

10. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

231. Mitteilung¹⁾

Bafilomycin-A₁-21-O-(α -L-rhamnopyranosid): Strukturaufklärung durch chemische Verknüpfung mit Bafilomycin A₁ und Leucanicidin

von Michael Meyer und Walter Keller-Schierlein*

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule, CH-8092 Zürich

und Hannelore Drautz, Wolfgang Blank und Hans Zähler

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

(1.XI.84)

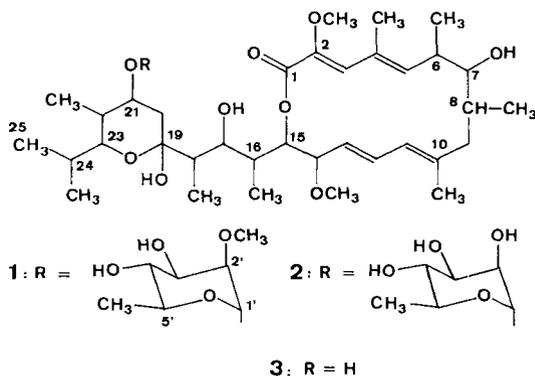
Isolation of Bafilomycin-A₁-21-O-(α -L-rhamnopyranoside). Structural Determination by Chemical Correlation with Bafilomycin A₁ and Leucanicidin

From cultures of an actinomycete strain, the known antifungal and insecticidal antibiotic leucanicidin (**1**) and a hitherto unknown antifungal antibiotic, bafilomycin-A₁-21-O-(α -L-rhamnopyranoside) (**2**), were isolated. The latter is spectroscopically closely related to **1** and bafilomycin A₁ (**3**) and gave degradation products identical with compounds obtained by analogous degradation of **1** and **3**.

Das kürzlich von *Isogai et al.* [2] beschriebene Antibiotikum Leucanicidin (**1**) wurde aufgrund eines neuartigen Insektizid-Screenings [3] aufgefunden. Wir haben dieselbe Verbindung im Verlaufe eines Screenings für antifungische Antibiotika in Kulturen des Actinomycetenstammes *Tü 1907*, der der Art *Streptomyces olivaceus* angehört, wieder entdeckt. In den Extrakten dieses Organismus war Leucanicidin stets von einem zweiten, sehr ähnlichen Antibiotikum begleitet, dem Bafilomycin-A₁-O-(α -L-rhamnopyranosid) (**2**), das offenbar von *Isogai et al.* [2] nicht beobachtet worden ist. Leucanicidin ist seiner Konstitution nach ein 2'-O-Methylrhamnosid des Bafilomycins A₁ (**3**) [4]. Ob sein Aglycon mit Bafilomycin A₁ auch in der Konfiguration übereinstimmt, geht aus den Arbeiten von *Isogai et al.* nicht hervor. Wir berichten nachfolgend über Abbauversuche der drei Antibiotika, die zu identischen Produkten führten und damit die Zusammengehörigkeit der drei Verbindungen auch in stereochemischer Hinsicht belegen.

Die Isolierung von Leucanicidin (**1**) und Bafilomycin-A₁-rhamnosid **2** erfolgte zunächst in ähnlicher Weise wie beim Bafilomycin A₁ [4] durch Extraktion des Mycels mit Aceton. Bei der chromatographischen Auftrennung erwies es sich als vorteilhaft, MeOH oder EtOH als Lösungsmittelkomponente zu vermeiden. Die Bildung von Analogen der Bafilomycine A₂, B₂ und C₂ [4] konnte dadurch umgangen werden, und die beiden Antibiotika **1** und **2** wurden mit geringen Aktivitätsverlusten rein erhalten.

¹⁾ 230. Mitteilung s. [1].

Tab. 1. ^{13}C -NMR von Bafilomycin-Antibiotika in CDCl_3

Bafilomycin A ₁ (3)	Leucanicidin (1)	Bafilomycin-A ₁ -rhamnosid 2	Bafilomycin A ₁ (3)	Leucanicidin (1)	Bafilomycin-A ₁ -rhamnosid 2
7,1 q	7,2 q	7,1 q	76,9 d	76,8 d	76,6 d
9,8 q	9,8 q	9,8 q	81,1 d	81,1 d	81,0 d
12,2 q	12,7 q	12,7 q	82,3 d	82,3 d	82,3 d
14,0 q	14,0 q	14,0 q	99,0 s	98,8 s	100,0 s
14,4 q	14,3 q	14,3 q	125,2 d	125,2 d	125,1 d
17,3 q	17,3 q	17,3 q	127,1 d	127,0 d	127,0 d
20,1 q	20,2 q	20,2 q	132,9 s	132,5 s	132,8 s
21,2 q	21,2 q	21,1 q	133,2 d	133,1 d	133,0 d
21,7 q	21,7 q	21,7 q	133,6 d	133,6 d	133,6 d
27,9 d	27,9 d	27,9 d	141,2 s	141,2 s	141,1 s
36,8 d	36,7 d	36,7 d	143,0 d	142,9 d	143,0 d
37,2 d	37,2 d	37,2 d	143,2 s	143,1 s	143,1 s
40,1 d	38,9 d	38,7 d ^{a)}	167,4 s	167,3 s	167,3 s
41,0 d	40,1 d	40,4 d			
41,3 t	39,0 t	38,7 t ^{a)}	Signale des Zuckerteils		
42,1 d	42,2 d	42,1 d	–	17,5 q	17,5 q
43,5 t	41,2 t	41,2 t	–	58,8 q	–
55,9 q	55,5 q	55,5 q	–	68,2 d	68,5 d
59,9 q	59,9 q	59,9 q	–	73,9 d	72,8 d
70,7 d	70,7 d	70,7 d	–	75,0 d	74,6 d
70,9 d	71,7 d	71,7 d ^{a)}	–	81,2 d	76,0 d
75,9 d	75,8 d	71,7 d ^{a)}	–	92,2 d	95,8 d

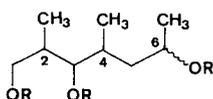
^{a)} Überlappende Signale von 2C.

Ihre Verwandtschaft mit Bafilomycin A₁ (3) gab sich schon in den Rohextrakten durch eine Rotfärbung beim Besprühen der DC-Platten mit methanolischer HCl zu erkennen. Weitere Flecke traten nicht auf. Die Verwandtschaft wurde mit den rein isolierten Produkten rasch bestätigt. Alle drei Verbindungen 1–3 besitzen übereinstimmende UV-Spektren und damit identische chromophore Gruppen. In den ^{13}C -NMR-Spektren (Tab. 1) von 1 und 2 sind alle Signale des Bafilomycins A₁ wieder zu erkennen. Dazu kommen beim Bafilomycin-A₁-rhamnosid 2 6 Signale, die den C-Atomen eines 6-Desoxyhexose-Restes zugeordnet werden können. Beim Leucanicidin (1) kommt weiter das Signal einer MeO-Gruppe hinzu, ein Anzeichen dafür, dass der Zuk-

kerteil dieser Verbindung ein 6-Desoxyhexose-monomethyläther ist. Auch die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von **1** und **2** sind widerspruchsfrei mit dieser Annahme interpretierbar (Tab. 2). Damit im Einklang ist auch die Elementarzusammensetzung des kristallinen **1**, $\text{C}_{42}\text{H}_{64}\text{O}_{12}$, die durch ein FAB-MS gestützt wird. Das amorphe **2** gab dagegen schlecht reproduzierbare Elementaranalysen. Seine Bruttoformel, $\text{C}_{41}\text{H}_{62}\text{O}_{12}$, wurde indirekt aus den NMR-Spektren und dem Abbau hergeleitet.

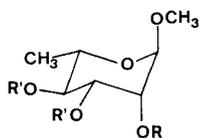
Das Leucanicidin (**1**) wie auch das Bafilomycin- A_1 -rhamnosid **2** gaben bei der säurekatalysierten Methanolyse vorwiegend braunschwarze Zersetzungsprodukte, in denen durch DC die Methylglycoside nicht leicht auffindbar waren. Wir haben daher die 3 Antibiotika **1–3** zunächst durch Ozonolyse gespalten und die Zuckerbausteine später aus den Ozonolyseprodukten in Freiheit gesetzt.

Bafilomycin A_1 (**3**) [4] gab bei der Ozonolyse und anschliessenden Reduktion mit NaBH_4 **3** im DC unterscheidbare, präparativ trennbare Produkte. Das $^1\text{H-NMR}$ des ersten Produkts liess sich leicht interpretieren als das eines chromatographisch nicht trennbaren Gemisches aus zwei an C(6) diastereoisomeren 2,4-Dimethyl-1,3,6-heptantriolen (**4**), die den C-Atomen C(5) bis $\text{CH}_3\text{-C}(10)$ von **3** entsprechen. Ihr Verhältnis betrug gemäss $^1\text{H-NMR}$ ca. 5:4 und wurde durch das $^1\text{H-NMR}$ des Acetylderivats **5** bestätigt. Erwartungsgemäss ist demnach die Reduktion der Ozonidgruppe an C(10) des Bafilomycin-ozonids nicht stereospezifisch erfolgt.



4 R = H

5 R = CH_3CO



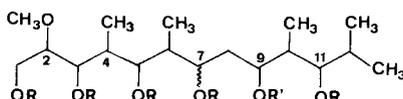
9 : R = CH_3 , R' = H

10 : R = CH_3 , R' = CH_3CO

12 : R = R' = H

13 : R = R' = CH_3CO

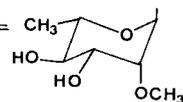
15 : R = R' = CH_3



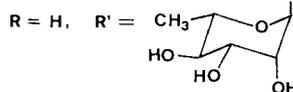
6 a, 6 b R = R' = H

7 a R = R' = CH_3CO

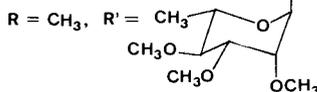
8 a, 8 b



11 a, 11 b



14 a, 14 b



16 a, 16 b R = CH_3 , R' = H

17 a, 17 b R = CH_3 , R' = CH_3CO

Das zweite und dritte rein isolierbare Ozonolyseprodukt von **3** waren zwei trennbare Diastereoisomere, aufgrund der Konstitutionsformel von **3** und gemäss der Spektren zwei an C(7) epimere 2-Methoxy-4,6,10,12-tetramethyl-1,3,5,7,9,11-tridecanhexole (**6a** und **6b**), die aus dem Bereiche C(13) bis C(25) des Bafilomycins A_1 (**3**) entstanden sind. Auch die Reduktion der Halbacetalgruppe ist demnach nicht stereospezifisch ver-

Tab 2. $^1\text{H-NMR}$ von *Bafilomycin-Antibiotika* (CDCl_3 , 300 MHz, FT)

Bafilomycin A ₁ (3)			Leucanicidin (1)			Bafilomycin-A ₁ -rhamnosid 2		
δ [ppm]	Multipli- ziät	Int.	δ [ppm]	Multipli- ziät	Int.	δ [ppm]	Multipli- ziät	Int.
0,77	<i>d</i>	3 H	0,77	<i>d</i>	3 H	0,76	<i>d</i>	3 H
0,83	<i>d</i>	3 H	0,83	<i>d</i>	3 H	0,82	<i>d</i>	3 H
0,91	<i>d</i>	3 H	0,90	<i>d</i>	3 H	0,90	<i>d</i>	3 H
0,94	<i>d</i>	3 H	0,92	<i>d</i>	3 H	0,91	<i>d</i>	3 H
0,94	<i>d</i>	3 H	0,94	<i>d</i>	3 H	0,93	<i>d</i>	3 H
1,05	<i>d</i>	3 H	1,05	<i>d</i>	3 H	1,04	<i>d</i>	3 H
1,07	<i>d</i>	3 H	1,07	<i>d</i>	3 H	1,06	<i>d</i>	3 H
1,17	<i>dt</i> ^a)	1 H	1,21	<i>t</i>	1 H	1,28	<i>m, z.T. verdeckt</i>	1 H
—	—	—	1,28	<i>d</i>	3 H	1,29	<i>d</i>	3 H
1,35	<i>dddq</i>	1 H	1,35-1,52	<i>m</i>	1 H	1,38-1,52	<i>m</i>	1 H
1,5-1,7	<i>br.</i>	2 H ^b)	1,57	<i>d</i>	1 H ^b)	1,7-2,2	<i>br.</i>	1 H ^b)
1,77	<i>dq</i>	1 H	1,69	<i>br. s</i>	1 H	1,76	<i>br. q</i>	1 H
1,89	<i>m</i>	1 H	1,77	<i>br. q</i>	1 H	—	—	—
1,94	<i>s</i>	3 H	1,94	<i>s</i>	3 H	1,93	<i>s</i>	3 H
1,95	<i>m</i>	2 H	1,8-2,0	<i>m</i>	3 H	1,8-2,0	<i>m</i>	3 H
1,99	<i>d</i>	3 H	1,99	<i>d</i>	3 H	1,98	<i>d</i>	3 H
2,15	<i>m</i>	2 H	1,15	<i>m</i>	2 H	2,17	<i>m</i>	2 H
2,31	<i>dd</i>	1 H	2,45	<i>dd</i>	1 H	2,40	<i>dd</i>	1 H
—	—	—	2,3-2,5	<i>m</i>	2 H ^b)	2,6-3,2	<i>br.</i>	3 H
2,54	<i>dddq</i>	1 H	2,54	<i>m</i>	1 H	2,53	<i>br. quint.</i>	1 H
3,25	<i>s</i>	3 H	3,25	<i>s</i>	3 H	3,24	<i>s</i>	3 H
3,29	<i>br. t</i>	1 H	3,29	<i>dt</i> ^a)	1 H	3,29	<i>br. d</i>	1 H
3,49	<i>dd</i>	1 H	3,36	<i>dt</i> ^a)	1 H	3,45	<i>t</i>	1 H
—	—	—	3,37	<i>dd</i>	1 H	—	—	—
—	—	—	3,47	<i>s</i>	3 H	—	—	—
3,64	<i>s</i>	3 H	3,53	<i>dd</i>	1 H	3,52	<i>dd</i>	1 H
3,68	<i>dt</i>	1 H	3,64	<i>s</i>	3 H	3,63	<i>s</i>	3 H
3,89	<i>t</i>	1 H	3,66-3,8	<i>m</i>	3 H	3,7-3,85	<i>m</i>	3 H
4,14	<i>ddd</i> ^f)	1 H	3,89	<i>t</i>	1 H	3,88	<i>t</i>	1 H
4,63	<i>d</i>	1 H ^b)	4,13	<i>ddd</i> ^f)	1 H	4,14	<i>br. d</i>	1 H
4,96	<i>dd</i>	1 H	4,63	<i>dd</i>	1 H ^b)	4,61	<i>d</i>	1 H ^b)
—	—	—	4,96	<i>dd</i>	1 H	4,96	<i>d</i>	1 H
—	—	—	5,04	<i>br. s</i>	1 H	4,96	<i>br. s</i>	1 H
—	—	—	—	—	—	10,4,2,0	—	—
—	—	—	—	—	—	11,7,4,5	—	—
—	—	—	—	—	—	6,5	—	—
—	—	—	—	—	—	9,3	—	—
—	—	—	—	—	—	6,5	—	—
—	—	—	—	—	—	10,4,2,0	—	—
—	—	—	—	—	—	9,8	—	—
—	—	—	—	—	—	11,6	—	—
—	—	—	—	—	—	3,4	—	—
—	—	—	—	—	—	5,8	—	—

5,17	<i>dd</i>	15,0, 9,1	1 H	5,16	<i>dd</i>	15,0, 9,0	1 H	5,16	<i>dd</i>	15,1, 9,5	1 H
5,50	<i>d</i>	2,0	1 H ^{b)}	5,45	<i>d</i>	1,9	1 H ^{b)}	5,48	<i>d</i>	1,1	1 H ^{b)}
5,78	<i>br. d</i>	9,0	1 H	5,77	<i>d</i>	9,9	1 H	5,77	<i>d</i>	9,8	1 H
5,81	<i>d</i>	10,6	1 H	5,81	<i>d</i>	10,7	1 H	5,80	<i>d</i>	10,7	1 H
6,51	<i>dd</i>	15,0, 10,6	1 H	6,51	<i>dd</i>	15,0, 10,7	1 H	6,50	<i>dd</i>	15,1, 10,7	1 H
6,68	<i>s</i>		1 H	6,67	<i>s</i>		1 H	6,66	<i>s</i>		1 H

a) Nach Austausch mit D₂O: *t.* b) Mit D₂O austauschbare Protonen. c) Nach Austausch mit D₂O: *dd.*

Tab. 3. ¹H-NMR (300 MHz) Spinentkopplung von 2-Methoxy-4,6,10,12-tetramethyl-1,3,5,7,9,11-tridecanhexol (6b) in CD₃OD

Beobachtetes Signal ^{a)}	δ [ppm]	Multiplizität	J [Hz]	Zuordnung	Einstrahlung		
					δ [ppm]	Veränderung	J [Hz]
1,47	<i>ddd</i>		14,1, 9,8, 2,4	H _a -C (8)	3,83	<i>dd</i>	14,1, 2,5
1,58-1,70	<i>m</i>		u.a. 14,1	H _b -C (6), H-C (10)	4,25	<i>dd</i>	14,1, 9,8
1,73-1,90	<i>m</i>			H _b -C (8), H-C (12)	3,33	Vereinfachung	
					3,83	Vereinfachung	
					4,25	Vereinfachung	
1,94	<i>m</i>			H-C (4)	3,33	Vereinfachung	
3,20	<i>ddd</i>		8,9, 4,6, 3,2	H-C (2)	4,25	<i>dq</i>	9,3, 7,3
					4,05	<i>dd</i>	8,9, 3,2
3,68	<i>dd</i>		11,9, 4,6	H _a -C (1)	3,68	<i>dd</i>	4,6, 3,2
3,91	<i>dd</i>		11,9, 3,2	H _b -C (1)	4,05	<i>dd</i>	11,9
					3,20	<i>d</i>	11,9
4,05	<i>dd</i>		8,9, 2,7	H-C (3)	3,68	<i>d</i>	3,2
3,33	<i>dd</i>		7,6, 4,4	H-C (5), H-C (11)	3,20	<i>d</i>	2,7
3,96	<i>dd</i>		9,3, 2,3		3,68	<i>d</i>	
3,83	<i>ddd</i>		9,8, 5,8, 2,4	H-C (7), H-C (9)	3,20	<i>d</i>	
4,25	<i>dt</i>		10,1, 2,4				

a) Signale von CH₃ (*d*, *J* ca. 6-7, 3H) bei 0,82, 0,89, 0,90, 0,95 (6 H).

keine Entkopplungsversuche durchgeführt

laufen. Die in *Tab. 3* zusammengefassten, mit dem kristallinen Epimeren **6b** durchgeführten Spinentkopplungsversuche bestätigten weitgehend die nach Formel **3** des Bafilomycins A₁ [4] zu erwartende Konstitutionsformel **6**. Das ¹H-NMR des Acetylierungsproduktes **7a** bestätigte insbesondere die Lage der CH₃O-Gruppe an C(2) und damit an C(14) des Bafilomycins A₁. Das Signal von H–C(2) (3,42 ppm) zeigt eine Kopplung mit den beiden Protonen der primären Acetatgruppe (2H–C(1) bei 4,03 und 4,20 ppm, $J_{gem} = 12,2$).

Der in gleicher Weise durchgeführte Abbau von Leucanicidin (**1**) führte wieder zu einem Diastereoisomerengemisch von 2,4-Dimethyl-1,3,6-heptantriol (**4**), das gemäss ¹H-NMR-Spektrum die gleichen beiden Diastereoisomeren enthielt wie das Abbauprodukt **4** aus Bafilomycin A₁ (**3**). Der relative Anteil der Komponenten war mit 10:1 aber erheblich verschieden von dem aus **3** erhaltenen Gemisch. Die spezifischen Drehungen sind daher wenig aussagefähig für die Beurteilung der absoluten Konfigurationen. Leucanicidin (**1**) stimmt an den Chiralitätszentren C(6), C(7) und C(8) mindestens in der relativen Konfiguration mit **3** überein.

Das überwiegende Ozonolyseprodukt von **1** war ein chromatographisch schwer trennbares Gemisch **8a/8b** der beiden an C(7) epimeren Glycoside. Es wurde ohne weitere Reinigung durch Methanolyse gespalten. Eines der Produkte erwies sich als Methyl-(2-*O*-methyl- α -L-rhamnopyranosid) (**9**). Der Gehalt an anomerem β -Glycosid betrug weniger als 5%. Die Verbindung **9** und ihr leichter zu reinigendes Acetylderivat **10** wurden durch DC, ¹H-NMR und $[\alpha]_D$ mit synthetischen Proben [5] identifiziert²⁾. Die beiden anderen Methanolyseprodukte, die leicht durch Chromatographie getrennt werden konnten, erwiesen sich in allen Einzelheiten der Spektren (¹H-NMR, IR) und insbesondere auch in $[\alpha]_D$ als identisch mit den beiden an C(7) epimeren Hexolen **6a** und **6b** aus **3**. Leucanicidin (**1**) und Bafilomycin A₁ (**3**) stimmen somit im Bereich C(13) bis C(25) auch in der absoluten Konfiguration miteinander überein.

Der Ozon-Abbau von Bafilomycin-A₁-rhamnosid **2** gab nach der chromatographischen Trennung wieder ein Gemisch der beiden diastereoisomeren Triole **4**, diesmal im Verhältnis 5:1. Aus anderen Chromatogrammfraktionen wurde ein Gemisch **11a/11b** der an C(7) epimeren Glycoside erhalten, das direkt der Methanolyse unterzogen wurde. Diese gab Methyl-(α -L-rhamnopyranosid) (**12**), das nach der Acetylierung durch direkten Vergleich von R_f , IR und ¹H-NMR mit authentischem Triacetat **13** identifiziert wurde, sowie die beiden Hexole **6a** und **6b**, die in allen Eigenschaften mit den entsprechenden Produkten aus **3** und **1** übereinstimmen.

Die Lage des Zuckers in **11a/11b** wurde durch vollständige Methylierung bestimmt [6]; mit NaH und CH₃I wurde ein Produkt erhalten, das sich durch Chromatographie leicht in 2 Epimere (**14a** und **14b**) trennen liess. Die beiden Isomeren zeigten trotz unterschiedlichem Verhalten im DC nahezu identische IR (kein OH) und nicht unterscheidbare MS. Die ¹H-NMR sind wegen der grossen Zahl von CH₃O-Signalen etwas unübersichtlich, aber mit der angenommenen Konstitution verträglich. Mit **14a/14b** nach DC, IR und MS identisch waren die beiden Produkte, die durch gleichartige Methylierung des Glycosidgemisches **8a/8b** (aus **1**) erhalten wurden. Im Bafilomycin-A₁-rhamnosid **2** befindet sich demnach der Zuckerrest an der gleichen Stelle (an

²⁾ Für die Herstellung der Vergleichspräparate und ihre sorgfältige spektroskopische Untersuchung sind wir Herrn C. Baumann (Diplomarbeit ETHZ, 1984) zu Dank verpflichtet.

O–C(21)) wie im Leucanicidin [2]. Unabhängig von den Arbeiten von *Isogai et al.* konnten wir für das Abbauprodukt **14a** das O-Atom an C(9) als Sitz des Zuckerrestes bestimmen, das dem O–C(21) im Bafilomycin A₁ entspricht. Schon das EI-MS der Methylierungsprodukte **14a** und **14b** mit den beiden charakteristischen Piken bei *m/z* 333 und 509, die durch Fragmentierung neben dem Glycosidrest erklärt werden können, sprechen für die Lage dieses Restes an C(9) von **14**.

Der Beweis für die Position des Zuckerrestes an C(9) wurde durch Methanolyse von **14a/14b** erbracht. Ausser Methyl-(tri-*O*-methyl- α -L-rhamnosid) (**15**) wurden die chromatographisch gut trennbaren, an C(7) epimeren Monoalkohole **16a** und **16b** isoliert. Ihre Acetylderivate **17a** und **17b** zeigten im ¹H-NMR je das Signal einer einzigen AcO-Gruppe (*ca.* 2 ppm) und im 5-ppm-Bereich je ein einziges Signal (*dt* (**17a**) bzw. *ddd* (**17b**)) eines Protons geminal zu einer sekundären AcO-Gruppe, wodurch die Umgebung der AcO-Gruppe festgelegt ist: >CH–CH(OAc)–CH₂–. Beim Epimeren **17b**, bei dem die benachbarte CH₂-Gruppe (1,56 ppm, *ddd*, *J*_{gem} = 15,1) und das Methinproton (1,72, *ddq*) als weitgehend isolierte Signale erscheinen, konnte diese Beziehung durch Spinentkopplung erhärtet werden. Von den beiden Positionen, die dieser Anordnung entsprechen, stammt C(7) gemäss den Konstitutionen von Bafilomycin A₁ (**3**) und Leucanicidin (**1**) aus der Halbacetalgruppe. Es bleibt für die AcO-Gruppe in **17** und damit für den Zuckerrest in **8** und **11** nur C(9) übrig, das der Stellung 21 in den Bafilomycinen entspricht.

Dass die Zucker-Reste in **1** und **2** in der Pyranosidform vorliegen, ergibt sich aus den ¹H-NMR-Spektren (*Tab. 2*). Die Signale von H–C(4') bei 3,36 bzw. 3,45 ppm sind in beiden Verbindungen ein *t* mit *J ca.* 9–10, charakteristisch für *trans*-diaxiale Protonen in Zuckerderivaten mit 6gliedrigen Ringen. Die synthetischen Vergleichsverbindungen (*Tab. 4*) geben für H–C(4) völlig gleichartige Signale. Die α -Konfiguration der Glycosidbindungen in **1** und **2** lässt sich aus den ¹H-NMR-Spektren nicht eindeutig ableiten. Wegen der äquatorialen Lage von H–C(2) sind die Kopplungskonstanten *J*_{1,2} bei α - und β -Glycosiden der Rhamnose und 2-*O*-Methylrhamnose klein und schlecht unterscheidbar. Ein eindeutiges Ergebnis liefern dagegen die ¹³C-NMR-Spektren mit vollständiger H,C-Kopplung [7]. Leucanicidin (**1**) und Bafilomycin-A₁-rhamnosid **2** geben für C(1') je ein *d* mit *J* 164,5 bzw. 167,9 Hz und entsprechen den synthetischen Modellverbindungen mit α -Konfiguration (*Tab. 4*). Die synthetischen β -Glycoside besitzen dagegen Kopplungskonstanten für H,C(1) wenig über 150 Hz.

Durch die Verknüpfung von Leucanicidin (**1**) mit Bafilomycin A₁ (**3**) über die Abbauprodukte **4** und **6** wurde die Konstitution des ersteren [2] bestätigt. In gleicher Weise wurde die Konstitution des neuen Antibioticums Bafilomycin-A₁-21-*O*-(α -L-

Tab. 4. ¹H- und ¹³C-NMR von Rhamnosidderivaten: Signale von H-C (4) und C (1)

	H-C (4)		C (1)	
	δ [ppm]	<i>J</i> [Hz]	δ [ppm]	<i>J</i> [Hz]
Methyl- α -L-rhamnopyranosid	3,48 <i>t</i>	9,4	100,9	169,4
Methyl- β -L-rhamnopyranosid	3,43 <i>t</i>	9,1	102,7	156,0
Methyl-(2- <i>O</i> -methyl- α -L-rhamnopyranosid)	3,30 <i>t</i>	10,3	97,4	166,5
Methyl-(2- <i>O</i> -methyl- β -L-rhamnopyranosid)	3,30 <i>t</i>	10,4	102,7	152,8
Bafilomycin-A ₁ -rhamnosid 2	3,45 <i>t</i>	9,3	95,8	167,9
Leucanicidin (1)	3,36 <i>t</i>	9,0	92,2	164,5

Tab. 5. Antifungisches Wirkungsspektrum von Leucanicidin (**1**) und Bafilomycin-A₁-2l-O-(α -L-rhamnopyranosid) (**2**). Durchmesser der Hemmhöfe in mm im Plattendiffusionstest bei Verwendung von Papierrondellen von 6 mm Durchmesser.

Testorganismus	1		2	
	1,0 mg/ml	0,1 mg/ml	1,0 mg/ml	0,1 mg/ml
<i>Mucor hiemalis</i> Tü 179/180	16/23 ^{a)}	14/20 ^{a)}	14/18 ^{a)}	11/15 ^{a)}
<i>Mucor miehei</i> Tü 284	18	16	16	13
<i>Saprolegnia asterophora</i>	22	20	22	20
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	19	15	18	15
<i>Aspergillus terreus</i>	15	13	14	11
<i>Botrytis cinerea</i> Tü 157	23	21	23	21
<i>Paecilomyces varioti</i> Tü 137	20	18	18	16
<i>Penicillium puberulum</i> Tü 8006	19	17	16	13
<i>Rhizoctonia solani</i>	22	20	18	15
<i>Rhodotorula rubra</i>	-/12 ^{a)} ^{b)}	-/10 ^{a)} ^{b)}	-/12 ^{a)} ^{b)}	-/Sp. ^{a)} ^{b)} ^{c)}
<i>Candida albicans</i> Tü 164	- ^{b)}	- ^{b)}	- ^{b)}	- ^{b)}
<i>Candida guilliermondii</i>	12	10	12	10
<i>Hansenula anomala</i> Tü 279	15	14	15	12
<i>Nadsonia fulvescens</i>	23	21	20	18
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Tü 125	21	19	17	14
FL 200	13	11	10	Sp
599-1B	20	18	20	18
<i>Saccharomyces lipolytica</i>	10	Sp. ^{c)}	Sp. ^{c)}	- ^{b)}
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	17	15	15	12
<i>Wingea robertsii</i>	19	17	17	14

^{a)} Wenn 2 Zahlen angegeben sind, bedeutet die zweite den Durchmesser einer teilweisen Hemmung.

^{b)} – bedeutet keine Aktivität.

^{c)} Sp. = Spur Aktivität.

rhamnopyranosid) (**2**) aufgeklärt. Im Bereich von C(13) bis C(25) stimmen alle 3 Antibiotika auch in stereochemischer Hinsicht überein. Für die Konfiguration an den Chiralitätszentren C(6), C(7) und C(8) ist dies wahrscheinlich. Die Übereinstimmung im Bereich der chromophoren Gruppen ergibt sich aus den übereinstimmenden UV-Spektren und den chemischen Verschiebungen und Kopplungen der ¹H- und ¹³C-Signale in den entsprechenden Bereichen der NMR-Spektren (Tab. 1 und 2).

In der Tab. 5 ist die bisher nicht beschriebene antifungische Wirkung von Leucanicidin (**1**) derjenigen von Bafilomycin-A₁-rhamnosid **2** gegenübergestellt. Gegen die meisten Bakterien sind die Bafilomycin-glycoside unwirksam. Geringfügige Hemmungen konnten beobachtet werden bei *Arthrobacter aureescens*, *Arthrobacter globiformis*, *Arthrobacter pascens* und *Streptomyces glaucescens* Tü 49. Die Insektizid-Wirkung von **2** wurde bisher nicht geprüft.

Der ETH Zürich danken wir für einen Forschungskredit, der die Ausführung dieser Arbeit ermöglichte.

Experimenteller Teil

1. *Allgemeines.* S. [8]. Alle $^1\text{H-NMR}$ wurden bei 300 MHz (FT) aufgenommen.

2. *Fermentation.* Der Actinomycetenstamm Tü 1907 wurde nach *Bergey* und *Hütter* als *Streptomyces olivaceus* bestimmt. Die Fermentierung erfolgte in einem 10-l-Fermenter, *New Brunswick Scientific Co.*, New Brunswick, N.J. Nährmedium: 2% Sojamehl und 2% Mannit, vor dem Autoklavieren wurde der pH auf 7,5 eingestellt. Belüftung: 0,2 Vol/Min.; Rührung: 200 rpm; Fermentationstemp. 27°. Als Inoculum dienten 5–10% 48 Std. alte Vorkulturen, die in Erlenmeyerkolben ohne seitlichen Einstich (500 ml Inhalt, 100 ml Nährlösung) auf einer rotierenden Schüttelmaschine angezogen wurden. Die biologische Wirkung wurde im Plattendiffusionstest ermittelt. Die Produktion der antifungischen Wirkstoffe setzte während der logarithmischen Wachstumsphase ein und erreichte nach 96 Std. ein Plateau. Im weiteren Verlauf bis 192 Std. nahm die Aktivität nur geringfügig ab. Nach der Ernte wurden die Kulturen mit AcOEt extrahiert und die Extrakte i.V. eingedampft. Der Nachweis der Substanzen erfolgte im DC (Kieselgel 60 F_{254} , Merck; $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ 1:1). Die Flecke wurden unter UV-Licht (254 nm) oder durch Besprühen mit HCl/MeOH (rote Farbreaktion) nachgewiesen: R_f 0,50 für *Leucanicidin* (**1**) und 0,35 für *Bafilomycin-A₁-21-O-(α -L-rhamnopyranosid)* (**2**).

3. *Isolierung von Bafilomycin A₁* ($= 7,17\text{-Dihydroxy-18-(2,4-dihydroxy-6-isopropyl-5-methyloxan-2-yl)-2,14-dimethoxy-4,6,8,10,16-pentamethylnonadeca-2,4,10,12-tetraen-15-olid}$; **3**). Der Rohextrakt aus Kulturen des Actinomycetenstammes Tü 2437 (14,4 g braunes Öl) wurde durch Blitz-Chromatographie aufgetrennt (Säulendurchmesser 9 cm, Füllhöhe 21 cm (Kieselgel Merck), 0,3 bar Überdruck; $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ 2:3). Zuerst wurden 4,7 g *Bafilomycin A₁* und **B₁** als Gemisch eluiert. Mit AcOEt wurden anschliessend 420 mg nahezu reines *Bafilomycin B₁* und später 4,9 g *Bafilomycin C₁* erhalten. Aus 2,4 g *Bafilomycin A₁/B₁* wurden durch Chromatographie an 120 g Kieselgel mit $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ 1:1 1,15 g reines *Bafilomycin A₁* (**3**) erhalten. Spätere Fraktionen gaben 350 mg reines *Bafilomycin B₁*. Nach Umkristallisieren von **3** aus Et_2O farblose Kristalle mit Schmp. 162°. $[\alpha]_D^{24} = +3,25^\circ$ ($c = 3,6$, CH_2Cl_2). DC, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$: in Übereinstimmung mit authentischer Vergleichsprobe [4]. $^1\text{H-NMR}$: Tab. 2. $^{13}\text{C-NMR}$: Tab. 1. Anal. ber. für $\text{C}_{35}\text{H}_{58}\text{O}_9$ (622,84): C 67,49, H 9,39, O 23,12; gef.: C 67,52, H 9,33, O 23,15.

Die aus den späteren Fraktionen erhaltenen *Bafilomycine B₁* und **C₁**, farblose bis blassgelbliche amorphe Pulver, wurden nach weiterer Reinigung durch Säulenchromatographie und präp. DC ebenfalls durch direkten Vergleich mit authentischen Präparaten [4] identifiziert.

4. *Isolierung von Leucanicidin* ($= 18\text{-}[4-(6\text{-Desoxy-2-O-methyl-}\alpha\text{-L-mannopyranosyl)oxy-2-hydroxy-6-isopropyl-5-methyloxan-2-yl]-7,17-dihydroxy-2,14-dimethoxy-4,6,8,10,16-pentamethylnonadeca-2,4,10,12-tetraen-15-olid}$; **1**) und *Bafilomycin-A₁-21-O-(α -L-rhamnopyranosid)* ($= 18\text{-}[4-(6\text{-Desoxy-}\alpha\text{-L-mannopyranosyl)oxy-2-hydroxy-6-isopropyl-5-methyloxan-2-yl]-7,17-dihydroxy-2,14-dimethoxy-4,6,8,10,16-pentamethylnonadeca-2,4,10,12-tetraen-15-olid}$; **2**). Die Kulturbrühen von Stamm Tü 1907 (70l) wurden mit Hilfe von *Celite* filtriert, der Filterkuchen 3mal mit Aceton extrahiert und der Extrakt i.V. zu einem wässr. Rückstand eingeengt. Durch Ausziehen mit AcOEt und Eindampfen i.V. wurden 45 g braunes Öl erhalten. Die Vortrennung durch Blitz-Chromatographie (s. oben) in 4 Chargen gab insgesamt 3,12 g angereichertes **1** und 3,3 g angereichertes **2** als gelbliche Flüssigkeiten. Die **1** enthaltende Fraktion wurde an 200 g Kieselgel mit $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ 4:1 bei 0° chromatographiert. Die nach DC einheitlichen Fraktionen (892 mg) wurden aus $\text{Et}_2\text{O}/\text{Petroläther}$ umkristallisiert: 510 mg Kristalle, Schmp. 162–165°. $[\alpha]_D^{24} = -56,1^\circ$ ($c = 0,64$, CH_2Cl_2). UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$: in Übereinstimmung mit den für **1** publizierten Daten [2]. MS (FAB): 805 ($(M + \text{Na})^+$). Anal. ber. für $\text{C}_{42}\text{H}_{64}\text{O}_{12}$ (782,98): C 64,42, H 9,01; gef.: C 64,51, H 9,00.

Die **2** enthaltende Fraktion wurde erneut durch Blitz-Chromatographie mit $\text{CHCl}_3/\text{AcOME}$ 1:4 gereinigt und die aktiven Eluatfraktionen nach dem Eindampfen i.V. an 100 g Kieselgel bei 0° mit $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ und dann an *Sephadex LH-20* mit Aceton chromatographiert. Durch Umfällen aus $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Pentan}$ wurden 82 mg **2** als amorphes Pulver erhalten. Schmp. 128–131°, $[\alpha]_D^{25} = -39,2^\circ$ ($c = 1,83$, CH_2Cl_2). UV (EtOH): 248 (4,43), 288 (4,20). IR (KBr): 3420s, 2965s, 2930s, 2880s, 1688s, 1650m, 1622m, 1455s, 1385s, 1360s, 1245s, 1182s, 1100s, 1070s, 1045s, 980s, 918m. $^1\text{H-NMR}$: Tab. 2. $^{13}\text{C-NMR}$: Tab. 1.

5. *Abbau von 3.* 5.1. Durch eine Lsg. von 1 g **3** in 30 ml abs. EtOH wurde während 1 Std. bei -78° ein O_3 -haltiger O_2 -Strom durchgeleitet. Dann wurde die Lsg. langsam bei 0° zu einer Lsg. von 2,9 g NaBH_4 in 33 ml H_2O getropft und über Nacht bei RT. stehengelassen. Nach dem Ansäuern mit 2N H_2SO_4 (pH ca. 3) und Neutralisieren mit verd. NaOH-Lsg. wurde i.V. eingedampft, der Rückstand mit 50 ml MeOH aufgeschlammmt, filtriert und die Lsg. wieder i.V. eingetrocknet. Der Rückstand wurde mit 5 ml MeOH ausgezogen, filtriert und das Filtrat an *Sephadex LH-20* chromatographiert. Bei der anschliessenden Chromatographie an 100 g Kieselgel wurden mit $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ 1:5 2 Produkte mit höherem R_f separat eluiert. Eine dritte Verbindung wurde mit $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ 1:10 erhalten. 2,4-Dimethylheptan-1,3,6-triol (**4**): R_f 0,40 (DC, AcOEt/MeOH/ H_2O 20:2:1), 192

mg farblose Flüssigkeit; 2 Diastereoisomere im Verhältnis *ca.* 5:4. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): 0,92, 0,94 (je *d*, *J* = 6,9, zusammen 3H); 0,98, 1,00 (je *d*, *J* = 6,8, 3H); 1,15, 1,18 (je *d*, *J* = 6,2, 3H); 1,19 (*m*, 1H); 1,54 (*m*, 1H); 1,79 (*m*, 1H); 1,93 (*m*, 1H); 3,23 (*m*, 1H); 3,53, 3,54 (je *dd*, *J* = 10,6, 6,1, 1H); 3,70, 3,72 (je *dd*, *J* = 10,6, 5,1, 1H); 3,83 (*m*, 1H).

2-Methoxy-4,6,10,12-tetramethyl-1,3,5,7,9,11-tridecanhexol (*Epimer 6a*): Aus der zweiten Fraktion des obigen Chromatogramms, 205 mg farbloses Öl, R_f 0,19. $[\alpha]_D^{24} = +5,8^\circ$, $[\alpha]_{436}^{24} = +7,2^\circ$, $[\alpha]_{365}^{24} = +14,0^\circ$ ($c = 1,47$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): 0,87 (*d*, *J* = 7,1, 3H); 0,889 (*d*, *J* = 6,9, 3H); 0,892 (*d*, *J* = 7,1, 3H); 0,948 (*d*, *J* = 7,0, 3H); 0,954 (*d*, *J* = 6,8, 3H); 1,59 (*dt*, $J_d = 14,0$, $J_t = 4,4$, 1H); 1,65–1,87 (*m*, 4H); 1,99 (*m*, 1H); 3,19 (*ddd*, *J* = 8,9, 5,4, 3,2, 1H); 3,33 (*dd*, *J* = 7,6, 3,1, 1H); 3,43 (*s*, 3H); 3,68 (*dd*, *J* = 12,0, 5,4, 1H); 3,73 (*dd*, *J* = 8,6, 3,3, 1H); 3,90 (*dd*, *J* = 12,0, 3,2, 1H); 3,95 (*br. dd*, *J* = 8,8, 4,4, < 1, 1H); 4,02 (*dd*, *J* = 9,0, 1,7, 1H); 4,18 (*ddd*, *J* = 9,0, 4,4, 2,0, 1H).

Epimer 6b: Die dritte Fraktion des Chromatogramms (165 mg) gab durch Umkristallisieren aus AcOEt/CHCl₃ feine farblose Kristalle, Schmp. 151°, R_f 0,10. $[\alpha]_D^{24} = +18,2^\circ$, $[\alpha]_{436}^{24} = +36,0^\circ$, $[\alpha]_{365}^{24} = +47,9^\circ$ ($c = 0,94$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$: s. Tab. 3 (Spinentkopplung). $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD): 10,0 (*q*, 2C); 11,5 (*q*); 16,0 (*q*); 20,5 (*q*); 31,2 (*d*); 37,6 (*d*); 40,4 (*t*); 41,1 (*d*); 41,3 (*d*); 58,1 (*q*); 61,7 (*t*); 69,9 (*d*, 2C); 72,5 (*d*); 72,7 (*d*); 79,8 (*d*); 83,0 (*d*). Anal. ber. für C₁₈H₃₈O₇ (366,50): C 58,99, H 10,45; gef.: C 58,85, H 10,38.

5.2. Triessigsäure-[2,4-dimethyl-1,3,6-heptantriyl]ester (5). Das aus 9 mg **4** mit 1 ml Ac₂O/Pyridin 1:1 bei RT. hergestellte **5** wurde nach dem Eindampfen i.V. durch präp. DC (CHCl₃) gereinigt: 8,2 mg farbloses Öl, R_f 0,26 (DC, CHCl₃); 2 Diastereoisomere (*ca.* 1:1). IR (CHCl₃): 1730, kein OH. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃): 0,92, 0,96 (je *d*, *J* = 6,8, zusammen 3H); 0,975, 0,977 (je *d*, *J* = 6,9, 3H); 1,20, 1,23 (je *d*, *J* = 6,2, 3H); 1,22 (*m*, 1H); 1,52 (*m*, 1H); 1,72 (*ddd*, *J* = 14,2, 10,5, 2,6, 1H); 1,84 (*m*, 1H); 2,02, 2,03 (je *s*, 3H); 2,05 (*s*, 3H); 2,069, 2,073 (je *s*, 3H); 2,14 (*m*, 1H); 3,916, 3,920 (je *dd*, *J* = 11,0, 6,7, 1H); 4,04, 4,05 (je *dd*, *J* = 11,0, 4,3, 1H); 4,80 (*m*, 1H); 4,98 (*m*, 1H).

5.3. Hexaessigsäure-[2-methoxy-4,6,10,12-tetramethyl-1,3,5,7,9,11-tridecanhexayl]ester (*Epimer 7a*). Das aus 20 mg **6a** bereitete rohe **7a** ergab nach der Reinigung durch präp. DC 18,5 mg farbloses Öl. $[\alpha]_D^{24} = +4,7^\circ$ ($c = 1,1$, CH₂Cl₂). IR (CHCl₃): 1730, kein OH. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃): 0,84 (*d*, *J* = 6,7, 3H); 0,86 (*d*, *J* = 6,8, 3H); 0,89 (*d*, *J* = 6,9, 3H); 0,94 (*d*, *J* = 7,1, 3H); 0,98 (*d*, *J* = 7,0, 3H); 1,77–2,13 (*m*, 5H); 2,00 (*s*, 3H); 2,014 (*s*, 3H); 2,015 (*s*, 3H); 2,021 (*s*, 3H); 2,06 (*s*, 3H); 2,07 (*s*, 3H); 2,38 (*m*, 1H); 3,42 (*ddd*, *J* = 8,7, 4,6, 3,3, 1H); 3,45 (*s*, 3H); 4,03 (*dd*, *J* = 12,2, 4,6, 1H); 4,20 (*dd*, *J* = 12,2, 3,3, 1H); 4,72 (*dd*, *J* = 9,8, 3,0, 1H); 4,78 (*f* = 8,5, 3,8, 1H); 4,81 (*ddd*, *J* = 11,5, 7,6, 6,0, 1H); 4,92 (*ddd*, *J* = 7,8, 6,2, 1,8, 1H); 5,10 (*dd*, *J* = 8,7, 1,7, 1H).

6. Abbau von 1. 6.1. Eine Lsg. von 510 mg **1** in 30 ml abs. EtOH wurde wie oben (s. 5.1) ozonolysiert und aufgearbeitet. Bei der Chromatographie an Sephadex LH-20 wurde das Rohprodukt in 2 im DC unterscheidbare Komponenten aufgetrennt. Die später eluierte Fraktion, 105 mg Öl, erwies sich im DC (R_f 0,40, AcOEt/MeOH/H₂O 20:2:1) und $^1\text{H-NMR}$ als Diastereoisomeregemisch **4** (*ca.* 10:1) aus denselben Komponenten wie das entsprechende Abbauprodukt **4** aus **3**. Bei der zuerst eluierten Fraktion (339 mg, R_f 0,16) handelte es sich aufgrund des $^1\text{H-NMR}$ um ein Gemisch zweier an C(7) epimerer 9-(6-Desoxy-2-O-methyl- α -L-mannopyranosyl)oxy-2-methoxy-4,6,10,12-tetramethyl-1,3,5,7,11-tridecanpentole (**8a/8b**).

6.2. Methanolyse von **8a/8b**. Eine Lsg. von 35 mg **8a/8b** in 6 ml 1N HCl in abs. MeOH wurde 45 Min. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Neutralisieren mit frisch gefälltem Ag₂CO₃ wurde filtriert und die Lsg. i.V. eingedampft. Das Rohprodukt wurde an 5 g Kieselgel mit AcOEt/MeOH/H₂O 20:2:1 in 3 durch DC unterscheidbare Komponenten aufgetrennt. Die erste gab 6,5 mg farbloses Öl, nach $^1\text{H-NMR}$ praktisch einheitliches Methyl-(6-desoxy-2-O-methyl- α -L-mannopyranosid) (**9**). Vergleichspräparate von reinem α - und β -Glycosid wurden nach einem bekannten Verfahren synthetisch hergestellt [5]. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) des Abbauprodukts **9** und des synthetischen α -Glycosids: 1,24 (*d*, *J* = 6,6, 3H); 3,30 (*t*, *J* = 9,4, 1H); 3,35 (*s*, 3H); 3,39 (*dd*, *J* = 3,5, 1,8, 1H); 3,44 (*s*, 3H); 3,50 (*ddq*, *J* = 9,4, 0,6, $J_q = 6,6$, 1H); 3,64 (*dd*, *J* = 9,4, 3,5, 1H); 4,69 (*d*, *J* = 1,8, 1H). $^1\text{H-NMR}$ des synthetischen β -Glycosids: 1,37 (*d*, *J* = 6,0, 3H); 3,23 (*dq*, $J_d = 8,9$, $J_q = 6,0$, 1H); 3,32 (*t*, *J* = 8,9, 1H); 3,38 (*m*, 1H); 3,52 (*s*, 3H); 3,57 (*dd*, *J* = 3,5, 0,9, 1H); 3,63 (*s*, 3H); 4,36 (*d*, *J* = 0,9, 1H). Dieses Anomere war im Abbauprodukt zu weniger als 5% enthalten.

Die beiden anderen Eluatfraktionen (R_f 0,19 bzw. 0,10; 7,1 bzw. 3,2 mg) erwiesen sich durch die $^1\text{H-NMR}$ und Vergleich mittels DC als identisch mit **6a** und **6b** aus **3** (s. 5.1). **6a**: $[\alpha]_D^{24} = +5,7^\circ$, $[\alpha]_{436}^{24} = +8,3^\circ$, $[\alpha]_{365}^{24} = +11,3^\circ$ ($c = 0,34$, MeOH).

6.3. Methyl-(3,4-di-O-acetyl-6-desoxy-2-O-methyl- α -L-mannopyranosid) (**10**). Über Nacht wurden 6 mg **9** (s. oben) mit 2 ml Ac₂O/Pyridin 1:1 bei RT. acetyliert. Nach der Reinigung durch präp. DC (CHCl₃/AcOEt 1:1) wurden 1,6 mg reines **10** erhalten, R_f 0,50 (CHCl₃/AcOEt 1:1). $[\alpha]_D^{24} = -63,0^\circ$ ($c = 0,16$, MeOH); synthetisches Vergleichspräparat: $[\alpha]_D^{24} = -69^\circ$ ($c = 1,0$, MeOH). IR, $^1\text{H-NMR}$: in Übereinstimmung mit synthetischem Präparat. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃): 1,21 (*d*, *J* = 6,3, 3H); 2,02 (*s*, 3H); 2,06 (*s*, 3H); 3,31 (*dd*, *J* = 3,1, 1,8, 1H); 3,38 (*s*,

3H); 3,46 (s, 3H); 3,78 (ddq, $J = 10,0, 0,6, J_q = 6,3, 1H$); 4,70 (d, $J = 1,8, 1H$); 5,10 (t, $J = 10,0, 1H$); 5,19 (dd, $J = 10,0, 3,1, 1H$).

6.4. *Methylierung von 8a/8b und Methanolyse.* Zu einer Lösung von 450 mg 55proz. NaH-Dispersion (mit Hexan entfettet) in 20 ml DMSO wurden unter N_2 118 mg **8a/8b** bei RT. zugetropft und dann 5 Std. gerührt. Unter Eiskühlung wurden 8 ml MeI zugetropft. Das Gemisch wurde 16 Std. gerührt, nach dem Verdünnen mit H_2O mit $CHCl_3$ extrahiert, der Auszug mit 5proz. wässr. $NaHSO_3$ -Lsg. und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Durch Chromatographie an 15 g Kieselgel ($CHCl_3/AcOEt$ 1:1) wurden 106 mg Hauptprodukt (R_f 0,19, DC mit $CHCl_3/AcOEt$ 1:1) und 18 mg einer Nebenkomponente (R_f 0,08) erhalten ((3,7,9,11,12,13-Hexamethoxy-2,4,8,10-tetramethyltridecan-5-yl)-(6-desoxy-2,3,4-tri-O-methyl- α -L-mannopyranosid) (**14a/14b**)). IR und MS von **14a** und **14b** weitgehend übereinstimmend. IR ($CHCl_3$): 2980s, 2940s, 2830m, 1600w, 1460m, 1388w, 1315w, 1095s, 1050s. MS: 535 (0,2), 509 (0,1), 503 (1,2), 419 (1,4), 391 (0,8), 387 (1,2), 355 (1,4), 329 (1,2), 333 (1,2), 323 (1,1), 315 (1,4), 277 (1,8), 245 (2,0), 243 (4,4), 227 (2,2), 225 (2,0), 211 (2,8), 205 (23,4), 189 (97,5), 185 (13,4), 173 (41,6), 133 (29,9), 101 (46,4), 99 (26,8), 89 (22,4), 88 (83,8), 87 (100), 85 (25,8), 75 (41,6), 59 (29,8), 45 (30,1).

Durch Erwärmen von 54 mg **14a/14b** mit 10 ml 1N HCl in abs. MeOH (24 Std. Rückfluss) wurde das Glycosidgemisch gespalten. Nach dem Eindampfen i.V. wurde der Rückstand an 5 g Kieselgel mit $CHCl_3/AcOEt$ 1:1 chromatographiert. Zuerst wurde 1 mg **15** eluiert, anschliessend die beiden C(7)-Epimeren **16a** und **16b** (14,2 bzw. 4,0 mg). *Methyl-(6-desoxy-2,3,4-tri-O-methyl- α -L-mannopyranosid) (15)*: Farbloses Öl, R_f 0,46 ($CHCl_3/AcOEt$ 1:1). IR: kein OH, kein C=O. 1H -NMR ($CDCl_3$): 1,29 (d, $J = 6,3, 3H$); 3,12 (t, $J = 9,4, 1H$); 3,35 (s, 3H); 3,45 (dd, $J = 9,4, 3,3, 1H$); 3,46–3,60 (m, 2H); 3,48 (s, 3H); 3,49 (s, 3H); 3,54 (s, 3H); 4,70 (d, $J = 1,8, 1H$).

1,2,3,5,7,11-Hexamethoxy-4,6,10,12-tetramethyl-9-tridecanol (Epimer **16a**). Farbloses Öl, R_f 0,30. IR ($CHCl_3$): 3480m, 2980s, 2940s, 2835s, 1462s, 1390m, 1370w, 1318s, 1190m, 1150s, 1090s, 940m. 1H -NMR ($CDCl_3$): 0,90 (d, $J = 6,9, 3H$); 0,92 (d, $J = 6,9, 3H$); 0,93 (d, $J = 7,2, 3H$); 0,94 (d, $J = 6,5, 3H$); 0,96 (d, $J = 6,4, 3H$); 1,50–1,65 (m, 2H); 1,78 (m, 1H); 1,85–2,05 (m, 3H); 2,68 (br., 1H, mit D_2O austauschbar); 2,97 (dd, $J = 6,7, 5,1, 1H$); 3,19 (dd, $J = 6,7, 3,2, 1H$); 3,35–3,50 (m, 3H); 3,37 (s, 6H); 3,41 (s, 3H); 3,43 (s, 3H); 3,44 (s, 3H); 3,49 (dd, $J = 10,4, 5,1, 1H$); 3,52 (s, 3H); 3,61 (dd, $J = 10,4, 7,5, 1H$); 4,05 (ddd, $J = 9,0, 3,4, 1,8, 1H$).

Das Epimer **16b** (R_f 0,22) unterschiedlich im IR kaum von **16a**. Es wurde als **17b** (s. 6.5) charakterisiert.

6.5. *Essigsäure-[1,2,3,5,7,11-hexamethoxy-4,6,10,12-tetramethyl-9-tridecyl]ester (Epimer 17a)*. Aus 4,2 mg **16a** wurden mit 2 ml Ac_2O /Pyridin (15 Std., 20°) nach Reinigung durch präp. DC ($CHCl_3/AcOEt$ 1:1) 4,0 mg **17a** als farblose Flüssigkeit erhalten. IR ($CHCl_3$): 1730, kein OH. 1H -NMR ($CDCl_3$): 0,84 (d, $J = 6,8, 3H$); 0,87 (d, $J = 7,2, 3H$); 0,91 (d, $J = 7,2, 3H$); 0,92 (d, $J = 7,1, 3H$); 1,01 (d, $J = 6,9, 3H$); 1,50–2,00 (m, 6H); 2,05 (s, 3H); 2,74 (dd, $J = 9,2, 2,7, 1H$); 3,18 (dd, $J = 7,3, 2,3, 1H$); 3,22 (m, 1H); 3,31 (m, 2H); 3,33 (s, 3H); 3,38 (s, 3H); 3,40 (s, 3H); 3,42 (s, 3H); 3,44 (s, 6H); 3,48 (dd, $J = 10,3, 5,3, 1H$); 3,61 (dd, $J = 10,2, 2,7, 1H$); 5,35 (dt, $J_d = 1,9, J_t = 6,0, 1H$).

Epimer **17b** aus 4,0 mg **16b** wie oben: 2,7 mg. IR ($CHCl_3$): 1730, kein OH. 1H -NMR ($CDCl_3$): 0,84 (d, $J = 7,0, 3H$); 0,85 (d, $J = 6,8, 3H$); 0,89 (d, $J = 7,0, 3H$); 0,90 (d, $J = 7,1, 3H$); 1,00 (d, $J = 6,9, 3H$); 1,56 (ddd, $J = 15,1, 8,7, 4,2, 1H$); 1,72 (ddq, $J = 8,2, 2,0, J_q = 7,0, 1H$); 1,77–2,00 (m, 4H); 2,04 (s, 3H); 2,72 (dd, $J = 8,7, 3,2, 1H$); 3,17 (m, 1H); 3,19 (dd, $J = 7,9, 2,7, 1H$); 3,33 (s, 3H); 3,37–3,53 (m, 3H); 3,38 (s, 3H); 3,428 (s, 3H); 3,436 (s, 3H); 3,442 (s, 3H); 3,45 (s, 3H); 3,61 (dd, $J = 10,4, 2,8, 1H$); 5,44 (ddd, $J = 8,8, 4,2, 2,0, 1H$). Veränderte Signale nach Einstrahlung bei 5,44 ppm: 1,56 (dd, $J = 15,1, 8,8, 1H$); 1,72 (dq, $J_d = 8,2, J_q = 7,0, 1H$).

7. *Abbau von 2*. 7.1. Bafilomycin-A₁-rhamnosid **2** (94 mg in 8 ml abs. EtOH) wurde wie oben (s. 5.1) ozonolysiert und die Ozonlösung mit 500 mg $NaBH_4$ in 5 ml H_2O reduziert. Bei der Chromatographie an Sephadex LH-20 wurden 54 mg 9-(6-Desoxy- α -L-mannopyranosyl)oxy-2-methoxy-4,6,10,12-tetramethyl-1,3,5,7,11-tridecanpentole (**11a/11b**) als Diastereomerenpaar isoliert. Eine spätere Fraktion gab 16,5 mg **4** als öliges Gemisch der gleichen zwei Diastereomeren wie aus **3** (1H -NMR), aber im Verhältnis 5:1.

7.2. *Methanolyse von 11a/11b.* Durch Erwärmen von 22 mg **11a/11b** in 5 ml 1N HCl in abs. MeOH (2 Std. Rückfluss) und anschliessendes Neutralisieren mit Ag_2CO_3 wurden 23 mg Gemisch erhalten. Dieses wurde mit 2 ml Ac_2O /Pyridin 1:1 über Nacht bei RT. acetyliert und das Rohprodukt durch präp. DC ($CHCl_3/AcOEt$ 1:1) in die 3 Komponenten aufgetrennt, Elution der Zonen mit AcOEt. *Methyl-(6-desoxy-2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-mannopyranosid) (13)*: Farblose Flüssigkeit, 4 mg. R_f , IR und 1H -NMR wie das authentische Vergleichspräparat. R_f 0,44 (DC, $CHCl_3/AcOEt$ 14:1). $[\alpha]_D^{24} = -56,0^\circ$ ($c = 0,36, CH_2Cl_2$). 1H -NMR ($CDCl_3$): 1,23 (d, $J = 6,3, 3H$); 1,99 (s, 3H); 2,05 (s, 3H); 2,15 (s, 3H); 3,39 (s, 3H); 3,86 (ddq, $J = 9,9, 0,4, J_q = 6,3, 1H$); 4,63 (d, $J = 1,7, 1H$); 5,07 (t, $J = 9,9, 1H$); 5,23 (dd, $J = 3,5, 1,7, 1H$); 5,28 (dd, $J = 9,9, 3,5, 1H$).

Das Epimer **7a** wurde als farbloses Öl (R_f 0,47; 6,5 mg) erhalten. Nach DC, IR und 1H -NMR identisch mit dem Abbauprodukt **7a** aus **3** (s. 5.3). $[\alpha]_D^{24} = +4,8^\circ$ ($c = 0,55, CH_2Cl_2$). Das Epimer **7b** (3,5 mg) gab ein IR, das sich von demjenigen von **7a** kaum unterschied.

7.3. *Methylierung von 11a/11b*. Ein Teil von **11a/11b** (24 mg) wurde wie in 6.4 mit NaH und CH₃I in DMSO unter N₂ methyliert. Das Rohprodukt wurde an 5 g Kieselgel mit CHCl₃/AcOEt 1:1 chromatographiert. Die beiden diastereomeren Produkte (7,1 und 6,9 mg) wurden als farblose Flüssigkeiten erhalten und stimmten mit **14a** und **14b** aus 1 überein (R_f, IR, MS).

Die Mikroanalysen wurden im analytischen Laboratorium der ETH Zürich, Leitung Herr D. Manser, ausgeführt. Die NMR-Spektren verdanken wir Fr. B. Brandenburg und Herrn M. Langenauer und die MS Frau L. Golgowski und Herrn Dr. J. Meili. Bei der Isolierung und Reinigung der Antibiotika war Herr A. Müller massgeblich beteiligt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. Poetsch, H. Zähner, R. Werner, A. Kern, G. Jung, *J. Antibiot.*, im Druck.
- [2] A. Isogai, S. Sakuda, S. Matsumoto, M. Ogura, K. Furihata, H. Seto, A. Suzuki, *Agric. Biol. Chem.* **1984**, *48*, 1379.
- [3] S. Matsumoto, S. Sakuda, A. Isogai, A. Suzuki, *Agric. Biol. Chem.* **1984**, *48*, 827.
- [4] G. Werner, H. Hagenmaier, H. Drautz, A. Baumgartner, H. Zähner, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 110; G. Werner, H. Hagenmaier, K. Albert, H. Kohlshorn, H. Drautz, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 5193; vgl. auch O.D. Hensens, R.L. Monaghan, L. Huang, G. Albers-Schönberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 3672.
- [5] H. B. MacPhillamy, R. C. Elderfield, *J. Org. Chem.* **1939**, *4*, 150; W. Keller-Schierlein, A. Müller, *Experientia* **1970**, *26*, 929.
- [6] S. I. Hakamori, *J. Biochem. (Tokyo)* **1964**, *55*, 205; K. I. Harada, S. Ito, M. Suzuki, T. Iwashita, *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*, 3829.
- [7] K. Bock, C. Pedersen, *Acta Chem. Scand. Ser. B* **1975**, *29*, 258; R. Kasai, M. Okihara, J. Asahawa, K. Mizatani, O. Tanaka, *Tetrahedron* **1979**, *35*, 1427.
- [8] L. Bassi, B. Joos, P. Gassmann, H. P. Kaiser, H. Leuenberger, W. Keller-Schierlein, *Helv. Chim. Acta* **1983**, *66*, 92.