

10. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

46. Mitteilung [1]¹⁾

Die Konstitution des Lankamycins

von W. Keller-Schierlein und G. Roncari

(5. XI. 63)

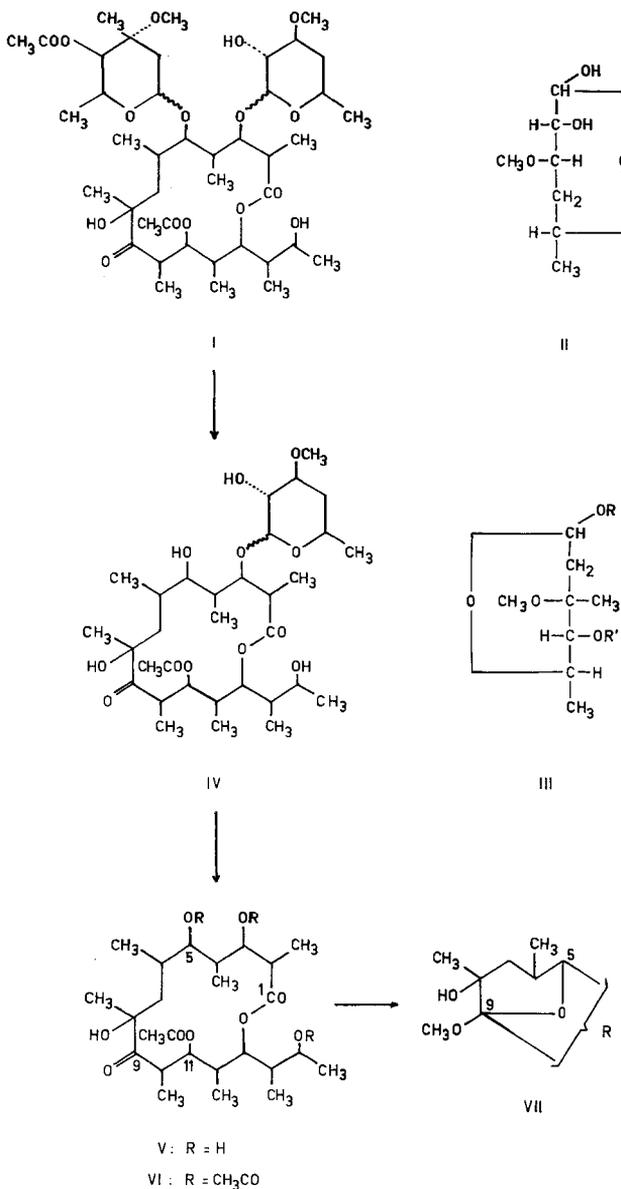
1. *Bruttoformel und funktionelle Gruppen.* Das gegen GRAM-positive Bakterien wirksame Makrolid-Antibioticum *Lankamycin* (I) [2] setzt sich zusammen aus einem Aglykon, dem Monoacetyl-lankolid, und 2 glykosidisch gebundenen Zuckern, der D-*Lankavose* (II) [3] und der 4-O-Acetyl-L-*arcanose* (III, R = H, R' = COCH₃) [3]. Die *Lankavose* erwies sich als identisch mit der Chalcose [4], einem Zuckerbaustein des Antibioticums Chalcomycin, dessen Konfiguration inzwischen im Sinne der Formel II abgeleitet worden ist [5]. Die Konfiguration der L-Arcanose (III, R = R' = H) geht aus ihrer Überführung in die Cladinose hervor, worüber wir in einer späteren Arbeit berichten werden [6].

Die beiden Zucker lassen sich leicht stufenweise abspalten. Bei der Methanolyse unter milden Bedingungen entstehen zunächst ein Monoglykosid (IV), das wir im folgenden *Darcanolid* nennen wollen, und das 4-O-Acetyl-methylarcanosid (III, R = CH₃, R' = COCH₃) [3]. Das *Darcanolid* kann unter relativ energischen Bedingungen weiter hydrolysiert werden, wobei die *Lankavose* (II) und das Aglykon, Monoacetyl-lankolid (V) [3] entstehen. Der bisher unbekannt acetylfreie Grundkörper des Aglykons soll *Lankolid* genannt werden.

Die Bruttoformeln des Lankamycins, des *Darcanolids* und des Monoacetyl-lankolids konnten früher aus den Analysen und Molekulargewichtsbestimmungen nur näherungsweise abgeleitet werden [3]. Die Aufstellung von endgültigen Bruttoformeln -C₄₂H₇₂O₁₆ für das Lankamycin, C₃₂H₅₆O₁₂ für das *Darcanolid* und C₂₅H₄₄O₉ für das Aglykon - war erst nach der Durchführung der nachstehend beschriebenen Abbaureaktionen möglich. Die früheren Analysen [2] [3] hatten besser auf Formeln gepasst, die um CH₂O grösser gewesen wären. Es zeigte sich nachträglich, dass die kristallinen Präparate hartnäckig Lösungsmittel zurückhielten (vor allem Aceton, das sich durch ein schwaches Signal bei $\delta = 2,17$ ppm im NMR.-Spektrum bemerkbar machte). Erst nach 8tägigem Trocknen bei 100° waren die Präparate frei von Aceton und gaben jetzt Analysen, die auf die neuen Bruttoformeln passten (vgl. den experimentellen Teil).

Von den 9 Sauerstoffatomen des Monoacetyl-lankolids liegen 2 in einer Acetoxygruppe, die sich im NMR.-Spektrum (Singlett bei $\delta = 2,10$ ppm in CDCl₃) zu erkennen gibt und auch durch das IR.-Absorptionsspektrum (Banden bei 1750 und 1235 cm⁻¹ in Nujol) ausgewiesen wird. 3 Sauerstoffatome liegen in acetylierbaren (primären oder sekundären) Hydroxylgruppen vor, da sich in Essigsäureanhydrid und Pyridin leicht ein kristallisiertes Tetraacetyl-lankolid (VI) bildet. Da das Acetylierungsprodukt noch eine freie Hydroxylgruppe trägt [$\nu(\text{OH}) = 3370$ cm⁻¹ in Nujol], muss ein sechstes

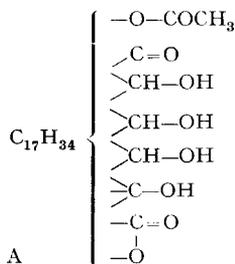
¹⁾ Die Ziffern in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 103.



Sauerstoffatom als schwer acetylierbare (wahrscheinlich tertiäre) Hydroxylgruppe formuliert werden. Die Anwesenheit einer Lactongruppe, die die Natur von 2 weiteren Sauerstoffatomen bestimmt, ist nach dem IR.-Absorptionsspektrum [2] wahrscheinlich und wird durch den weiteren Abbau (s. unten) bewiesen. Sie muss in einem mehr als 5gliedrigen Ring liegen, da die ihr zukommende Carbonylbande bei ca. 1710 cm^{-1} liegt.

Am schwersten war die Natur des neunten Sauerstoffatoms als Ketogruppe zu bestimmen, da mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin kein kristallines Derivat erhalten werden

konnte. Die IR.-Absorptionsbande der Ketogruppe fällt mit derjenigen des Lactoncarbonyls weitgehend zusammen; doch weist ein niedriges UV.-Absorptionsmaximum bei $288 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon 1,54$) auf die Anwesenheit einer Ketogruppe hin. Eine Reaktion, die ohne die Anwesenheit einer Ketogruppe kaum erklärt werden könnte, geht das Monoacetyllankolid mit absol. methanolischer Chlorwasserstoffsäure ein. Es bildet sich dabei eine kristallisierte neutrale Verbindung $\text{C}_{26}\text{H}_{46}\text{O}_9$, die gemäss NMR.-Spektrum eine Methoxylgruppe enthält. Bei der milden Behandlung mit wässriger Säure bildet sich daraus das Monoacetyllankolid zurück. Allem Anschein nach handelt es sich um ein cyclisches Methylketal, das gemäss VII formuliert werden muss. Ähnliche Reaktionen wurden beim Erythromycin und seinen Derivaten beobachtet [7]. Weitere Beweise für das Vorliegen einer Ketogruppe werden sich im Verlauf des weiteren Abbaus ergeben. Die Bruttoformel des Aglykons kann demnach gemäss Partialformel A aufgelöst werden.



Von den 4 Hydroxylgruppen des Aglykons sind im Lankamycin entweder 2 mit je einem Zuckerrest besetzt, oder eine davon trägt einen Diglykosidrest. Das Aglykon kann gemäss seiner Bruttoformel ausser dem Lactonring und den drei Carbonylgruppen keine weiteren Ringe oder Doppelbindungen besitzen.

Weder das Lankamycin noch das Darcanolid oder das Monoacetyllankolid werden von Perjodsäure rasch oxydiert. Es liegt demnach keine 1,2-Diol-Gruppierung vor. Hingegen verbraucht das Produkt, das bei der Reduktion des Aglykons, mittels Lithiumaluminiumhydrid erhalten wird, rasch 1 Mol Perjodsäure unter Aufspaltung in zwei grössere Bruchstücke. Es hat sich gezeigt, dass für die Reinisolierung günstigere Produkte erhalten werden, wenn für diesen Abbau nicht das Aglykon sondern das Lankamycin selber eingesetzt wird, weshalb wir im folgenden den Abbau des Lankamycins bzw. seines Reduktionsproduktes schildern werden.

Bei der energischen Reduktion des Lankamycins mittels Lithiumaluminiumhydrid werden 4 Gruppen reduziert: 1. die Acetoxygruppe in Stellung 4 des Arcanoserestes, unter Freilegung eines Hydroxyls; 2. die Acetoxygruppe am Aglykonteil, wobei ebenfalls eine Hydroxylgruppe freigesetzt wird; 3. die Ketogruppe, unter Bildung eines neuen sekundären Hydroxyls, und 4. die Lactongruppe, wobei 2 neue Hydroxyle entstehen. Das dünnstschichtchromatographisch praktisch einheitliche Reduktionsprodukt zeigt dementsprechend im IR.-Absorptionsspektrum keine Carbonylbanden. Die Verbindung konnte weder kristallisiert noch im Hochvakuum destilliert werden; sie wurde daher direkt weiter verarbeitet.

Bei der oxydativen Spaltung dieses Reduktionsproduktes mittels Perjodsäure wurden 2 Reaktionsprodukte gebildet, die sich chromatographisch leicht trennen und durch Kristallisation reinigen liessen. Die eine Verbindung, $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_4$, setzt sich aus-

schliesslich aus einem Teil des Aglykons zusammen, während die andere, $C_{27}H_{50}O_{10}$, 12 C-Atome des Aglykons, die 8 C-Atome der Arcanose und die 7 C-Atome der Lankavose umfasst. Die beiden Bruchstücke zusammen enthalten alle C-Atome des Lankamycins, mit Ausnahme der beiden Acetylgruppen.

2. *Die Konstitution des C_{11} -Bruchstückes.* Die Verbindung $C_{11}H_{22}O_4$ (VIII) sollte gemäss ihrer Entstehungsweise ein Aldehyd oder Keton sein. Im IR.-Absorptionsspektrum findet man aber im 6μ -Gebiet keine Absorptionsbanden. Es muss sich demnach in γ - oder δ -Stellung zum potentiellen Carbonyl eine Hydroxygruppe befinden, mit der sich ein Cyclohalbacetalring (VIIIb) bilden kann. Ausser dieser einen Hydroxygruppe sind noch zwei weitere vorhanden, da das Abbauprodukt ein Triacetylderivat IX bildet, das im $\nu(OH)$ -Gebiet des IR.-Spektrums keine Absorption zeigt. Auf Grund der Bruttoformel können ausser dem Cyclohalbacetalring keine weiteren Ringe oder Doppelbindungen vorhanden sein.

Die potentielle Carbonylgruppe muss eine Aldehydgruppe sein. Mit Bromwasser wird die Verbindung nämlich leicht zu einem Lacton $C_{11}H_{20}O_4$ (X) oxydiert, das wegen der Lage der Carbonylbande im IR.-Absorptionsspektrum (1725 cm^{-1} in Chlf.) kein γ -Lacton sein kann. Da sich Cyclohalbacetal- und Lacton-Ringe mit mehr als 6 Ringgliedern erfahrungsgemäss nicht spontan bilden, kommt für die Ringschlußstelle nur die δ -Stellung in Betracht.

Die Verbindungen dieser Reihe zeigen im NMR.-Spektrum Signale von 4 C-Methylgruppen, die alle in Dubletten auftreten, was das Vorhandensein von 4 CH_3 -CH-Gruppen anzeigt. Wenn man noch berücksichtigt, dass von den 4 Sauerstoffatomen keine 2 an benachbarten C-Atomen stehen können (sonst wäre mit Perjodsäure ein weiterer Abbau erfolgt), kommt für das C_{11} -Bruchstück vor allem die Konstitutionsformel VIII und für das Lacton die Formel X in Betracht. Die Konstitution der Seitenkette konnten wir in folgender Weise bestätigen:

Eine der beiden Hydroxygruppen wird mit Chromsäure in Aceton [8] rasch zu einer Ketogruppe oxydiert, während die andere bei kurzer Einwirkungszeit nicht angegriffen wird. Im NMR.-Spektrum des Oxydationsproduktes XII (Fig. 1) finden wir u. a. ein 3 Protonen umfassendes Singlett bei $\delta = 2,23$ ppm, das für die Methylketon-Gruppierung beweisend ist, während zwischen $\delta = 0,90$ und $1,40$ ppm nur noch 3 Dublette à 3 Protonen zu finden sind.

Die Verbindung XII wird durch hydrolytische Öffnung des Lactonrings zu einem β -Hydroxyketon gespalten, das einer Retroaldolspaltung zwischen den C-Atomen 5 und 6 zugänglich ist. Dementsprechend fanden wir unter den flüchtigen Produkten der energischen Behandlung des Ketolactons XII mit Natronlauge Methyläthylketon (XIII), das als 2,4-Dinitrophenylhydrazon identifiziert wurde und nur den C-Atomen 6, 6', 7 und 8 des Ketolactons entstammen kann. Als weiteres 2,4-Dinitrophenylhydrazon fanden wir dasjenige des Propionaldehyds (XIV). Dieser muss den C-Atomen 4, 4' und 5 und eventuell auch 2, 2' und 3 entstammen, da das primäre Spaltstück wiederum ein Aldol darstellt und zwischen den C-Atomen 3 und 4 erneut gespalten werden kann. Ob das ebenfalls als 2,4-Dinitrophenylhydrazon nachgewiesene 2-Methylpenten-(2)-al (XV) ausschliesslich durch Rekombination von zwei Molekeln Propionaldehyd entstanden ist oder ob es auch durch Wasserabspaltung und Decarboxylierung des primären Spaltproduktes gebildet worden ist, lässt sich nicht ent-

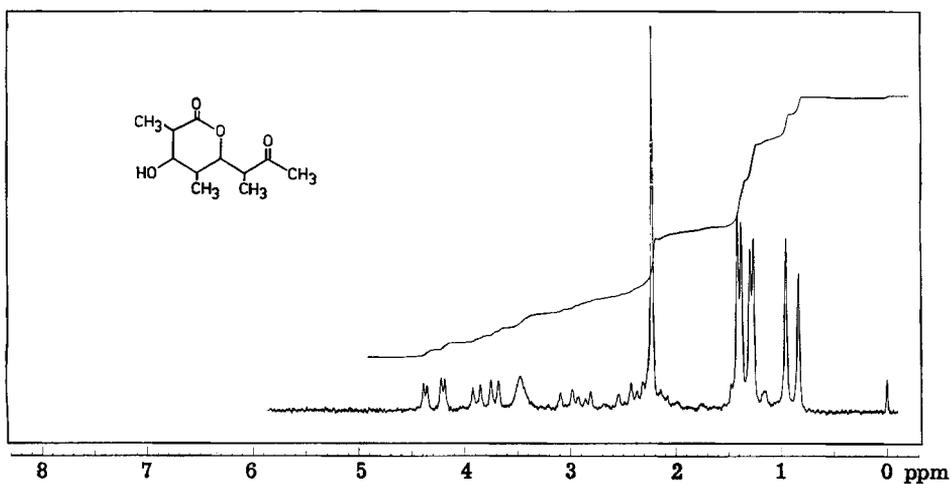
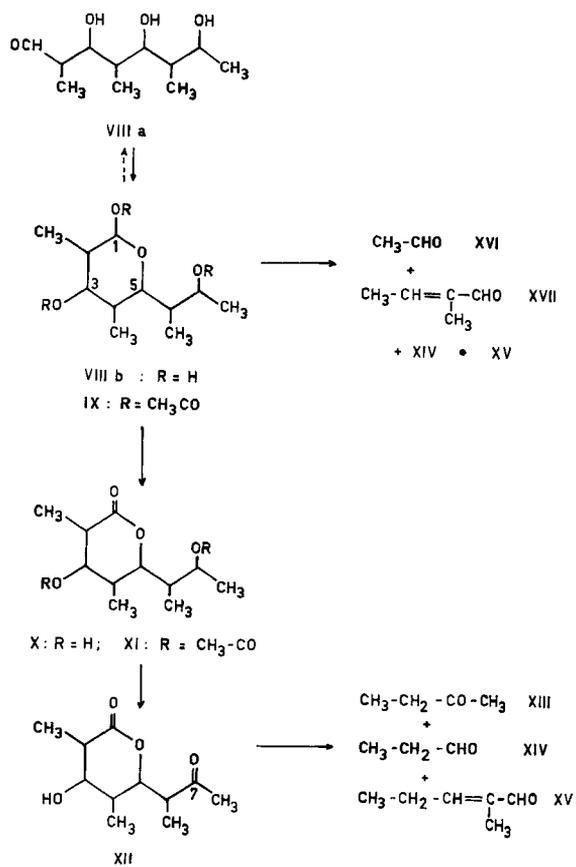


Fig. 1. NMR.-Spektrum des Ketolactons XII (in $CDCl_3$)

scheiden. Jedenfalls konnten wir zeigen, dass Propionaldehyd unter den Bedingungen der Retroaldolspaltung teilweise in den Aldehyd XV übergeht.

Ein Aldol stellt aber auch das ursprüngliche C_{11} -Bruchstück VIII des Perjodsäureabbaus dar. Es liess sich mit Natronlauge ebenfalls mehrfach spalten und lieferte gemäss chromatographischer Auftrennung der 2,4-Dinitrophenylhydrazone folgende Produkte: 1. Propionaldehyd (XIV) aus den C-Atomen 1–2', 3–4' und 5–6'; 2. Acetaldehyd (XVI) aus den C-Atomen 7 und 8; 3. 2-Methylpenten-(2)-al (XV) und 4. 2-Methylcrotonaldehyd (XVII). Die beiden letzteren können wiederum entweder durch Wasserabspaltung aus intermediären Bruchstücken oder durch Rekombination aus den einfachen Aldehyden entstanden sein. 2-Methylcrotonaldehyd entsteht als Hauptprodukt, wenn man ein Gemisch von Acet- und Propionaldehyd den Bedingungen der alkalischen Spaltung unterwirft.

Durch diese Reaktionen und die spektralen Eigenschaften des C_{11} -Bruchstückes und seiner Derivate ist die Konstitution der Verbindung VIII eindeutig aufgeklärt.

3. *Die Konstitution des C_{12} -Bruchstückes.* Das zweite Produkt der Perjodsäure-Oxydation, $C_{27}H_{50}O_{10}$ (XVIII), enthält noch die Arcanose und die Lankavose sowie ein C_{12} -Bruchstück des Aglykons. Die Verbindung enthält eine Methylketongruppe, wie aus der positiven Jodoformreaktion und einem Singlett bei $\delta = 2,11$ ppm (3 Protonen) im NMR.-Spektrum hervorgeht. Das in Tetrachlorkohlenstoff aufgenommene IR.-Absorptionsspektrum zeigt dementsprechend eine Bande bei 1710 cm^{-1} . Im Bereich von $\delta = 0,78$ bis $\delta = 1,27$ ppm besitzt das NMR.-Spektrum Signale, die weiteren 6 C-Methylgruppen entsprechen. Da die beiden Zucker zusammen 3 C-Methyle besitzen, entfallen weitere drei auf das Aglykon-Bruchstück, was durch die NMR.-Spektren der Abbauprodukte (s. unten) bestätigt wird.

Bei der Behandlung mit absoluter methanolischer Salzsäure bei Zimmertemperatur wird die Arcanose in Form ihres Methylglykosids (III, $R = CH_3$, $R' = H$) abgespalten. Das zweite isolierbare Reaktionsprodukt, vom Smp. 121° , besass nicht die erwartete Zusammensetzung $C_{19}H_{36}O_7$, sondern war um CH_2 grösser. Im NMR.-

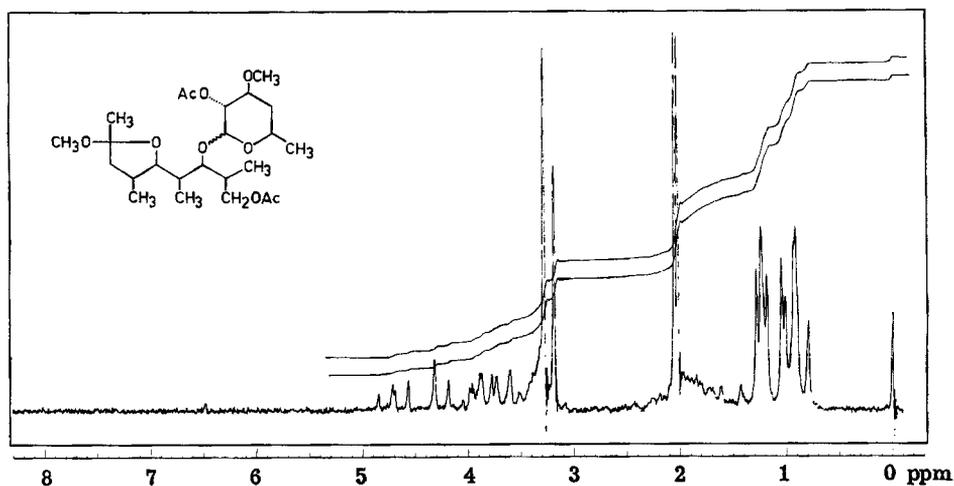
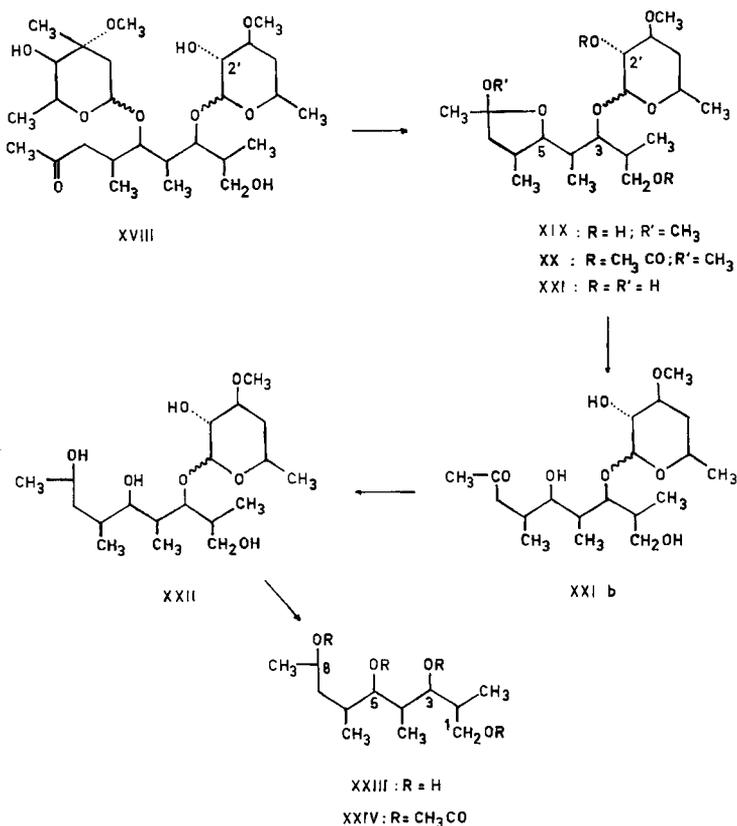


Fig. 2. NMR.-Spektrum des Diacetyl-methylcycloketals XX (in $CDCl_3$)

Spektrum ist ausser dem Signal der O-Methylgruppe der Lankavose noch das einer zweiten Methoxylgruppe zu erkennen (Fig. 2). Das IR.-Absorptionsspektrum zeigt im 6μ -Gebiet keine Absorptionsbande. Es muss sich demnach 1 Mol Methanol an die Ketogruppe angelagert haben unter Bildung eines Methyl-cycloketals (XIX). In Übereinstimmung mit dieser Annahme gibt die Verbindung ein Diacetylderivat (XX), dessen IR.-Absorptionsspektrum keine OH-Banden aufweist.

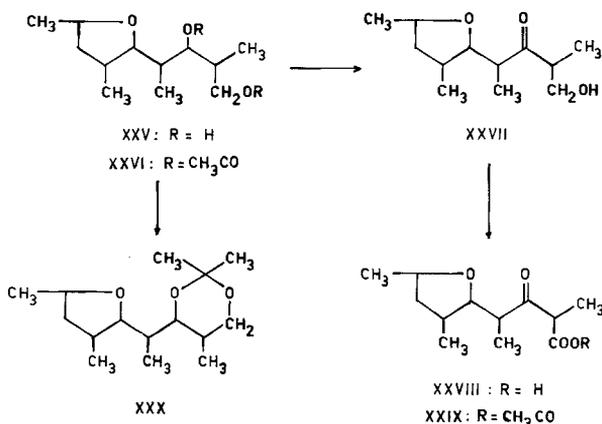
Durch milde Säurehydrolyse liess sich die O-Methylgruppe hydrolytisch entfernen. Das Hydrolyseprodukt XXI zeigte im IR.-Absorptionsspektrum eine starke Carbonylbande. Es liegt demnach vorwiegend als freies Keton (XXIb) vor. Es liess sich mittels Lithiumaluminiumhydrid in siedendem Dioxan zu einem Tetrol XXII reduzieren, das sich durch Destillation im Hochvakuum reinigen liess und gemäss Dünnschichtchromatogramm eine einheitliche Verbindung darstellt. Sie besitzt die Zusammensetzung $C_{19}H_{38}O_7$. Die saure Hydrolyse dieses Glykosids erforderte relativ energische Bedingungen und führte zur Lankavose (II) und einem neuen Alkohol $C_{12}H_{26}O_4$. Dieses Tetrol (XXIII) setzt sich aus dem bisher nicht für sich erfassten Teil des Aglykons zusammen und enthält alle ursprünglichen Sauerstofffunktionen in Form primärer und sekundärer Alkoholgruppen, da sich leicht ein Tetraacetylderivat (XXIV) bildete. Da diejenige Hydroxylgruppe, die sich aus dem Lactoncarbonyl des Anti-



bioticums ableitet, primär sein muss und die Verbindung XXIII gemäss NMR.-Spektrum 4 C-Methylgruppen besitzt, kann die längste C-Kette dieses C_{12} -Bruchstückes höchstens 9 C-Atome umfassen. Aus dem NMR.-Spektrum des Alkohols XXIII bzw. seines Acetylerivates XXIV lässt sich ferner folgern, dass alle C-Methyle als CH_3 -CH-Gruppen vorliegen, da die Signale im Bereich von $\delta = 0,84$ bis $\delta = 1,18$ ppm ausschliesslich als Dublette auftreten. Ferner müssen wir wegen der Methylketon-Gruppe des Diglykosids XVIII für den Alkohol XXIII die Gruppierung CH_3 -CHOH- annehmen. Da der Alkohol XXIII mit Perjodsäure nicht reagiert, können nicht 2 Hydroxyle an benachbarten C-Atomen liegen.

Über die Abstände zwischen den einzelnen Hydroxylgruppen gibt ein Nebenprodukt (XXV) der Hydrolyse des Lankavosids XXII Auskunft, das wir durch Chromatographie vom Hauptprodukt (XXIII) abtrennen und als kristalline Verbindung isolieren konnten²⁾. Das Produkt besitzt die Formel $C_{12}H_{24}O_3$ und unterscheidet sich demnach durch den Mindergehalt einer Molekel Wasser vom Tetrol $C_{12}H_{26}O_4$. Es besitzt nur 2 freie Hydroxylgruppen, da sein Diacetylderivat XXVI im Gebiet der OH-Banden keine IR.-Absorption zeigt. Die Verbindung ist demnach ein cyclischer Äther.

Die beiden freien Hydroxylgruppen des Diols XXV sind eine sekundäre und eine primäre OH-Gruppe, da sich das Diol mit Chromsäure in schwefelsaurem Aceton [8] stufenweise zu einem Hydroxyketon XXVII und einer Ketosäure XXVIII oxydieren lässt. Die letztere wurde als Methylester (XXIX) isoliert und charakterisiert.



Die beiden freien Hydroxylgruppen der Verbindung müssen in 1,3-Stellung zueinander liegen, da sich mit Aceton und wasserfreiem Kupfersulfat leicht ein O,O'-Isopropylidenderivat (XXX) bildet. Es steht weiter fest, dass die freie sekundäre Hydroxylgruppe nicht einer CH_3 -CHOH-Gruppe angehören kann, da das Hydroxyketon XXVII und der Ketoester XXIX gemäss NMR.-Spektrum keine Methylketone sind. Die im Tetrol XXIII nachgewiesene CH_3 -CHOH-Gruppe muss demnach in der Verbindung XXV am Ätherring beteiligt sein. Diese Befunde führen uns zur Partialformel B für den Dihydroxyäther XXV.

²⁾ Unter energischeren Bedingungen der Hydrolyse wird das Diol XXV zum Hauptprodukt.

Der cyclische Äther kann ein Tetrahydrofuran oder ein Tetrahydropyran sein, da die spontane Bildung kleinerer oder grösserer Ringe nicht zu erwarten ist.

Endlich konnten wir noch beweisen, dass im Keton XXI der Methylketon-Gruppierung eine Methylengruppe und dieser wiederum eine Methingruppe benachbart sind ($\text{CH}_3\text{-CO-CH}_2\text{-CH-}$). Das Keton reagiert nämlich mit Phenylmagnesiumbromid unter Bildung eines Tetrols (XXXI), dessen Triacetylderivat XXXII nach dem IR.-Spektrum zu schliessen noch eine freie Hydroxylgruppe besitzt. Der Eintritt einer Phenylgruppe geht aus der Elementarzusammensetzung, dem UV.-Absorptionsspektrum und dem NMR.-Spektrum hervor. Beim Erhitzen des Triacetylderivates XXXII mit Jod in Benzol wird 1 Mol Wasser abgespalten unter Bildung eines neuen Triacetats (XXXIII). Dieses ist, wie aus dem UV.-Absorptionsspektrum hervorgeht ($\lambda_{\text{max}} = 247 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon 4,18$, in Feinsprit), ein an der Doppelbindung doppelt substituieretes Styrol. Das NMR.-Spektrum (Fig. 3) zeigt u. a. das Signal eines einzelnen Vinylwasserstoffs bei $\delta = 5,61 \text{ ppm}$, das durch ein benachbartes Proton (an C-6) in ein Dublett aufgespalten wird. Durch eine «long-range»-Wechselwirkung mit den Protonen einer Methylgruppe an der Doppelbindung sind die beiden Äste des Dubletts nochmals in Quartette mit J ca. 1 cps. aufgespalten. Hingegen ist die entspr. Aufspaltung des Signals der Methylgruppe in ein Dublett mit J ca. 1 cps. nicht deutlich

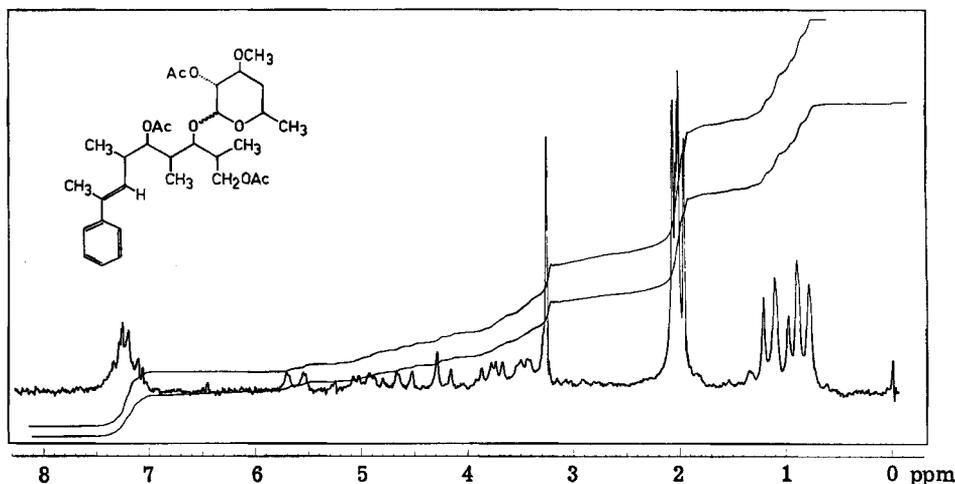
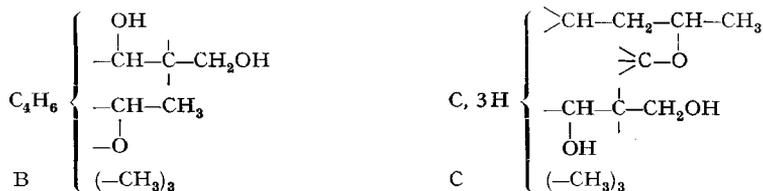


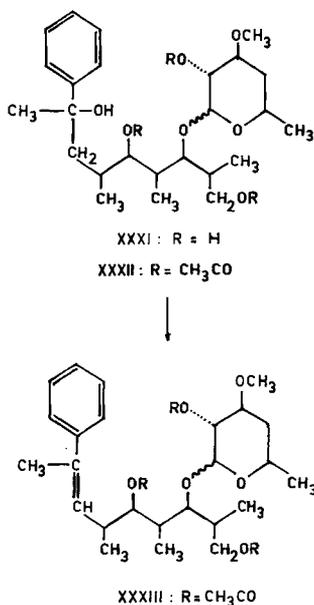
Fig. 3. NMR.-Spektrum des Styrols XXXIII (in CDCl_3)

erkennbar, da es vom Signal einer der drei Acetylgruppen überdeckt wird. Der sichere Nachweis eines einzigen Vinylprotons in der Verbindung XXXIII beweist eindeutig das Vorliegen einer Methylengruppe in Stellung 7 und eines einzelnen Wasserstoff-

atoms an C-6 der Verbindungen XVIII bis XXXII. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen lässt sich für den Dioläther $C_{12}H_{24}O_3$ eine weitere Partialformel C schreiben.

Über weitere Experimente, die vor allem die Gruppierung in der Nähe des primären Hydroxyls des Dioläthers (bzw. des Lactoncarbonyls des Lankolids) weiter auflösen lassen und schliesslich eine eindeutige Konstitutionsaufklärung des C_{12} -Bruchstücks erlauben, wird im nachfolgenden Abschnitt berichtet.

4. *Über die alkalische Aufspaltung des Makrolidringes.* Wir gingen aus vom Darcanolid (IV), das wir mit 1N Natronlauge bei 100° behandelten. Wir erhielten dabei unter anderem ein Gemisch von 2 Carbonsäuren, die wir durch Chromatographie



ihrer mittels Diazomethan hergestellten Methylester trennen konnten. Der eine von ihnen, der durch einen weitergehenden Abbau entstanden ist, wird uns im Abschnitt 5 näher beschäftigen. Der zweite Ester (XXXIV), der noch alle C-Atome des Darcanolids mit Ausnahme der Acetylgruppe besitzt, bildet ein schwer destillierbares Öl, das keine befriedigenden Analysenresultate gab. Aus den weiteren Umsetzungen muss angenommen werden, dass ausser der Verseifung der Lacton- und der Acetyl-Gruppe sowie der Veresterung der neu entstandenen Carboxylgruppe noch eine Wasserabspaltung stattgefunden hat. Da sich weder chemisch noch spektroskopisch eine Äthylenbindung nachweisen liess, und da die Verbindung nur noch 4 Hydroxylgruppen besitzt, muss die Wasserabspaltung zu einem cyclischen Äther gemäss Formel XXXIV geführt haben.

Bei der energischen sauren Hydrolyse des Lankavosids XXXIV wird nicht nur der Zucker abgespalten, sondern es tritt gleichzeitig eine Verseifung des Methylesters und eine neue Lactonisierung ein. Das kristallisierte Produkt (XXXV) besitzt, in Chloroform gelöst, ein IR.-Absorptionsmaximum bei 1708 cm^{-1} für die Ketogruppe und bei 1740 cm^{-1} für die Lactongruppe, die demnach einem 6gliedrigen Ring angehören

werden muss, während die Alternativformel E mit der Formel G nicht vereinbar ist und damit ausscheidet.

Das NMR.-Spektrum des Acetoxylactons XXXVIII (Fig. 4) lässt nun aber noch weitere Schlüsse zu in bezug auf die Nachbarschaft des C-Atoms in δ -Stellung zum Lactoncarbonyl (C-5). In der Gegend von $\delta = 3,8$ bis $4,8$ ppm erkennt man charakteristische Signale von 2 Protonen, die den Wasserstoffatomen neben der Acetoxygruppe (am C-Atom 13, Formel XXXVII) und neben dem Ringsauerstoff der Lactongruppe (C-Atom 5) zukommen müssen. Das eine Signal bei $\delta = 4,55$ ppm besitzt die Form eines Triplets mit der Kopplungskonstante $J = 9$ cps. Dieses Signal muss offenbar dem Proton an C-13 zugeordnet werden, das zu beiden Nachbar-Wasserstoffatomen (an C-12 und C-14) in axial-axialer Beziehung steht. Demnach ist für das Signal bei $\delta = 3,93$ ppm das Proton an C-5 verantwortlich. Dieses Signal besitzt die Form eines Doppeldoublets mit $J_a = 10$ cps. und $J_b = 4$ cps. Dies bedeutet, dass das fragliche Proton an C-5 von 2 Methingruppen flankiert sein muss. Die Formel D kann weiter aufgelöst werden nach Formel H.

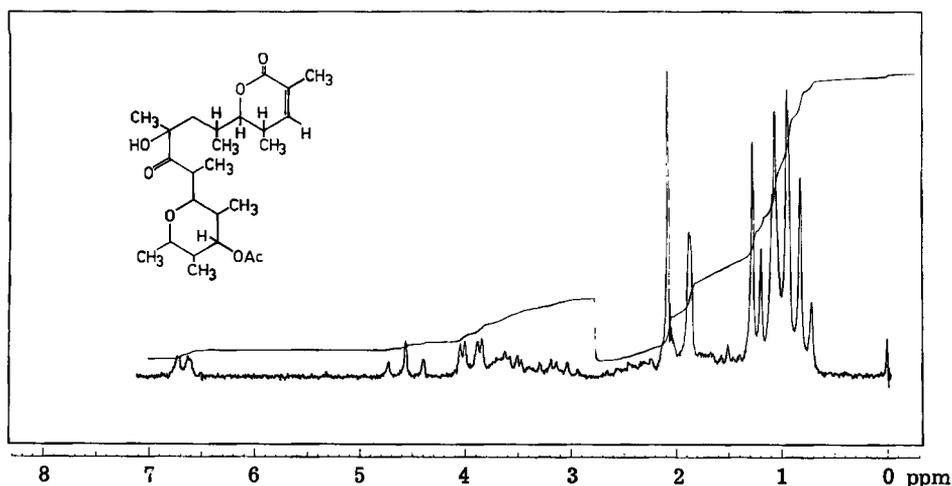
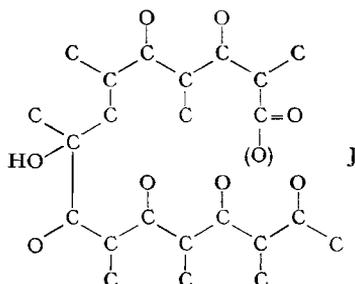


Fig. 4. NMR.-Spektrum des Lactons XXXVIII (in CCl_4)

Die in der Formel H nicht eingeklammerten Gruppen enthalten nun aber bereits sämtliche Atome des cyclischen Dioläthers $C_{12}H_{24}O_3$ (XXV). Die in Klammer gesetzten Gruppen müssen daher mit andern Gruppen der Formel H identisch sein. Da C-6 keine Methylgruppe sein darf, können nur noch C-6 und C^{*} miteinander identisch sein und das C-Atom neben C-4 muss eine Methylgruppe sein. Für die Stellung des zweiten Methyls kommt nur noch C-6 in Frage. Somit folgt aus den bisherigen Ableitungen eindeutig die Formel XXV für den Dioläther, Formel XXIII für das aliphatische C_{12} -Tetrol und demgemäss – noch mit Ausnahme der Lage der Zuckerbausteine – die Formel XVIII für das C_{27} -Spaltstück des Perjodsäure-Abbaus.

Daraus folgt aber, unter Berücksichtigung des im Abschnitt 2 ausgeführten, für das Aglykon die Partialformel J, in der das C-Gerüst sowie die Lage aller Sauerstoffatome, nicht aber die Natur der letzteren, angegeben sind. Einzig die Lage des Lacton-

carbonyls (an C-1) und diejenige des tertiären Hydroxyls (an C-8) können bereits definitiv angegeben werden, da nur je eine primäre und tertiäre Sauerstofffunktion vorhanden sind. Die Bestimmung der Natur der übrigen 6 Sauerstoffe bildet den Gegenstand der nachfolgenden Abschnitte.



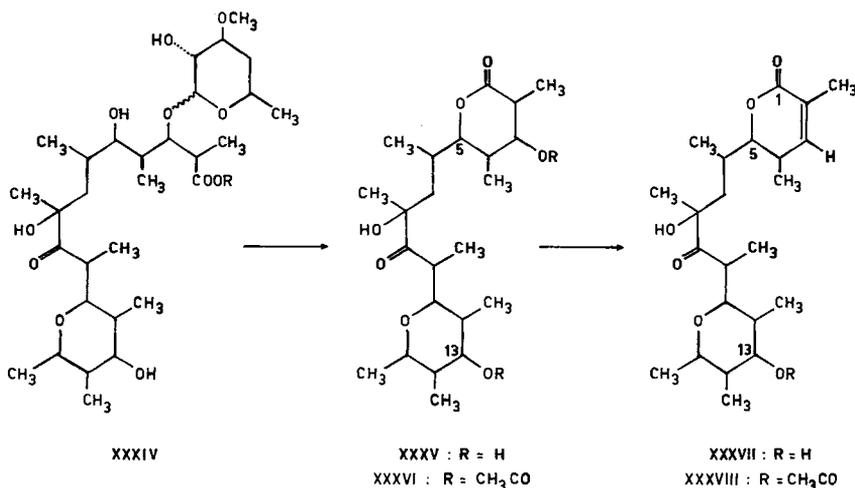
5. *Die Lage der Ketogruppe.* Über die Lage der Ketogruppe im Gerüst des Lankolids geben die weiteren Produkte Aufschluss, die wir bei der im vorangehenden Abschnitt beschriebenen alkalischen Spaltung des Darcanolids (IV) erhalten haben. Ausser der dem Ester XXXIV entsprechenden Säure wurde nämlich noch eine zweite Säure (XXXIX), wiederum in Form ihres Methylesters (XL), sowie eine Reihe flüchtiger Carbonylverbindungen erhalten. Die letzteren wurden als 2,4-Dinitrophenylhydrazon an Kieselgel getrennt und durch Misch-Smp. und Dünnschichtchromatographie identifiziert. Es handelt sich um Acetaldehyd, Propionaldehyd, 2-Methylcrotonaldehyd und 2-Methylpenten-(2)-al, also um die gleichen Verbindungen, die wir schon bei der Retroaldolspaltung des C_{11} -Cyclohalbacetals VIII erhalten haben. Diese sind offenbar auch aus dem Darcanolid in einer gleichartigen Reaktion entstanden.

Die gleichen Aldehyde werden auch aus dem Lankamycin selber sowie aus dem Monoacetyllankolid (V) beim Erhitzen mit Natronlauge erhalten, doch konnten wir die der Säure XXXIX entsprechenden Bruchstücke dabei nicht leicht in reiner Form isolieren, weshalb wir auf diese Reaktionen hier nicht weiter eingehen.

Der Ester XL besitzt die Zusammensetzung $C_{23}H_{42}O_9$. Es müssen demnach gegenüber dem Ausgangsmaterial insgesamt 10 C-Atome verlorengegangen sein, wovon 2 der Acetylgruppe und 8 dem Lankolid angehören. Die letzteren 8 finden sich in den flüchtigen Aldehyden XIV bis XVII wieder.

Die Verbindung XL besitzt ausser der Carbomethoxygruppe [$\nu(\text{CO}) = 1732 \text{ cm}^{-1}$ in CCl_4] noch eine Ketogruppe [$\nu(\text{CO}) = 1707 \text{ cm}^{-1}$], die mit der ursprünglichen Keto-Gruppe identisch sein muss. Nach dem NMR.-Spektrum kann das Vorliegen einer Methylketogruppe ausgeschlossen werden. Der Ketoester wurde mittels Lithiumaluminiumhydrid reduziert. Das Reduktionsprodukt ist ein 1,2-Diol, denn es lässt sich mit Perjodsäure unter Verbrauch von einem Mol Oxydationsmittel spalten. Als Abbauprodukte wurden 1 Mol Propionaldehyd (als 2,4-Dinitrophenylhydrazon) und ein Methylketon erhalten. Das letztere erwies sich als identisch mit dem auf anderem Wege erhaltenen und in seiner Konstitution aufgeklärten Produkt XXI und wurde weiter als Methyl-cycloketal XIX identifiziert. Aus diesem Abbau geht die Konstitution des Reduktionsproduktes XLI und damit auch des Ketoesters XL eindeutig hervor. Da die Retroaldolspaltung zwischen dem α - und dem β -ständigen C-Atom

(in bezug auf die Ketogruppe) eingetreten sein muss, ist bewiesen, dass die Sauerstofffunktion an C-9 des Darcanolids bzw. Lankamycins als Ketogruppe vorliegt.



Eine Bemerkung sei noch erlaubt über die gleichzeitige Entstehung der beiden Säuren XXXIV (R = H) und XXXIX aus Darcanolid. Es handelt sich offenbar um Konkurrenzreaktionen. Die offenkettige Polyhydroxyketosäure, die zunächst durch die Verseifung der Lacton- und der Acetoxy-Gruppe entsteht, ist in alkalischem Milieu einerseits zur Aldolspaltung, andererseits zum Ätherringschluss befähigt. Wenn der Ringschluss einmal erfolgt ist, werden die davon betroffenen Molekeln der Spaltung entzogen. Dies erfordert aber, dass der zur Ketogruppe β -ständige Sauerstoff am Ring beteiligt ist, was gemäss unserer Formulierung (XXXIV) tatsächlich der Fall ist.

6. *Die Lage der Zuckerbausteine.* Die beiden Zuckerbausteine, die Lankavose und die 4-O-Acetyl-arcanose, sind mit dem Aglykon offenbar glykosidisch verknüpft. Die Lage des Lankavoserestes geht aus den bisher angeführten Experimenten bereits endgültig hervor. Das Methylketal XIX besitzt nur 2 Stellen, die für den Sitz der Lankavose in Frage kommen, nämlich die C-Atome 1 und 3. Da aber die primäre Alkoholgruppe an C-1 aus dem Lactoncarbonyl entstanden sein muss, scheidet sie als Träger des Lankavoserestes aus. Es bleibt nur die Stelle C-3 übrig.

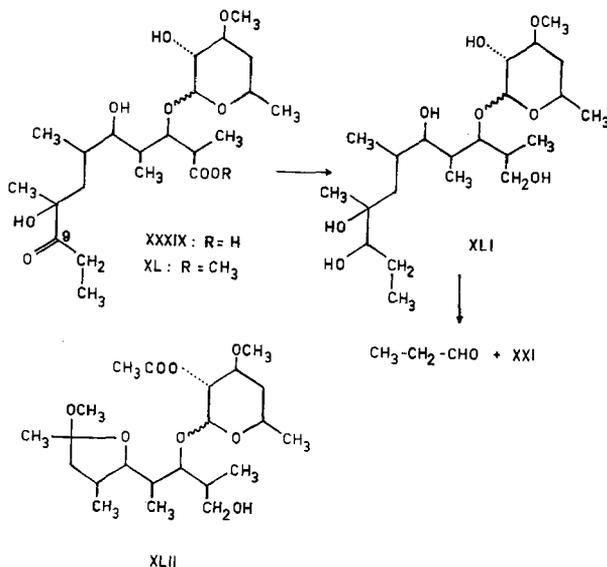
Das kleinste Abbauprodukt, das noch die Arcanose enthält, ist das Methylketon XVIII. Nachdem aus dem gleichen Grund wie oben die Stellung 1 als Sitz des Arcanoserestes ausscheidet, kommen noch die Stellung 5 im Aglykonteil und die Stellung 2' der Lankavose in Frage. Der Entscheid zwischen diesen beiden Möglichkeiten geht aus folgenden Versuchen hervor:

Das Ketotriol XVIII wurde mit Essigsäureanhydrid in Pyridin acetyliert und das einheitliche Acetylierungsprodukt, das gemäss IR.-Absorptionsspektrum keine freien Hydroxylgruppen mehr besass, einer Methanolyse bei Zimmertemperatur unterzogen. Ausser 4-O-Acetyl-methylarcanosid erhielten wir als Hauptprodukt das bekannte Diacetylmethylcycloketal XX mit je einer O-Acetylgruppe an C-1 und C-2'. Das Hydroxyl an C-2' des Lankavoseteils ist demnach in der Verbindung XVIII frei, die Arcanose kann nur in Stellung 5 des Aglykons stehen.

Als Nebenprodukt der Methanolyse isolierten wir das Monoacetat XLII, das durch partielle Abspaltung der Acetylgruppe am primären Hydroxyl an C-1 entstanden ist. Dass die Acetylgruppe an C-2' der Lankavose steht, geht daraus hervor, dass die Region von $\delta = 4,0$ bis $5,0$ des NMR.-Spektrums, in der sich die Signale der Protonen an C-1' und C-2' des Lankavoseiteils befinden, völlig gleich ist wie beim Diacetat XX. Wäre das Hydroxyl an C-2' nicht mehr acetyliert, müsste eine Verschiebung des Signals von H an C-2' nach kleineren δ -Werten erfolgt sein.

7. Die Lage der Acetoxygruppe und des Ringsauerstoffs der Lactongruppe. Für die Lage dieser beiden funktionellen Gruppen stehen noch drei Stellen zur Verfügung, nämlich die Sauerstoffatome an den C-Atomen 11, 13 und 15. Das dritte dieser Sauerstoffatome muss als freie Hydroxylgruppe vorliegen.

Aus den NMR.-Spektren von Darcanolid, Monoacetyllankolid und verschiedener Derivate davon konnte vermutet werden, dass keine der beiden Acyloxygruppen (Acetoxy- bzw. Lacton-Gruppe) neben einer Methylgruppe liegt. Die Signale der beiden fraglichen Wasserstoffatome neben den Acyloxygruppen überlagerten sich zwar weitgehend, so dass keine Auflösung in die einzelnen Piks zu erkennen war. Die Form des 2 Protonen umfassenden Signalhaufens bei $\delta = 4,9$ ppm war die eines Dubletts mit stark verbreiterten Ästen, das man leicht als Überlagerung zweier Doppeldublette auffassen konnte, das sich hingegen nicht aus einem Doppeldublett und einem vielästigen Multipllett zusammensetzen liess. Demnach sollte das Sauerstoffatom an C-15 (neben der endständigen Methylgruppe) die freie Hydroxylgruppe bilden.



Wir konnten dies bestätigen, indem sich die fragliche Hydroxylgruppe des Darcanolids mit Chromsäure in schwefelsaurem Aceton leicht selektiv zu einer Keto-Gruppe oxydieren liess. Das Oxydationsprodukt konnte als Methylketon (XLIII) erkannt werden, da im NMR.-Spektrum in der Gegend von $\delta = 2,2$ ppm ausser dem

Singlett für die O-Acetylgruppe noch ein zweites Singlett gleicher Intensität vorkam, das nur einer Methylketon-Gruppierung zugeordnet werden konnte.

Die möglichen Konstitutionsformeln für das Lankamycin beschränken sich demnach noch auf 2, nämlich Formel I und eine daraus durch Vertauschen der Funktionen an C-11 und C-13 ableitbare Alternativformel. Der Entscheid zwischen diesen beiden Möglichkeiten bot zahlreiche Schwierigkeiten, da es uns längere Zeit nicht gelang, eine Reaktion zu finden, die selektiv nur eine der beiden Funktionen angriff. Schliesslich stiessen wir durch Zufall auf ein Umwandlungsprodukt, das dieser Forderung entsprach.

Die Ketogruppe im Lankamycin konnte mittels Natriumborhydrid selektiv zu einer sekundären Alkoholgruppe reduziert werden. Das Dihydrolankamycin (XLIV) war ein amorphes Pulver, war aber gemäss Dünnschichtchromatogramm einheitlich. Das NMR.-Spektrum zeigte das Vorhandensein der beiden Acetoxygruppen (Singlett bei $\delta = 2,13$ ppm, 6 H). Das kristallisierte Acetylierungsprodukt XLV besass im IR.-Absorptionsspektrum noch eine Bande bei 3520 cm^{-1} (in Nujol) für die freie tertiäre Hydroxylgruppe. Beim Versuch, durch milde Methanolyse die 4-O-Acetylarcanose abzuspalten, trat eine überraschende Reaktion ein. Aus dem Hydrolysegemisch liess sich wie erwartet das Methylglykosid III ($R = \text{CH}_3$, $R' = \text{CH}_3\text{CO}$) abtrennen. Das zweite Methanolyseprodukt besass aber nicht die erwartete Bruttoformel $\text{C}_{32}\text{H}_{58}\text{O}_{12}$, sondern die Analysen entsprachen der Zusammensetzung $\text{C}_{32}\text{H}_{56}\text{O}_{11}$. Eine Doppelbindung liess sich nicht nachweisen. Der frappierendste Befund war das Fehlen des charakteristischen Acetyl-Singletts im NMR.-Spektrum bei $\delta = 2,1$ ppm. An dessen Stelle trat dagegen ein neues Singlett für 3 Protonen bei $\delta = 1,47$ ppm auf, das wir einer Orthoessigsäureester-Gruppierung zuschreiben (vgl. auch Fig. 5). Das Produkt besitzt demnach die Konstitutionsformel XLVI. In Übereinstimmung damit gibt die Verbindung bei der energischen sauren Hydrolyse 1 Mol Essigsäure, die als *p*-Bromphenacylester nachgewiesen wurde. Mit Essigsäureanhydrid in Pyridin wurde ein Triacetylderivat (XLVII) erhalten, das im NMR.-Spektrum neben den drei normalen

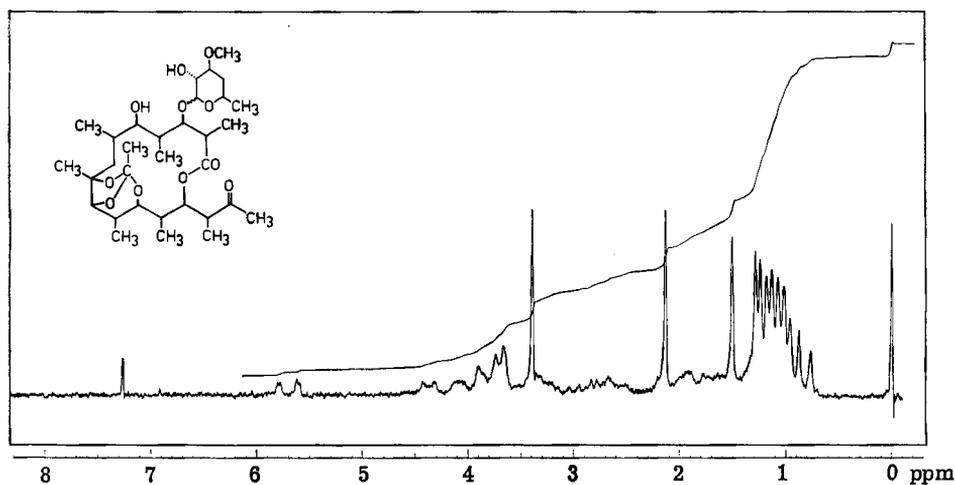
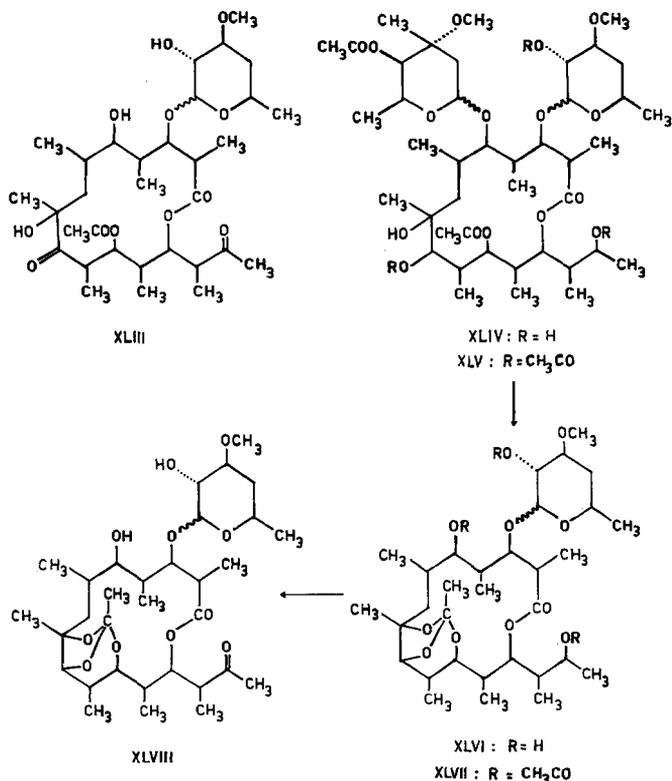


Fig. 5. NMR.-Spektrum des Orthoacetats XLVIII (in CDCl_3)

Acetylsignalen bei $\delta = 2,03$, $2,08$ und $2,13$ ppm wiederum das Orthoacetat-Singlett bei $\delta = 1,55$ ppm zeigte. Das IR.-Absorptionsspektrum besass im $\nu(\text{OH})$ -Gebiet keine Absorptionsbande, was beweist, dass die ursprüngliche tertiäre Hydroxylgruppe an C-8 Bestandteil der Orthoester-Gruppierung geworden ist. Schliesslich konnten wir noch zeigen, dass das Sauerstoffatom an C-15 noch immer als freies Hydroxyl vorliegt. Die Verbindung XLVI liess sich mit Chromsäure in der üblichen Weise zum Keton XLVIII oxydieren, dessen Methylketon-Gruppierung durch ein NMR.-Singlett (Fig. 5) bei $\delta = 2,13$ ppm bewiesen wird. Das Keton XLVIII zeigt wiederum das für die Orthoessigsäureester-Gruppierung charakteristische Signal bei $\delta = 1,51$ ppm.



Um die Orthoessigsäureester-Gruppierung in unserer Verbindungsreihe zu erhärten, haben wir das NMR.-Spektrum von Orthoessigsäure-triäthylester aufgenommen. Es besitzt das Signal der Methylgruppe bei $\delta = 1,33$ ppm, also in derselben Gegend wie unsere Lankamycinderivate.

Orthoessigsäureester sind von BARTON und Mitarb. [9] unter ähnlichen Bedingungen in der Cevin-Reihe erhalten worden. Die von diesen Forschern aufgefundenen charakteristischen IR.-Absorptionsbanden der Orthoacetat-Gruppierungen bei ca. 1400 cm^{-1} sind auch in den Spektren der Lankamycinderivate XLVI, XLVII und XLVIII vorhanden.

Eine solche Orthoacetatgruppe ist natürlich nur möglich, wenn die 3 an ihr beteiligten Sauerstoffatome in günstiger Stellung zueinander stehen. Mit einer Acetyl-

gruppe in Stellung 13 des Lankamycingerüsts wäre die Bildung eines Orthoesters kaum denkbar. Diese muss daher an C-11 stehen, wodurch für das Ringsauerstoffatom nur noch C-13 übrig bleibt. Die Konstitution I für das Lankamycin ist demnach bewiesen.

Für mehrere Makrolid-Antibiotica ist experimentell gezeigt worden, dass der Lactonring biogenetisch durch Verknüpfung mehrerer Propionat- und unter Umständen Acetat-Einheiten – analog der biologischen Fettsäuresynthese aus Acetateinheiten – aufgebaut wird [10] [das etwas abseits stehende Carbomycin (Magnamycin) wollen wir hier ausser Betracht lassen [11]]. Beim Methymycin [12] und Pikromycin [13] sind 5 Propionateinheiten und eine Acetateinheit am Aufbau beteiligt, das Narbomycin [14] und das Oleandomycin [15] lassen sich aus 6 Propionateinheiten und einer Acetateinheit zusammensetzen, und beim Erythromycin [7] und seinen Begleitern (Erythromycine B und C [16]) werden 7 Propionateinheiten eingebaut. Das Aglykon des Lankamycins lässt sich in 8 Grundbausteine zerlegen, 7 Propionatreste und einen Acetatrest. Neuartig ist hier, dass das Endglied der Kette nicht mehr am Lactonring beteiligt ist, sondern gewissermassen als zusätzliches Anhängsel angegliedert ist. Die Ringgrösse mit 14 Ringgliedern ist somit die gleiche wie beim Erythromycin, dem Oleandomycin und dem Narbomycin.

Der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, danken wir für die Herstellung des Lankamycins.

Experimenteller Teil

Allgemeines. – Die UV.-Absorptionsspektren wurden auf einem BECKMAN-Spektrographen, Modell DK 1, die IR.-Absorptionsspektren auf einem PERKIN-ELMER-Spektrographen, Modell 21, aufgenommen. Für die Aufnahme der NMR.-Spektren wurde ein VARIAN-Spektrometer, Modell A 60, verwendet. Die chemischen Verschiebungen gegen Tetramethylsilan sind in δ -Werten (TMS = 0), die Spin-Spin-Wechselwirkungen in cps. angegeben. Es bedeuten: *s* = Singlett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *q* = Quadruplett, *m* = Multiplett.

Übliche Aufarbeitung bei Metallhydrid-Reduktionen bedeutet: Die Metallkomplexe wurden durch Zufügen von gesätt. wäss. Natriumsulfatlösung zersetzt, die Lösung mit festem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingedampft.

Alle Acetylierungen wurden folgendermassen durchgeführt: Die Edukte wurden mit einem Überschuss eines Gemisches von Essigsäureanhydrid und Pyridin (Vol.-Verhältnis 1:1) über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen und die Lösungen anschliessend im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Für die Dünnschichtchromatogramme wurde Kieselgel G der Firma MERCK AG., Darmstadt, verwendet. Die Platten wurden bei 140° aktiviert und die Flecke durch Besprühen mit konz. Schwefelsäure und Erwärmung auf ca. 160° sichtbar gemacht. Präparative Chromatogramme wurden mit Kieselgel MERCK (0,2–0,05 mm) ausgeführt.

Die Smp. wurden in offenen Kapillaren bestimmt und sind nicht korrigiert.

Lankamycin und Hydrolyseprodukte. – Die neuen Analysenproben wurden nach mehrmaligem Umkristallisieren 6–8 Tage bei 80–100° im Hochvakuum getrocknet.

Lankamycin (I). Farblose Kristalle aus Äther, Smp. 146–147°, $[\alpha]_D = -94^\circ$ (*c* = 1,23 in Feinsprit). $C_{42}H_{72}O_{16}$ Ber. C 60,55 H 8,71% Gef. C 60,45 H 8,78%

Darcanolid (IV). Farblose Kristalle aus Äther, Smp. 157–159°, $[\alpha]_D = -30,3^\circ$ (*c* = 1,45 in Feinsprit). $C_{32}H_{56}O_{12}$ Ber. C 60,74 H 8,92% Gef. C 60,80 H 9,04%

Monoacetyllankolid (V). Farblose Kristalle aus Aceton-Petroläther, Smp. 172–174°, $[\alpha]_D = -27,8^\circ$ (*c* = 1,16 in Feinsprit). UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit: λ_{max} 288 μ , $\log \epsilon$ 1,54.

$C_{25}H_{44}O_9$ Ber. C 61,45 H 9,08% Gef. C 61,33 H 9,10%

Tetraacetylankolid (VI). Lange Nadeln aus Äther-Pentan, Smp. 217°. IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: $\nu(\text{OH})$ 3480 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1755, 1730, 1710 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CDCl_3 : u. a. $\delta = 0,77 - 1,35$ (Signalhaufen, 24 H; total 8 $\text{CH}_3\text{-C}$); 2,06 (s, 12 H: 4 O-Acetylgruppen).

$\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_{12}$ Ber. C 60,57 H 8,20% Gef. C 60,60 H 8,19%

Monoacetylankolid-methylcycloketal (VII). 200 mg Monoacetylankolid wurden über Nacht mit 10 ml 2-proz. methanolischer Salzsäure stehengelassen, mit festem Silbercarbonat neutralisiert und eingedampft. Der Rückstand kristallisierte aus Aceton-Hexan und lieferte in praktisch quant. Ausbeute das Methyl-cycloketal VII. Smp. 217–218°. IR.-Absorptionsspektrum in KBr: $\nu(\text{OH})$ 3440 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1720 cm^{-1} (breite Bande). NMR.-Spektrum in CDCl_3 : u. a. $\delta = 0,77 - 1,38$ (Signalhaufen, 24 H; total 8 $\text{CH}_3\text{-C}$); 2,00 (s, 3H; O-Acetylgruppe); 3,25 (s, 3H; OCH_3).

$\text{C}_{26}\text{H}_{46}\text{O}_9$ Ber. C 62,13 H 9,23% Gef. C 61,95 H 9,21%

Das Methyl-cycloketal VII liess sich durch Stehenlassen mit verd. wässriger Salzsäure quantitativ in Monoacetylankolid zurückverwandeln.

Konstitution des C_{11} -Bruchstücks. – *Reduktion des Lankamycins mit Lithiumaluminiumhydrid*. 6 g Lithiumaluminiumhydrid in 200 ml abs. Dioxan wurden auf 100° erhitzt und innerhalb von 3 Std. eine Lösung von 17 g Lankamycin in 200 ml abs. Dioxan zugetropft. Anschliessend wurde noch 30 Min. weiter erhitzt. Das abgekühlte Reaktionsgemisch wurde wie üblich aufgearbeitet und ergab ein farbloses zähes Harz. Dieses erwies sich im Dünnschichtchromatogramm (Äthylacetat-Methanol 9:1) als praktisch einheitlich. Das IR.-Absorptionsspektrum einer im Hochvakuum getrockneten Probe zeigte keine Carbonylabsorption mehr. Für die folgenden Abbauversuche wurde das rohe Reduktionsprodukt verwendet.

Oxydation des reduzierten Lankamycins mit Natriummetaperjodat: C_{27} -Bruchstück (XVIII). Das oben erhaltene rohe Reduktionsprodukt wurde unter Zugabe von wenig Methanol in 100 ml Wasser gelöst und mit 5,36 g Natriummetaperjodat in 30 ml Wasser bei Zimmertemperatur über Nacht stehengelassen. Die wässrige Lösung wurde viermal mit je 100 ml Chloroform extrahiert, die vereinigten Chloroformextrakte über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand (9,85 g) kristallisierte aus Äther-Pentan in kurzen Stäbchen, Smp. 92–93°. Die Jodoformreaktion war positiv. $[\alpha]_D^{20} = -72,4^\circ$ ($c = 1,78$ in Feinsprit). IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : $\nu(\text{OH})$ 3480 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1710 cm^{-1} .

$\text{C}_{27}\text{H}_{50}\text{O}_{10}$ Ber. C 60,65 H 9,43% Gef. C 60,70 H 9,35%

C_{11} -Aldehyd (VIII). Die wässrige Lösung nach der Extraktion des C_{27} -Bruchstücks wurde während 6 Tagen kontinuierlich mit Äther extrahiert und der Extrakt durch mehrmaliges Eindampfen mit Benzol getrocknet. Der zähe farblose Rückstand (3,8 g) wurde an 50 g Kieselgel chromatographiert. Benzol-Äthylacetat (270 ml) im Verhältnis 1:1 eluierten zuerst 1,01 g Nebenprodukte. Äthylacetat (600 ml) ergab 2,43 g eines dünn-schichtchromatographisch einheitlichen Produktes, das aus Aceton kristallisierte und durch Sublimation im Hochvakuum gereinigt wurde. Smp. 149–150°; $[\alpha]_D^{20} = +74,0^\circ$ ($c = 1,68$ in Feinsprit). IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: $\nu(\text{OH})$ 3320 cm^{-1} ; keine Carbonylabsorption. NMR.-Spektrum in D_2O : u. a. $\delta = 0,84 - 1,01$ (4 d, 12 H, $J = 7$; 4 $\text{CH}_3\text{-C}$).

$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_4$ Ber. C 60,52 H 10,16% Gef. C 60,54 H 10,21%

Triacetat des C_{11} -Aldehyds (IX). 300 mg des C_{11} -Aldehyds wurden in der üblichen Weise acetyliert und lieferten in quantitativer Ausbeute ein farbloses Öl, das bei 0,05 Torr bei einer Blocktemperatur von 120° destillierte.

$\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_7$ Ber. C 59,28 H 8,19% Gef. C 59,44 H 8,13%

IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : $\nu(\text{CO})$ 1745 und 1735 cm^{-1} ; keine Absorption im $\nu(\text{OH})$ -Gebiet. – NMR.-Spektrum in CDCl_3 : $\delta = 0,88$ (d, $J = 6,5$; 3 H); 0,99 (d, $J = 6,5$; 3 H); 1,02 (d, $J = 6,5$; 3 H); 1,08 (d, $J = 6,5$; 3 H; total 4 $\text{CH}_3\text{-CH}$ -Gruppen); 2,01 (s, 3 H); 2,08 (s, 3 H); 2,12 (s, 3 H) (total 3 O-Acetylgruppen); 3,20 (Doppel-d, $J = 9,5$; 1 H an C-5); 4,82 (m, 2 H an C-3 und C-7); 5,25 (d, $J = 9,5$; 1 H an C-1). Die Signale der drei Protonen an C-2, C-4 und C-6 finden sich, teilweise überdeckt von den Acetylsingletten, im Bereich von $\delta = 1,9 - 2,3$ als nicht aufgelöster Signalhaufen.

C_{11} -Lacton (X). 600 mg des C_{11} -Aldehyds wurden in 6 ml Wasser gelöst und mit 50 ml Bromwasser (0,09M) bei Zimmertemperatur über Nacht stehengelassen. Der Überschuss an Brom

wurde im Vakuum entfernt und die Lösung mit festem Silbercarbonat neutralisiert. Der Niederschlag wurde über Celit abfiltriert und die Lösung im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde an 40 g Kieselgel chromatographiert. Benzol-Äthylacetat (1:1) eluierten zuerst 77 mg Nebenprodukte. Mit dem gleichen Elutionsmittel wurde 400 mg reines Produkt erhalten, das aus Äther in langen Nadeln kristallisierte: Smp. 94°. Zur Analyse wurde eine Probe im Hochvakuum sublimiert. $[\alpha]_D = +99,9^\circ$ ($c = 1,52$ in Feinsprit).

$C_{11}H_{20}O_4$ Ber. C 61,09 H 9,32% Gef. C 61,16 H 9,43%

IR.-Absorptionsspektrum in $CHCl_3$: $\nu(OH)$ 3625, 3450 cm^{-1} ; $\nu(CO)$ 1725 cm^{-1} . – NMR.-Spektrum in $CDCl_3$: $\delta = 0,95$ – $1,44$ (4 d , 12 H; 4 CH_3 -CH-Gruppen); 4,13 (Doppel- d , $J = 7,5$; 1 H an C-13). Die Signale von weiteren 7 Protonen sind in mehreren schlecht aufgelösten Haufen zwischen $\delta = 1,5$ und 4,0 angeordnet.

Diacetat des C_{11} -Lactons (XI). Das in der üblichen Weise hergestellte Diacetat wurde im Block bei 100°/0,03 Torr destilliert und erstarrte kristallin: Smp. 94–95°.

$C_{15}H_{24}O_6$ Ber. C 59,98 H 8,05% Gef. C 59,90 H 8,00%

IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : $\nu(CO)$ 1740 cm^{-1} ; keine $\nu(OH)$ -Absorption. – NMR.-Spektrum in $CDCl_3$: $\delta = 0,8$ – $1,2$ (4 d , 12 H; 4 CH_3 -CH-Gruppen); 2,00 und 2,07 (2 s für die beiden O-Acetylgruppen); 2,0–2,8 (m , 3 H an C-2, C-4 und C-6); 3,92 (Doppel- d , 1 H an C-5); 4,6–5,1 (m , 2 H an C-3 und C-7).

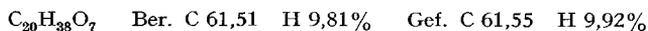
Ketolacton XII. 217 mg C_{11} -Lacton, gelöst in 10 ml Aceton, wurden bei -10° mit 0,35 ml einer 7N Chrom(VI)-oxid-Lösung in 30-proz. Schwefelsäure versetzt. Nach 3 Min. wurden 150 ml Benzol zugegeben, der Benzolauszug über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand zeigte im Dünnschichtchromatogramm (Chloroform-Äthylacetat 1:1) neben unverändertem Ausgangsmaterial (Rf 0,16) einen neuen Fleck mit Rf 0,42. Durch Chromatographie an 20 g Kieselgel mit Chloroform-Äthylacetat 95:5 wurden 85 mg eines farblosen Öls erhalten. Sdp. 110°/0,02 Torr. IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : $\nu(OH)$ 3500 cm^{-1} ; $\nu(CO)$ 1735, 1712 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in $CDCl_3$: s. Fig. 1.

Alkalische Spaltung des Ketolactons XII. 75 mg Ketolacton XII wurden mit 10 ml 1N Natronlauge auf 60° erwärmt. Durch die Lösung wurde ein Stickstoffstrom geleitet, der in einer Vorlage von 50 ml einer gesättigten Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 1N Salzsäure aufgefangen wurde. Nach 1 Std. wurde der ausgefallene Niederschlag abgetrennt (60 mg). Das Dünnschichtchromatogramm zeigt einen schneller wandernden Fleck und zwei ganz nahe beieinander liegende Flecke mit kleinerem Rf-Wert. Die Dünnschichtplatten wurden durch Besprühen mit N,N-Dimethylformamid imprägniert und als Fließmittel Decalin verwendet. Das Derivatengemisch wurde an 40 g Kieselgel mit Petroläther/Propionsäure-äthylester 3:1 chromatographiert. Das schneller laufende Produkt konnte leicht abgetrennt werden. Nach Smp. (158–159°), Misch-Smp., IR.-Absorptionsspektrum und chromatographischem Verhalten erwies es sich als identisch mit einem Vergleichspräparat aus 2-Methylpenten-(2)-al (XV). Die beiden andern Produkte konnten nicht quantitativ voneinander getrennt werden. Durch Kristallisation einer stark angereicherten Fraktion wurde ein Produkt mit Smp. 115° erhalten, das nach Misch-Smp., IR.-Absorptionsspektrum und Dünnschichtchromatographie identisch war mit Methyläthylketon-2,4-dinitrophenylhydrazon. Das dritte Produkt wurde durch Dünnschichtchromatographie als Propionaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon identifiziert.

Alkalische Spaltung des C_{11} -Aldehyds. 200 mg des C_{11} -Aldehyds wurden in 2 ml Methanol gelöst und mit 20 ml 1N Natronlauge auf 90° erwärmt. Durch die Lösung wurde ein Stickstoffstrom in eine Vorlage von 200 ml einer gesättigten 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung in 1N Schwefelsäure geleitet. Innert 5 Min. begann ein Niederschlag auszufallen, der nach 4 Std. abgetrennt wurde (350 mg). Das Dünnschichtchromatogramm (Hexan-Benzol 1:1) zeigt vier Flecke. Das Derivatengemisch wurde an der hundertfachen Menge Kieselgel mit Benzol chromatographiert. Die beiden langsamer laufenden Produkte konnten leicht voneinander getrennt werden. Die beiden andern Produkte konnten erst durch mehrmaliges Chromatographieren angereicherter Fraktionen rein erhalten werden. Die vier Spaltprodukte erwiesen sich nach Analyse, IR.-Absorptionsspektrum, Smp., Misch-Smp. und nach ihrem dünnschichtchromatographischen Verhalten als identisch mit Vergleichsderivaten aus Acetaldehyd (Rf 0,53), Propionaldehyd (Rf 0,65), 2-Methylbuten-(2)-al (Rf 0,80) und 2-Methylpenten-(2)-al (Rf 0,85).

Die gleichen flüchtigen Spaltprodukte lieferte die alkalische Hydrolyse von Lankamycin, Darcanolid und Monoacetylankolid.

Konstitution des C_{12} -Bruchstücks. – *Methyl-cycloketal XIX*. 9,8 g der C_{27} -Verbindung XVIII wurden mit 2,3-proz. methanolischer Salzsäure bei Zimmertemperatur über Nacht stehengelassen. Die klare Lösung wurde mit festem Silbercarbonat neutralisiert, über Celit filtriert und im Vakuum eingedampft. Der zähflüssige Rückstand zeigte im Dünnschichtchromatogramm (Äthylacetat) drei Flecke mit den Rf-Werten 0,21, 0,50 und 0,69. Das Gemisch wurde an 100 g Kieselgel chromatographiert, Benzol-Äthylacetat (4:1; 600 ml) eluierten 2,8 g öliges Methylarcanosid (Rf 0,69). Durch steigende Mengen Äthylacetat wurden die beiden andern Produkte herausgewaschen, doch waren die einzelnen Fraktionen Gemische der beiden Verbindungen. Durch Kristallisation aus Pentan wurde aus diesen Mischfraktionen das Produkt mit Rf 0,50 in kurzen farblosen Stäbchen erhalten (1,9 g). Smp. 122–123°, $[\alpha]_D = +27,5^\circ$ ($c = 1,34$ in Feinsprit). IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : keine Absorption im 6- μ -Gebiet. $\nu(OH)$ 3450 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in $CDCl_3$: u. a. $\delta = 0,79$ – $1,25$ (5 CH_3 -C); 3,22 und 3,41 (2 OCH_3)

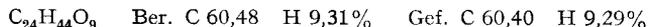


Thermoelektrische Molekulargewichtsbestimmung in Äthylacetat: Ber. 390 Gef. 389.

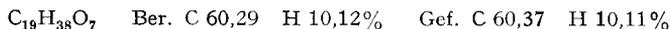
Die Mutterlaugen (5,3 g) mit den beiden Produkten Rf 0,50 und Rf 0,21 wurden in 20 ml Dioxan gelöst und mit 30 ml verd. Salzsäure (1 ml konz. Salzsäure/100 ml Wasser) über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach Neutralisation mit festem Silbercarbonat und Eindampfen der Lösung wurde ein zähflüssiges Öl erhalten, das im Dünnschichtchromatogramm nur noch den einen Fleck mit Rf 0,21 zeigte. Es gelang nicht, dieses Produkt kristallin zu erhalten. Eine im Hochvakuum getrocknete Probe zeigte im IR.-Absorptionsspektrum eine Carbonylbande bei 1710 cm^{-1} . Es handelt sich bei dieser Verbindung um das *Keton XXI*.

Behandelte man dieses Keton mit methanolischer Salzsäure, so zeigte das Dünnschichtchromatogramm wieder zwei Flecke mit Rf 0,21 und Rf 0,50. Durch Kristallisation aus Pentan wurde die C_{20} -Verbindung erhalten. Durch Stehenlassen mit wässriger verd. Salzsäure wird die C_{20} -Verbindung XIX quantitativ zum Keton XXI hydrolysiert.

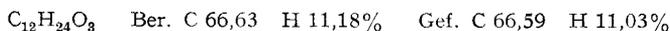
Diacetat des Methyl-cycloketals (XX). Lange Nadeln aus Pentan, Smp. 119–120°. IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : keine $\nu(OH)$ -Absorption; $\nu(CO)$ 1750 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in $CDCl_3$: s. Fig. 2.



C_{20} -Tetrol (XXII). 3 g Lithiumaluminiumhydrid in 100 ml abs. Dioxan wurden auf 100° erhitzt und 5,3 g des Ketons XXI in 150 ml abs. Dioxan langsam zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde noch 30 Min. weiter erhitzt und das erkaltete Reaktionsgemisch wie üblich aufgearbeitet. Das Dünnschichtchromatogramm (Äthylacetat-Methanol 95:5) des Reduktionsproduktes zeigte neben rascher wandernden Nebenprodukten einen Fleck mit Rf 0,14. Das Rohprodukt wurde an 50 g Kieselgel mit Äthylacetat chromatographiert (50 ml Fraktionen). Die Fraktionen 1–5 enthielten 783 mg Nebenprodukte. Die Fraktionen 6–14 lieferten das Produkt mit Rf 0,14 (3,11 g), das bei 160°/0,03 Torr als farbloses Harz destillierte. IR.-Absorptionsspektrum in $CHCl_3$: starke Bande bei 3460 cm^{-1} ; keine Absorption im 6- μ -Gebiet.



Tetrol $C_{12}H_{26}O_4$ (XXIII) und Diol $C_{12}H_{24}O_3$ (XXV). 1,1 g des C_{20} -Tetrols (XXII) wurden mit 20 ml 1N Schwefelsäure zuerst 2 Std. auf 75° und anschliessend 15 Min. auf 85° erwärmt. Die klare, farblose Lösung wurde noch heiss mit festem Bariumcarbonat neutralisiert, der Niederschlag über Celit abfiltriert und die Lösung im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand zeigte im Dünnschichtchromatogramm (Äthylacetat) drei Flecke mit den Rf-Werten 0,64, 0,25 und 0,14. Das Gemisch wurde an 50 g Kieselgel mit Äthylacetat chromatographiert (50 ml Fraktionen). Die Fraktionen 3 und 4 lieferten 158 mg des *Diols XXV*, Rf 0,64, das aus Äther-Pentan in langen Nadeln kristallisierte. Smp. 89°; $[\alpha]_D = +37,4^\circ$ ($c = 1,79$ in Feinsprit). IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : starke Bande bei 3460 cm^{-1} ; das 6- μ -Gebiet ist leer. NMR.-Spektrum in $CDCl_3$: Dublette der 4 CH_3 -C-Gruppen ($J = 6$ – 7) bei $\delta = 0,93$; 0,99 (2mal) und 1,20.



Die Fraktionen 6 bis 14 ergaben 274 mg *Lankavose*. Das dritte Produkt mit Rf 0,14 wurde mit Äthylacetat-Methanol 95:5 aus der Säule eluiert (323 mg). Es destillierte bei 130°/0,03 Torr

als farbloses Harz (*Tetrol XXIII*). IR.-Absorptionsspektrum in CHCl_3 : $\nu(\text{OH})$ 3360 cm^{-1} ; keine Carbonylabsorption.

$\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{O}_4$ Ber. C 61,50 H 11,18% Gef. C 61,56 H 11,22%

Wurde die saure Hydrolyse des Tetrols XXII bei sonst gleichen Bedingungen, aber einer Temperatur von 95° durchgeführt, so wurden aus einem Ansatz von 2,8 g des C_{20} -Tetrols die drei Produkte in folgenden Mengen isoliert: 1,13 g XXV 0,843 g Lankavose und 0,255 g XXIII.

147 mg des Tetrols XXIII wurden mit 300 mg Natriummetaperjodat in 10 ml Wasser über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen und die Lösung anschliessend kontinuierlich mit Äther extrahiert. Das Ausgangsmaterial wurde in quantitativer Ausbeute zurückerhalten (identisch nach Dünnschichtchromatogramm und IR.-Absorptionsspektrum).

Tetraacetat des C_{12} -Tetrols (XXIV). Das wie üblich acetylierte Tetrol lieferte in quant. Ausbeute ein Tetraacetat, das bei $125^\circ/0,04$ Torr als farbloses Öl destillierte. IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : keine $\nu(\text{OH})$ -Absorption; starke Banden bei 1735 und 1235 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CCl_4 : u. a. $\delta = 0,78\text{--}1,23$ (4 d mit $J = 6,5$ cps.; 4 $\text{CH}_3\text{--CH}$); 1,96 (s, 3 H); 2,00 (s, 3 H); 2,03 (s, 3 H), 2,06 (s, 3 H) (total 4 O-Acetylgruppen).

$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_8$ Ber. C 59,68 H 8,52% Gef. C 59,56 H 8,44%

Diacetat des C_{12} -Diols (XXVI). Farbloses Öl, das bei $75^\circ/0,02$ Torr destilliert. IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : im $\nu(\text{OH})$ -Gebiet leer; starke Banden bei 1735 und 1235 cm^{-1} .

$\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_5$ Ber. C 63,97 H 9,40% Gef. C 63,90 H 9,46%

Acetonid des C_{12} -Diols (XXX). 50 mg des Diols XXV wurden mit 10 ml absolutem Aceton und 500 mg wasserfreiem Kupfersulfat bei Zimmertemperatur über Nacht stehengelassen. Die Lösung wurde filtriert, eingedampft und lieferte bei der Destillation bei $60^\circ/0,07$ Torr ein farbloses Öl, das kristallin erstarrte. Smp. $42\text{--}43^\circ$. IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : das $\nu(\text{OH})$ -Gebiet ist leer. NMR.-Spektrum in CCl_4 : u. a. $\delta = 0,79\text{--}1,38$ (6 $\text{CH}_3\text{--C}$; davon 2 als Singlette bei $\delta = 1,28$ und 1,38).

$\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_3$ Ber. C 70,27 H 11,01% Gef. C 69,99 H 11,09%

Hydroxyketon XXVII. 217 mg des Diols XXV wurden in 20 ml Aceton gelöst, bei -10° 0,3 ml 7N Chrom(VI)-oxid-Lösung in 30-proz. Schwefelsäure zuge tropft und anschliessend mit 200 ml Benzol aufgearbeitet. Der Benzolauszug wurde mit Natriumsulfat getrocknet und lieferte nach dem Eindampfen ein Öl, das im Dünnschichtchromatogramm (Benzol-Äthylacetat 9:1) zwei Flecke mit R_f 0,64 und 0,27 zeigte. Die beiden Produkte wurden durch Chromatographie an 20 g Kieselgel mit Benzol-Äthylacetat 8:2 voneinander getrennt (50 ml Fraktionen). Die Fraktion 2 lieferte 85 mg des Acetonids XXX, die Fraktionen 4, 5 und 6 enthielten 62 mg des reinen Hydroxyketons XXVII, das bei $70^\circ/0,02$ Torr als farbloses Öl destillierte.

IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : $\nu(\text{OH})$ 3450 cm^{-1} ; $\nu(\text{C=O})$ 1705 cm^{-1} – NMR.-Spektrum in CCl_4 : $\delta = 1,03$ (d , $J = 6$ cps); 1,06 (d , $J = 6,5$ cps); 1,06 (d , $J = 6,5$ cps); 1,16 (d , $J = 6,5$ cps) (Methylgruppen an C-2, C-4, C-6, C-8); 1,35–1,71 (g , 2 H an C-7); 1,95–2,05 (m , H an C-6); 2,67–3,21 (m , H an C-2, C-4 und Hydroxylwasserstoff); 3,43–4,18 (m , H an C-1, C-5 und C-8).

$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_3$ Ber. C 67,25 H 10,35% Gef. C 66,99 H 10,44%

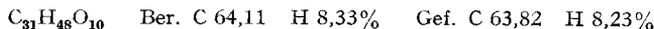
Keto-methylester XXIX. 113 mg des Diols XXV in 20 ml Aceton wurden bei Zimmertemperatur mit 0,6 ml 7N Chrom(VI)-oxid-Lösung in 30-proz. Schwefelsäure versetzt und anschliessend mit Benzol ausgeschüttelt. Der Benzolextrakt wurde nach dem Trocknen und Eindampfen mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Der Methylester wurde an 15 g Kieselgel mit Benzol-Äthylacetat 9:1 chromatographiert und lieferte 62 mg eines dünn-schichtchromatographisch einheitlichen Produktes mit R_f 0,69. Farbloses Öl, Sdp. $60^\circ/0,04$ Torr. IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : starke Banden bei 1745 und 1712 cm^{-1} ; das $\nu(\text{OH})$ -Gebiet ist leer. NMR.-Spektrum in CCl_4 : u. a. $\delta = 0,95\text{--}1,33$ (4 d , 12 H; 4 $\text{CH}_3\text{--CH}$); 3,69 (s, 3 H; OCH_3).

$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_4$ Ber. C 64,44 H 9,15% Gef. C 64,77 H 8,90%

Phenylcarbinol XXXI und Triacetat XXXII. 600 mg Magnesium in 10 ml abs. Äther wurden mit Jod angeätzt und langsam 3,9 g Brombenzol in 20 ml abs. Äther zuge tropft. Zur GRIGNARD-Verbindung wurden 660 mg des Ketons XXI in 20 ml abs. Äther gegeben und das Gemisch 2 Std. unter Rückfluss erhitzt. Durch Zugabe einer gesättigten Ammoniumchloridlösung wurde das Reaktionsgemisch zersetzt. Die ätherische Schicht wurde abgetrennt, über Natriumsulfat ge-

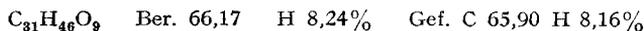
trocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde an 35 g Kieselgel mit Äthylacetat chromatographiert (50 ml Fraktionen). Die Fraktionen 1 und 2 enthielten das überschüssige Brombenzol. Die Fraktionen 5 bis 10 lieferten 610 mg eines einheitlichen Produktes mit etwas grösserem Rf-Wert als das Ausgangsmaterial.

Dieses *Tetrol XXXI* wurde in der üblichen Weise acetyliert und lieferte ein *Triacetylderivat XXXII*, das als zähes farbloses Harz bei 185°/0,02 Torr destillierte.



IR.-Absorptionsspektrum in CHCl_3 : $\nu(\text{OH})$ 3400 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1730 cm^{-1} . UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit: λ_{max} 215 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon$ 3,29); 255 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon$ 2,60). – NMR.-Spektrum in CCl_4 : u. a. $\delta = 2,02$ (s, 3 H); 2,05 (s, 3 H); 2,12 (s, 3 H) (insgesamt 3 O-Acetylgruppen); 3,32 (s, 3 H; OCH_3); 7,0–7,6 (Signalhaufen, 5 aromatische Protonen).

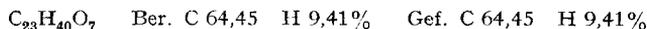
Styrol XXXIII. 190 mg des Triacetates XXXII wurden in 30 ml Benzol gelöst und mit 24 mg Jod 2 Std. auf 65–70° erhitzt. Das Jod wurde mit 10 ml einer 0,1N Natriumthiosulfatlösung ausgeschüttelt, die benzolische Lösung über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das Dünnschichtchromatogramm (Chloroform-Äthylacetat 1:1) des Rückstands zeigt neben einer Spur Ausgangsmaterial einen neuen Fleck mit Rf 0,75. Durch Chromatographie an 30 g Kieselgel wurden mit Benzol-Äthylacetat 7:3 130 mg Kristalle erhalten und aus Hexan umkristallisiert: Smp. 105–106°. $[\alpha]_{\text{D}} = -68,7^\circ$ ($c = 1,23$ in Feinsprit). IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: keine Absorption im $\nu(\text{OH})$ -Gebiet; $\nu(\text{CO})$ 1730 cm^{-1} . UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit: λ_{max} 247 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon$ 4,18). NMR.-Spektrum in CDCl_3 : s. Fig. 3.



Alkalische Hydrolyse des Darcanolids. – C_{31} -Methylester (XXXIV) und C_{23} -Methylester (XL). 2 g Darcanolid wurden in 20 ml Methanol gelöst und mit 50 ml 1N Natronlauge unter Stickstoff 2 Std. auf 90° erhitzt. Die leicht gelbliche wässrige Lösung wurde mit verd. Schwefelsäure angesäuert und 24 Std. kontinuierlich mit Äther extrahiert. Der getrocknete Ätherextrakt wurde mit überschüssigem Diazomethan versetzt und lieferte nach dem Eindampfen einen zähflüssigen Rückstand, der im Dünnschichtchromatogramm (Chloroform-Äthylacetat 1:1) zwei Flecke mit den Rf-Werten 0,45 und 0,20 zeigte. Das Gemisch der beiden Methylester wurde an 50 g Kieselgel chromatographiert. Benzol-Äthylacetat 1:1 (350 ml) eluierten 993 mg des Esters mit Rf 0,45 (XXXIV); Benzol-Äthylacetat 3:7 (350 ml) ergaben 355 mg des Esters mit Rf 0,20 (XL). Die beiden Ester sind äusserst zähe farblose Harze. Befriedigende Analysenwerte konnten nicht erhalten werden. Die NMR.-Spektren der beiden Ester in CDCl_3 zeigen übereinstimmend die Anwesenheit zweier Methoxygruppen durch Singlette bei $\delta = 3,42$ und $\delta = 3,68$.

C_{23} -Lactone XXXV und XXXVII. 1,8 g des Methylesters XXXIV wurden in wenig Methanol gelöst und mit 40 ml 1N Schwefelsäure 2 Std. auf 95–100° erhitzt. Die heisse Lösung wurde mit festem Bariumcarbonat neutralisiert, abfiltriert und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand zeigt im Dünnschichtchromatogramm (Benzol-Äthylacetat 3:7) drei Hauptflecke mit den Rf-Werten 0,54, 0,26 und 0,13. Das Gemisch wurde an 40 g Kieselgel aufgetrennt. Benzol-Äthylacetat 7:3 eluierten 350 mg des Produktes mit Rf 0,54 (XXXVII), das aus Äther-Pentan in kleinen Rosetten kristallisierte: Smp. 80–81°. Es konnte von dieser Verbindung keine befriedigende Analyse erhalten werden, da das Präparat auch nach einwöchigem Trocknen bei erhöhter Temperatur noch hartnäckig Lösungsmittel zurückhielt. Das NMR.-Spektrum zeigte u. a. Signale bei $\delta = 3,32$ –3,67, die dem zurückgehaltenen Diäthyläther zuzuordnen sind. IR.-Absorptionsspektrum in CHCl_3 : $\nu(\text{OH})$ 3500 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1740 und 1708 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CDCl_3 : u. a. $\delta = 1,88$ (d, $J = 1$ cps, 3 H; $\text{CH}_3\text{-C}=\text{CH-}$), 6,72 (d, $J = 7$ cps; die beiden Äste des Dubletts sind weiter aufgespalten mit $J = 1$ cps; $\text{CH}_3\text{-C}=\text{CH-}$). UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit: λ_{max} 213 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon$ 3,88).

Benzol-Äthylacetat 1:1 ergaben 630 mg der Verbindung XXXV Rf 0,26, die aus Aceton-Äther-Pentan in feinen Nadelchen kristallisierte. Smp. 157–158°; $[\alpha]_{\text{D}} = -51,8^\circ$ ($c = 1,19$ in Feinsprit). IR.-Absorptionsspektrum in CHCl_3 : $\nu(\text{OH})$ 3500 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1740 und 1708 cm^{-1} .



Zum Schluss wurde die Säure mit Äthylacetat ausgewaschen und lieferte 420 mg *Lankavose* (Rf 0,13).

Wenn die Verbindung XXXV unter den gleichen Bedingungen wie oben nochmals mit Schwefelsäure erwärmt wurde, so zeigte das Dünnschichtchromatogramm neben dem Ausgangsmaterial einen neuen Fleck, der mit demjenigen der *Verbindung XXXVII* übereinstimmte.

Diacetat XXXVI. Aus Äther-Pentan feine Nadelchen, Smp. 158–159°. IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : $\nu(\text{OH})$ 3560 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1750, 1710 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CCl_4 : u. a. $\delta = 2,12$ (s, 6 H; 2 O-Acetylgruppen).

$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_9$ Ber. C 63,26 H 8,65% Gef. C 62,99 H 8,64%

Monoacetat XXXVIII. Aus Äther-Hexan Nadeln, Smp. 135–136°. IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : $\nu(\text{OH})$ 3540 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1735 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CCl_4 : s. Fig. 4.

$\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_7$ Ber. C 66,34 H 8,91% Gef. C 66,39 H 8,62%

Lage der Keto-Gruppe. – *Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion des Methylesters XL*. 2 g Lithiumaluminiumhydrid in 100 ml abs. Dioxan wurden auf 100° erhitzt und innerhalb 30 Min. 2,18 g des Methylesters XL in 20 ml abs. Dioxan zugegeben. Das Reduktionsgemisch wurde wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt wurde an 35 g Kieselgel mit Äthylacetat-Methanol 98:2 chromatographiert und ergab 1,45 g eines dünn-schichtchromatographisch einheitlichen Produktes.

Oxydation mit Natriummetaperjodat: Propionaldehyd und Methylketon XXI. 1,45 g des obigen Reduktionsproduktes wurden in 20 ml Wasser gelöst, mit 500 mg Natriummetaperjodat versetzt und 12 Std. verschlossen stehengelassen. Durch die Lösung wurde ein Stickstoffstrom in eine Vorlage mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 1N Schwefelsäure geleitet. Der ausgefallene Niederschlag wurde aus Äthanol umkristallisiert und erwies sich in jeder Beziehung als identisch mit einem Vergleichsderivat aus Propionaldehyd. Die wässrige Lösung der Perjodatoxydation wurde 24 Std. kontinuierlich mit Äther extrahiert. Der im Hochvakuum getrocknete Ätherextrakt erwies sich nach Dünnschichtchromatographie als identisch mit dem Methylketon XXI. Zur weiteren Identifizierung wurde dieses mit methanolischer Salzsäure in das Methyl-cycloketal XIX übergeführt (Vergleich nach Kristallisation aus Pentan, durch Smp. und Misch-Smp.).

Stellung der 4-O-Acetyl-arcanose. – 500 mg der C_{27} -Verbindung (XVIII) wurden wie üblich acetyliert und lieferten ein dünn-schichtchromatographisch einheitliches, aber nicht kristallines Produkt. Dieses wurde mit 10 ml 2-proz. methanolischer Salzsäure über Nacht stehengelassen und mit Silbercarbonat aufgearbeitet. Das Hydrolyseprodukt zeigte im Dünnschichtchromatogramm Benzol-Äthylacetat 7:3 drei Flecke mit den Rf-Werten 0,57, 0,46 und 0,14. Das Gemisch wurde an 25 g Kieselgel aufgetrennt. Benzol-Äthylacetat 9:1 eluierten 85 mg 4-O-Acetyl-methyl-arcanosid. Benzol-Äthylacetat 7:3 ergaben 121 mg Kristalle, Smp. 119–120°. Diese waren identisch mit dem *Diacetat des Methyl-cycloketals (XX)*.

Mit Äthylacetat erhielt man 142 mg eines kristallinen Produktes vom Smp. 136–137° (aus Äther-Hexan) (XLII).

$\text{C}_{22}\text{H}_{40}\text{O}_8$ Ber. C 61,09 H 9,32% Gef. C 61,08 H 9,06%

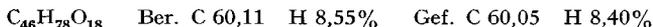
IR.-Absorptionsspektrum in CCl_4 : $\nu(\text{OH})$ 3500 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1750 cm^{-1} . – NMR.-Spektrum in CDCl_3 : u. a. $\delta = 2,13$ (s, 3 H; eine O-Acetylgruppe; $\delta = 3,25$ und $3,32$ (s, je 3 H; 2 OCH_3); $\delta = 4,35$ (d, $J = 8$; 1 H an C-1'); $\delta = 4,76$ (Doppel-d, $J_{2,1'} = 8$, $J_{2,3'} = 9$; 1 H an C-2').

Lage der Acetoxygruppe und des Ringsauerstoffs der Lactongruppe. – *Dehydro-darcanolid (XLIII)*. 312 mg Darcanolid wurden in 10 ml Aceton gelöst und bei 0° rasch 0,25 ml einer 7N Chrom(VI)-oxid-Lösung in 30-proz. Schwefelsäure zugegeben. Nach 5 Min. wurde mit 150 ml Benzol ausgeschüttelt, der Benzolextrakt über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand zeigt im Dünnschichtchromatogramm (Benzol-Äthylacetat 1:1) kein Ausgangsmaterial mehr, dafür aber einen neuen Fleck mit Rf 0,33 (Darcanolid: Rf 0,17). Das Oxydationsprodukt wurde über eine kurze Kieselgel-Säule filtriert und kristallisierte aus Äther in langen Nadeln, Smp. 184–185°. IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: $\nu(\text{OH})$ 3420, 3300 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1755, 1735, 1710 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CDCl_3 : u. a. $\delta = 0,95$ – $1,33$ (Signalhaufen, 24 H; 8 CH_2C); 2,15 (s, 3 H), 2,18 (s, 3 H) (eine O-Acetylgruppe und eine Methylketongruppe); 3,41 (s, 3 H; OCH_3). $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{O}_{12}$ Ber. C 60,93 H 8,63% Gef. C 61,05 H 8,53%

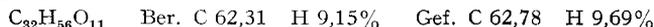
Dihydrolankamycin (XLIV). 1 g Lankamycin wurde in 5 ml Methanol gelöst, eine eisgekühlte Lösung von 300 mg Natriumborhydrid in 5 ml Wasser rasch zugegeben und anschließend eine Stunde gerührt. Das Reduktionsgemisch wurde mit 10 ml 0,1N Natronlauge alkalisch gemacht,

mit 30 ml Wasser verdünnt und dreimal mit je 50 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroform-extrakte lieferten nach Trocknen über Natriumsulfat und Eindampfen ein sprödes Harz, das zu einem farblosen amorphen Pulver zerrieben werden konnte. Im Dünnschichtchromatogramm (Benzol-Äthylacetat 1:1) zeigte das Reduktionsprodukt einen einzigen Fleck mit Rf 0,25 (Lankamycin: Rf 0,33). NMR.-Spektrum in CDCl_3 : u. a. $\delta = 2,13$ (s, 6 H; 2 O-Acetylgruppen).

Di-O-acetyl-dihydrolankamycin (XLV). Kleine quadratische Plättchen aus Äther, Smp. 182–183°. IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: $\nu(\text{OH})$ 3540 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1745, 1725 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CDCl_3 : u. a. $\delta = 2,02$ (s, 3 H), 2,05 (s, 3 H), 2,13 (s, 6 H) (total 4 O-Acetylgruppen).

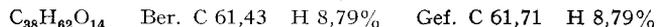


Orthoacetat XLVI. 900 mg Dihydrolankamycin wurden mit 10 ml 2-proz. methanolischer Salzsäure bei Zimmertemperatur über Nacht stehengelassen. Die Lösung wurde mit festem Silbercarbonat neutralisiert, abfiltriert und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand zeigte im Dünnschichtchromatogramm (Benzol-Äthylacetat 1:1) zwei Flecke mit den Rf-Werten 0,47 und 0,72 und wurde an 40 g Kieselgel chromatographiert. Benzol-Äthylacetat 8:2 ergab 220 mg 4-O-Acetyl-methylarcanosid. Benzol-Äthylacetat 6:4 eluierte 570 mg Kristalle vom Smp. 149–150° (aus Äther-Hexan; Rf 0,47). IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: $\nu(\text{OH})$ 3450 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1720 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CDCl_3 : u. a. $\delta = 0,77$ –1,27 (Signalhaufen, 27 H; 9 CH_3C); 1,47 (s, 3 H, Methylgruppe des Orthoacetates); 3,35 (s, 3 H; OCH_3).



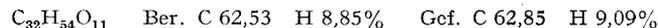
Bei der energischen Hydrolyse des Orthoacetates mit 30-proz. Schwefelsäure wurde als einzige flüchtige Säure Essigsäure erhalten, die als *p*-Phenyl-phenacylester identifiziert wurde (Smp., Misch-Smp., IR.-Absorptionsspektrum).

Triacetyl-orthoacetat XLVII. Kleine, würfelförmige Kristalle aus Hexan, Smp. 193–194°.



IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: keine Absorption im $\nu(\text{OH})$ -Gebiet; $\nu(\text{CO})$ 1740 cm^{-1} . NMR.-Spektrum in CDCl_3 : u. a. $\delta = 0,78$ –1,30 (Signalhaufen, 27 H; 9 CH_3C); 1,55 (s, 3 H; Methylgruppe des Orthoacetates); 2,03 (s, 3 H), 2,08 (s, 3 H), 2,13 (s, 3 H) (total 3 O-Acetylgruppen); 3,32 (s, 3 H; OCH_3).

Methylketon XLVIII. 184 mg XLVI in 10 ml Aceton wurden bei 0° mit 0,12 ml 7 N Chrom(VI)-oxid-Lösung in 30-proz. Schwefelsäure versetzt. Nach 5 Min. wurde mit 100 ml Benzol aufgearbeitet. Der Rückstand nach dem Trocknen und Eindampfen des Benzolauszugs zeigte im Dünnschichtchromatogramm (Benzol-Äthylacetat 1:1) einen neuen Fleck mit Rf 0,67 (Ausgangsmaterial: Rf 0,50). Nach Filtration über eine kurze Säule von Kieselgel kristallisierte das Oxydationsprodukt aus Äther: Smp. 222–228°. IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: $\nu(\text{OH})$ 3520 cm^{-1} ; $\nu(\text{CO})$ 1730, 1710 cm^{-1} . NMR.-Absorptionsspektrum in CDCl_3 : s. Fig. 5.



Orthoessigsäure-triäthylester. Ein käufliches Präparat (FLUKA AG, Buchs) wurde fraktioniert destilliert. Verwendet wurde die Fraktion mit Sdp. 143°. NMR.-Spektrum in CCl_4 : $\delta = 1,13$ (t, 9 H; 3 $\text{CH}_3\text{-CH}_2$ -); 1,33 (s, 3 H; $\text{CH}_3\text{-C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array}$); 3,45 (q, 6 H; $\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$).

Die Mikroanalysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

SUMMARY

Lankamycin is a new macrolide antibiotic composed of the aglycone, monoacetyllankolide (V), and two deoxysugars, lankavose (= chalcose, II) and 4-O-acetyl-arcanose (III, R = H, R' = CH_3CO). Structure I for lankamycin has been determined by chemical degradation and NMR. investigations. The lactone moiety of the aglycone is biogenetically derived from 7 propionate and 1 acetate units.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 45. Mitteilung: W. KELLER-SCHIERLEIN, *Helv.* **46**, 1920 (1963).
- [2] E. GÄUMANN, R. HÜTTER, W. KELLER-SCHIERLEIN, L. NEIPP, V. PRELOG & H. ZÄHNER, *Helv.* **43**, 601 (1960).
- [3] W. KELLER-SCHIERLEIN & G. RONCARI, *Helv.* **45**, 138 (1962).
- [4] P. W. K. WOO, H. W. DION & Q. R. BARTZ, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 3352 (1961).
- [5] P. W. K. WOO, H. W. DION & L. F. JOHNSON, *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 1066 (1962).
- [6] G. RONCARI & W. KELLER-SCHIERLEIN, in Vorbereitung.
- [7] Vgl. z. B. P. F. WILEY, K. GERZON, E. H. FLYNN, M. V. SIGAL, O. WEAVER, U. C. QUARCK, R. R. CHAUVETTE & R. MONAHAN, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 6062 (1957).
- [8] H. KILIANI, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **46**, 667 (1913); K. BOWDEN, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES & B. C. L. WEEDON, *J. chem. Soc.* **1946**, 39; R. G. CURTIS, I. HEILBRON, E. R. H. JONES & G. F. WOODS, *ibid.* **1953**, 457.
- [9] D. H. R. BARTON, C. J. W. BROOKS & J. S. FAWCETT, *J. chem. Soc.* **1954**, 2137.
- [10] H. GRISEBACH, W. HOFHEINZ & H. ACHENBACH, *Z. Naturforsch.* **77b**, 64 (1962); H. GRISEBACH, H. ACHENBACH & W. HOFHEINZ, *ibid.* **15b**, 560 (1960); J. W. CORCORAN, T. KANEDA & J. C. BUTTE, *Feder. Proc.* **19**, 227 (1960); A. J. BIRCH, E. PRIDE, R. W. RICKARDS, P. J. THOMSON, J. D. DUTCHER, D. PERLMAN & C. DJERASSI, *Chemistry & Ind.* **1960**, 1245.
- [11] H. GRISEBACH & H. ACHENBACH, *Z. Naturforsch.* **77b**, 6 (1962); *Tetrahedron Letters* **1962**, 569.
- [12] C. DJERASSI & J. A. ZDERIC, *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 6390 (1956); C. DJERASSI & O. HALPERN, *Tetrahedron* **3**, 255 (1958).
- [13] R. ANLIKER & K. GUBLER, *HELV.* **40**, 119, 1768 (1957); H. BROCKMANN & R. OSTER, *Chem. Ber.* **90**, 605 (1957).
- [14] V. PRELOG, A. M. GOLD, G. TALBOT & A. ZAMOJSKI, *Helv.* **45**, 4 (1962).
- [15] F. A. HOCHSTEIN, H. ELS, W. D. CELMER, B. L. SHAPIRO & R. B. WOODWARD, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 3225 (1960).
- [16] P. F. WILEY, R. GALE, C. W. PETTINGA & K. GERZON, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 6074 (1957); P. F. WILEY, M. V. SIGAL, O. WEAVER, R. MONAHAN & K. GERZON, *ibid.* **79**, 6070 (1957).

11. Méthode de dosage ampérométrique rapide de submicro-, micro- et macro-quantités de calcium et de magnésium en présence l'un de l'autre

par D. Monnier et A. Rouèche

(11 XI 63)

I. Introduction. – Le calcium et le magnésium font partie de nombreux systèmes enzymatiques fondamentaux, aussi un très grand nombre de méthodes ont elles été proposées pour leur dosage dans les milieux biologiques. Aucune n'est entièrement satisfaisante, c'est pourquoi nous nous proposons de déterminer ces éléments, en présence l'un de l'autre, par titrimétrie ampérométrique. Cette méthode directe est rapide, elle permet de doser le centième de microgramme de calcium en présence de grandes quantités de magnésium et inversement.

II. Bibliographie. – *Calcium et magnésium.* JANELLA [1]¹⁾ sépare le calcium du sérum par l'oxalate, et le magnésium comme PO_4MgNH_4 . HAMM [2] utilise un échangeur d'ions. PEKHTEREVA [3] dose la somme Ca + Mg par l'acide éthylènediamine-tétracétique (EDTA) puis sépare le calcium comme oxalate et dose le magnésium sur le filtrat. Quelques méthodes sans séparation ont été proposées. ABD. EL RAHEM [4] dose la somme Ca + Mg en présence de solochrome bleu, puis le cal-

¹⁾ Les chiffres entre crochets renvoient à la bibliographie, p. 111.