

## 136. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

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

### Isolierung und Strukturaufklärung von Rutamycin B

von **Damian Wuthier** und **Walter Keller-Schierlein\***

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, CH-8092 Zürich

und **Barbara Wahl**

Lehrstuhl für Mikrobiologie I der Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 28, D-7400 Tübingen

(30.IV.84)

---

#### Isolation and Structure of Rutamycin B

##### *Summary*

Botrycidin was found to be identical with rutamycin. From the cultures of the actinomycete producing botrycidin and the venturicidines A and B, a fourth antifungal antibiotic, rutamycin B, was isolated. Through a series of degradation products its structure could be correlated to that of rutamycin, which had been determined before by an X-ray structural analysis. Rutamycin B has been identified as 12-deoxy-rutamycin.

---

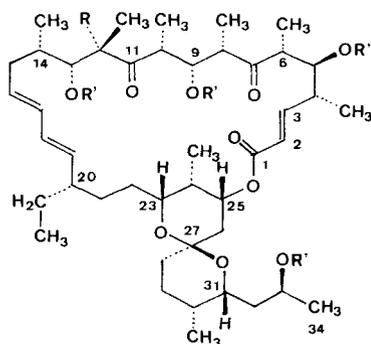
Vor längerer Zeit haben wir über die Isolierung der Venturicidine A und B und des Botrycidins, dreier antifungischer Antibiotica aus *Streptomyces aureofaciens* DUGGAR (Stamm Tü 342) berichtet [2]. Während die Strukturaufklärung der Venturicidine bald abgeschlossen wurde [3], musste die weitere Untersuchung des Botrycidins damals aufgeschoben werden. Bei der Wiederaufnahme unserer Arbeiten über Botrycidin stellten wir bald fest, dass seine analytischen und spektroskopischen Eigenschaften mit denen von Rutamycin (Antibioticum A 272) [4] weitgehend übereinstimmen. Der direkte Vergleich mit einer authentischen Probe<sup>2)</sup> (DC, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR) bestätigte die Identität von Botrycidin mit Rutamycin. Die Strukturformel **1** und die relative Konfiguration beruhen zur Hauptsache auf einer Röntgen-Strukturanalyse [5].

Bei der Reinigung des Venturicidins A durch Chromatographie war seinerzeit eine nicht ganz einheitliche Fraktion mit Substanzen mit hohem  $R_f$ -Wert (DC) angefallen. Aus dieser Fraktion konnten wir jetzt eine chromatographisch einheitliche Verbindung als farbloses amorphes Pulver abtrennen, die wir wegen der nahen Verwandtschaft zu Rutamycin als Rutamycin B bezeichnen.

---

<sup>1)</sup> 226. Mitt. s. [1].

<sup>2)</sup> Herrn Dr. L. E. Day, Lilly Research Laboratories, Indianapolis, danken wir für das Vergleichspräparat.



- 1 R = OH, R' = H
- 2 R = R' = H
- 3 R = H, R' = COCH<sub>3</sub>
- 4 R = OH, R' = COCH<sub>3</sub>
- 5 R = OCOCH<sub>3</sub>, R' = COCH<sub>3</sub>

Im FAB-MS von Rutamycin B liegt der Pik des Quasimolekularions ( $M + 1$ )<sup>+</sup> bei 761 und damit um 16 Einheiten tiefer als beim Rutamycin und ist im Einklang mit der Bruttoformel C<sub>44</sub>H<sub>72</sub>O<sub>10</sub>. Die Vermutung, dass im Rutamycin B ein Desoxyrutamycin vorliegt, wird gestützt durch das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum (Tab. 1), das wie dasjenige von **1** 44 <sup>13</sup>C-Signale aufweist. Der auffälligste Unterschied liegt im Fehlen eines tertiären Alkohol-C-Atoms (83,00 ppm bei **1**). Dafür zeigt der Bereich der CH-Signale bei 49,48 ppm ein Signal mehr. Die darauf gegründete Vermutung, dass im Rutamycin B das 12-Desoxyrutamycin (**2**) vorliegt, wird erhärtet durch das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum, in dem ausser dem Signal bei 0,84 ppm (*t*) alle CH<sub>3</sub>-Signale als Dublette vorliegen, während bei **1** das Signal von CH<sub>3</sub>-C(12) bei 1,15 ppm als *s* erscheint (vgl. [5]).

Das UV-Spektrum von Rutamycin B [ $\gamma_{\max}$  220 (sh), 225, 230, 240 (sh) und 295 (sh); log  $\epsilon$  4,49, 4,52, 4,49, 4,28 und 2,53] unterscheidet sich erwartungsgemäss kaum von demjenigen des Rutamycins, und in den IR-Spektren (vgl. *Exper. Teil*) sind lediglich im Fingerprintgebiet geringfügige Unterschiede festzustellen.

In Übereinstimmung mit der vermuteten Strukturformel **2** gibt Rutamycin B ein einheitliches Tetraacetylderivat (**3**), während unter den gleichen Bedingungen aus Rutamycin neben einem Tetraacetat (**4**) auch geringere Mengen eines Pentaacetylderivates (**5**) erhalten wurden. Die teilweise Acetylierung der tertiären OH-Gruppe in **1** ist wahrscheinlich durch eine Acylwanderung von OC(13) auf OC(12) zu erklären (vgl. z. B. [6]).

Dass das Rutamycin B nicht nur in der Konstitution sondern auch in der Konfiguration weitgehend mit Rutamycin übereinstimmt, ergibt sich aus dem nahezu identischen Verlauf der CD-Kurven (Tab. 2). Die strukturelle Beziehung der beiden Antibiotica gemäss den Strukturformeln **1** und **2** konnte durch eine Reihe von Abbauprodukten bestätigt werden. Durch eine Ozonolyse und anschliessende Ozonidsplaltung mit NaBH<sub>4</sub> wurde bei gleichzeitiger Spaltung der Esterbindung aus beiden Antibiotica ein identisches Abbauprodukt **6** erhalten und durch das Acetylderivat **7** ergänzend charakterisiert. Aufgrund der Spektren und gestützt auf die Röntgenstruktur **1** für Rutamycin muss es sich um ein Spiroacetal des 5,11-Dimethyl-15-hydroxymethyl-8-oxo-2,4,10,12-tetrahydroxyheptadecans handeln, das aus dem Bereich C(19) bis C(34) des Rutamycins stammt und die konstitutionelle und konfigurative Übereinstimmung von Rutamycin und Rutamycin B in diesem Molekelteil beweist. Ein Homologes von **6** mit einer zusätzlichen CH<sub>3</sub>-Gruppe an C(9) wurde von Carter [7] als Abbauprodukt des Oligomycins A beschrieben.

Tabelle 1.  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) von Rutamycin (1) und Rutamycin B (2)

Rutamycin (1)		Rutamycin B (2)		Zuordnung
[ppm]	Multipl. (off-resonance)	[ppm]	Multipl. (off-resonance)	
5,33	<i>q</i>	5,06	<i>q</i>	
8,44	<i>q</i>	8,27	<i>q</i>	
9,41	<i>q</i>	9,58	<i>q</i>	
11,27	<i>q</i>	11,27	<i>q</i>	10 $\text{CH}_3$
12,07	<i>q</i>	12,07	<i>q</i>	
14,10	<i>q</i>	12,79	<i>q</i>	
14,53	<i>q</i>	13,30	<i>q</i>	
17,83	<i>q</i>	13,48	<i>q</i>	
21,27	<i>q</i>	17,79	<i>q</i>	
24,62	<i>q</i>	24,71	<i>q</i>	
26,44	<i>t</i>	26,47	<i>t</i>	
28,51	<i>t</i>	28,49	<i>t</i>	
29,80	<i>t</i>	29,83	<i>t</i>	
30,86	<i>t</i>	30,84	<i>t</i>	8 $\text{CH}_2$
31,30	<i>t</i>	31,21	<i>t</i>	
35,50	<i>t</i>	35,52	<i>t</i>	
38,43	<i>t</i>	37,39	<i>t</i>	
42,44	<i>t</i>	42,58	<i>t</i>	
30,50	<i>d</i>	30,55	<i>d</i>	
33,63	<i>d</i>	33,43	<i>d</i>	
35,37	<i>d</i>	35,19	<i>d</i>	
40,23	<i>d</i>	40,11	<i>d</i>	8 bzw. 9 CH
42,29	<i>d</i>	45,77	<i>d</i> <sup>a)</sup>	
45,85	<i>d</i>	45,77	<i>d</i> <sup>a)</sup>	
46,10	<i>d</i>	47,29	<i>d</i>	
46,25	<i>d</i>	48,77	<i>d</i>	
–		49,48	<i>d</i>	
64,59	<i>d</i>	64,54	<i>d</i>	
67,47	<i>d</i>	67,40	<i>d</i>	
69,67	<i>d</i>	69,65	<i>d</i>	7 CH–O
70,89	<i>d</i>	70,78	<i>d</i>	
72,57	<i>d</i>	71,02	<i>d</i>	
72,82	<i>d</i>	71,30	<i>d</i>	
73,01	<i>d</i>	72,79	<i>d</i>	
83,00	<i>s</i>	–		1 bzw. 0 C–O
97,28	<i>s</i>	97,26	<i>s</i>	1 O–C–O
122,59	<i>d</i>	122,69	<i>d</i>	
129,55	<i>d</i>	129,60	<i>d</i>	
130,47	<i>d</i>	130,39	<i>d</i>	3 CH=CH
132,42	<i>d</i>	132,16	<i>d</i>	
137,47	<i>d</i>	137,43	<i>d</i>	
148,66	<i>d</i>	148,39	<i>d</i>	
164,89	<i>s</i>	164,92	<i>s</i>	1 C=O (Ester)
219,86	<i>s</i>	216,05	<i>s</i>	2 C=O (Keton)
220,17	<i>s</i>	221,41	<i>s</i>	

<sup>a)</sup> 2 überlappende Signale.

Für weitere Verknüpfungen von Rutamycin B mit Rutamycin konnten wir auf eine Abbaureaktion zurückgreifen, die von *Prouty et al.* [8] am Oligomycin B durchgeführt





Tabelle 3. Antifungische Wirkung von Rutamycin und Rutamycin B. Plattendiffusionstest mit Filterpapier-Rondellen von 6 mm Durchmesser. Angegeben ist der Durchmesser der Hemmhöfe in mm. Wenn 2 Zahlen angegeben sind, bedeutet die grössere den Durchmesser einer teilweisen Hemmung.

Test-Organismus	Konzentration in mg/ml					
	Rutamycin			Rutamycin B		
	1,0	0,3	0,1	1,0	0,3	0,1
<i>Saprolegnia asterophora</i>	25	24	20	19	17	14
<i>Mucor hiemalis</i>	18/29	16/28	13/24	13/24	10/22	9/19
<i>Mucor miehei</i>	18	16	12	0/9	Spur	–
<i>Paecilomyces variotii</i>	22	20	15	0/11	0/10	–
<i>Aspergillus niger</i>	24	21	15	Spur	–	–
<i>Aspergillus terreus</i>	18	15	0/10	0/11	0/10	Spur
<i>Botrytis cinerea</i>	24	22	19	23	21	19
<i>Alternaria mali</i> <sup>a)</sup>	sehr hohe Wirkung			25	21	18
<i>Alternaria mali</i> <sup>b)</sup>	sehr hohe Wirkung			28	24	23
<i>Rhizoctonia solani</i>	28	26	25	23	20	16
<i>Coprinus cinereus</i>	19	15	13	Spur	–	–

a) Polyoxin-empfindlich.

b) Polyoxin-resistent.

sowohl zwischen C(8) und C(9) als auch zwischen C(9) und C(10) beobachtet werden konnten, sowie durch die NMR-Spektren. Somit ist die Konstitutionsformel **2** für Rutamycin B gesichert. Durch die Abbauprodukte **6** und **8** ist auch die stereochemische Übereinstimmung von C(20) bis C(34) festgelegt. Im Bereich von C(1) bis C(14) kann die weitgehende Gleichheit der Konfiguration aufgrund der sehr ähnlichen CD-Kurven angenommen werden. Durch die Abbauprodukte **10** und **11** wurde zudem eine teilweise Verknüpfung der Rutamycine mit den Oligomycinen erreicht.

Rutamycin B zeigt ein ähnliches antifungisches Wirkungsspektrum wie Rutamycin, doch sind in der Regel für ähnliche Effekte ca. 10 mal höhere Konzentrationen erforderlich (Tab. 3). Gegen folgende Organismen wurde keine oder höchstens mit Rutamycin eine angedeutete Wirkung gefunden: *Penicillium puberulum*, *Rhodotorula rubra*, *Pichia farinosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Hansenula anomala*, *Dipodascus magnusei*, *Candida albicans*, *Candida guilliermondii* und *Nadsonia fulvescens*. Beide Antibiotica sind unwirksam gegen Bakterien.

Der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich, danken wir für einen Forschungskredit.

### Experimenteller Teil

Allgemeines. S. [10].

**Isolierung und Charakterisierung von Rutamycin B (2).** – Eine Fraktion (5 g), die bei der chromatographischen Reinigung von Venturicidin A vor dem letzteren eluiert worden war [2] und vorwiegend Rutamycin B enthielt, gab bei der nochmaligen Chromatographie an 150 g Kieselgel mit AcOEt/CHCl<sub>3</sub> 1:1 als Eluierungsmittel neben Mischfraktionen 330 mg reines Rutamycin B als farbloses amorphes Pulver.  $[\alpha]_D^{20} = -70,0^\circ$  ( $c = 1,22$ , CHCl<sub>3</sub>). CD: s. Tab. 2. UV (EtOH): 220 sh (4,49), 225 (4,52), 232 (4,49), 240 sh (4,28), 295 br. sh (2,53). IR (KBr): 3490 br., 2980s, 2930s, 2890m, 2860m, 1705s, 1690m, 1460m, 1380m, 1337w, 1305 sh, 1278s, 1245w, 1228w, 1188m, 1170 sh, 1130w, 1095 br. m, 1056w, 1045w, 1015 sh, 987s, 975s, 880w, 870w, 843w. <sup>1</sup>H-NMR (300

MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,83 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 0,84 (*t*,  $J = 7,5$ , 3H); 0,89 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 0,93 (*d*,  $J = 7$ , 6H); 1,07 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,11 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,19 (*d*,  $J = 6,5$ , 3H); 1,24 (*d*,  $J = 6,5$ , 3H); 1,25 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,2–1,9 (*m*, *ca.* 18H); 2,02–2,23 (*m*, 4H); 2,39 (*m*, 1H); 2,71 (*dq*,  $J_d = 8,5$ ,  $J_q = 7$ , 1H); 2,82–2,89 (*m*, 2H); 3,78–3,86 (*m*, 3H); 4,0–4,1 (*m*, 3H); 5,26–5,34 (*m*, 2H); 5,48 (*ddd*,  $J_1 = 4$ ,  $J_2 = 11$ ,  $J_3 = 15$ , 1H); 5,83 (*d*,  $J = 16$ , 1H); 5,96 (*dd*,  $J_1 = 10$ ,  $J_2 = 15$ , 1H); 6,08 (*dd*,  $J_1 = 10$ ,  $J_2 = 15$ , 1H); 6,64 (*dd*,  $J_1 = 10$ ,  $J_2 = 16$ , 1H).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): s. *Tab. I* FAB-MS: 761 ( $M + H$ )<sup>+</sup> für  $\text{C}_{44}\text{H}_{72}\text{O}_{10}$ . *Antifungische Wirkung*: s. *Tab. 3*.

**Tetraacetylratamycin B (3)**. Herstellung mit  $\text{Ac}_2\text{O}$  und Pyridin (20 Std., RT.). Nach chromatographischer Reinigung an Kieselgel farblores amorphes Pulver. IR (KBr): 1740, 1720, 1650.  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2,02–2,06 (4s, je 3H); 5,00–5,14 (*m*, 4H), im übrigen nur geringfügige Abweichungen gegenüber 2.

**Acetylierung von Rutamycin (1)**. Aus 100 mg Rutamycin wurden bei der Acetylierung unter gleichen Bedingungen nach der Auftrennung durch präp. DC ( $\text{AcOEt}/\text{CHCl}_3/\text{Hexan}$  3:3:1) 75 mg 4 und 31 mg 5 als farblose amorphe Pulver erhalten.

**Tetraacetylratamycin (4)**.  $R_f$  0,59. IR (KBr): 3700–3200, 1740, 1720, 1650.  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2,02–2,06 (4s, je 3H); 5,00–5,14 (*m*, 4H), übrige Signale wie beim Rutamycin.

**Pentaacetylratamycin (5)**.  $R_f$  0,68. IR (KBr): 1740, 1720, 1650.  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2,00–2,06 (5s, je 3H); 5,00–5,14 (*m*, 4H), übrige Signale wie beim Rutamycin.

**Abbau von Rutamycin B und von Rutamycin mit Ozon**. – Durch eine Lösung von 400 mg Rutamycin B in 40 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wurde bei  $-78^\circ$  während 45 Min. ein  $\text{O}_3$ -haltiger  $\text{O}_2$ -Strom durchgeleitet. Nach dem Vertreiben des überschüssigen  $\text{O}_3$  mit  $\text{O}_2$  wurde die Lösung in kleinen Portionen zu 300 mg  $\text{NaBH}_4$  in 40 ml THF gegeben und über Nacht bei RT. gerührt. Nach dem Eindampfen i.V. wurde der Rückstand mit 30 ml  $\text{H}_2\text{O}$  aufgeschlämmt und das überschüssige Reduktionsmittel mit wenig verd.  $\text{HCl}$  zersetzt. Darauf wurde mit  $\text{CHCl}_3$  ausgeschüttelt, mit  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen und nach dem Trocknen ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) eingedampft.

**2-[3-(Hydroxymethyl)pentyl]-8-(2-hydroxypropyl)-3,9-dimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undecan-4-ol (6)**. Nach der Reinigung an Kieselgel mit  $\text{AcOEt}/\text{CHCl}_3$  1:1 wurden 90 mg 6 als farblores amorphes Pulver erhalten. DC ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  14:1):  $R_f$  0,34, einheitlich.  $[\alpha]_D = -88,6^\circ$  ( $c = 1,10$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). IR (KBr): 3400 br., kein  $\text{C}=\text{O}$ .  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,85 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 0,92 (*t*,  $J = 7,5$ , 3H); 0,93 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,22 (*d*,  $J = 6,5$ , 3H); 1,2–1,8 (*m*, *ca.* 15H); 1,87 (*m*, 1H); 2,0–2,3 (*m*, 4H); 3,51 (*dd*,  $J_1 = 5,5$ ,  $J_2 = 11$ , 1H); 3,66 (*dd*,  $J_1 = 4,5$ ,  $J_2 = 11$ , 1H); 3,72 (*ddd*,  $J_1 = 2$ ,  $J_2 = 5$ ,  $J_3 = 8$ , 1H); 4,01 (*m*, 1H); 4,08 (*dt*,  $J_d = 11$ ,  $J_t = 2,5$ , 1H); 4,18 (*dt*,  $J_d = 12$ ,  $J_t = 5$ , 1H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 4,01 (*q*); 11,26 (*q*); 11,42 (*q*); 23,42 (*t*); 24,59 (*q*); 26,57 (*t*); 26,67 (*t*); 29,08 (*t*); 29,80 (*t*); 30,79 (*d*); 37,77 (*d*); 39,00 (*t*); 42,00 (*d*); 42,39 (*t*); 64,41 (*t*); 64,61 (*d*); 67,27 (*d*); 67,42 (*d*); 71,29 (*d*); 97,46 (*s*). MS: 359 (1,5,  $M + H$ ), 341 (7), 323 (2), 270 (13), 252 (3, 5), 239 (3), 231 (10), 228 (20), 210 (26), 199 (9), 195 (10), 171 (74), 170 (100).

**Acetylderivat 7** (= Essigsäure-{2-[3-(Acetoxymethyl)pentyl]-8-acetoxypopyl-3,9-dimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undec-4-yl}ester). Das aus 30 mg 6 mit je 2 ml  $\text{Ac}_2\text{O}$  und Pyridin (20 Std., RT.) bereitete Acetylderivat 7 wurde durch präp. DC gereinigt ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  14:1) und gab 30 mg farblores viskoses Öl. IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 1730 br., kein OH.  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,83 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 0,92 (*t*,  $J = 8$ , 3H); 0,93 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,25 (*d*,  $J = 6$ , 3H); 1,3–1,8 (*m*, *ca.* 12H); 1,86 (*dd*,  $J_1 = 5$ ,  $J_2 = 12,5$ , 1H); 2,02 (*s*, 3H); 2,03 (*s*, 3H); 2,07 (*s*, 3H); 3,62 (*ddd*,  $J_1 = 2$ ,  $J_2 = 6$ ,  $J_3 = 8$ , 1H); 3,75 (*ddd*,  $J_1 = 2,5$ ,  $J_2 = 5$ ,  $J_3 = 9$ , 1H); 4,00 (*d*,  $J = 6$ , 2H); 4,98 (*m*, 1H); 5,24 (*dt*,  $J_d = 12$ ,  $J_t = 5$ , 1H). MS: 484 (0,5,  $M^+$ ), 424 (0,8), 364 (2), 354 (3), 294 (7), 281 (2), 252 (47), 237 (7), 212 (45), 192 (17), 152 (22), 137 (10), 134 (11), 109 (60). Das gleiche Abbauprodukt 6 wurde in ähnlicher Ausbeute erhalten, wenn 400 mg Rutamycin (1) in gleicher Weise abgebaut wurden (DC, IR,  $^1\text{H-NMR}$ , MS,  $[\alpha]_D$ ; IR,  $^1\text{H-NMR}$  und MS des Acetylierungsproduktes 7).

**Abbau der Rutamycine mit NaOH**. – *Rutamycin*. In einer Lösung von 4 ml 1N NaOH in 30 ml MeOH wurden 400 mg Rutamycin 2 Std. unter Rückfluss erwärmt. Nach dem Eindampfen i.V. wurde der Rückstand in 10 ml  $\text{H}_2\text{O}$  aufgenommen und nach Zugabe von 3 mg 2,6-Di(*tert*-butyl)-*p*-kresol mit  $\text{CHCl}_3$  ausgezogen. Die Säuren wurden durch Ausschütteln mit 5-proz.  $\text{NaHCO}_3$  abgetrennt und die  $\text{CHCl}_3$ -Phase nach dem Waschen und Trocknen ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) i.V. eingedampft. Das Produkt wurde durch präp. DC gereinigt und gab 55 mg amorphes farblores Pulver.

**8-Äthyl-10-{4-hydroxy-8-(2-hydroxypropyl)-3,9-dimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undec-2-yl}-4,6-decadien-1-ol (8)**. DC ( $\text{AcOEt}/\text{CHCl}_3$  2:1):  $R_f$  0,43, einheitlich,  $[\alpha]_D = -42^\circ$  ( $c = 1,10$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). UV ( $\text{EtOH}$ ): 226 (4,22), 232 (4,23), 240 sh (4,08). IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3600, 3450 br., 1723, 1690, 1680.  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,83 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 0,84 (*t*,  $J = 7,5$ , 3H); 0,94 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,12 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,24 (*d*,  $J = 6,5$ , 3H); 1,2–2,3 (*br. m. ca.* 20H); 2,46 (*m*, 1H); 3,68 (*ddd*,  $J_1 = 2$ ,  $J_2 = 5$ ,  $J_3 = 6,5$ , 1H); 4,01 (*m*, 2H); 4,15 (*dt*,  $J_d = 12$ ,  $J_t = 5$ , 1H); 5,37 (*ddd*,  $J_1 = 9$ ,  $J_2 = 15$ , 1H); 5,48 (*dt*,  $J_d = 15$ ,  $J_t = 7$ , 1H); 5,9–6,15 (*m*, 2H); 9,66 (*d*,  $J = 1,5$ , 1H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 4,07 (*q*); 11,33 (*q*); 11,73 (*q*); 13,14 (*q*); 24,08 (*q*); 26,47 (*t*); 27,80 (*t*); 29,83 (*t*); 30,31 (*t*); 30,64

(*d*); 31,51 (*t*); 33,63 (*t*); 38,06 (*d*); 38,87 (*t*); 41,90 (*t*); 44,67 (*d*); 46,28 (*d*); 65,03 (*d*); 67,26 (*d*); 67,52 (*d*); 71,13 (*d*); 97,39 (*s*); 127,32 (*d*); 129,71 (*d*); 133,12 (*d*); 137,86 (*d*); 204,79 (*d*). MS: 450 (2,5,  $M^+$ ), 432 (16), 375 (20), 357 (5), 305 (6), 292 (5), 263 (6), 210 (20), 199 (35), 193 (30), 171 (62), 165 (24), 155 (26), 153 (45), 137 (29), 135 (30), 121 (32), 113 (31), 109 (57), 107 (43), 99 (31), 97 (30), 95 (100).

(2,4,6-Trimethyl-5-oxo-3-cyclohexenyl)essigsäure-methylester (**10**). Die sauren Abbauprodukte aus dem  $\text{NaHCO}_3$ -Auszug wurden durch Ansäuern mit konz. HCl und Extraktion mit  $\text{Et}_2\text{O}$  gewonnen. Nach dem Einengen der Lösung auf ca. 25 ml wurde mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$ -Lösung versetzt und nach einigen Min. i. V. eingetrocknet. Durch präp. DC wurden die beiden Hauptprodukte voneinander getrennt. Es wurden 12 mg **10** als blass gelbliches Öl erhalten. DC ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  14:1):  $R_f$  0,75, einheitlich. UV ( $\text{EtOH}$ ): 234 (4,25). IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 1735, 1673, kein OH.  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,08 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,17 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,2–1,3 (*m*, 1H); 1,76 (*s*, 3H); 2,3–2,6 (*m*, 3H); 2,69 (*m*, 1H); 3,68 (*s*, 3H); 6,43 (*br. s*, 1H). Das Spektrum enthält zahlreiche kleinere Signale von Diastereomeren von **10**. MS: 210 (9,  $M^+$ ), 179 (6), 151 (5), 149 (9), 137 (48), 136 (73), 121 (14), 109 (13), 96 (100).

(8-Acetyl-4,10-dihydroxy-3,5,9-trimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undec-2-yl)essigsäure-methylester (**11**). Der zweite durch präp. DC abgetrennte Methylester ( $R_f$  0,51) gab nach dem Eluieren und Eindampfen i. V. 25 mg glasartiges Produkt, gemäss NMR ein Gemisch von Diastereomeren (vgl. [7]). IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3600, 3450 *br.*, 1730 *br.*  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 11,17 (*q*); 11,33 (*q*); 11,90 (*q*); 13,42 (*q*); 29,7 (*t*); 31,18 (*q*); 37,90 (*d*); 38,13 (*d*); 42,23 (*d*); 42,83 (*d*); 52,09 (*q*); 71,11 (*d*); 72,67 (*d*); 73,84 (*d*); 75,33 (*d*); 104,21 (*s*); 172,00 (*s*); 209,16 (*s*). Folgende Signale von deutlich geringerer Intensität eines Diastereomeren von **11** sind gut erkennbar: 51,73 (*q*); 104,69 (*s*); 171,80 (*s*) sowie zahlreiche Signale in den Bereichen 10–40 und 60–80 ppm. Durch Acetylierung von 20 mg **11** mit 1 ml  $\text{Ac}_2\text{O}$  und 0,5 ml Pyridin (12 Std., RT.) und präp. DC des Rohproduktes wurden 9 mg Acetylderivat **12** (= (4,10-Diacetoxy-8-acetyl-3,5,9-trimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undec-2-yl)essigsäure-methylester) erhalten, in dem ein Diastereomeres stark vorherrschte. DC ( $\text{AcOEt}/\text{CHCl}_3$  1:1)  $R_f$  0,66 (Nebenkomponente) und 0,76 (Hauptkomponente). IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 1730 *br.*, kein OH.  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,84 (*d*,  $J = 6,5$ , 3H); 0,90 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 0,95 (*d*,  $J = 7,5$ , 3H); 1,00 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,0–2,0 (*br. m*); 2,06 (*s*, 3H); 2,08 (*s*, 3H); 2,28 (*dd*,  $J_1 = 3,5$ ,  $J_2 = 16$ , 1H); 2,34 (*s*, 3H); 2,61 (*dd*,  $J_1 = 10$ ,  $J_2 = 16$ , 1H); 3,70 (*m*, 1H); 3,74 (*s*, 3H); 4,07 (*d*,  $J = 11$ , 1H); 4,86 (*m*, 2H). Dazu Signale von ca. 4 mal geringerer Intensität eines Diastereomeren. MS: 414 (0,5,  $M^+$ ), 399 (1), 339 (20), 291 (2), 279 (24), 252 (4), 247 (3), 229 (3, 5), 212 (5), 205 (4), 199 (4), 169 (10), 154 (17), 137 (13), 125 (31), 109 (18), 97 (20), 95 (28), 85 (11), 83 (19), 81 (20), 69 (31), 57 (28), 55 (40), 43 (100).

Abbau von Rutamycin B. In gleicher Weise wurden 820 mg Rutamycin B abgebaut. Der Neutraltteil bestand aus 2 Hauptkomponenten, die durch präp. DC ( $\text{AcOEt}/\text{CHCl}_3$  2:1) getrennt wurden. Die Verbindung mit dem kleineren  $R_f$ -Wert (84 mg) stimmte in allen Eigenschaften ( $R_f$ ,  $[\alpha]_D$ , IR,  $^1\text{H-NMR}$ , MS) mit dem oben beschriebenen Aldehyd **8** überein. Die zweite, 26 mg glasartige Substanz, war beim Abbau des Rutamycins nicht beobachtet worden: 12-Äthyl-14-{4-hydroxy-8-(2-hydroxypropyl)-3,9-dimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undec-2-yl}-4,6-dimethyl-3-tetradecanon (**9**). UV ( $\text{EtOH}$ ): 226 (4,21), 231 (4,20), 238 *sh* (4,11). IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3620, 3480 *br.*, 1720, 1670.  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,82 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 0,84 (*t*,  $J = 7,5$ , 3H); 0,94 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,05 (*d*,  $J = 7$ , 3H); 1,10 (*t*,  $J = 7,5$ , 3H); 1,24 (*d*,  $J = 6,5$ , 3H); 1,79 (*d*,  $J = 1$ , 3H); 1,1–2,7 (*br. m*); 2,68 (*m*, 2H); 3,68 (*m*, 1H); 4,02 (*m*, 2H); 4,16 (*dt*,  $J_d = 11,5$ ,  $J_t = 5$ , 1H); 5,35 (*dd*,  $J_1 = 9$ ,  $J_2 = 15$ , 1H); 5,48 (*dt*,  $J_d = 15$ ,  $J_t = 7$ , 1H); 5,94 (*dd*,  $J_1 = 10$ ,  $J_2 = 15$ , 1H); 6,10 (*dd*,  $J_1 = 10$ ,  $J_2 = 15$ , 1H); 6,39 (*d*,  $J = 9,5$ , 1H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 4,08 (*q*); 8,98 (*q*); 11,36 (*q*); 11,66 (*q*); 11,75 (*q*); 19,67 (*q*); 24,14 (*q*); 26,52 (*t*); 27,86 (*t*); 29,86 (*t*); 30,36 (*t*); 30,46 (*t*); 30,72 (*d*); 31,57 (*t*); 33,94 (*d*); 38,07 (*d*); 38,93 (*t*); 39,75 (*t*); 42,02 (*t*); 44,72 (*d*); 65,09 (*d*); 67,43 (*d*); 67,56 (*d*); 71,13 (*d*); 97,43 (*s*); 128,63 (*d*); 130,03 (*d*); 132,52 (*d*); 135,51 (*s*); 137,40 (*d*); 147,14 (*d*); 203,00 (*s*). MS: 519 (4,  $M + H$ ), 501 (24), 483 (1,5), 433 (5), 393 (9), 375 (48), 357 (11), 291 (9), 265 (6), 245 (8), 211 (36), 203 (35), 199 (22), 193 (35), 171 (44), 165 (26), 153 (36), 147 (20), 135 (30), 126 (100), 121 (46), 109 (48), 95 (66), 81 (37), 79 (36), 67 (42), 55 (60), 43 (66), 29 (16).

In den Säurefraktionen des Abbaus von Rutamycin B konnte nach der Veresterung mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$  nur ein Hauptprodukt nachgewiesen werden. Nach der Reinigung mit präp. DC erwies es sich als identisch mit dem Abbauprodukt **10** aus Rutamycin (DC, IR,  $^1\text{H-NMR}$ , MS).

Die NMR-Spektren verdanken wir Fr. B. Brandenberg und Herrn F. Bangerter, die MS Frau L. Golgowski und Herrn Dr. J. Meili.

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *P. Gassmann, L. Hagmann, W. Keller-Schierlein & D. Samain*, *Helv. Chim. Acta* 67, 696 (1984).
- [2] *M. Brufani, W. Keller-Schierlein, W. Löffler, I. Mansperger & H. Zähler*, *Helv. Chim. Acta* 51, 1293 (1968).
- [3] *M. Brufani, L. Cellai, C. Musu & W. Keller-Schierlein*, *Helv. Chim. Acta* 55, 2329 (1972).
- [4] *R. Q. Thompson, M. M. Hoehn & C. E. Higgins*, 'Antimicrobial Agents and Chemotherapy', Eds. M. Finland und G. M. Savage, 1961, 474; *J. W. Chamberlin, M. Gorman & A. Agtarap*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 34, 448 (1969).
- [5] *B. Arnoux, M. C. Garcia-Alvarez, Ch. Marazano, B. C. Das, C. Pascard, C. Mérienne & T. Staron*, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1978, 318.
- [6] *W. Keller-Schierlein, M. Brufani & S. Barcza*, *Helv. Chim. Acta* 51, 1257 (1968).
- [7] *G. T. Carter*, 'Structures of Oligomycin A and C'. Dissertation der University of Wisconsin, Madison, 1976. University Microfilms, Ann Arbor, Michigan.
- [8] *W. F. Prouty, R. M. Thompson, H. K. Schnoes & F. M. Strong*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 44, 619 (1971).
- [9] *R. M. Silverstein, C. G. Bassler & T. C. Morrill*, 'Spectrometric Identification of Organic Compounds', *John Wiley & Sons, Inc.* New York, 1974, S. 97.
- [10] *L. Bassi, B. Joos, H.-P. Kaiser, H. Leuenberger & W. Keller-Schierlein*, *Helv. Chim. Acta* 66, 92 (1983).