1** mit Glykolsäure verestert ist, bei der Neben-

komponente (**12**) dagegen eine der primären. Es ist höchst unwahrscheinlich, dass die Copiamycine A und B aus je zwei molekularen Spezies mit verschiedener Lage der Lactongruppe bestehen. Von den beiden Estern **10** und **12** ist demnach der eine durch eine Acylwanderung aus dem andern entstanden. Hinweise dafür, dass der Ester **10** der ursprünglichen Lage entspricht, wurden durch einen Äquilibrierungsversuch erbracht. Ein (1:1)-Gemisch von **10** und **12** (aus dem Abbau von Copiamycin A) wurde in Dimethylsulfoxid mit *p*-Toluolsulfonsäure 16 Std. gerührt. Nach der Aufarbeitung lagen die beiden Ester gemäss ¹H-NMR.-Spektrum im Verhältnis 1:3 vor. Im Gleichgewicht herrscht der primäre Ester gegenüber dem sekundären demnach klar vor. Obwohl der Äquilibrierungsversuch unter anderen Bedingungen durchgeführt wurde als die Ozonidspaltung und anschliessende Aufarbeitung, darf vermutet werden, dass in den Abbaugemischen der Gleichgewichtszustand noch nicht erreicht ist und somit der Ester **10** der ursprünglichen Lage der Lactongruppe im Copiamycin entspricht. Aus den ¹H-NMR.-Spektren der Copiamycine [3] geht zudem deutlich hervor, dass deren Lactonring mit einer sekundären Alkoholgruppe geschlossen wurde (s. unten). Ein weiterer Anhaltspunkt für die ursprüngliche Lage des O-Acylrestes in Stellung 3 von **10** besteht in der Analogie zum Niphimycin, bei dem nur ein einziger Ester, und zwar derjenige mit dem Acylrest in Stellung 3 (**8**) erhalten wurde. Für Niphimycin I lässt sich somit eine Teilformel I, für Copiamycin eine Teilformel II schreiben.



Aus den wasserlöslichen Anteilen des Ozonolysegemisches aus Niphimycin, in denen durch DC. drei Hauptbestandteile nachweisbar waren, wurde zunächst durch Chromatographie an *Sephadex* eine N-haltige Base (*Verbindung C*) abgetrennt. Nach der Chromatographie an *Amberlite CG-50* mit verd. Essigsäure wurde zunächst das kristalline Acetat erhalten und dann mit *Dowex 1* in die freie Base übergeführt. Ihre Konstitution als 1-(4'-Hydroxybutyl)-3-methylguanidin (**14**) ergab sich weitgehend aus den Spektren. Ein ¹³C-NMR.-Signal des Acetats von **14** bei 158,1 ppm (s) ist charakteristisch für ein Guanidinium-C-Atom, ein Triplett bei 62,1 ppm für eine primäre Alkoholgruppe. Ein Quartett bei 28,23 ppm ist der *N*-Methylgruppe zuzuschreiben, und die Triplette bei 26,4, 30,4 und 42,2 ppm gehören zu den restlichen drei CH₂-Gruppen. Ferner erkennt man die beiden Signale des Acetat-Anions bei 24,4 (*qa*) und 180,3 (*s*) ppm. Die ¹H-NMR.-Signale

des Acetats und der freien Base bestätigen diese Interpretation. Die *N*-Methylgruppe gibt ein Singulett bei 2,54 ppm, die O-CH₂-Gruppe ein Multiplett bei 3,4 ppm, die N-CH₂-Gruppe ein solches bei 2,92 ppm und die restlichen CH₂-Gruppen ein Multiplett (4 H) bei 1,4 ppm.

Die Base **14** gibt mit Essigsäureanhydrid und Pyridin langsam (3 Tage) ein Tetraacetylderivat (**15**), das aber instabil ist und sich beim Chromatographieren teilweise zersetzt. Es konnte daher nur in mässiger Ausbeute rein erhalten werden. Beim Stehenlassen in Methanol wird es innerhalb 24 Stunden zum Acetat der Base **14** (DC.-Evidenz).

Ein synthetisches Vergleichspräparat von **14** wurde aus 4-Aminobutanol mit 2-*S*-Äthyl-3-methylthioharnstoff-hydrobromid [5] hergestellt. Sowohl die synthetische freie Base **14** als auch deren Acetylierungsprodukt **15** stimmten mit den entsprechenden Abbauprodukten aus Niphimycin I in allen Eigenschaften überein.

Schliesslich wurde beim Abbau von Copiamycin A unter ähnlichen Bedingungen ebenfalls das Guanidin **14** erhalten. Für Niphimycin I wie auch für Copiamycin gilt demnach eine weitere Teilstruktur **III** (die hier und in der Folge benützten Teilstrukturen überlappen sich an den Doppelbindungen).

In den ¹H-NMR.-Spektren der Niphimycine [1] und der Copiamycine [3] in D₆ (DMSO) fällt auf, dass die Signale der *N*-Methylgruppen Dublette sind, während sie in CD₃OD als Singulette erscheinen. Dies bestätigt die Teilformel **III** (oder das tautomere **IV**) als Endgruppe einer Seitenkette am Makrolidring.

In den nach der Abtrennung der Base **14** verbleibenden wasserlöslichen Anteilen des Abbaugemisches verblieben noch zwei Verbindungen *D* und *E*, die durch DC. gerade noch getrennt werden konnten, aus *Kieselgel*- oder *Sephadex LH-20*-Säulen aber immer als Gemisch eluiert wurden. Eine recht gute Trennung in die *Verbindung D* und *E* gelang schliesslich durch Tröpfchen-Gegenstromchromatographie und anschliessendes Umkristallisieren aus Methanol/Aceton.

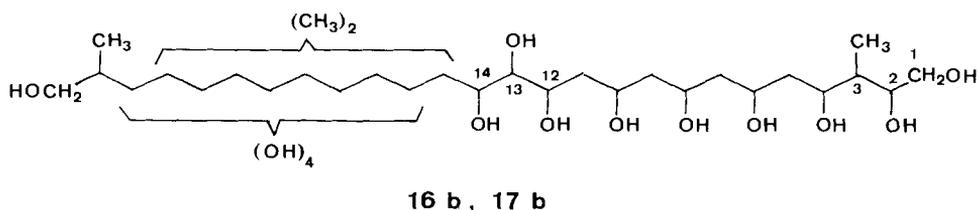
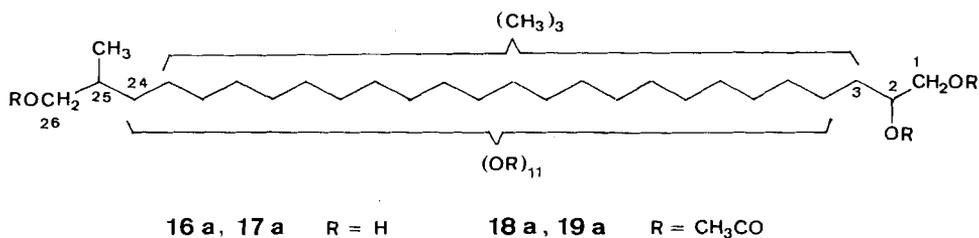
Verbindung D (Smp. 168° und R_f 0,21 (Butanol/AcOH/H₂O 67:10:23)) gab Mikroanalysen, die auf die Bruttoformel C₃₀H₆₂O₁₄ passen, wenn man annimmt, dass die Kristalle 0,5 mol Wasser enthalten. Mit dieser Bruttoformel vereinbar ist auch das Massenspektrum des *Acetylierungsproduktes D'*, wobei der massenhöchste Pik bei *m/z* 1174 durch Abspaltung von Essigsäure aus dem instabilen Molekel-Ion C₅₈H₉₀O₂₈ (1234, Tetradecaacetylderivat) zustandekommt.

Von den 26 erkennbaren Signalen im ¹³C-NMR.-Spektrum der *Verbindung D* gehören vier gemäss ihrer Intensität je zwei C-Atomen an (40,9, 42,7, 45,5 und 74,3 ppm), eines davon (42,7 ppm) wird zudem bei *off-resonance*-Einstrahlung in ein Dublett und ein Triplet aufgespalten. Insgesamt können die Signale vier C-Methylgruppen (gemäss ¹H-NMR. alle sekundär gebunden), acht Methylengruppen, vier Methin-C-Atomen, zwei primären und zwölf sekundären Alkoholgruppen zugeordnet werden. Im *Acetylderivat D'* geben die Acetylgruppen sowohl im ¹H-NMR.- als auch im ¹³C-NMR.-Spektrum stark überlappende Signale. Im ¹H-NMR. ist das Integral über alle Acetylprotonen vereinbar mit der Anwesenheit von 14 Acetylgruppen. Anzeichen von Protonen neben Äther-O-Atomen sind nicht vorhanden, so dass offenbar alle vierzehn O-Atome der *Verbindung D* acetylierbaren Hydroxylgruppen angehören.

Im *Acetylderivat D'* bilden die $^1\text{H-NMR}$ -Signale der beiden CH_2OAc -Gruppen ein Dublett (2 H) bei 3,98 ppm und den *AB*-Teil eines *ABX*-Systems bei 4,03 und 4,37 ppm. Beide Gruppen sind demnach Methingruppen benachbart. Da aus biogenetischen Überlegungen (s. unten) zu erwarten ist, dass alle Methylgruppen an ungeradzahigen C-Atomen der Kette liegen, die sekundären Hydroxylgruppen dagegen vorwiegend an C-Atomen mit geraden Nummern, können wir für das *Abbauprodukt D* eine erste teilweise aufgelöste Formel **16 a** schreiben.

Das letzte rein isolierte *Abbauprodukt (Verbindung E)* und sein *Acetylderivat (Verbindung E')* sind in ihren analytischen und spektroskopischen Eigenschaften den *Abbauprodukten D* bzw. *D'* ausserordentlich ähnlich. Offensichtlich ist *Verbindung E* zum Polyol **16 a** diastereomer und kann durch die gleiche vorläufige Formel **17 a** wiedergegeben werden. Dies wird dadurch bewiesen, dass beim Abbau von *D* und *E* mit Natriumperjodat die gleichen Spaltprodukte entstehen (s. *Abschnitt C*). Die Bildung von zwei Diastereomeren ist damit zu erklären, dass in diesem Bereich ursprünglich die Halbacetalgruppe lag, die gleichzeitig mit der Reduktion der Ozonidgruppen in nicht stereospezifischer Weise reduziert wird.

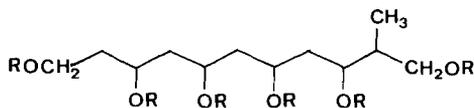
Aus den Ozonolyseprodukten des Copiamycins wurden als letzte *Abbauprodukte* aus den wasserlöslichen Anteilen ebenfalls die beiden Tetradecahydroxy-tetramethylhexacosane **16 a** und **17 a** isoliert. Die Übereinstimmung beruht nicht nur auf dem dünn-schichtchromatographischen Verhalten sowie den IR-, $^1\text{H-NMR}$ - und $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren, sondern wurde erhärtet durch identische Produkte des weiteren Abbaus, die im nachfolgenden Abschnitt beschrieben werden. Die Halbacetal-C-Atome von Niphimycin und Copiamycin müssen demnach ebenfalls an einander entsprechenden C-Atomen liegen. Die nahe Verwandtschaft der beiden Antibiotica wird somit durch die Übereinstimmung dieses 30 C-Atome umfassenden Molekelteils noch verstärkt.

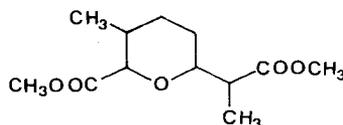
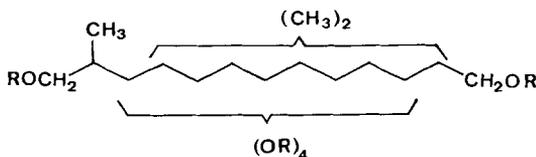


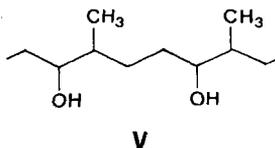
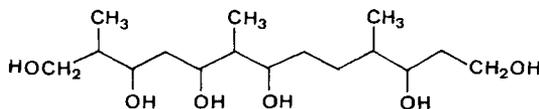
C) Die Struktur der Tetradecahydroxy-tetramethylhexacosane 16 a und 17 a. – Das *Abbauprodukt D* verbrauchte bei der Oxydation mit Natriumperjodat 3 mol Oxydationsmittel. Mit der Chromotropsäuremethode [6] liess sich 1 mol

Formaldehyd nachweisen, der offensichtlich vom endständigen C-Atom (C(1)) des Polyols **16a** stammt. Im präparativen Versuch wurde das rohe Aldehydgemisch mit Natriumborhydrid reduziert und die beiden durch DC. nachweisbaren *Produkte* *F* und *G* durch Chromatographie an Kieselgel getrennt.

Verbindung F konnte aus Methanol/Aceton umkristallisiert werden. Die Mikroanalyse passte auf die Formel $C_{12}H_{26}O_6$. Im EI-MS. herrscht das Quasimolekular-Ion $(M+1)^+$ mit m/z 267 gegenüber M^+ stark vor²⁾. Im ^{13}C -NMR. erkennt man zwölf Signale, die zu einer Methylgruppe, vier Methylen-C-Atomen innerhalb der Kohlenstoff-Kette, einem Methin-C-Atom, zwei primären und vier sekundären Alkohol-C-Atomen gehören. Das 1H -NMR. bestätigt das Vorhandensein einer einzigen, sekundär gebundenen Methylgruppe. Da in diesem Abbauprodukt keine 1,2-Diolgruppen vorliegen können (Abbau mit Perjodat), ergibt sich zwangsläufig die Verteilung der Hydroxylgruppen gemäss der Konstitutionsformel **20** (1,3,5,7,9,11-Tetrahydroxy-2-methylundecan). Die Lage der Methylgruppe an C(2) ergibt sich aus den Signalen der CH_2O -Protonen im 1H -NMR.-Spektrum, die als ein Triplet (2 H) bei 3,68 ppm und als *AB*-Teil eines *ABX*-Spektrums bei 3,41 und 3,60 ppm erscheinen und auch im Spektrum des *Acetyl*derivates *F'* gut zu erkennen sind.


20 R = H

22 R = CH_3CO

24

21 a R = H

23 a : R = CH_3CO

V

21 b

Verbindung G wurde als dünnschichtchromatographisch einheitliches Öl erhalten und durch sein *Acetyl*derivat *G'* weiter charakterisiert. Wiederum entspricht der prominente Pik im Bereich des Molekular-Ions bei m/z 323 dem Ion $(M+1)^+$ ($C_{16}H_{35}O_6$). Die NMR.-Spektren zeigen, dass die *Verbindung G* drei sekundär

²⁾ Die gleiche Beobachtung wurde bei einer Reihe weiterer Polyhydroxyverbindungen gemacht (s. unten und *Exper. Teil*).

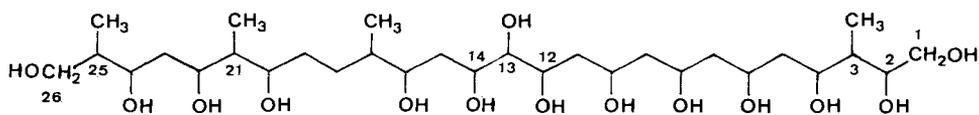
gebundene C-Methylgruppen, vier Methylengruppen, drei Methingruppen, zwei primäre und vier sekundäre Alkoholgruppen enthält und somit durch die Teilformel **21a** wiedergegeben werden kann. Die Anzahl der möglichen Lagen der Substituenten wird durch folgende Überlegungen stark eingeschränkt: Da die Verbindung durch eine Oxydation mit Natriumperjodat entstanden ist, können nicht 2 OH-Gruppen an benachbarten C-Atomen stehen; eine Übersicht über die bisher diskutierten Ozonolyseprodukte zeigt, dass die 2-(6'-Carboxy-5'-methyl-2'-tetrahydropyran)propionsäure (**24**), die wir als Produkt der Oxydation von Niphimycin mit Salpetersäure nachgewiesen haben [1], nur aus diesem Bereich der Molekel stammen kann. Tatsächlich konnte der Dimethylester von **24** neben anderen Produkten, die schon beim Abbau von Niphimycin erhalten worden waren [1], wieder mittels Kapillar-GC. nachgewiesen werden, nachdem kleine Mengen der *Verbindung D* oder *G* mit Salpetersäure oxydiert und das Säuregemisch mit Diazomethan behandelt wurde. Die Strukturformel der *Verbindung G* muss demnach die Teilformel **V** enthalten, was noch auf vier Arten möglich ist, darunter diejenige gemäss der Formel **21b** (1, 3, 5, 7, 11, 13-Hexahydroxy-2, 6, 10-trimethyltridecan), die sich durch ein im nächsten Abschnitt zu beschreibendes Abbauprodukt des Copiamycins als die richtige erweisen wird. Mit der Konstitutionsformel **21b** sind ferner die Signale der CH₂O-Protonen im ¹H-NMR.-Spektrum des *Acetylderivates G'* gut vereinbar. Sie erscheinen bei 300 MHz als Dublett (2 H, *J*=6; H₂C(1)) bzw. als Triplet (2 H, *J*=7; H₂C(13)) bei 3,97 und 4,04 ppm. Trotz teilweiser Überlappung sind die Signalformen gut erkennbar.

Beim Abbau der *Verbindung F* zu Formaldehyd und den beiden Hexahydroxyverbindungen **20** und **21a** ist ein C-Atom nicht erfasst worden. Die Annahme, dass dieses C-Atom als Ameisensäure abgespalten wurde und somit einer 1,2,3-Triolgruppe entstammt, ist naheliegend.

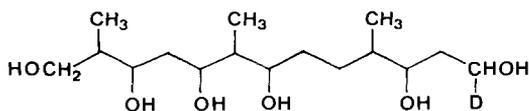
Die gleichen beiden *Abbauprodukte F* und *G* wurden auch erhalten, wenn das zu **16a** stereoisomere Polyol **17a** mit Perjodat abgebaut wurde. Die beiden Diastereomeren **16a** und **17a** unterscheiden sich demnach in der Konfiguration an einem der C-Atome, die beim Abbau als C₁-Bruchstücke verlorengehen oder in den Abbauprodukten als primäre Alkoholgruppen erscheinen.

Die Art und Weise, wie die *Abbauprodukte 20, 21a* Formaldehyd und Ameisensäure zu den C₃₀-Polyolen **16a** und **17a** zusammenzufügen sind, konnte teilweise durch einen markierenden Abbau aufgeklärt werden. Die Spaltung der Polyhydroxyverbindung **16a** mit Natriumperjodat und anschliessende Reduktion mit Natriumbordeuterid gab deuteriumhaltige Derivate der *Abbauprodukte 20* und **21a**, nämlich das *Monodeuterioderivat H* und die zweifach deuterierte *Verbindung I*. Die *Verbindung H* gab im MS. den Pik des Quasimolekular-Ions (*M*+1)⁺ bei *m/z* 324 gegenüber 323 bei **21a**. Hinweise auf die Lage des D-Atoms an C(13) geben einige prominente Fragment-Ionen: So zeigt ein Vergleich der MS. der *Verbindungen A* und **21a**, dass intensive Pike bei 259, 241 und 223 bei beiden übereinstimmen. Diese drei Fragmente sind als Produkte der Abspaltung von einem, zwei und drei Molekeln Wasser aus einem nicht in Erscheinung tretenden Primär-Ion mit *m/z* 277 zu deuten, das bei der Spaltung zwischen C(11) und C(12) zu erwarten wäre. Dagegen sind Pike von **21a** bei 227 und 209 beim deuterierten *Derivat H* nach 228 bzw. 210 verschoben. Diese Ionen sind aus einem Primärfragment mit

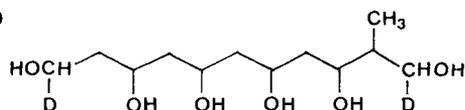
m/z 264 durch Verlust von zwei bzw. drei Molekeln Wasser zu deuten. Ein Ion mit m/z 264 ist durch Spaltung zwischen C(2) und C(3) der *Verbindung H* zu erwarten. Die sehr intensiven Pike bei m/z 173 und 155, die bei beiden Verbindungen an der gleichen Stelle erscheinen und demnach ebenfalls vom linken, nicht markierten Teil stammen, sind Dehydratisierungsprodukte eines Ions 191, das die C-Atome 1 bis 6 mit den zugehörigen Substituenten umfasst. Die intensivsten Pike der Spektren bei 143 und 125 Masseneinheiten dagegen leiten sich von einem Primär-Ion mit m/z 161 ab (Verlust von 1 bzw. 2 H_2O), das durch Spaltung zwischen C(6) und C(7) von beiden Hälften her stammt und somit für unsere Diskussion nicht relevant ist. Einen weiteren Hinweis für die Lage des D-Atoms an C(13) gibt das 1H -NMR. der *Verbindung H* (300 MHz), das den *AB*-Teil eines *ABX*-Spektrums ($J_{AB} = 11$, $J_{AX} = 6,5$, $J_{BX} = 6$) bei 3,52 und 3,60 ppm (je 1 H) zeigt, der der unveränderten CH_2 -Gruppe an C(1) zugeordnet werden muss. Dagegen ist das Integral des Triplets von H-C(13) bei 3,70 ppm auf 1 H-Atom reduziert. Der *Verbindung H* kommt demnach die Konstitutionsformel **25** zu.



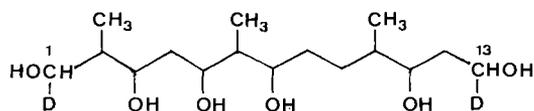
16 c , 17 c



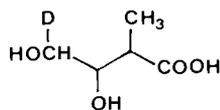
25



26



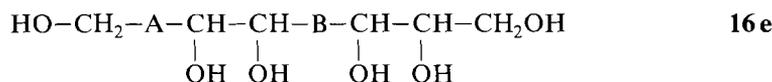
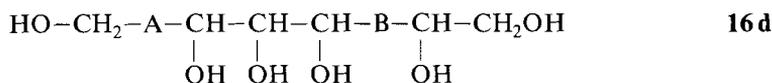
27



28

Das zweite Spaltstück aus dem markierenden Abbau von **16a**, die *Verbindung I*, zeigt den ($M + 1$)-Pik bei 269 gegenüber 267 beim unmarkierten **20**. Dass die beiden D-Atome an den primären Alkoholgruppen liegen und die *Verbindung I* demnach die Konstitutionsformel **26** besitzt, zeigt sich am besten aus dem 1H -NMR.-Spektrum, das für H-C(1) zwei Dublette à 0,5 H bei 3,45 und 3,60 ppm zeigt, da es sich um ein Gemisch von Diastereomeren in bezug auf die räumliche Lage der D-Atome handelt. Die Triplette von H-C(11) liegen dagegen nahe beisammen (3,67 und 3,68 ppm) und werden erst im gedehnten Spektrum knapp aufgelöst. Der Bereich von 3,9 bis 4,2 ppm (4 H), der den Protonen neben sekundären OH-Gruppen zuzuordnen ist, zeigt gegenüber dem Spektrum von **20** dagegen kaum eine Veränderung.

Die Entstehung der beiden markierten *Verbindungen H* und *I* aus **16a** kann durch eine der folgenden abgekürzten Formeln von **16a** erklärt werden:



Die Anordnung **16e** würde aber zu einer Verteilung der Methylgruppen an der Kohlenstoffkette führen, die dem allgemeinen biogenetischen Schema für den Polyketid-Aufbau der Makrolide aus Essigsäure- und Propionsäure-Einheiten nicht gerecht würde. Dass dieses Aufbauschema auch für Makrolide gilt, die dem Niphimycin nahe verwandt sind, wurde kürzlich am Beispiel des Azalomycins F_{4a} experimentell bewiesen [7]. Demnach verdient die Anordnung **16d** den Vorzug.

Ungeklärt bleibt durch diesen Abbau die Lage einer Methylgruppe an C(3) oder C(11) von Verbindung **16a** (Beide diese Stellen können C(2) von **20** entsprechen). Sie wird sich aus den $^1\text{H-NMR}$. eines Abbauproduktes ergeben, das im nachfolgenden Abschnitt besprochen werden wird. Das Ergebnis ist in der Formel **16c** vorweggenommen.

Wenn das rohe Ozonid von Niphimycin mit Natriumbordeuterid markierend gespalten wurde, wurden Derivate dreifacher Markierung erhalten, die als $(\text{D}_3)\mathbf{16a}$ und $(\text{D}_3)\mathbf{17a}$ bezeichnet werden können. Im $^{13}\text{C-NMR}$. von $(\text{D}_3)\mathbf{16a}$ mit Breitbandenentkopplung sind die beiden Signale der primären Alkohol-C-Atome bei 64,3 und 64,6 ppm sowie dasjenige eines sekundären C-Atoms bei 71,5 ppm durch C, D-Kopplung aufgespalten, die übrigen Signale sind unverändert.

Bei der anschliessenden Spaltung mit Natriumperjodat und Reduktion mit Natriumborhydrid wurde das 1,3,5,7,9,11-Hexahydroxy-2-methylundecan (**20**) erwartungsgemäss in unmarkierter Form erhalten. Hingegen war das 1,3,5,7,11,13-Hexahydroxy-2,6,10-trimethyl-tridecan jetzt doppelt markiert entsprechend Formel **27**, und zeigt im MS. den $(M+1)$ -Pik bei 327 Masseinheiten. Da das D-Atom an C(1) von **27** gemäss dem früheren Abbau die Lage einer Doppelbindung im Niphimycin markiert, ist die Gruppe $\text{HO}-\text{C}(13)\text{DH}$ durch deuterierende Reduktion der Halbacetalgruppe entstanden und legt damit diese Gruppe im Niphimycin und Copiamycin fest. Dem Atom C(13) in **27** entspricht C(14) in den Abbauprodukten **16a** und **17a**, das demnach der Sitz des Diastereomeriezentriums dieser beiden Verbindungen ist.

Im Verlauf dieses Abbaus wurden auch das 1,3,10-Trihydroxy-2,4,6-trimethyl-decan (**1**), sowie das 1-(4'-Hydroxybutyl)-3-methylguanidin (**14**) in der Form deuterierter Derivate erhalten. Das Derivat von **1** enthielt 2 D-Atome, denn im $^{13}\text{C-NMR}$. waren bei Breitbandentkopplung die Signale der beiden primären Alkohol-C-Atome bei 68,4 und 62,6 ppm durch C, D-Kopplung aufgespalten und wurden bei *off-resonance*-Einstrahlung zu Doppeltripletten. Alle anderen Signale

waren gleich wie bei der unmarkierten Verbindung. Im $^1\text{H-NMR}$. war das Doppel-dublett bei 3,43 ppm (CHOH) unverändert vorhanden, während das Integral des Signalhaufens bei ca. 3,68 ppm auf zwei H-Atome reduziert war.

Beim Deuteriumderivat des Guanidins **14**, das nach der Ionenaustauscher-Chromatographie wieder als kristallines Acetat erhalten wurde, war gegenüber der unmarkierten Verbindung nur das Signal des primären Alkohol-C-Atoms bei 61,8 ppm zu einem Triplett aufgespalten. Das Abbauprodukt ist demgemäss ein Monodeuterio-Derivat mit der Markierung an der primären Alkoholgruppe. Dementsprechend war im $^1\text{H-NMR}$. das Triplett des Protons an dieser Gruppe bei 3,52 ppm auf ein H-Atom reduziert, und im MS. gab das Molekular-Ion einen Pik bei 146 Masseneinheiten.

Als weiteres Abbauprodukt wurde die $[4\text{-}^2\text{H}]$ -3,4-Dihydroxy-2-methylbutan-säure (**28**) isoliert, die beim unmarkierten Abbau in Form des Esters **8** erhalten worden war. Im Massenspektrum ist kein Molekel-Ion erkennbar, dagegen lag der Pik des Decarboxylierungsproduktes bei m/z 91 entsprechend der Zusammensetzung $\text{C}_4\text{H}_9\text{DO}_2$. Im breitbandentkoppelten $^{13}\text{C-NMR}$.-Spektrum liegt das Signal des primären Alkohol-C-Atoms bei 65,1 ppm als Triplett vor, während das Signal des sekundären Alkohol-C-Atoms erst bei der *off-resonance* Einstrahlung zu einem Dublett wird. Durch diese Befunde wird die frühere Annahme, dass alle primären Hydroxylgruppen der Ozonolyseprodukte durch Reduktion von Ozonidgruppen entstanden sind, bewiesen.

D) Oxydation von Copiamycin mit Perjodat und alkalische Hydrolyse. – In den vorhergehenden Abschnitten waren einzelne Ergebnisse des nachfolgenden Abbaus vorweggenommen worden. So sind für das Abbauprodukt **21** ausser der in Formel **21b** wiedergegebenen Verteilung der Substituenten noch drei weitere möglich, die zu der Teilformel **V** nicht im Widerspruch stehen. In den Formeln **16c** und **17c** ist vorwegnehmend eine Methylgruppe an C(3) eingezeichnet, deren alternative Lage an C(11) bisher nicht ausgeschlossen werden konnte. Diese Unsicherheiten konnten durch den nachfolgenden Abbau des Copiamycins beseitigt werden.

Aufgrund der bisherigen Ergebnisse war zu erwarten, dass unter der Einwirkung von Natriumperjodat der Lactonring des Copiamycins einzig an der Triolgruppierung entsprechend den C-Atomen C(12), C(13) und C(14) des Abbauproduktes **16a** unter Verlust eines C-Atoms gespalten würde. Durch anschliessende Hydrolyse der Estergruppe, die der ursprünglichen Lactongruppe entsprach, sollte es möglich sein, das gesamte Makrolidskelett des Antibiotieums (mit Ausnahme des mittleren C-Atoms der Triolgruppe) in Form zweier grösserer Bruchstücke zu fassen. Das der ursprünglichen Halbacetalgruppe entsprechende C-Atom sollte in einem der Bruchstücke als Carboxylgruppe vorhanden sein.

Das Hauptprodukt der Spaltung von Copiamycin mit Natriumperjodat und der anschliessenden Reduktion der Keton- und Aldehydgruppen mit Natriumborhydrid (*Verbindung J*) konnte nach mehrmaliger Tröpfchen-Gegenstromchromatographie als dünn-schichtchromatographisch einheitliches farbloses Pulver erhalten werden. Aus einer breiten IR.-Bande bei $3600\text{--}2600\text{ cm}^{-1}$ und dem pK -Wert ($\text{pK}_{\text{MCS}}^* = 6,01$) geht die Carbonsäurenatur des Produktes hervor, wogegen die Carbonylregion des IR.-Spektrums nur eine breite unsymmetrische Bande bei $1630\text{--}1720\text{ cm}^{-1}$

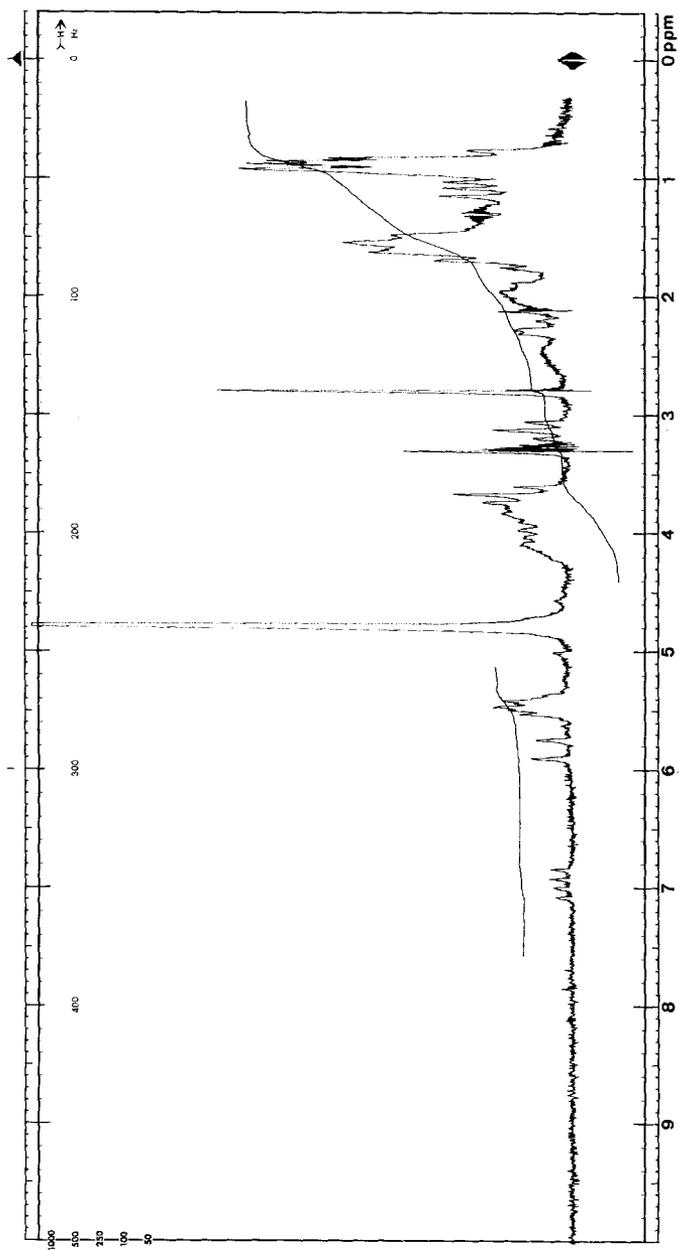


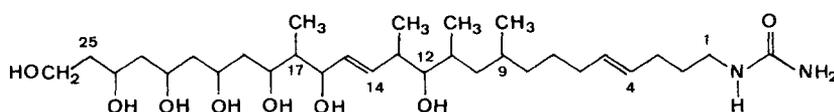
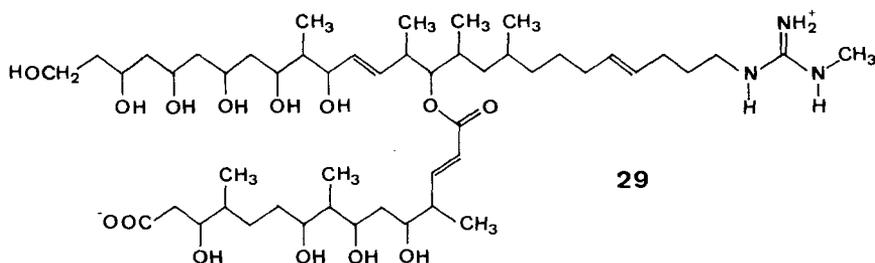
Fig. 1. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (100 MHz, CD_3OD) von **29** (Spaltungsprodukt von Copiamycin mit Natriumperoxid)

zeigt, die offenbar die Guanidino- und die Esterbande umfasst, während eine Bande bei 1575 cm^{-1} der Carboxylatgruppe zugeschrieben werden kann.

Die Mikroanalyse passt auf eine Bruttoformel $\text{C}_{50}\text{H}_{93}\text{N}_3\text{O}_{14} \cdot \text{H}_2\text{O}$, die durch das FAB-MS. ($(M+1)^+ = 960$) gestützt wird. Ausser dem mittleren C-Atom der Triolgruppe ist demnach bei diesem Abbau noch ein weiteres, drei C-Atome umfassendes Stück verlorengegangen, über das im *Abschnitt F* noch die Rede sein wird. Die Anwesenheit einer *N*-Methylgruppe ergibt sich aus einem Singulett (3 H) bei 2,80 ppm im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (s. *Fig. 1*). Eine zur Estergruppe konjugierte Doppelbindung lässt sich durch ein Dublett ($J = 15$) bei 5,84 ppm und ein Doppeldublett ($J = 15$ und 8) bei 6,97 ppm erkennen. Vier Protonen an zwei isolierten Doppelbindungen geben ein schlecht aufgelöstes Multiplett bei 5,44 ppm.

Dass in diesem Abbauprodukt nahezu alle C-Atome des Copiamycins enthalten sind, ergibt sich auch aus dem $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum, das noch immer Signale von sieben C-Methylgruppen, sechs olefinischen C-Atomen (alle Dublette bei *off-resonance*-Einstrahlung), sowie zahlreichen CH_2 , HC- und CHO-Gruppen aufweist. Ein auffälliger Unterschied zum Spektrum des Copiamycins besteht im Fehlen des Halbacetalsignals bei *ca.* 100 ppm, ein Beweis dafür, dass diese Gruppe am Angriff durch das Perjodat beteiligt ist.

Die alkalische Hydrolyse von *Verbindung J* gab zwei *Hauptprodukte* (*K* und *L*) die durch Chromatographie getrennt und gereinigt werden konnten. Das erste davon (*Verbindung K*) enthielt gemäss $^{13}\text{C-NMR}$ - (vier Dublette bei 130,6, 132,3, 133,6 und 136,8 ppm) und $^1\text{H-NMR}$ -Spektrern die beiden isolierten der ursprünglichen drei Doppelbindungen und vier der ursprünglichen sieben C-Methylgruppen. Im Bereich der Guanidinogruppe der *Verbindung K* muss im Verlauf der Hydrolyse eine entscheidende Änderung vor sich gegangen sein, denn im $^1\text{H-NMR}$ ist kein Signal einer *N*-Methylgruppe zu erkennen. Im FAB-MS. findet man den Pik des Quasimolekular-Ions $(M+1)^+$ bei m/z 589 entsprechend einer Zusammensetzung $\text{C}_{31}\text{H}_{61}\text{N}_2\text{O}_8$. Diese Zuordnung wird gestützt durch das Auftreten von Fragment-Ionen mit m/z 573 ($589 - \text{NH}_2$), 546 ($589 - \text{CONH}$) und 530 ($589 - \text{H}_2\text{NCONH}$). Die Anwesenheit einer Harnstoffgruppe wird erhärtet durch eine starke Bande bei



1650 cm^{-1} im IR.-Spektrum und ein allerdings schwaches ^{13}C -NMR.-Signal bei 162,10 ppm.

Die übrigen spektroskopischen Daten mit u. a. elf CH_2 - und vier CH -Signalen im Bereich von 28–44 ppm und einem $\text{CH}_2\text{-O}$ - und 6 CH-O -Signalen bei 60–80 ppm sind zusammen mit den früheren Abbauergebnissen bestens mit der Konstitutionsformel **30** vereinbar. Die umgekehrte Anordnung des Molekelteils zwischen den beiden Doppelbindungen wäre zur biogenetischen Essigsäure-Propionsäure-Regel im Widerspruch. Das ^1H -NMR.-Signal der $\text{CH}_2\text{-O}$ -Gruppe bei 3,68 ppm, ein Triplett (2 H, $J=7$), zeigt eindeutig, dass das benachbarte C(25) einer CH_2 -Gruppe angehört und somit keine Methylgruppe als Verzweigung tragen kann. Damit ist die Lage einer bisher nur provisorisch an C(17) (entsprechend C(3) von **16a**) angenommenen Methylgruppe gesichert.

Verbindung L gab mit Diazomethan einen Dimethylester (*L'*). Von den beiden Carbomethoxygruppen entspricht eine der ursprünglichen Lactongruppe, die andere ist durch die Perjodat-Spaltung aus der ursprünglichen Halbacetalgruppe entstanden. Das MS. entspricht der erwarteten Bruttozusammensetzung $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_8$, wenn man annimmt, dass der massenhöchste Pik bei m/z 405 wie bei den früher beschriebenen Polyhydroxyverbindungen dem Ion $(M+1)^+$ zukommt. Die Fragmente mit m/z 386, 368 und 350 kommen durch Abspaltung von einem, zwei und drei Molekeln Wasser zustande. Die weiteren prominenten Fragmente im höheren Massenbereich sind durch Abspaltung von Methoxyl und Wasser (355) bzw. Methoxyl und 2 H_2O (337) aus dem Molekular-Ion plausibel erklärbar.

Überraschenderweise enthält die *Verbindung L'* gemäss ^1H - und ^{13}C -NMR.-Spektren keine Doppelbindung und muss demnach einen Ring besitzen. Von den vier nicht den Methoxycarbonylgruppen angehörenden O-Atomen gehören nur drei acetylierbaren Hydroxylgruppen an, da das *Acetylierungsprodukt L''* gemäss IR.- und ^1H -NMR.-Spektrum keine OH-Gruppen mehr enthält; das eine O-Atom gehört demnach zu einem Ätherring. Die Bildung eines cyclischen Äthers unter Absättigung der Doppelbindung muss als intramolekulare *Michael*-Addition eines räumlich günstig gelegenen Hydroxy-O-Atoms an die α,β -ungesättigte Estergruppierung unter Bildung eines Tetrahydropyranrings interpretiert werden. Die Anzahl der C-Methylgruppen (gemäss ^{13}C -NMR. sind es deren drei) und der Methylengruppen (deren fünf) zeigt, dass dieses Abbauprodukt zusätzlich zur ursprünglichen α,β -ungesättigten Estergruppe den gleichen Molekularbereich umfasst wie das früher diskutierte Abbauprodukt **21a**. Die Struktur der *Verbindung L'* liess sich durch ^1H -NMR.-Spektroskopie des *Acetylderivates L''* und Spin-Entkopplungsversuche nur teilweise aufklären, da zahlreiche Überlappungen im Bereich von 1,2 bis 1,9 ppm sowie im Bereich der Protonen neben Acetoxygruppen bei ca. 5,1 ppm (*Fig. 2*) die isolierte Einstrahlung einzelner Signale verunmöglichten, doch konnten einige wichtige Einzelheiten mit Sicherheit geklärt werden (*Tab. 1*). So könnte von den beiden Signalen von Protonen neben dem Äther-O-Atom sich dasjenige bei 3,85 ppm, aufgrund seiner Kopplungen mit den Signalen einer in α -Stellung zu einer Estergruppe stehenden CH_2 -Gruppe (2,30 und 2,54 ppm, $J_{AB}=14,5$, $J_{AX}=9,5$, $J_{BX}=3,3$) dem H-C(3) der Strukturformel **32** zuordnen lassen. Das Signal bei 3,85 ppm zeigt eine zusätzliche Kopplung von ca. 9 Hz mit einem einzigen Proton an C(4) (ca. 1,65 ppm, teilweise überlappend). An C(4) muss

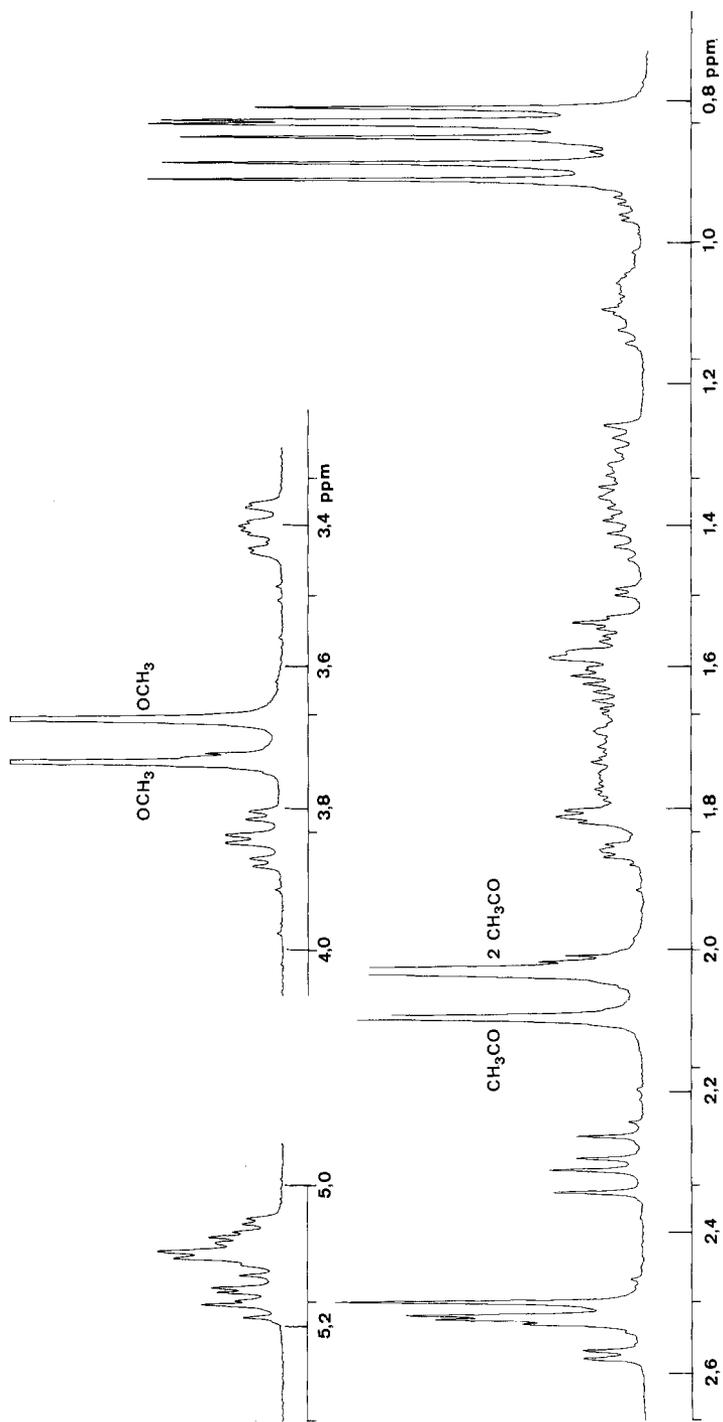
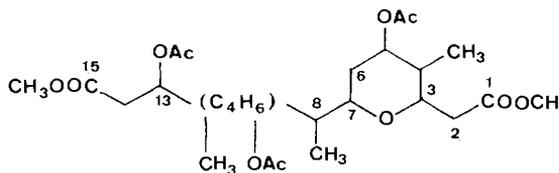
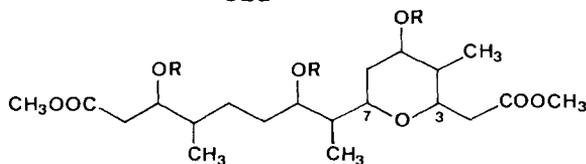


Fig. 2. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (300 MHz, CDCl_3) des Acetylderivates **32** von 3, 7-Anhydro-3, 5, 7, 9, 13-pentahydroxy-4, 8, 12-trimethylpentadecandisäure-dimethylester

Tabelle 1. Spin-Entkopplungsversuche mit dem Triacetylderivat **32** des 3,7-Anhydro-3,5,7,9,13-pentahydroxy-4,8,12-trimethylpentadecandisäure-dimethylester

Eingestrahletes Signal (ppm) Multipl. J (Hz)			Zuordnung	Verändertes Signal (ppm) Veränderung J (Hz)			Zuordnung
1,65	<i>m</i>		H–C(4)	3,85	$d \times t \rightarrow d \times d$	3 und 9,5	H–C(3)
				5,15	vereinfachtes <i>m</i>		H–C(5)
				0,85	$d \rightarrow s$ (3 H)		H ₃ C–C(4) ^{a)}
1,84	$d \times t$	14 und 3	H _b –C(6)	5,15	verändertes <i>m</i>		H–C(5)
				3,40	$d \times d \times d \rightarrow d \times d$		
						6,5 und 10	H–C(7)
3,40	$d \times d \times d$	2, 8 und 11,5	H–C(7)	1,84	$d \times t \rightarrow d \times d$	3 und 14	H _b –C(6)
				1,5–1,7	verändertes <i>m</i>		H _a –C(6)
							H–C(8)
3,85	$d \times t$	3 und 9,5	H–C(3)	2,54	$d \times d \rightarrow d$	15	H _a –C(2)
				2,30	$d \times d \rightarrow d$	15	H _b –C(2)
				1,65	verändertes <i>m</i>		H–C(4)
5,15	<i>m</i> (3 H)		H–C(5)	2,52	$d(2\text{ H}) \rightarrow s(2\text{ H})$		H ₂ C(14)
			H–C(9)	1,84	$d \times t \rightarrow \text{br. } s$		
			H–C(13)	<i>d</i>		14	H _b –C(6)
				1,5–1,7	verändertes <i>m</i>		H _a –C(6)

a) Wegen Überlappung im Bereich von 1,65 ppm werden bei diesem Experiment noch weitere Signale verändert.

**32a****31** R = H, **32** R = CH₃CO, **33** R = (CH₃)₃Si

sich demnach eine Methylgruppe befinden, deren Anwesenheit sich auch schon aus den Spektren von Abbauprodukt **21** ergab (s. oben, C(2) von **21** entspricht C(4) von **32a**).

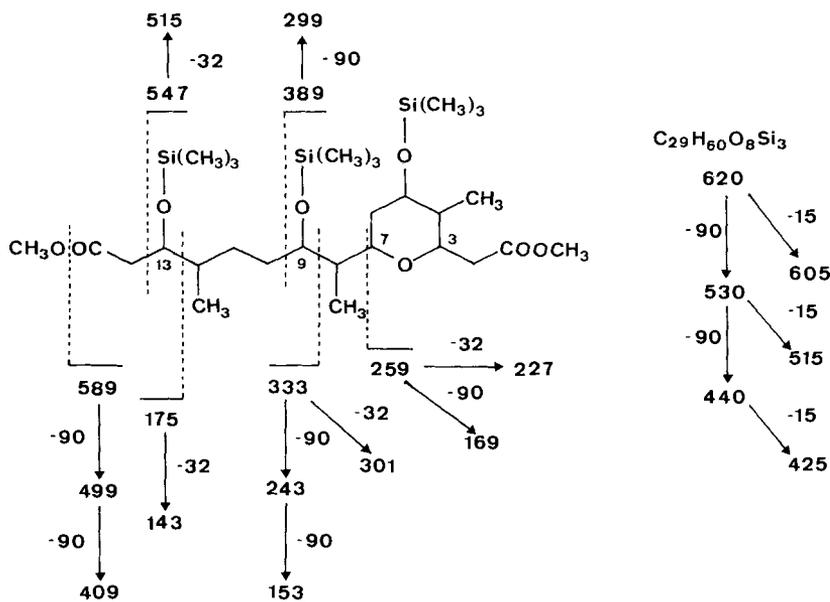
Das zweite Signal eines Protons neben dem Äther-O-Atom bei 3,4 ppm besitzt acht Linien; das Proton an C(7) besitzt demnach drei Nachbarprotonen. Zwei davon gehören zu einer CH₂-Gruppe (H₂C(6)); eine CH₂-Gruppe in Stellung 8 wird später durch die Massenspektren ausgeschlossen) mit Signalen bei 1,84 und ca. 1,5–1,65 ppm. Von diesen beiden Signalen ist dasjenige bei 1,84 ppm vom Rest

des Signalhaufens gut abgelöst und eignet sich daher für Spin-Entkopplungsversuche (Tab. 1). Neben der grossen Kopplung ($J_{\text{gem}} = 14,5$) zeigt das Signal noch zwei kleine Kopplungen von je ca. 2–3 Hz. Die Kopplungspartner ergeben sich aus der Tabelle 1: Ausser mit einem H-Atom in α -Stellung zu einer Ätherfunktion (3,40 ppm) ist eine Wechselwirkung mit einem H-Atom neben einer Acetoxygruppe (5,15 ppm) gesichert, wodurch die Lage einer O-haltigen Funktion an C(5) feststeht. An C(8) kann aufgrund der Aufspaltung des Signals bei 3,4 ppm nur ein einziges Proton stehen; C(8) ist demnach der Sitz einer weiteren Methylgruppe.

Die Struktur des linken Endes der Kette ergibt sich aus einem Dublett (2 H, $J = 7,5$, $\text{H}_2\text{C}(14)$) bei 2,52 ppm, das gemäss der chemischen Verschiebung einer CH_2 -Gruppe in α -Stellung zu einer weiteren Estergruppe zugeordnet werden muss. Das Dublett wird bei der Einstrahlung in den Bereich der $\text{H}-\text{C}-\text{OAc}$ -Protonen bei 5,15 ppm zu einem Singulett. Daraus folgt die Gruppierung $\text{CH}_3\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{OAc}-$. Somit ist die Teilformel **32a** gesichert, in welcher ein C_4 -Kettenstück mit je einer Methyl- und einer Acetoxygruppe noch unbestimmt bleibt. Die Lage der Substituenten in diesem Bereich, die endgültig auch die Konstitutionen der Abbauprodukte **21** und **16** festlegt, ergab sich aus den Massenspektren des *Acetylderivats L'* und insbesondere des Trimethylsilyläthers *L''*.

Das Massenspektrum des Tris(trimethylsilyl)äthers **33** ist in Schema 1 schematisch dargestellt. Die Erwartung, dass Fragment-Ionen dominieren, die durch Kettenspaltung neben O-Atomen entstehen und die Ladung auf dem O-Atom tragen, bestätigt sich durch die Pike mit m/z 547 und 389 (sowie dessen Folge-

Schema 1. Fragmentierung des Trimethylsilyläthers **33** von 3,7-Anhydro-3,5,7,9,13-pentahydroxy-4,8,12-trimethylpentadecandisäure-dimethylester im EI.-MS.

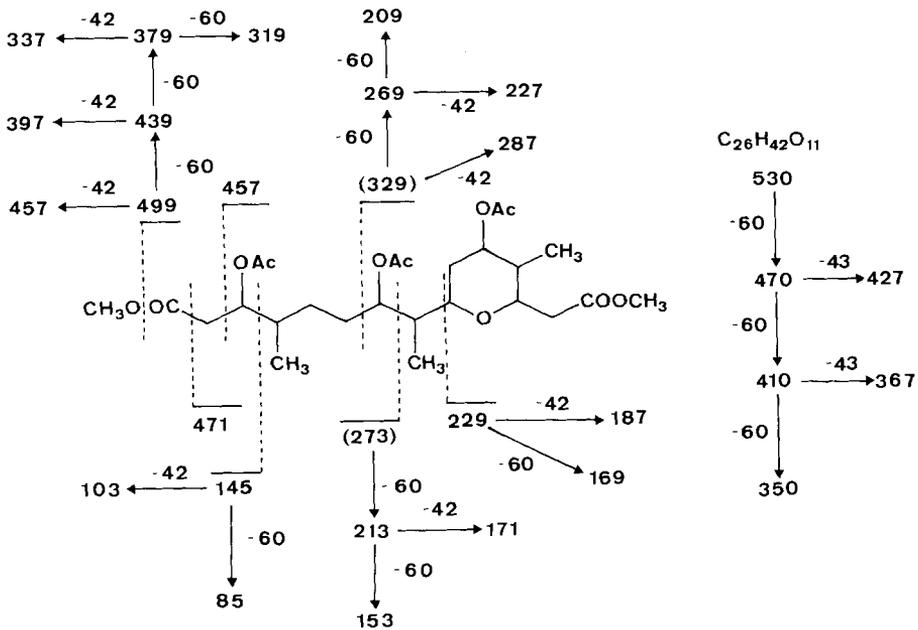


produkt mit m/z 143), die durch Spaltung beidseits von C(13) entstehen, an dem eine O-haltige Funktion durch das $^1\text{H-NMR}$. von L'' gesichert ist. Fragmente, die sich durch Spaltung zwischen C(11) und C(12) oder C(10) und C(11) bilden, konnten im MS. nicht ausgemacht werden. Hingegen zeigen starke Pike bei 389 und 333, dass C(9) eine Trimethylsilyloxygruppe trägt. Fast durchwegs treten Sekundär-Ionen, die durch weiteren Zerfall dieser Primärfragmente entstehen, stärker in Erscheinung, wobei Abspaltungen von 32 (CH_3OH) und 90 Masseneinheiten ($(\text{CH}_3)_3\text{SiO}$) dominieren (s. *Schema 1*).

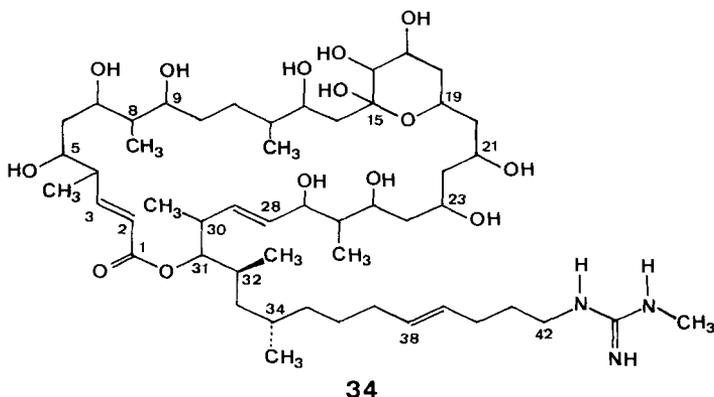
Noch stärker ist die Tendenz zum weiteren Zerfall der Primärfragmente beim Triacetylderivat **32** (*Schema 2*), wobei die Abspaltung von 42 und 60 Masseneinheiten im Vordergrund stehen. Die beiden wichtigen Bruchstücke mit m/z 329 und 273, die durch Spaltung beidseits von C(9) zu erwarten sind, lassen sich im Spektrum nicht erkennen. Ihre intermediäre Bildung ist aber durch die Sekundärprodukte mit Massen von 287, 269, 227 und 209 bzw. 213, 171 und 153 gut belegt.

Der damit erfolgte Nachweis einer Hydroxylgruppe an C(9) des Abbauproduktes **31** fordert aber zwangsläufig die Lage der noch unbestimmten Methylgruppe an C(12), denn nur noch die Formel **31** eines 3,7-Anhydro-3,5,7,9,13-pentahydroxy-4,8,12-trimethylpentadecandisäure-dimethylesters wird der früher abgeleiteten Teilformel **IV** gerecht. Damit ergibt sich für das Produkt **29** der Spaltung von Copiamycin mit Natriumperjodat und anschliessenden Reduktion mit Natriumborhydrid die Konstitutionsformel **29**.

Schema 2. Fragmentierung des Acetylderivates **32** von 3,7-Anhydro-3,5,7,9,13-pentahydroxy-4,8,12-trimethylpentadecandisäure-dimethylester im EI.-MS.

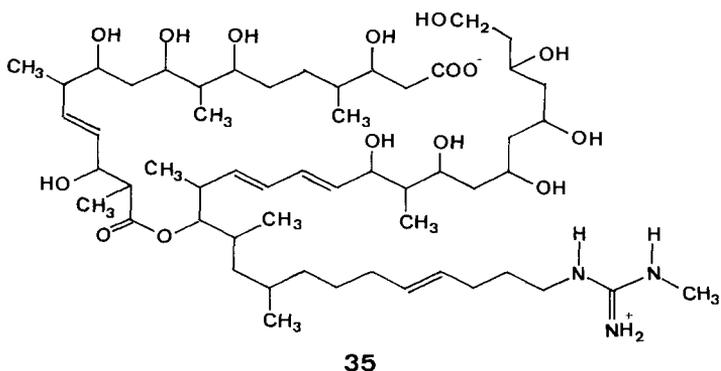


Für den Makrolidteil des Copiamycins folgt daraus, in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von *Iwasaki et al.* [4] über das gleiche Antibioticum, die Konstitutionsformel **34**, wobei sich die Konfiguration an den C-Atomen C(32) und C(34) aus dem Abbau von Niphimycin mit Salpetersäure zu (2*R*, 4*S*)-2,4-Dimethyladipinsäure [1] und der Identität der 1,3,10-Trihydroxy-2,4,6-trimethyldecane (**1**) aus Niphimycin und Copiamycin ergibt.



E) Die Konstitution des Makrolidteils von Niphimycin I. - Die Molekel des Niphimycins I ist um C_5H_8O grösser als die des Copiamycins. Ein wesentlicher Unterschied, der drei C- und sechs H-Atome sowie das O-Atom ausmacht, ergibt sich aus dem Vergleich der Teilformeln I und II der beiden Antibiotica (*Abschnitt B*). Die restlichen beiden C- und H-Atome liegen in einer zusätzlichen Doppelbindung, die so in die Formel **34** des Copiamycins eingeschoben werden muss, dass eine konjugierte Diengruppe entsteht. Der Entscheid über die Lage dieser Doppelbindung ergab sich aus einem Abbau des Niphimycins, der ähnlich durchgeführt wurde wie der in *Abschnitt D* für das Copiamycin beschriebene, der aber wegen des Fehlens einer α, β -ungesättigten Estergruppe etwas anders verlief.

Das Hauptprodukt der Oxydation von Niphimycin I mit Natriumperjodat und der anschliessenden Reduktion mit Natriumborhydrid gab im FAB-MS. eine Signalgruppe mit dem höchsten Pik bei 1044 für das ($M+1$)-Ion, der mit einer Bruttoformel $C_{55}H_{101}N_3O_{15}$ vereinbar ist. Im IR. finden wir charakteristische



Banden bei 1720 (Ester), 1645 (Guanidin) und 1565 cm^{-1} (COO^-). Das $^1\text{H-NMR}$. weist u. a. die Signale der *N*-Methylgruppe (2,84 ppm) und von acht olefinischen Protonen auf. Ein Singulett (3 H) bei 1,90 ppm zeigt, dass das Guanidin **35** als Salz der Essigsäure vorliegt (das Analysenpräparat wurde durch präp. DC. mit einem essigsäurehaltigen Lösungsmittel gereinigt). Im $^{13}\text{C-NMR}$. ist der auffallendste Unterschied gegenüber dem Niphimycin das Fehlen des Halbacetal-C-Signals bei ca. 100 ppm.

Die alkalische Hydrolyse von **35** gab zwei Hauptprodukte, die durch präp. DC. rein erhalten wurden. Das $^1\text{H-NMR}$. des ersten (**36**), offenbar einer Dicarbonsäure, die dem Bereich C(1) bis C(17) des Niphimycins entspricht, zeigt Signale von zwei olefinischen Protonen als Doppeldoublette mit $J_{AB}=15,5$, $J_{AX}=7,5$ und $J_{BY}=8$ Hz bei 5,84 und 5,70 ppm. Ausser der *trans*-Konfiguration an der Doppelbindung ergibt sich daraus, dass beidseits der Doppelbindung je eine Methingruppe steht, wie dies aus den bisherigen Abbauergebnissen zu erwarten war (HC(3)–OH bzw. HC(6)– CH_3). Die übrigen Bereiche des Spektrums sind mit der Konstitutionsformel **36**, die sich aus den bisherigen Abbauversuchen ergibt, vereinbar. Spinentkopplungsversuche (Tab. 2) erhärten die Konstitution im Bereich von C(3) bis C(6). Die Diengruppe kann demnach nicht in demjenigen Bereich der Niphimycin-Molekel liegen, der zum Abbauprodukt **36** führt.

Das zweite Hydrolyseprodukt (**37**) zeigt ein UV.-Maximum bei 232 nm ($\log \epsilon$ 4,45) und enthält demnach die konjugierte Diengruppe. Im $^1\text{H-NMR}$. fehlt das Signal einer *N*-Methylgruppe, und das Signal des ursprünglichen Guanidin-C-Atoms liegt jetzt bei 162,2 ppm, was besser für einen Harnstoff passt. Es ist demnach wiederum im Verlauf der alkalischen Verseifung die Guanidinogruppe zu einer Harnstoffgruppe hydrolysiert worden unter Verlust desjenigen N-Atoms, das die *N*-Methylgruppe trägt.

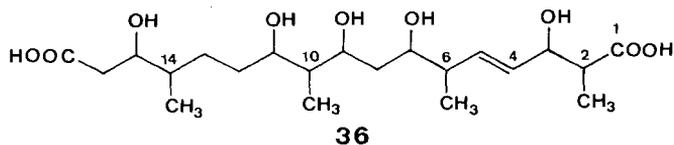
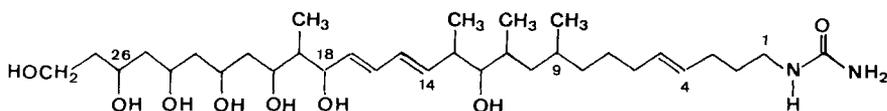
**36****37**

Tabelle 2. *Spin-Entkopplungsversuche mit 3, 7, 9, 11, 15-Pentahydroxy-2, 6, 10, 14-tetramethyl-4-heptadecendisäure (36)*

Einstrahlung (ppm)	Zuordnung	Verändertes Signal (ppm)	Zuordnung
5,70	H–C(5)	2,30 vereinfachtes <i>m</i>	H–C(6)
		5,46 $d \times d \rightarrow d (J=15,5)$	H–C(4)
5,46	H–C(4)	4,18 <i>t</i> $\rightarrow d (J=8)$	H–C(3)
		5,70 $d \times d \rightarrow d (J=15,5)$	H–C(5)
2,30	H–C(6)	5,70 $d \times d \rightarrow d (J=8)$	H–C(5)

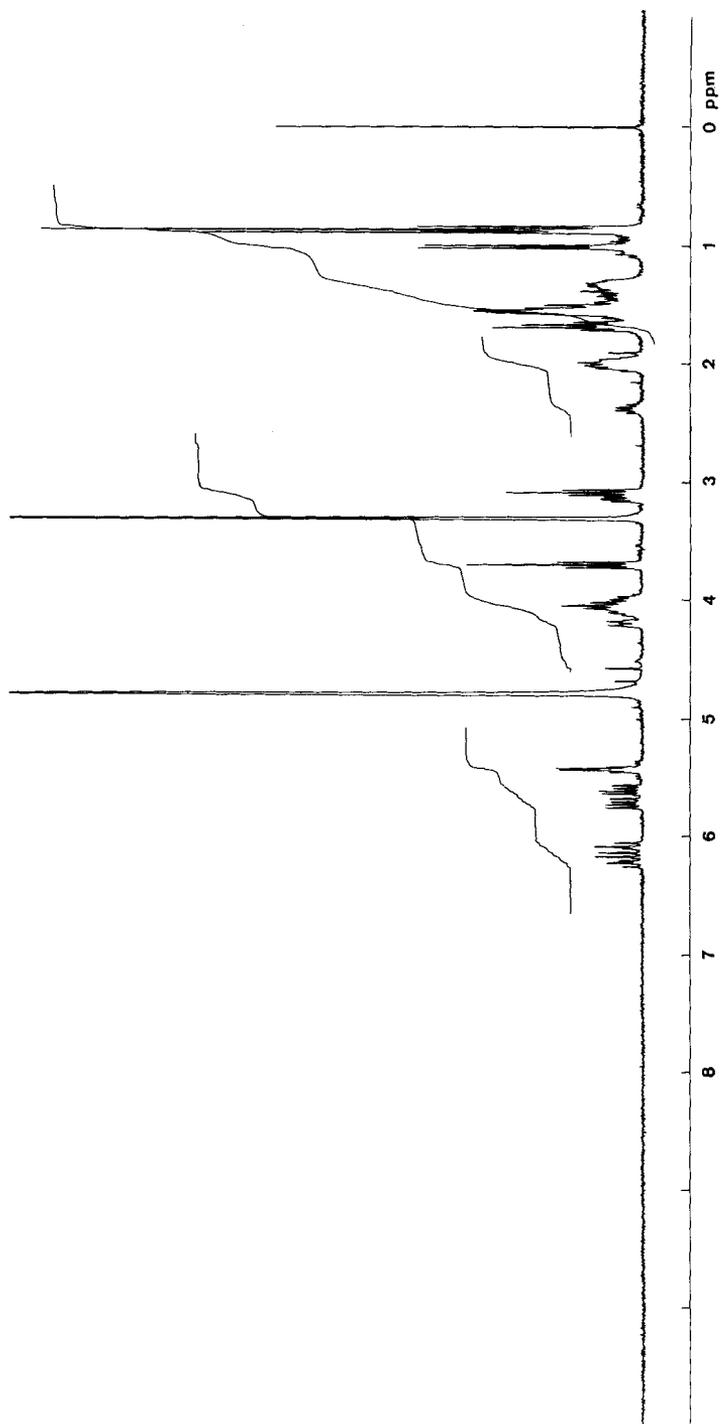
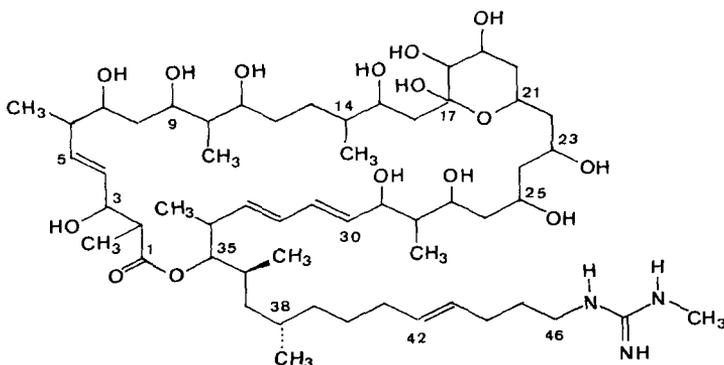


Fig. 3. ¹H-NMR.-Spektrum (300 MHz, CD₃OD) von 12,18,20,22,24,26,28-Heptahydroxy-9,11,13,19-tetramethyloctacos-4,14,16-trienylharnstoff (37)

Tabelle 3. Spin-Entkopplungsversuche mit 12, 18, 20, 22, 24, 26-Heptahydroxy-9, 11, 13, 19-tetramethyloctacosä-4, 14, 16-trienylharnstoff (37)

Einstrahlung (ppm)	Zuordnung	Verändertes Signal	Zuordnung
2,00 <i>m</i>	H ₂ C(3) H ₂ C(6)	5,43 <i>m</i> → br. <i>s</i> (2 H)	H-C(4) H-C(5)
2,43 <i>m</i>	H-C(13)	1,03 <i>d</i> (<i>J</i> = 6,6) → <i>s</i> (3 H) 5,73 <i>d</i> × <i>d</i> (<i>J</i> = 15 und 8) → <i>d</i> (<i>J</i> = 15)	H ₃ C-C(13) H-C(14)
4,05 <i>m</i> (ca. 4 H)	u. a. H-C(18)	5,62 <i>d</i> × <i>d</i> (<i>J</i> = 15 und 7) → <i>d</i> (<i>J</i> = 15)	H-C(17)
5,43 <i>m</i> (2 H)	H-C(4) H-C(5)	1,4-1,7 vereinfachtes <i>m</i> 2,00 vereinfachtes <i>m</i>	H ₂ C(3) H ₂ C(6)
5,62 <i>d</i> × <i>d</i> (<i>J</i> = 15 und 7)	H-C(17)	6,22 <i>d</i> × <i>d</i> (<i>J</i> = 15 und 10) → <i>d</i> (<i>J</i> = 10)	H-C(16)
6,12 <i>d</i> × <i>d</i> (<i>J</i> = 15 und 10)	H-C(15)	4,05 verändertes <i>m</i> wegen zu geringem Abstand keine klare Entkopplung erkennbar	u. a. H-C(18)

Der Bereich der olefinischen Protonen im ¹H-NMR. (Fig. 3) ist befriedigend aufgelöst. Spinentkopplungsversuche (Tab. 3) zeigen klar die Umgebung der Olefinbindungen und beweisen, zusammen mit den früheren Abbauprobungen, zweifelsfrei die Konstitutionsformel 37. Die Einstrahlung beim Signal der isolierten Doppelbindung (5,43 ppm) verändert lediglich ein Multipllett bei 2,0 ppm, dem Signal von CH₂-Protonen in *a*-Stellung zu Doppelbindungen. Das konjugierte Diensystem mit Signalen bei 5,62, 5,73, 6,12 und 6,22 ppm (alle *d* × *d*) liegt dagegen zwischen einer CH₃-CH-Gruppe (Signale bei 1,03 und 2,43 ppm) und einer CHO-Gruppe (Signal im Bereich des Multiplletts bei 4,05 ppm). Durch die Festlegung der Diengruppe an C(14) bis C(17) von 37 ergibt sich für den Makrolidteil des Niphimycins I die Konstitutionsformel 38 nach den gleichen Überlegungen, die für den Lactonteil des Copiamycins zur Formel 34 geführt haben.



38

F) Niphimycin und Copiamycin als Halbestere der Malonsäure. - Die Konstitutionsformeln 34 und 38 entsprechend Bruttoformeln C₅₁H₉₃N₃O₁₄ und

$C_{56}H_{101}N_3O_{15}$ geben noch nicht die vollständigen Molekeln von Copiamycin bzw. Niphimycin wieder. In beiden Fällen besteht zur vollständigen Bruttoformel des Antibioticums (*Abschnitt A*) eine Differenz $C_3H_2O_3$, und in den ^{13}C -NMR.-Spektren von Copiamycin und Niphimycin I wird von den je drei Signalen im Bereich von 170–180 ppm nur eines durch die Konstitutionsformeln erklärt. Ein drei C-Atome umfassender Baustein, gemäss Bruttoformel und ^{13}C -NMR.-Spektrum wohl am ehesten ein Malonsäurerest, ist bei allen bisherigen Abbauprodukten verlorenggegangen.

Durch eine alkalische Hydrolyse unter sehr milden Bedingungen (0,5 N NaOH, 20°, 20 Min.) wurde sowohl aus Niphimycin I als auch aus Copiamycin je ca. 1 mol Malonsäure abgespalten. Die Identifizierung erfolgte nach der Veresterung mit Diazomethan durch GC-MS. Die nicht mit Äther extrahierbaren Anteile der Hydrolyseprodukte bildeten schwer trennbare Gemische mehrerer Komponenten, so dass die Konstitutionsformeln **34** und **38** für zwei bisher nicht in reiner Form dargestellte Verbindungen stehen: das *Desmalonylcopiamycin* bzw. das *Desmalonylniphimycin I*.

Die Malonylreste müssen als Halbestere an eines der zahlreichen Hydroxyl-O-Atome von **34** und **38** gebunden sein. In Anwesenheit einer Guanidinogruppe sind die freie Carboxylgruppe des Malonsäurerestes wohl vollständig deprotoniert und die Guanidinogruppe protoniert, so dass die Antibiotica-Molekeln als Zwitter-Ionen vorliegen, womit intensive IR.-Banden bei 1590–1600 cm^{-1} bestens vereinbar sind. Über bereits weit fortgeschrittene Versuche, die Lage des Malonylrestes zu bestimmen, werden wir demnächst berichten.

Vor wenigen Wochen ist eine Arbeit von *Rinehart et al.* [8] über die Strukturklärung des Scopafungins erschienen, das anscheinend zu Niphimycin isomer ist. Der Strukturvorschlag für Scopafungin unterscheidet sich in zwei Punkten von der Konstitution des Niphimycins. Einerseits wird die *N*-Methylgruppe am N-C(46) angenommen. Andererseits steht eine *C*-Methylgruppe an C(8) anstatt an C(14) (vgl. Formel **38**). Eine Überprüfung unserer Ergebnisse, ob sie allenfalls mit der Strukturformel des Scopafungins verträglich seien, führte zu einer eindeutig verneinenden Antwort auf diese Frage. Die Lage der *N*-Methylgruppe am endständigen N-Atom des Niphimycins ist durch die Synthese des Abbauproduktes **14**, 1-(4'-Hydroxybutyl)-3-methylguanidin, genügend bewiesen. Die Oxydation einer Molekel mit der Strukturformel des Scopafungins mittels Salpetersäure könnte nicht zu einem Abbauprodukt **24** mit zwei *C*-Methylgruppen führen. Das dem Abbauprodukt **32** analoge Abbauprodukt aus Scopafungin mit einer *C*-Methylgruppe an C(6) statt C(12) müsste ein anderes Aufspaltungsmuster des Signals von H-C(7) zeigen, und das Fragmentierungsmuster im MS. des Tris(trimethylsilyl)-äthers **33** müsste klar verschieden sein.

Beim Scopafungin wurde O-C(23) als Sitz des Malonylrestes bestimmt. Dies ist nach bisherigen Ergebnissen auch beim Niphimycin die wahrscheinlichste Stelle. Scopafungin und Niphimycin sind demnach als zwei zwar sehr ähnliche, aber doch verschiedene Antibiotica zu betrachten.

Der ETH, Zürich, und der *Ciba-Geigy AG*, Basel, danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit. Das Niphimycin verdanken wir Herrn Dr. *H. Bickel*, *Ciba-Geigy AG*, das Copiamycin den Herren Prof. Dr. *H. Zähler* und Dr. *H. P. Fiedler*, Tübingen.

Experimenteller Teil

1. Allgemeines. Siehe [1].

2. Abbau von Niphimycin I. Abbauprodukte. In eine Lösung von 2,8 g Niphimycin I in 50 ml abs. CH₃OH wurde bei –78° während 2 Std. ein ozonhaltiger O₂-Strom eingeleitet. Die blau gefärbte Lösung wurde darnach 5 Min. mit N₂ gespült, bei –78° mit 6 g NaBH₄ in 100 ml CH₃OH in kleinen Portionen versetzt und innerhalb 1 Std. unter Rühren allmählich auf 20° erwärmt. Nach dem Ansäuern mit 2N HCl wurde durch Schütteln mit frisch gefälltem Ag₂CO₃ neutralisiert, filtriert und i.V. eingedampft. Der Rückstand wurde in 100 ml Wasser gelöst und 3mal mit je 50 ml CHCl₃, CH₃COOCH₃ und Butanol ausgezogen. Aus dem CHCl₃-Extrakt wurden durch Eindampfen 400 mg ölgiger Rückstand erhalten, der Ester-Extrakt gab 135 mg und der Butanolauszug 1,26 g Rückstand.

Die Wasserphase wurde i.V. eingedampft, der Rückstand in 60 ml CH₃OH aufgenommen, von unlöslichen Salzen abgetrennt und durch Chromatographie mit Methanol an *Sephadex LH-20* (4 × 84 cm) vollständig entsalzt. Eindampfen i.V. gab 1,94 g Rückstand.

2.1. *2,4,6-Trimethyldecan-1,3,10-triol (1)*. Der CHCl₃- und der CH₃COOCH₃-Extrakt wurden zusammen an Kieselgel chromatographiert. Nach erneutem Chromatographieren der Hauptfraktionen mit CHCl₃/CH₃COOCH₃ 1:1 wurden 131 mg Triol **1** als farbloses Öl erhalten, das nach der Destillation im Kugelrohr erstarrte. Umkristallisieren aus Äther/Hexan gab farblose Nadeln, Smp. 69°, $[\alpha]_D^{25} = +18,3^\circ$ ($c = 0,99$, CHCl₃). – IR. (CHCl₃): 3600, 3400 (br.), kein C=O. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 0,79 (*d*, *J* = 6, 3 H); 0,84 (*d*, *J* = 7, 3 H); 0,85 (*d*, *J* = 6, 3 H); 1,0–2,0 (*m*, 11 H); *ca.* 2,85 (br., mit D₂O austauschbar, 3 H); 3,42 (*d* × *d*, *J*₁ = 9, *J*₂ = 3, 1 H); 3,60 (*t*, *J* = 6, 2 H); *ca.* 3,65 (*AB*-Teil von *ABX*, teilweise verdeckt, 2 H). – ¹³C-NMR. (CDCl₃): 13,1 (*qa*), 13,6 (*qa*), 20,0 (*qa*), 23,0 (*t*), 29,6 (*d*), 32,0 (*d*), 32,8 (*t*), 36,9 (*t*), 37,4 (*d*), 41,1 (*t*), 62,4 (*t*), 67,9 (*t*), 78,1 (*d*). – MS.: 233 (0,5, *M* + 1), 214 (2), 173 (14), 155 (11), 143 (2), 137 (39), 115 (5), 111 (8), 109 (5), 99 (15), 97 (29), 95 (18), 89 (100), 83 (29), 81 (19), 71 (40), 69 (45), 55 (62), 43 (43), 41 (32).

C₁₃H₂₈O₃ (232,36) Ber. C 67,19 H 12,15 Gef. C 67,30 H 11,96%

Eine Probe von 8 mg **1** wurde mit 0,6 ml konz. HNO₃/Wasser 1:1 4 Std. unter N₂ erhitzt, das Gemisch nach dem Eindampfen in 0,5 ml CH₃OH gelöst und mit ätherischer CH₂N₂-Lösung verestert. Durch GC-MS. (Vergleich mit authentischen Proben [1]) wurden die Dimethylester folgender Dicarbonsäuren nachgewiesen: Methylbernsteinsäure, 2-Methylglutarsäure, 2-Methyladipinsäure, 3-Methyladipinsäure, 2,4-Dimethyladipinsäure (**5**), 2,4-Dimethylpimelinsäure (**6**) und 2,4-Dimethylkorksäure (**7**).

2.2. *Acetylderivate von 1: 1,3,10-Tris(acetoxy)-2,4,6-trimethyldecan (2) und 3,10-Bis(acetoxy)-1-hydroxy-2,4,6-trimethyldecan (3)*. Aus 94 mg **1** wurde mit Essigsäureanhydrid und Pyridin (je 1 ml; 18 Std., 20°) das Acetylderivat bereitet und an 10 g Kieselgel chromatographiert. Mit CHCl₃ wurden 56 mg Triacetylderivat **2** als farbloses Öl eluiert. – IR. (CHCl₃): 1725; kein OH. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 0,85 (*d*, *J* = 6, 3 H); 0,86 (*d*, *J* = 7, 3 H); 0,96 (*d*, *J* = 7, 3 H); 1,1–2,0 (*m*, 11 H); 2,01 (*s*, 9 H); 3,92 und 3,94 (*AB*-Teil aus *ABX*; *J*_{AB} = 12, *J*_{AX} = 6, *J*_{BX} = 4; 2 H); 4,03 (*t*, *J* = 6, 2 H); 4,80 (*d* × *d*, *J*₁ = 9, *J*₂ = 3, 1 H). – MS.: 358 (0,5, *M*⁺), 299 (2), 257 (11), 239 (5), 215 (47), 197 (8), 173 (49), 155 (13), 137 (50), 131 (60), 123 (22), 113 (48), 97 (29), 83 (37), 82 (37), 71 (46), 55 (37), 43 (100).

Aus folgenden Fraktionen des Chromatogramms wurden 7 mg *Monoacetylderivat 3* erhalten, farbloses Öl. – IR. (CHCl₃): 3600–3200 (br.), 1728. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 0,79 (*d*, *J* = 7, 3 H); 0,84 (*d*, *J* = 7, 3 H); 0,85 (*d*, *J* = 6, 3 H); 1,1–2,0 (*m*, 11 H); 2,00 (*s*, 3 H); *ca.* 2,65 (br., 2 H, austauschbar); 3,42 (*d* × *d*, *J*₁ = 9, *J*₂ = 3, 1 H); 3,65 und 3,67 (*AB*-Teil von *ABX*; *J*_{AB} = 11, *J*_{AX} = 8, *J*_{BX} = 4, 2 H); 4,03 (*t*, *J* = 7, 2 H).

2.3. *Di-p-brombenzoylderivat: 1,10-Di(p-brombenzoyloxy)-3-hydroxy-2,4,6-Trimethyldecan (4)*. In 6 ml Pyridin wurden 70 ml Triol **1** und 500 mg *p*-Brombenzoylchlorid 2 Std. bei 20° gerührt und das durch Eindampfen i.V. erhaltene Rohprodukt mit MeOH an *Sephadex LH-20* und mit CHCl₃/Petroläther 1:1 an Kieselgel chromatographiert. Reinigung der Hauptfraktion durch präp. Schichtchromatographie (Kieselgel; CHCl₃/CH₃COOCH₃ 9:1) gab 54 mg einheitliches **4** als farbloses Öl. – IR. (CHCl₃): 1711. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 0,85 (*d*, *J* = 6, 6 H); 0,98 (*d*, *J* = 7, 3 H); 1,1–2,2 (*m*, 12 H); 3,32 (*d* × *d*, *J*₁ = 9, *J*₂ = 2, 1 H); 4,28 (*t*, *J* = 6,5; 2 H); 4,43 und 4,44 (*AB*-Teil von *ABX*, *J*_{AB} = 11, *J*_{AX} = 6; *J*_{BX} = 4; 2 H); 7,52 und 7,85 (*AA'**BB'*, *J*_{AB} ≈ 8; 8 H).

2.4. *3,4-Dihydroxy-2-methylbuttersäure-[1-(1'-hydroxymethyl)äthyl-6-hydroxy-2,4-trimethyl]octylester (8)*. Der Butanolauszug des rohen Ozonolysegemisches wurde an Kieselgel mit CHCl₃/CH₃OH 9:1 chromatographiert. Nach weiteren 42 mg **1** wurde ein Gemisch eluiert, dessen Hauptkomponente durch

erneutes Chromatographieren an Kieselgel ($\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 97:3) und *Sephadex LH-20* (2×53 cm; CH_3OH) als farbloses, gemäss DC. einheitliches Öl (33 mg) erhalten wurde; $[\alpha]_D^{25} = +10,0^\circ$ ($c=3$, CHCl_3). - IR. (CHCl_3): 3650-3100 (br.), 1708. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 0,84 (d , $J=6$, 3 H); 0,90 (d , $J=7$, 3 H); 0,97 (d , $J=7$, 3 H); 1,18 (d , $J=7$, 3 H); 1,1-2,1 (m , 11 H); 2,69 (qi , $J=7$, 1 H); *ca.* 3,3 (br., austauschbar, 4 H); 3,3-3,9 (m , 7 H); 4,85 ($d \times d$, $J_1=10$, $J_2=2$, 1 H). - $^{13}\text{C-NMR}$. (CDCl_3): 14,3 (qa , 3 C), 19,9 (qa), 23,1 (t), 29,3 (d), 31,0 (d), 32,6 (t), 37,2 (d), 37,2 (t), 40,9 (t), 43,8 (d), 62,5 (t), 63,8 (t), 64,4 (t), 73,6 (d), 76,6 (d), 176,1 (s).

Die Methanolyse von 6 mg **8** mit 1 ml 1 N HCl in abs. CH_3OH gab nach der Chromatographie an 3 g Kieselgel 3 mg Produkt, das nach DC., IR. und MS. mit **1** übereinstimmte.

2.5. *Tetraacetylderivat* von **9**. Das aus 21 mg **8** mit Pyridin und Essigsäureanhydrid (16 Std., 20°) bereite Produkt war nach der Reinigung an *Sephadex LH-20* (2×53 cm; MeOH) ein nach DC. einheitliches farbloses Öl. - IR. (CHCl_3): 1730, kein OH. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 0,85 (d , $J=6$, 3 H); 0,88 (d , $J=7$, 3 H); 0,97 (d , $J=7$, 3 H); 1,22 (d , $J=7,5$; 3 H); 1,1-2,0 (m , 11 H); 2,00 (s , 9 H); 2,04 (s , 3 H); 2,86 (qi , $J=7,5$, 1 H); 3,83 und 4,04 (AB aus ABX , $J_{AB}=11$, $J_{AX}=6$, $J_{BX}=7$, 2 H); 4,02 (t , $J=7$, 2 H); 4,10 und 4,42 (AB aus ABX , $J_{AB}=13$, $J_{AX}=5,5$, $J_{BX}=3$, 2 H); 4,84 ($d \times d$, $J_1=8$, $J_2=3,5$, 1 H); 5,22 ($d \times d \times d$, $J_1=7,5$, $J_2=5,5$, $J_3=3$, 1 H). - *Spinienkopplung*: Einstrahlung bei 1,22 ppm ($\text{CH}_3\text{-C}(2)$): 2,86 ($qi \rightarrow d$); Einstrahlung bei 2,86 ($\text{H-C}(2)$): 1,22 ($d \rightarrow s$); 5,22 ($d \times d \times d \rightarrow d \times d$); Einstrahlung bei 5,22 ($\text{H-C}(3)$): 2,86 ($qi \rightarrow qa$); 4,10 ($d \times d \rightarrow d$); 4,42 ($d \times d \rightarrow d$). - MS.: 517 (0,1), 456 (0,1), 443 (0,3), 401 (1), 396 (0,6), 383 (0,5), 341 (0,6), 331 (2), 299 (4), 257 (9), 239 (10), 238 (7), 215 (5), 201 (67), 173 (9), 159 (100).

2.6. 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13, 14, 16, 20, 22, 24, 26-Tetradecahydroxy-3, 17, 21, 25-tetramethylhexacosane (**16c** und **17c**, *Epimer* von **16c**). Die wasserlöslichen Anteile des Ozonolysegemisches, die gemäss DC. hauptsächlich aus drei Komponenten bestanden, wurden erneut an *Sephadex LH-20* (3×65 cm; CH_3OH) chromatographiert. Zunächst wurde ein Gemisch von **16c** und **17c** (*ca.* 1,5 g) eluiert, gefolgt von 450 mg rohem **14**. Die Trennung von 708 mg Gemisch von **16c** und **17c** durch Tröpfchen-Gegenstromchromatographie (300 Glasröhrchen) wurde mit $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{Propanol}/\text{H}_2\text{O}$ 45:60:10:40 nach der absteigenden Methode durchgeführt. Da nach 6 Tagen noch keine Substanz im Eluat nachweisbar war, wurde die stationäre Phase fraktioniert aus der Apparatur gepumpt, wodurch 285 mg reines **16c**, 104 mg Mischfraktion und 304 mg stark angereichertes **17c** erhalten wurden. Das Produkt **16c** gab durch 3maliges Umfällen aus $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 95:5 mit Aceton 125 mg farbloses Pulver, Smp. 169° , $[\alpha]_D^{25} = -8,3^\circ$ ($c=1,1$, H_2O), Rf 0,21 (DC. mit $\text{BuOH}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ 67:10:23). - IR. (KBr): 3420 (br.), kein C=O. - $^1\text{H-NMR}$. (D_2O): 1,29 (d , $J=6$, 3 H); 1,35 (d , $J=6$, 6 H); 1,38 (d , $J=7$, 3 H); 1,6-2,5 (m , 20 H); 3,7-4,7 (m , 16 H). - $^{13}\text{C-NMR}$. (D_2O): 9,6 (qa), 9,9 (qa), 13,4 (qa), 15,5 (qa), 27,9 (t), 32,5 (t), 36,0 (t), 37,4 (t), 38,4 (d), 40,9 (d , 2 C), 41,7 (t), 42,7 (d), 42,7 (t), 45,5 (t , 2 C), 64,3 (t), 64,6 (t), 65,5 (d), 65,6 (d), 65,8 (d), 67,5 (d), 68,2 (d), 71,5 (d), 71,9 (d), 73,6 (d), 74,3 (d , 2 C), 75,4 (d), 77,3 (d).

$\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{O}_{14} \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$ (655,8) Ber. C 54,94 H 9,68% Gef. C 55,08 H 9,52%
 „ „ 55,02 „ 9,56%

Das angereicherte **17c** wurde erneut im selben Lösungsmittelsystem durch Tröpfchen-Gegenstromchromatographie gereinigt. Es wurden noch 27 mg reines **16c**, 84 mg Mischfraktion und 163 mg reines **17c** erhalten, nach Umfällen aus $\text{CH}_3\text{OH}/\text{Aceton}$ farbloses Pulver, Smp. $97-115^\circ$, Rf 0,18 (DC., wie oben). - IR. (KBr): 3480 (br.), kein C=O, Fingerprintgebiet nahezu übereinstimmend mit **16c**. - $^1\text{H-NMR}$. (D_2O): 1,31 (d , $J=6$, 3 H); 1,34 (d , $J=6$, 3 H); 1,37 (d , $J=6$, 3 H); 1,40 (d , $J=7$, 3 H); 1,6-2,5 (m , 20 H); 3,7-4,7 (m , 16 H). - $^{13}\text{C-NMR}$. (D_2O): 8,84 (qa), 9,15 (qa), 12,61 (qa), 14,42 (qa), 28,01 (t), 31,69 (t), 35,94 (t), 36,68 (t), 38,43 (t), 40,19 (d , 2 C), 40,66 (t), 41,85 (t), 41,85 (d), 44,78 (t , 2 C), 62,45 (t), 63,47 (t), 63,78 (d), 64,66 (d), 64,89 (d), 65,00 (d), 68,35 (d), 68,46 (d), 71,12 (d), 71,51 (d), 72,83 (d), 73,51 (d , 2 C), 77,29 (d). - MS.: von **16c** kaum unterscheidbar.

$\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{O}_{14} \cdot 1,5 \text{H}_2\text{O}$ (673,8) Ber. C 53,47 H 9,72% Gef. C 53,17 H 9,42%

2.7. *Peracetyliertes Derivat* (**18**). Das aus 25 mg **16c** wie üblich bereite Produkt war nach der Chromatographie an *Sephadex LH-20* ($0,7 \times 71$ cm; $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 1:1) ein gemäss DC. einheitliches Öl, Rf 0,23 (DC. mit $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 50:1), $[\alpha]_D^{25} = -14,0^\circ$ ($c=2,70$, CHCl_3). - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 0,85 (d , $J=6$, 3 H); 0,94 (d , $J=7$, 6 H); 0,97 (d , $J=7$, 3 H); 1,6-2,2 (m , 20 H); 1,97-2,12 (mehrere s , zusammen *ca.* 42 H); 3,98 (br. d , $J=6$, 2 H); 4,04 und 4,37 (AB von ABX , $J_{AB}=12$, $J_{AX}=5$, $J_{BX}=2,5$, 2 H); 4,5-5,3 (m , 12 H). - $^{13}\text{C-NMR}$. (CDCl_3): 10,03 (qa , 2 C); 13,72 (qa), 15,04 (qa), 20,63 und 20,91 (qa , je mehrere

C); 27,86 (*t*), 30,07 (*t*), 31,78 (*t*), 33,73 (*t*), 36,18 (*t*), 36,30 (*d*), 36,54 (*d*), 37,14 (*t*), 37,59 (*d*), 39,78 (*t*, 2 C), 39,78 (*d*), 63,71 (*t*), 65,39 (*t*), 67,03 (*d*), 67,21 (*d*), 67,36 (*d*), 67,66 (*d*), 68,89 (*d*), 69,04 (*d*), 72,25 (*d*, 3 C); 72,60 (*d*), 74,10 (*d*), 74,43 (*d*), 170,04–170,76 (4s, je mehrere C). – MS.: 1174 (1,5, *M*–60), 1159 (3), 1132 (3), 1114 (4), etc.

2.8. *Peracetyliertes Derivat 19*. Das aus **17** bereitete *Acetyl*derivat war nach dem Chromatographieren an *Sephadex LH-20* und Kieselgel ein farbloses Öl, Rf 0,19 (DC., gleiches Lösungsmittel wie oben), $[\alpha]_D^{25} = -2^\circ$ (*c* = 5,06, CHCl₃). – IR. (CHCl₃): kaum unterscheidbar von **18**. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 0,85 (*d*, *J* = 6, 3 H); 0,95 (*d*, *J* = 7, 6 H); 0,97 (*d*, *J* = 7, 3 H); 1,5–2,3 (*m*, 20 H); 1,99–2,08 (4s, zusammen ca. 42 H); 3,98 (*d*, *J* = 6, 2 H); 4,04 und 4,39 (*AB* von *ABX*, *J*_{AB} = 12, *J*_{AX} = 5, *J*_{BX} = 2,5, 2 H); 4,6–5,25 (*m*, 12 H). – ¹³C-NMR.: sehr ähnlich dem Derivat **18**, in einzelnen Details unterscheidbar. – MS.: 1234 (1, *M*⁺), 1174 (7); sehr ähnlich **18**.

2.9. *1-(4'-Hydroxybutyl)-3-methylguanidin (14)*. Die vorwiegend **14** enthaltenden Fraktionen (s. oben) wurden an *Amberlite CG-50* (100–200 mesh, H⁺-Form; 2 × 34 cm) adsorbiert. Nach mehrstündigem Waschen mit Wasser wurde mit CH₃COOH/H₂O 1:9 eluiert. Die das Guanidin **14** enthaltenden, gemäss DC. einheitlichen Fraktionen gaben beim Eindampfen 350 mg farblosen, zähflüssigen Rückstand, der beim Trocknen i.HV. zu einer kristallinen Masse erstarrte, sich aber nicht aus Lösungsmitteln umkristallisieren liess. – IR. (KBr): 3300 (br.), 1645 (br.), 1565 (br.). – ¹H-NMR. ((D₆)-DMSO): 1,45 (*m*, 4 H); 1,63 (*s*, 3 H, CH₃COO⁻); 2,63 (*s*, 3 H, CH₃N); 3,02 (*m*, 2 H); 3,38 (*m*, 2 H); 3,76 (br., austauschbar); 7,90 (br., 2 H, austauschbar); 8,27 (*s*, 1 H, austauschbar); 9,20 (br., 1 H, austauschbar). – ¹³C-NMR. (CD₃OD): 24,4 (*qa*), 26,4 (*t*), 28,2 (*qa*), 30,4 (*t*), 42,2 (*t*), 62,1 (*t*), 158,1 (*s*), 180,3 (*s*).

Die freie Base **14** wurde durch Chromatographie von 35 mg Acetat an *Dowex 1* (200–400 mesh, 0,6 × 20 cm, Eluierung mit Wasser) als farbloses zähflüssiges Öl (24 mg) gewonnen. – ¹H-NMR. ((D₆)-DMSO): 1,42 (*m*, 4 H); 2,54 (*s*, 3 H); 2,92 (*m*, 2 H); 3,40 (*m*, 2 H); 4,78 (br., ca. 5 H).

2.10. *1-(4'-Acetoxybutyl)-3-methyl-1,3,4-triacetylguanidin (15)*. Während 3 Tagen wurden 52 mg Acetat von **14** in 4 ml Essigsäureanhydrid/Pyridin 1:1 stehengelassen (nach 1–2 Tagen war die Reaktion gemäss DC. noch unvollständig). Durch Eindampfen i.V. und Chromatographie an Kieselgel (CHCl₃/CH₃OH 99:1) wurden 38 mg nahezu einheitliches **15** als gelbliches Öl erhalten. – IR. (CHCl₃): 1735, 1710, 1685, 1635; kein OH und NH. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 1,67 (*m*, 4 H); 2,01 (*s*, 3 H); 2,16 (*s*, 3 H); 2,19 (*s*, 3 H); 2,22 (*s*, 3 H); 3,07 (*s*, 3 H); 3,56 (*m*, 2 H); 4,06 (*m*, 2 H). – ¹³C-NMR. (CDCl₃): 20,9 (*qa*), 23,0 (*qa*), 23,7 (*qa*), 25,1 (*t*), 25,4 (*qa*), 26,0 (*t*), 35,1 (*qa*), 46,5 (*t*), 63,5 (*t*), 146,0 (*s*), 170,9 (*s*, 2 C), 171,3 (*s*), 181,6 (*s*). – MS.: 313 (0,7, *M*⁺), 298 (5), 270 (22), 256 (25), 254 (21), 253 (8), 241 (2), 228 (45), 214 (15), 212 (10), 211 (6), 199 (5), 186 (8), 184 (8), 183 (8), 182 (22), 172 (6), 170 (10), 168 (26), 166 (10), 157 (16), 142 (25), 140 (14), 130 (17), 128 (27), 125 (12), 115 (14), 114 (15), 112 (18), 99 (32), 97 (11), 86 (11), 85 (12), 83 (13), 81 (25), 74 (12), 73 (12), 70 (20), 57 (38), 56 (29), 55 (21), 43 (100), 41 (11), 30 (15).

Schon während der Chromatographie an Kieselgel wurde ein teilweise Zersetzung von **15** beobachtet. Nach 24 Std. Stehen in CH₃OH bei RT. war **15** gemäss DC. vollständig zu **14** gespalten.

2.11. *Synthetische Vergleichspräparate von 14 und 15* wurden wie folgt bereitete: 2-S-Äthyl-1-methyl-2-thioharnstoff-hydrobromid wurde nach *Schotte et al.* [5] aus 1-Methylthioharnstoff und Äthylbromid hergestellt. – IR. (CHCl₃): 1640, 1602. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 1,48 (*t*, *J* = 7, 3 H); 3,05 (*d*, *J* = 6, 3 H); 3,45 (*qa*, *J* = 7, 2 H); 8,57 (br., 2 H); 9,20 (br., 1 H). – MS.: 118 (10).

Eine Suspension von 0,56 g dieses Hydrobromids und 0,4 g 4-Aminobutanol in 1 ml Wasser wurde 3 Std. bei RT. gerührt und die nun klare Lösung eingedampft. Nach dem Chromatographieren an *Amberlite CG-50* (wie oben) mit CH₃COOH/H₂O 1:9 wurde das rohe Acetat von **14** als farbloses zähes Öl eluiert. Anschliessende Chromatographie an *Sephadex G-15* (4 × 60 cm) mit Wasser und an *Sephadex LH-20* mit CH₃OH gab 231 mg reines Acetat von **14**, das nach dem Trocknen i.HV. wieder kristallisierte. Rf (0,29, DC. mit BuOH/AcOH/H₂O 67:23:10), IR. und ¹H-NMR. wie das Abbauprodukt.

Synthetisches **14** (113 mg, Acetat) wurde wie oben während 3 Tagen acetyliert. Nach dem Chromatographieren an Kieselgel wurden 30 mg nahezu einheitliches **15** erhalten, das nach Rf (0,13, DC. mit CHCl₃/CH₃OH 99:1), IR., ¹H-NMR. und MS. mit dem Abbauprodukt übereinstimmte.

3. **Markierender Abbau von Niphimycin und Abbauprodukte**. – Das rohe Ozonisierungsprodukt aus 1,17 g Niphimycin I wurde analog zu *Kap. 2* mit 2,63 g NaBD₄ reduziert. Die Aufarbeitung und Auftrennung in Einzelkomponenten erfolgte im wesentlichen wie in *Kap. 2*.

3.1. (4S,6S)-1,10-Dideuterio-1,3,10-trihydroxy-2,4,6-trimethyldecan ([²H₂]-1). – ¹H-NMR. (CDCl₃):

3,42 ($d \times d$, $J_1 = 9$, $J_2 = 3$, 1 H); 3,45–3,7 (m , 4 H; nach Austausch mit D_2O : m , 2 H); übrige Signale wie **1**. – ^{13}C -NMR. ($CDCl_3$): t bei 62,4 und 67,9 im breitbandenkoppelten Spektrum, $d \times t$ bei *off-resonance*-Einstrahlung; übrige Signale wie **1**. – MS.: ($M+1$)⁺ und M^+ nicht erkennbar, 216 (1,3), 175 (4), 174 (9), 156 (8), 144 (2), 143 (2), 138 (26), 116 (18), 115 (17), 112 (6), 110 (7), 109 (7), 100 (14), 98 (23), 97 (31), 96 (28), 90 (100).

3.2. 1, 12, 26-*Trideuterio-1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13, 14, 16, 20, 22, 24, 26-tetradecahydroxy-3, 17, 21, 25-tetramethylhexacosan* ($[^2H_3]$ -**16c**). – ^{13}C -NMR. (D_2O): Signale bei 64,3, 64,6 und 71,9 sind bei Breitbandenkopplung unscharfe niedrige Multiplette (C,D-Kopplung), die übrigen wie beim undeutierten **16c**.

Das in diesem Ansatz nicht ganz rein erhaltene, deuterierte **17c** wurde nicht eingehender untersucht.

3.3. 1-(4'-*Deuterio-4'-hydroxybutyl*)-3-methylguanidiniumacetat ($[^2H]$ -**14**). – 1H -NMR. (CD_3OD): 1,45–1,7 (m , 4 H); 1,88 (s , 3 H); 2,80 (s , 3 H); 3,16 (t , $J = 7$, 2 H); 3,54 (br. t , $J = 6$, 1 H). – ^{13}C -NMR. (CD_3OD): 24,2 (qa), 26,5 (t), 28,1 (qa), 30,3 (t), 42,2 (t), 61,8 ($d \times t$, bei H-Breitbandenkopplung t), 158,3 (s), 180,1 (s). – MS.: 146 (6, M^+), 129 (9), 114 (21), 101 (15), 100 (15), 97 (2), 91 (7), 87 (21), 86 (28), 83 (3), 73 (26), 60 (31), 57 (78), 45 (51), 44 (40), 43 (100), 32 (20), 31 (21), 30 (43), 28 (17).

3.4. 4-*Deuterio-3, 4-dihydroxy-2-methylbuttersäure* (**28**). Dieses Abbauprodukt, das beim nicht-markierenden Abbau nicht erfasst worden war, wurde bei der Chromatographie der späten *Sephadex*-Fraktionen an *Amberlite CG-50* (Isolierung von **14**) in den mit Wasser eluierbaren Fraktionen in einer Menge von 90 mg als noch nicht ganz einheitliches gelbes Öl erhalten. Die anschliessende Chromatographie an 5 g Kieselgel mit $AcOCH_3/CH_3OH$ 9:1 gab 29 mg einheitliches **28**. – 1H -NMR. (CD_3OD): 0,91 (d , $J = 7$, 3 H); 1,76 (qi , $J = 7$, 1 H); 3,5–3,6 (m , 2 H). – ^{13}C -NMR. (CD_3OD): 13,81 (qa), 39,15 (d), 65,15 ($d \times t$, bei H-Breitbandenkopplung t), 75,96 (d). – MS.: M^+ nicht erkennbar, 103 (2,5), 91 (100), 88 (2), 73 (69), 62 (50), 59 (50), 45 (81), 41 (31), 32 (36).

4. Abbau von Copiamycin und Produkte. – Der Abbau von 3,0 g Copiamycin B [3] in 160 ml abs. CH_3OH und die anschliessende Reduktion mit 9 g $NaBH_4$ wurden wie beim Niphimycin durchgeführt. Die Extraktion mit $CHCl_3$ gab 900 mg gelbes Öl, ein Gemisch der Glykolsäureester **10** und **12** (*ca.* 1:1, s. unten). Die in Wasser löslichen Anteile wurden i.V. eingedampft, der Rückstand mit CH_3OH aufgeschlämmt, die Suspension filtriert und das Filtrat an *Sephadex LH-20* (4×84 cm, CH_3OH) chromatographiert, wodurch 1,6 g Gemisch von **16c** und **17** sowie 590 mg rohes **14** erhalten wurden. Die letztere Fraktion wurde wie früher an *Amberlite CG-50* (2×34 cm) chromatographiert und gab 350 mg kristallines Acetat von **14**, dessen R_f (0,29; $BuOH/AcOH/H_2O$ 67:23:10) und Spektren (IR., 1H -NMR., ^{13}C -NMR.) mit denen von **14** Acetat aus Niphimycin übereinstimmten. Das Acetylierungsprodukt **15** zeigte ebenfalls keine Unterschiede zum entsprechenden Abbauprodukt aus Niphimycin I. Das Gemisch von **16** und **17** wurde wie oben durch Tröpfchen-Gegenstromchromatographie getrennt und gab die beiden Verbindungen in reiner Form mit den gleichen Eigenschaften wie die aus Niphimycin erhaltenen Abbauprodukte. Die weitere Identifizierung erfolgte durch die Acetylderivate **18** und **19** (Übereinstimmung in R_f , $[a]_D$, IR., 1H -NMR. und MS.), sowie durch den weiteren Abbau zu **20** und **21** (s. unten).

4.1. *Glykolsäure-[1-(1'-hydroxymethyl)äthyl-6-hydroxy-2, 4-dimethyl]octylester (10) und Glykolsäure-(3, 10-dihydroxy-2, 4, 6-trimethyl)decylester (12)*. Der Chloroformauszug wurde mit $CHCl_3/CH_3OH$ 15:1 an *ca.* 100 g Kieselgel chromatographiert und gab ein gemäss DC. scheinbar einheitliches Produkt als farbloses Öl, das sich erst durch die NMR.-Spektren als Gemisch von **10** und **12** erwies (Verhältnis *ca.* 1:1 gemäss NMR.). Ein für die Zuordnung der Signale besser geeignetes Gemisch (3:1) wurde durch gleichartigen Abbau von 200 mg Copiamycin A erhalten (21 mg farbloses Öl). – IR. ($CHCl_3$): 3600, 3500 (br.), 1725. – 1H -NMR. ($CDCl_3$): 0,7–1,1 (m , 9 H); 1,1–1,7 (m , 9 H); 1,7–2,1 (m , 2 H); 2,55 (br., 3 H, austauschbar); 3,35–3,7 (m , *ca.* 4 H); dazu die für die beiden Komponenten einzeln erkennbaren Signale: *Daten von 10*: 4,18 (s , 2 H); 4,92 ($d \times d$, $J_1 = 10$, $J_2 = 2$, 1 H); *Daten von 12*: 4,16 (s , 2 H); 4,30 (d , $J = 4,5$, 2 H). – ^{13}C -NMR. ($CDCl_3$): *Daten von 10*: 13,8 (qa), 14,0 (qa), 20,2 (qa), 23,1 (t), 29,1 (d), 30,8 (d), 32,6 (t), 36,9 (d), 37,0 (t), 40,8 (t), 60,3 (t), 62,7 (t), 64,2 (t), 77,2 (d), 174,4 (s). *Daten von 12*: (Signale mit *ca.* 3mal geringerer Intensität): 13,0 (qa), 13,7 (qa), 20,2 (qa), 23,1 (t), 29,7 (d), 31,6 (d), 32,8 (t), 36,3 (d), 37,0 (t), 41,3 (d), 60,5 (t), 62,7 (t), 68,4 (t), 74,1 (d), 173,8 (s).

4.2. *Acetylderivate von 10 und 12 (11 und 13)*. Das wie üblich bereitete Gemisch der Acetylierungsprodukte **11** und **13** gab nach der chromatographischen Reinigung ebenfalls einen einzigen Fleck im DC. – ^{13}C -NMR. ($CDCl_3$): *Daten von 11*: 13,90 (qa), 14,4 (qa), 20,0 (qa), 20,4 (qa), 20,9 (qa), 21,0 (qa), 23,2 (t), 28,9 (t), 29,5 (d), 31,3 (d), 34,5 (d), 36,4 (t), 41,1 (t), 60,6 (t), 64,6 (t), 66,0 (t), 78,1 (d), 167,6 (s),

170,2 (s), 171,0 (s), 171,2 (s); *Daten von 13*: zum grossen Teil mit denen von **11** zusammenfallend; abweichend: 41,3 (t), 60,7 (t), 66,9 (t), 76,3 (d), 167,9 (s), 170,7 (s). – MS. von **11/13**: 417 (1, *M*+1), 357 (0,5), 315 (11), 299 (2), 283 (2), 257 (6), 239 (8), 238 (14), 231 (33), 223 (3), 215 (12), 197 (5), 189 (14), 179 (7), 163 (4), 155 (3), 142 (7), 137 (11), 123 (5), 121 (5), 119 (4), 113 (5), 109 (8), 101 (100).

4.3. *Umlagerung von 10 zu 12*. Das Isomerenmisch **10/12** (1:1, 21 mg) wurde mit 10 mg *p*-Toluolsulfonsäure in 2 ml DMSO 16 Std. bei 20° gerührt. Das Gemisch wurde auf Eis gegossen, mit CHCl₃ extrahiert und mehrmals mit Wasser gewaschen. Nach dem Chromatographieren an *Sephadex LH-20* mit CH₃OH wurden 15 mg **10/12** erhalten; Isomerenverhältnis gemäss ¹H-NMR.: 1:3.

4.4. *Methanolyse von 10/12*. Eine Lösung von 50 mg **10/12** (1:1) in 2 ml 1*N* HCl in abs. CH₃OH wurde 1 Std. unter Rückfluss erhitzt, mit frisch gefälltem Ag₂CO₃ neutralisiert, durch *Celite* filtriert und eingedampft. Beim Chromatographieren an 7 g Kieselgel (CHCl₃/CH₃OH 15:1) wurde zunächst Glykolsäuremethylester eluiert. Anschliessend wurden 22 mg 2,4,6-Trimethyldecan-1,3,10-triol (**1**) erhalten, das nach der Destillation i.HV. (110°) kristallisierte und die gleichen Eigenschaften (Smp., Rf, [α]_D, IR., ¹H-NMR., MS.) hatte wie das aus Niphimycin erhaltene Präparat.

Der bei der Chromatographie abgetrennte Glykolsäuremethylester wurde mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid und Pyridin (2 Std., RT.) umgesetzt und das 3,5-Dinitrobenzoat an 10 g Kieselgel chromatographiert. Es wurden 3 mg reines Produkt erhalten und durch DC., IR. und ¹H-NMR. mit einem authentischen Präparat (Smp. 130°) identifiziert.

5. *Abbau der Polyhydroxyverbindungen 16c und 17c mit Perjodat und Abbauprodukte*. – Eine Lösung von 110 mg **16c** und 178 mg Natriummetaperjodat in 10 ml Wasser wurde eine Std. bei RT. gerührt. Darauf wurden 126 mg NaBH₄ in 10 ml Wasser langsam zugetropft. Nach 1 Std. wurde mit 2*N* H₂SO₄ unter Eiskühlung neutralisiert und die Lösung i.V. eingedampft. Der Rückstand wurde mit CH₃OH aufgeschlämmt, filtriert und das Filtrat mit CH₃OH an *Sephadex LH-20* (3 × 50 cm) chromatographiert. Darauf wurde das Gemisch mit CHCl₃/CH₃OH/H₂O 65:20:4 an 10 g Kieselgel getrennt und die Produkte nochmals durch eine kleine Säule aus *Sephadex LH-20* filtriert. Es wurden 32 mg **20** und 51 mg **21** erhalten.

5.1. *1,3,5,9,11-Hexahydroxy-2-methylundecan (20)*. Nach Kristallisation aus CH₃OH/Aceton farbloses Pulver: Smp. 145°, Rf 0,23 (DC. mit CHCl₃/CH₃OH/H₂O 65:25:4), [α]_D²⁵ = +12° (c = 0,97, CH₃OH). – IR. (KBr): 3300 (br.), kein C=O. – ¹H-NMR. (300 MHz, CD₃OD): 0,90 (d, *J* = 7, 3 H); 1,4–1,8 (m, 9 H); 3,41 (d × d, *J*₁ = 11, *J*₂ = 6, 1 H); 3,60 (d × d, *J*₁ = 11, *J*₂ = 7, 1 H); 3,68 (t, *J* = 6, 2 H); 3,8–4,25 (m, 4 H). – ¹³C-NMR. (CD₃OD): 11,4 (qa), 41,4 (t), 42,6 (d), 43,5 (t), 46,4 (t), 46,7 (t), 60,4 (t), 66,2 (t), 66,6 (d), 67,3 (d), 70,1 (d). – MS.: 267 (8, *M*+1), 249 (2), 231 (2), 213 (2), 212 (2), 195 (2), 194 (2), 185 (13), 171 (36), 153 (36), 145 (9), 141 (50), 127 (72), 125 (23), 115 (90), 101 (100), 99 (59), 97 (23), 89 (55), 83 (55), 81 (64), 75 (72), 73 (45), 71 (82), 69 (50), 57 (73), 55 (73), 45 (55), 43 (82), 41 (54), 31 (32).

C₁₂H₂₆O₆ (266,34) Ber. C 54,11 H 9,86% Gef. C 54,13 H 9,87%

5.2. *Hexaacetyl-Derivat 22*. Farblose Flüssigkeit nach Chromatographie an Kieselgel. – IR. (CHCl₃): 1735, kein OH. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 0,94 (d, *J* = 7, 3 H); 1,7–2,1 (m, 9 H); 1,98 (s, 6 H); 2,00 (s, 6 H); 2,01 (s, 3 H); 2,02 (s, 3 H); 3,83 (d × d, *J*₁ = 11, *J*₂ = 7, 1 H); 4,01 (d × d, *J*₁ = 11, *J*₂ = 7, 1 H); 4,06 (t, *J* = 7, 2 H); 4,8–5,1 (m, 4 H). – ¹³C-NMR. (CDCl₃): 11,7 (qa), 20,9 (qa, mehrere C), 33,6 (t), 36,1 (t), 36,3 (d), 39,1 (t), 39,5 (t), 60,5 (t), 65,6 (t), 66,7 (d), 66,9 (d), 67,4 (d), 69,9 (d), 170,3 (s, mehrere C), 170,8 (s, mehrere C). – MS.: 519 (0,1, *M*+1), 459 (2), 431 (5), 417 (34), 398 (7), 356 (7), 345 (7), 338 (6), 331 (7), 315 (18), 296 (16), 278 (11), 259 (9), 255 (27), 245 (9), 236 (38), 218 (10), 195 (15), 176 (17), 159 (13), 157 (12), 143 (11), 135 (30), 123 (10), 109 (10), 107 (10), 97 (12), 81 (16), 55 (10), 43 (100).

5.3. *1,3,5,7,11,13-Hexahydroxy-2,6,10-trimethyltridecan (21b)*. Farblose Flüssigkeit, Rf 0,51 (DC. mit CHCl₃/CH₃OH/H₂O 65:25:4), [α]_D²⁵ = +4° (c = 1,80, CH₃OH). – ¹H-NMR. (CD₃OD): 0,90 (d, *J* = 6, 3 H); 0,91 (d, *J* = 7, 6 H); 1,2–1,9 (m, 11 H); 3,4–3,95 (m, 8 H). – ¹³C-NMR. (CD₃OD): 10,5 (qa), 13,5 (qa), 15,5 (qa), 29,7 (t), 33,1 (t), 36,4 (t), 38,3 (t), 40,1 (d), 42,2 (d), 43,6 (d), 60,6 (t), 65,3 (t), 72,5 (d), 73,7 (d), 75,1 (d), 75,8 (d). – MS.: 323 (2, *M*+1), 305 (0,5), 287 (0,5), 269 (0,5), 259 (0,5), 241 (2), 227 (13), 223 (2), 219 (4), 209 (4), 201 (2), 197 (1), 194 (2), 191 (3), 183 (4), 173 (21), 172 (14), 165 (4), 161 (3), 155 (13), 143 (100), 137 (9), 125 (38), 115 (60), 109 (24), 107 (40), 101 (12), 99 (26), 95 (29), 89 (55), 85 (32), 81 (35), 75 (8), 71 (29), 69 (38), 68 (63), 57 (34), 55 (41), 45 (14), 43 (37).

5.4. *Acetylderivat 23*. Farbloses Öl. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 0,88 (d, *J* = 6, 3 H); 0,94 (d, *J* = 7, 6 H); 1,2–2,2 (m, 11 H); 1,98 (s, 3 H); 2,00 (s, 15 H); 3,97 (d, *J* = 6, 2 H); 4,04 (t, *J* = 7, 2 H); 4,7–5,1 (m, 4 H). – ¹³C-NMR. (CDCl₃): 9,8 (qa), 13,6 (qa), 14,8 (qa), 20,9 (qa), 21,0 (qa, mehrere C), 28,0 (t), 29,2 (t),

29,8 (*t*), 33,3 (*t*), 36,0 (*d*), 36,2 (*d*), 39,2 (*d*), 61,1 (*t*), 65,2 (*t*), 71,9 (*d*, 2 C), 72,3 (*d*), 73,9 (*d*), 170,2 (*s*), 170,4 (*s*), 170,5 (*s*), 170,6 (*s*), 170,8 (*s*). – MS.: 575 (0,1, *M* + 1), 515 (1), 487 (0,4), 473 (14), 455 (2), 454 (2), 427 (1), 412 (8), 394 (6), 387 (4), 371 (4), 359 (6), 352 (12), 334 (16), 311 (9), 292 (8), 278 (8), 274 (9), 259 (41), 251 (10), 236 (10), 218 (8), 197 (10), 191 (9), 185 (10), 176 (16), 159 (21), 157 (27), 147 (13), 137 (13), 134 (13), 125 (17), 109 (23), 108 (99), 97 (28), 95 (20), 81 (19), 69 (20), 68 (24), 55 (18), 43 (100).

Der analoge Abbau von 51 mg des zu **16c** diastereomeren C₃₀-Polyalkohols **17c** mit Perjodat gab 14 mg (62%) **20** und 17 mg (62%) **21** mit den gleichen chromatographischen (DC.) und spektroskopischen Eigenschaften (¹H-NMR., ¹³C-NMR.) wie die aus **16c** erhaltenen Abbauprodukte. Aus Copiamycin erhaltenes **16c** gab ebenfalls die beiden gleichen Hexahydroxyverbindungen **20** und **21b**.

6. Quantitative Bestimmung des Perjodat-Verbrauchs und der Bildung von Formaldehyd. – Die Lösung von 6,8 mg **16c** in 5 ml 0,02M Natriummetaperjodat wurde nach 30 Min. Stehen bei 20° durch 2 ml Dowex 1 (Acetaform) filtriert [9] und die Säule mit 25 ml Wasser nachgewaschen. Im Filtrat wurde der Formaldehyd nach [6] bestimmt zu 0,99 mol (2. Versuch 1,00 mol). Das bei der Reaktion entstandene Jodat wurde mit 0,1M NH₄OH aus der Säule eluiert. Aufgrund der UV.-Absorption bei 232 nm waren 2,9 mol (2. Versuch 3,3 mol) Perjodat verbraucht worden. Eichwerte wurden durch mehrfache Oxydation von Mannit erhalten.

7. Abbau von 21 mit Salpetersäure. – Aus 10 mg **21** wurde mit 0,6 ml konz. Salpetersäure/H₂O 1:1 (4 Std. Erhitzen unter N₂) nach dem Eindampfen i.V. ein Säuregemisch erhalten, das in CH₃OH mit ätherischer CH₂N₂-Lösung verestert wurde. Durch Kapillar-GC. (100°) und mit Hilfe von Mischchromatogrammen mit authentischen Proben [1] wurde ausser den beiden diastereomeren 4-Methoxycarbonyl-3-methylbutanoliden und weiteren in [1] beschriebenen Lactonen vor allem der 2-(6'-Methoxycarbonyl-5'-methyl-tetrahydropyran-2'-yl)propionsäuremethylester (**24**) nachgewiesen.

8. Markierender Abbau der Polyole 16c und 17c und Abbauprodukte. – Die aus 110 mg Gemisch von **16c** und **17c** mit 178 mg Natriummetaperjodat in 10 ml H₂O bereitete Lösung wurde mit 126 mg NaBD₄ wie unter Kap. 5 reduziert und aufgearbeitet. Das Produkt gab bei der Chromatographie an 15 g Kieselgel 36 mg **25** und 38 mg **26** mit folgenden von den deuteriumfreien Verbindungen **21b** und **20** abweichenden Eigenschaften:

8.1. *13-Deuterio-1, 3, 5, 7, 11, 13-hexahydroxy-2, 6, 10-trimethyl-tridecan (25).* – ¹H-NMR. (300 MHz, CD₃OD): 3,52 (*d* × *d*, *J*₁ = 11, *J*₂ = 6, 1 H); 3,62 (*d* × *d*, *J*₁ = 11, *J*₂ = 6, 1 H, teilweise überlappt); 3,6–3,9 (*m*, ca. 5 H); übrige Signale wie **21**. – MS.: 324 (2, *M* + 1), 306 (0,5), 287 (0,7), 270 (0,7), 269 (0,9), 259 (1,6), 241 (3,7), 228 (23), 223 (3,2), 220 (8), 210 (6), 202 (3), 198 (2), 194 (3), 192 (4), 184 (6), 173 (54), 172 (6), 166 (7), 162 (4), 155 (2), 144 (94), 137 (12), 126 (69), 115 (80), 109 (40), 108 (54), 103 (10), 100 (12), 99 (13), 98 (21), 97 (34), 95 (47), 89 (100), 85 (35), 82 (39), 81 (38), 76 (22), 71 (62), 69 (69), 68 (99), 57 (58), 55 (73), 45 (38), 43 (69).

8.2. *Acetylderivat von 25.* – MS.: 576 (0,3 *M* + 1), 516 (2), 474 (4), 456 (2), 455 (1), 427 (1), 413 (4), 395 (2), 388 (1), 372 (4), 359 (3), 353 (8), 335 (9), 312 (9), 293 (7), 278 (4), 275 (10), 259 (30), 252 (14), 236 (11), 218 (4), 197 (21), 192 (17), 186 (12), 176 (25), 160 (19), 157 (43), 148 (16), 147 (16), 137 (28), 134 (28), 126 (24), 108 (54), 97 (52), 81 (22), 68 (44), 55 (21), 43 (100).

8.3. *1, 11-Dideuterio-1, 3, 5, 7, 9, 11-hexahydroxy-2-methylundecan (26).* Farbloses Pulver. – ¹H-NMR. (300 MHz, CD₃OD): 3,41 (*d*, *J* = 6, 0,5 H); 3,60 (*d*, *J* = 7, 0,5 H); 3,67 (*t*, *J* = 6, 0,5); 3,68 (*t*, *J* = 7, 0,5 H); übrige Signale wie **20**. – MS.: 269 (1,9, *M* + 1), 251 (0,3), 233 (0,4), 214 (2,6), 196 (2,5), 186 (11), 172 (38), 168 (5), 154 (29), 146 (10), 142 (41), 128 (70), 126 (16), 116 (80), 102 (100), 99 (35), 97 (43), 90 (55), 84 (40), 82 (40), 81 (28), 76 (89), 73 (41), 42 (47), 70 (40), 69 (33), 58 (51), 56 (69), 45 (84), 44 (51), 43 (99), 42 (50), 41 (62), 32 (33), 31 (20).

8.4. *1, 13-Dideuterio-1, 3, 5, 7, 11, 13-hexahydroxy-2, 6, 10-trimethyltridecan (27).* Wenn das dreifach deuterierte Derivat von **16c** (73 mg) aus der markierenden Ozonolyse von Niphimycin mit Perjodat gespalten und mit NaBH₄ reduziert wurde, erhielt man das Abbauprodukt **20** (16 mg) in deuteriumfreier Form mit den gleichen Eigenschaften wie oben. Dagegen wurde anstelle von **21** das doppelt deuterierte **27** als farblose Flüssigkeit erhalten. – ¹H-NMR. (300 MHz, CD₃OD): 3,50 (*d*, *J* = 6, 0,5 H); 3,58 (*d*, *J* = 6, 0,5 H, teilweise überlappend); 3,68 (*t*, *J* = 7, 0,5 H); 3,54–3,61 (*m*, 1 H); 3,74–3,9 (*m*, 3 H). – MS.: 325 (1,4, *M* + 1), 307 (0,4), 289 (0,5), 288 (0,6), 271 (0,7), 270 (0,8), 260 (1,3), 242 (3), 228 (19), 224 (3), 220 (7), 210 (5), 202 (3), 198 (2), 195 (2,5), 192 (4), 184 (6), 174 (31), 173 (22), 167 (20), 162 (4), 156 (16), 144 (99), 138 (9), 126 (56), 116 (90), 110 (24), 108 (52), 103 (10), 100 (13), 98 (33), 95 (44), 90 (91), 85 (32), 82 (41), 81 (34), 76 (21), 72 (43), 71 (35), 70 (46), 69 (55), 68 (100), 57 (63), 55 (74), 45 (36), 43 (71).

9. Abbau von Copiamycin mit Natriumperjodat. – Zu 1,5 g Copiamycin in 110 ml abs. Alkohol wurden 3,7 g Natriumperjodat in 42 ml Wasser gegeben. Nach 40 Min. bei RT. wurden 3,7 g NaBH_4 in 75 ml Wasser zugetropft und 16 Std. bei 20° gerührt. Darnach wurde mit 2N HCl auf pH ca. 6,5 eingestellt und i.V. eingedampft. Der Rückstand, gelöst in 80 ml CH_3OH , wurde an *Sephadex LH-20* (4×85 cm) mit CH_3OH chromatographiert. Die **29** enthaltenden Fraktionen (1,3 g Eindampfrückstand) wurden in 2 Ansätzen zu ca. 650 mg durch Tröpfchen-Gegenstromchromatographie gereinigt. Lösungsmittel: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{PropOH}/\text{H}_2\text{O}$ 45:60:10:40, untere Phase mobil. Die gemäss DC. reinsten Fraktionen gaben 504 mg **29** (Rf 0,31, DC. mit $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 65:25:4), das noch eine Nebenkomponente mit Rf 0,33 enthielt. Reines **29** (125 mg) wurde als farbloses Pulver durch nochmalige Tröpfchen-Gegenstromchromatographie von 287 mg angereicherterem Produkt und anschließende präp. Schichtchromatographie auf Kieselgelplatten erhalten ($\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$ 125:65:10:0,25; Rf von **29** 0,24; Nebenkomponente 0,34). – IR. (KBr): 3700–2600 (br.), 1715 s, 1645 (br.), 1570. – $^1\text{H-NMR}$. (100 MHz, CD_3OD): s. *Figur 1*. – $^{13}\text{C-NMR}$. (CD_3OD): 10,7 (qa), 11,3 (qa), 15,1 (qa), 15,8 (qa), 16,5 (qa), 17,9 (qa), 20,6 (qa), 27,8–43,9 (ca. 15 z.T. überlappende Signale, Aufspaltung bei off-resonance-Einstrahlung nicht eindeutig erkennbar), 60,2 (t), 66,3 (d), 66,5 (d), 66,9 (d), 69,3 (d), 72,5 (d), 74,1 (d), 74,9 (d, 2 C), 75,8 (d), 79,9 (d), 123,1 (d), 130,0 (d), 132,8 (d), 134,2 (d), 134,6 (d), 152,1 (d), 158,3 (s), 168,1 (s), 181 (s). – FAB-MS.: ($M+1$)⁺ 960 ($\text{C}_{50}\text{H}_{94}\text{N}_3\text{O}_{14}$). – Mikrotitration in Methylcellosolve/ H_2O 8:2: Äquiv.-Gew. Gef. 1032; $pK^* = 6,01$.

$\text{C}_{50}\text{H}_{93}\text{N}_3\text{O}_{14} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (978,39) Ber. C 61,38 H 9,79 N 4,29% Gef. C 61,16 H 9,79 N 4,11%

10. Hydrolyse von 29 und Hydrolyseprodukte. – Das durch Tröpfchen-Gegenstromchromatographie gereinigte, nicht ganz einheitliche **29** (217 mg) wurde in 8 ml 1N NaOH 16 Std. auf 80° erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde mit etwas CH_3OH bis zur klaren Lösung verdünnt, mit 2N H_2SO_4 neutralisiert (pH 5–6) und i.V. eingedampft. Durch Chromatographie an *Sephadex LH-20* mit CH_3OH wurden neben uneinheitlichen Fraktionen 77 mg **30** und 68 mg freie Säure von **31** erhalten.

10.1. N-(12, 16, 18, 20, 22, 24, 26-Heptahydroxy-9, 11, 13, 17-tetramethylhexacosä-4, 14-dienyl)harnstoff (**30**). Nach der Chromatographie an 8 g Kieselgel mit $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 60:15:1 und an *Sephadex LH-20* (CH_3OH) 38 mg viskose Flüssigkeit, gemäss DC. einheitlich. – IR. (KBr): 1650, 1605, 1560. – $^1\text{H-NMR}$. (CD_3OD): 0,85 (d, $J = 6$, 9 H); 0,97 (d, $J = 7$, 3 H); 1,0–1,8 (m, 19 H); 1,95 (br., 4 H); 2,31 (m, 1 H); 3,06 (t, $J = 7$, 2 H); 3,68 (t, $J = 7$, 2 H); 3,8–4,3 (m, 6 H); 5,40 (m, 2 H); 5,55 (m, 2 H). – $^{13}\text{C-NMR}$. (CD_3OD): 11,1 (qa), 14,2 (qa), 18,1 (qa), 20,7 (qa), 28,0 (t), 30,8 (d), 31,0 (t), 31,1 (t), 33,5 (d), 33,8 (t), 37,4 (t), 40,6 (t), 41,4 (t), 41,5 (d), 43,1 (t), 43,3 (t), 44,9 (d), 46,3 (t), 46,6 (t), 60,4 (t), 66,7 (d), 66,8 (d), 67,3 (d), 69,6 (d), 76,6 (d), 78,9 (d), 130,6 (d), 132,3 (d), 133,6 (d), 136,8 (d), 162,1 (s). – FAB-MS.: ($M+1$)⁺ 589 ($\text{C}_{31}\text{H}_{61}\text{N}_2\text{O}_8$), ($M-15$)⁺ 573.

10.2. 3, 7-Anhydro-3, 5, 7, 9, 13-pentahydroxy-4, 8, 12-trimethylpentadecandisäure-dimethylester (**31**). Die **31** entsprechende Säure (68 mg) wurde in wenig CH_3OH mit ätherischer CH_2N_2 -Lösung verestert und der Ester **31** nach dem Eindampfen an 8 g Kieselgel mit $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 15:1 chromatographiert. Neben Mischfraktionen wurden 13 mg einheitliches und 16 mg nahezu einheitliches **31** als farblose Flüssigkeiten erhalten. – IR. (CHCl_3): 3605, 3500 (br.), 1730. – $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 0,84 (d, $J = 7$, 3 H); 0,90 (d, $J = 7$, 3 H); 0,92 (d, $J = 7$, 3 H); 1,3–1,8 (m, 10 H, davon 1 austauschbar); 2,3–2,55 (m, 4 H); 3,08 (br., 2 H, austauschbar); 3,65 (s, 3 H); 3,67 (s, 3 H); 3,5–4,1 (m, 5 H). – $^{13}\text{C-NMR}$. (CDCl_3): 11,8 (qa), 13,5 (qa), 15,1 (qa), 29,4 (t), 30,2 (t), 38,1 (t), 38,3 (t), 38,4 (d), 39,0 (t), 39,7 (d), 42,6 (d), 51,7 (qa), 51,9 (qa), 68,9 (d), 71,9 (d), 73,1 (d), 74,4 (d), 75,2 (d), 172,4 (s), 173,9 (s). – MS.: 405 (0,2, $M+1$), 386 (1,2), 368 (0,8), 355 (1), 350 (0,3), 337 (1), 313 (1), 305 (1), 295 (3), 284 (1), 277 (1), 265 (3), 263 (1), 245 (16), 227 (6), 216 (5), 211 (3), 209 (3), 198 (8), 195 (2), 187 (13), 180 (15), 171 (60), 169 (21), 167 (2), 161 (61), 155 (6), 153 (12), 143 (100), 139 (22), 137 (8), 130 (8), 129 (6), 127 (6), 125 (7), 121 (11), 115 (12), 113 (6), 111 (48), 109 (11), 103 (36), 95 (43), 93 (13), 85 (10), 83 (14), 81 (15), 73 (8), 71 (22), 69 (17), 59 (15), 57 (22), 55 (37), 43 (35), 41 (20).

10.3. Triacetylderivat **32**. Das aus 16 mg **31** mit 2 ml Essigsäureanhydrid/Pyridin 1:1 (16 Std., RT.) hergestellte Derivat **32** wurde durch präp. Schichtchromatographie (*Kieselgel F₂₅₄*, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{COOCH}_3$ 9:1) gereinigt. – $^1\text{H-NMR}$. (300 MHz, CDCl_3): *Figur 2*. – Spinentkopplung: *Tabelle 1*. – MS.: 531 (0,6, $M+1$), 515 (0,6), 499 (0,6), 471 (1,2), 470 (1,5), 459 (1,2), 457 (1), 439 (3), 427 (2,5), 410 (47), 397 (2,7), 395 (2,5), 379 (12), 367 (14), 350 (38), 337 (75), 336 (58), 321 (4), 319 (12), 318 (6), 308 (6), 295 (5), 293 (6), 291 (7), 287 (6), 277 (53), 269 (4), 265 (6), 259 (5), 249 (8), 245 (7), 237 (16), 236 (18), 229 (8), 227 (8), 223 (13), 222 (13), 221 (9), 213 (5), 209 (85), 196 (11), 195 (11), 187 (8), 185 (6), 179 (25), 171 (27),

169 (100), 168 (35), 167 (47), 163 (12), 161 (11), 153 (24), 145 (12), 141 (23), 139 (23), 135 (42), 125 (33), 123 (35), 121 (35), 115 (17), 111 (16), 109 (48), 103 (22), 95 (36), 93 (40), 85 (20), 81 (70). Vgl. *Schema 2*.

10.4. *Trimethylsilylderivat 33*. Wurde aus 2 mg **31** in 0,1 ml Pyridin und 0,1 ml Bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamid/Trimethylsilylchlorid 9:1 bei 80° (30 Min.) hergestellt. MS. direkt am Eindampfdruckstand: 621 (0,2), 620 (0,8), 605 (0,2), 589 (0,25), 547 (1,5), 530 (0,2), 515 (1,7), 499 (0,6), 483 (0,2), 476 (0,2), 475 (0,2), 458 (0,7), 446 (0,6), 443 (1,2), 440 (0,8), 425 (4), 409 (0,8), 389 (1,2), 368 (2,5), 360 (5), 333 (50), 317 (14), 301 (63), 299 (4), 288 (18), 277 (3), 265 (3), 259 (9), 247 (6), 243 (16), 242 (10), 233 (6), 231 (6), 229 (11), 227 (11), 215 (39), 211 (7), 203 (3), 199 (9), 187 (57), 183 (6), 175 (57), 171 (25), 169 (69), 161 (14), 159 (43), 157 (12), 153 (16), 147 (12), 146 (12), 143 (36), 141 (10), 139 (12), 133 (31), 129 (100).

11. *Abbau von Niphimycin mit Natriumperjodat und Abbauprodukte*. - Unter leichtem Erwärmen wurden 600 mg Niphimycin I in 45 ml abs. C₂H₅OH gelöst und nach dem Abkühlen auf RT. 545 mg Natriummetaperjodat in 15 ml H₂O zugefügt. Nach 20 Min. Rühren wurden bei 0° 545 mg NaBH₄ in 11 ml Wasser zugetropfelt und nach 2 Std. bei 0° und 16 Std. bei RT. mit 7,2 ml 2N H₂SO₄ auf pH 3 eingestellt, dann mit 2,5 ml verd. NaOH-Lösung neutralisiert (pH ca. 6). Ein Niederschlag wurde abfiltriert und die Lösung i.V. eingedampft. Der Rückstand wurde mit 80 ml CH₃OH ausgezogen und der Extrakt an *Sephadex LH-20* (4 × 80 cm) mit CH₃OH chromatographiert.

11.1. *Verbindung 35*. Zunächst wurden 123 mg einheitliches **35** als farbloses amorphes Pulver eluiert, anschliessend 327 mg nicht ganz reines **35** als gelbliches Öl. Eine Probe des letzteren (20 mg) wurde durch präp. DC. (Platte mit 0,25 mm Kieselgel; CHCl₃/CH₃OH/H₂O/AcOH 100:65:10:0,25) gereinigt zu 18 mg einheitlichem Acetat von **35**. - IR. (KBr): 3700-2600 (br.), 1710 (br.), 1640, 1570. - ¹H-NMR. (300 MHz, CD₃OD): 0,83 (*d*, *J* = 7, 3 H); 0,86 (*d*, *J* = 7, 3 H); 0,90 (*d*, *J* = 7, 3 H); 0,91 (*d*, *J* = 7, 6 H); 1,01 (*d*, *J* = 7, 3 H); 1,04 (*d*, *J* = 7, 3 H); 1,07 (*d*, *J* = 7, 3 H); 1,2-1,4 (*m*, 10 H); 1,43-1,85 (*m*, 17 H); 1,90 (*s*, 3 H, CH₃COO⁻); 1,8-2,0 (*m*, 2 H); 2,08 (*qa*, *J* = 6, 1 H); 2,30 (*m*, 1 H); 2,50 (*m*, 2 H); 2,84 (*s*, 3 H, H₃C-N); 3,17 (*t*, *J* = 7, 2 H); 3,49 (*m*, 1 H); 3,71 (*t*, *J* = 7, 2 H); 3,77 (*m*, 2 H); 3,88 (*m*, 1 H); 3,95-4,2 (*m*, 7 H); 4,76 (*d* × *d*, *J*₁ = 7, *J*₂ = 4, 1 H, z.T. überdeckt von HOD-Signal); 5,45 (*m*, 3 H); 5,56 (*d* × *d*, *J*₁ = 15, *J*₂ = 7, 1 H); 5,62 (*d* × *d*, *J*₁ = 15, *J*₂ = 7, 1 H); 5,72 (*d* × *d*, *J*₁ = 15, *J*₂ = 8, 1 H); 6,07 (*d* × *d*, *J*₁ = 15, *J*₂ = 10, 1 H); 6,61 (*d* × *d*, *J*₁ = 15, *J*₂ = 10, 1 H). - ¹³C-NMR. (CD₃OD): 10,6 (*qa*), 11,1 (*qa*), 14,5 (*qa*), 15,0 (*qa*), 15,7 (*qa*), 16,0 (*qa*), 18,0 (*qa*), 20,5 (*qa*), 27,7-46,6 (Signale von ca. 25 C, z.T. stark überlappend), 60,3 (*t*), 66,5 (*d*), 66,7 (*d*), 67,2 (*d*), 68,0 (*d*), 69,4 (*d*), 70,5 (*d*), 72,7 (*d*, 2 C), 75,5 (*d*), 75,6 (*d*), 75,8 (*d*), 76,0 (*d*), 80,4 (*d*), 129,8 (*d*), 131,7 (*d*), 132,2 (*d*, 2 C), 132,8 (*d*), 135,1 (*d*), 136,2 (*d*), 136,9 (*d*), 158,3 (*s*), 176,6 (*s*), 180,3 (*s*). - FAB-MS.: *M*⁺ = 1044 (C₅₅H₁₀₁N₃O₁₅).

11.2. *Hydrolyse von 35*. Das in 2 ml CH₃OH und 2 ml 2N NaOH gelöste **35** (152 mg) wurde 7 Std. unter N₂ auf 80° erwärmt. Nach dem Neutralisieren mit ca. 2 ml 2N H₂SO₄ (pH 5-6) wurde der Niederschlag abfiltriert, das Filtrat eingengt und der Rückstand 2mal mit je ca. 20 ml CH₃OH ausgezogen. Der Extrakt wurde an *Sephadex LH-20* (1,4 × 50 cm) mit CH₃OH chromatographiert. Nach 33 mg noch verunreinigtem **37** wurden 36 mg **36** eluiert, das ebenfalls noch Nebenprodukte enthielt.

11.3. *3,7,9,11,15-Pentahydroxy-2,6,10,14-tetramethyl-4-heptadecensäure (36)*. Nach Adsorption basischer Verunreinigungen an einer Säule aus *Sephadex CM-C-25* (H⁺-Form, 0,8 × 20 cm, CH₃OH/H₂O 1:1) wurden 9 mg reine Dicarbonsäure **36** als farbloses Pulver erhalten. - ¹H-NMR. (300 MHz, CD₃OD): 0,91 (*d*, *J* = 7, 3 H); 0,92 (*d*, *J* = 6,5, 3 H); 1,07 (*d*, *J* = 7, 3 H); 1,09 (*d*, *J* = 7, 3 H); 1,34 (*m*, 2 H); 1,45-1,75 (*m*, 6 H); 2,30 (*m*, 2 H); 2,50 (*m*, 2 H); 3,78 (*m*, 2 H); 3,90 (*m*, 2 H); 4,18 (*t*, *J* = 7,5, 1 H); 5,46 (*d* × *d*, *J*₁ = 16, *J*₂ = 8, 1 H); 5,70 (*d* × *d*, *J*₁ = 16, *J*₂ = 8, 1 H). - Spinentkopplung s. *Tabelle 2*.

11.4. *N-(12,18,20,22,24,26,28-Heptahydroxy-9,11,13,19-tetramethyloctacosäure-4,14,16-trienyl)harnstoff (37)*. Das Rohprodukt der alkalischen Hydrolyse von **35** wurde erneut an *Sephadex LH-20* chromatographiert und durch präp. DC. (Kieselgel F₂₅₄; CHCl₃/CH₃OH/H₂O/CH₃COOH 100:40:5:0,25) gereinigt zu 12 mg farblosem, gemäss DC. einheitlichem Harz. - UV. (EtOH): 232 (4,45). - IR. (KBr): 3350 (br.), 1653, 1605, 1558. - ¹H-NMR. (300 MHz, CD₃OD): 0,84 (*d*, *J* = 7, 3 H); 0,87 (*d*, *J* = 6,5, 6 H); 1,00 (*d*, *J* = 7, 3 H); 1,15-1,8 (*m*, 19 H); 2,01 (*m*, 4 H); 2,37 (*qi*, *J* = 8, 1 H); 3,10 (*t*, *J* = 7, 2 H); 3,72 (*t*, *J* = 6, 2 H); 3,95-4,2 (*m*, 5 H); 4,21 (*m*, 1 H); 5,43 (*m*, 2 H); 5,61 (*d* × *d*, *J*₁ = 15, *J*₂ = 8, 1 H); 6,73 (*d* × *d*, *J*₁ = 15, *J*₂ = 8, 1 H); 6,08 (*d* × *d*, *J*₁ = 16, *J*₂ = 10, 1 H); 6,22 (*d* × *d*, *J*₁ = 15, *J*₂ = 10, 1 H). - Spinentkopplung s. *Tabelle 3*. - ¹³C-NMR. (CD₃OD): 11,00 (*qa*), 14,6 (*qa*), 18,2 (*qa*), 20,8 (*qa*), 27,8 (*t*), 30,8 (*t*), 30,8 (*d*), 31,1 (*t*), 33,8 (*d*), 37,1 (*t*), 40,5 (*t*), 41,4 (*t*), 41,5 (*d*), 42,8 (*t*), 43,4 (*t*), 45,1 (*d*), 46,4 (*t*), 46,7 (*t*), 60,2 (*t*), 66,3 (*d*), 66,5 (*d*), 66,9 (*d*), 69,2 (*d*), 76,0 (*d*), 79,1 (*d*), 130,6 (*d*), 131,3 (*d*), 132,2 (*d*), 132,9 (*d*), 134,3 (*d*), 138,4 (*d*), 162,2 (*s*).

12. Malonsäuredimethylester aus Niphimycin I und Copiamycin. – In einem Gemisch von 2 ml 1N NaOH und 2 ml CH₃OH wurden 60 mg Niphimycin I 20 Min. bei RT. gerührt. Darauf wurde mit 2N H₂SO₄ schwach angesäuert und nach Zugabe von ätherischer CH₂N₂-Lösung 20 Min. weitergerührt. Darauf wurde mit Äther ausgeschüttelt und der Extrakt direkt für die GC./MS.-Untersuchung verwendet. Kolonne SE 52, 22 m; Temperaturgradient 2°/Min., 40–80°. Die Hauptkomponente des Gemisches (ca. 90%) zeigte gleiche t_R wie Malonsäuredimethylester und gab ein damit übereinstimmendes MS.: 132 (29, M⁺), 104 (28), 101 (100), 100 (39), 74 (37), 69 (63), 59 (67), 48 (5), 41 (10).

In gleicher Weise wurden 60 mg Copiamycin A während 10 Min. bei RT. hydrolysiert. Nach der Veresterung mit Diazomethan wurde im Ätherextrakt der Malonsäuredimethylester durch Kapillar-GC. (Ucon, 70°, Vergleich mit einer authentischen Probe und Mischchromatogramm) nachgewiesen; t_R = 1,2 Min.

Die Mikroanalysen verdanken wir unserem analytischen Laboratorium (Leitung Herr D. Manser), die MS. den Herren Prof. Dr. J. Seibl und Dr. J. Meili sowie Frau L. Golgowski, die IR.- und NMR.-Spektren Fräulein B. Brandenburg und den Herren K. Hiltbrunner und F. Bangarter von unserer Abteilung für Instrumentalanalyse (Leitung Prof. J. F. M. Oth). Für die GC./MS.-Bestimmungen danken wir Herrn Dr. P. Grossmann.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] L. Bassi, B. Joos, P. Gassmann, H.-P. Kaiser, H. Leuenberger & W. Keller-Schierlein, *Helv. Chim. Acta* 66, 92 (1983).
- [2] T. Arai, S. Kuroda, H. Ohara, Y. Katoh & H. Kaji, *J. Antibiotics, Ser. A*, 18, 63 (1965).
- [3] H. P. Fiedler, W. Wörner, H. Zähler, H.-P. Kaiser, W. Keller-Schierlein & A. Müller, *J. Antibiotics* 34, 1107 (1981).
- [4] K. Fukushima, T. Arai, S. Iwasaki, M. Nomikoshi & S. Okuda, *J. Antibiotics*. (im Druck).
- [5] H. Schotte, H. Prieue & H. Roeschisen, *Z. Physiol. Chem.* 174, 119 (1928).
- [6] J. Speck, 'Methods in Carbohydrate Chemistry' (Ed. R. Whistler & M. Wolfrom), Vol. I, S. 441. Academic Press, New York 1962.
- [7] S. Iwasaki, K. Sasaki, M. Namikoshi & S. Okuda, *Heterocycles* 17, 331 (1982).
- [8] D. Samain, J. C. Cook & K. L. Rinehart, *J. Am. Chem. Soc.* 104, 4129 (1982).
- [9] J. Khym, 'Methods in Carbohydrate Chemistry' (Ed. R. Whistler & M. Wolfrom) Vol. VI, S. 87. Academic Press, New York 1972.