

78. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

226. Mitteilung¹⁾

Versuche zur Strukturaufklärung von Niphimycin, 3. Teil. Identität von Scopafungin mit Niphimycin I und Lage des Malonylrestes in Niphimycin und Copiamycin

von Peter Gassmann, Leonhard Hagmann und Walter Keller-Schierlein*

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

und Daniel Samain

Centre de la recherche scientifique, centre de recherche de biochimie et de génétique cellulaire, 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse Cedex

Herrn Dr. Arnold Brossi, Bethesda, Md., zum 60. Geburtstag gewidmet

(13.I.84)

Structural Elucidation of Niphimycin, Part 3. Identity of Scopafungin and Niphimycin I. Position of the Malonyl Residue of Niphimycin and Copiamycin

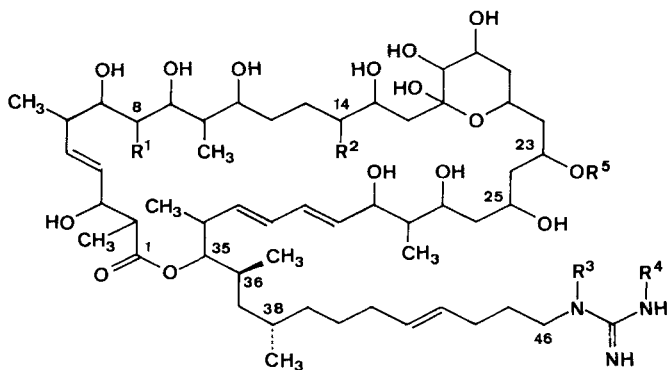
Summary

The identity of scopafungin with niphimycin I was proven by spectroscopic and chromatographic methods and by common degradation products. The position of the malonyl residue in niphimycin I (**9**) and in copiamycin (**14**) was deduced by ¹H-NMR spin-decoupling experiments of a degradation product (**10**).

Unsere früheren Arbeiten zur Strukturaufklärung des antifungisch wie antibakteriell wirksamen Makrolidantibiotikums Niphimycin I haben zur Konstitutionsformel **1** für das Desmalonyl-niphimycin I geführt. Niphimycin I ist ein Malonsäure-halbestere von **1** mit zunächst unbekannter Lage des Malonylrestes [2]. Kurz vorher wurde von Rinehart *et al.* über die Strukturaufklärung des Scopafungins berichtet [3]. Der Strukturvorschlag **2** für das Desmalonyl-scopafungin unterschied sich in zwei Punkten von demjenigen für das Desmalonylniphimycin (**1**): Im Makrolidring wurde eine Methylgruppe in Position 8 (statt 14) postuliert. Für die *N*-Methylgruppe wurde die Lage an N-C(46) vorgeschlagen, während beim Niphimycin die Lage der Methylgruppe am endständigen N-Atom durch die Synthese des Abbauproduktes **3** bewiesen wurde [2].

Ein direkter Vergleich zeigte nun die Identität von Scopafungin mit Niphimycin auf. Die Originalspektren (¹³C-NMR, ¹H-NMR) zeigten keine signifikanten Unterschiede. Ein DC-Vergleich in 2 Fliessmitteln ergab völlige Übereinstimmung, und bei der HPLC zeigten beide Proben das gleiche Verhalten.

¹⁾ 225. Mitteilung s. [1].

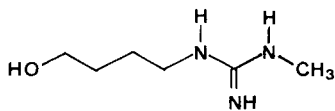


1: $R^1 = H$, $R^2 = CH_3$, $R^3 = H$, $R^4 = CH_3$, $R^5 = H$

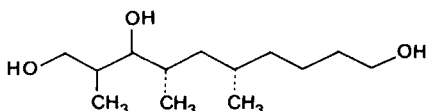
2: $R^1 = CH_3$, $R^2 = H$, $R^3 = CH_3$, $R^4 = H$, $R^5 = H$

9: $R^1 = H$, $R^2 = CH_3$, $R^3 = H$, $R^4 = CH_3$, $R^5 = COCH_2COOH$

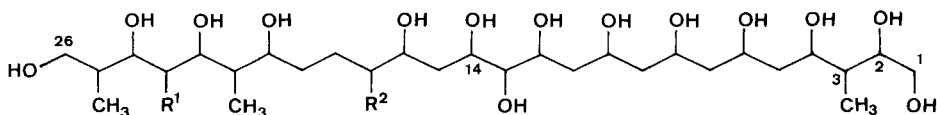
Da kleine Änderungen in grossen Molekeln nicht notwendigerweise mit erkennbaren Veränderungen des chromatographischen Verhaltens und der Spektren verbunden sein müssen, wurde eine Probe Scopafungin in gleicher Weise wie früher das Niphimycin abgebaut [2]. Eine Ozonolyse mit nachfolgender Reduktion gab die Abbauprodukte **3**, **4** und **5**, das letztere als Gemisch zweier Diastereomere in bezug auf C(14). Dieses Gemisch gab bei der Oxydation mit $NaIO_4$ und anschliessenden Reduktion mit $NaBH_4$



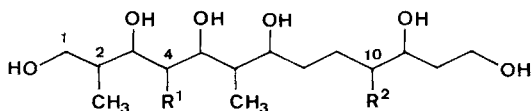
3



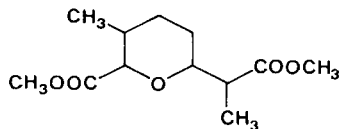
4



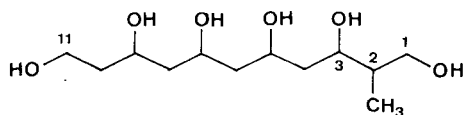
5a: $R^1 = H$, $R^2 = CH_3$; **5b:** $R^1 = CH_3$, $R^2 = H$



6a: $R^1 = H$, $R^2 = CH_3$; **6b:** $R^1 = CH_3$, $R^2 = H$



8

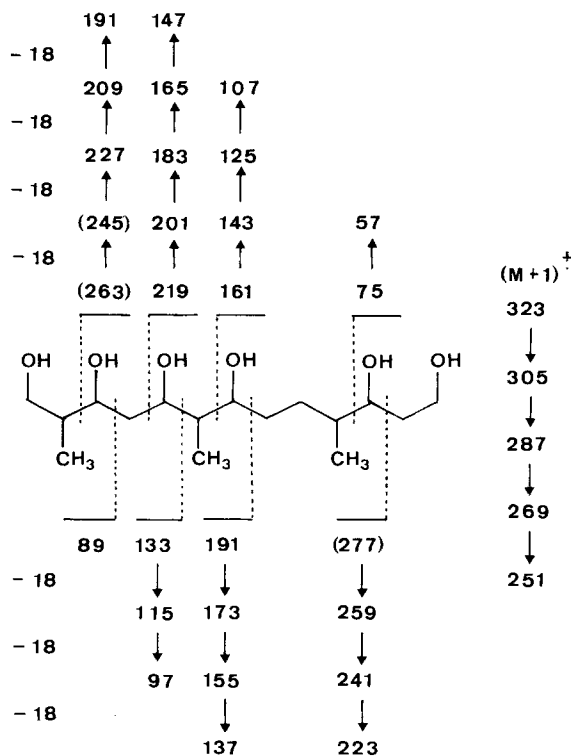


7

die beiden Polyalkohole **6** (**a** oder **b**) und **7**. Während wir uns bei den Abbauprodukten **4** und **7**, die aus den beiden Strukturen **1** und **2** zu erwarten waren, mit einem DC-Vergleich begnügten, wurde das für den Identitätsentscheid relevante Guanidinderivat **3** durch Ionenaustauscherchromatographie gereinigt und als kristallines Acetat isoliert. Es konnte weder durch DC noch durch das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ein Unterschied zum Abbauprodukt **3** aus Niphimycin [2] festgestellt werden. Da die Strukturformel **3** durch eine Synthese gesichert wurde [2], steht somit auch für das Scopafungin die Lage der *N*-Methylgruppe am endständigen N-Atom fest. Damit im Einklang ist auch ein neu in (D_6)DMSO aufgenommenes $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Scopafungin, das wie Niphimycin **1a** 2 getrennte Signale für die NH-Protonen bei 7,65 (br. s) und 8,31 ppm zeigt, und dessen *N*-Methyl-Signal bei 2,68 ppm in ein Dublett aufgespalten ist.

Das kritische Abbauprodukt **6** wurde ausser durch DC auch mittels der Massenspektren des freien Alkohols und des Hexa(trimethylsilyl)äthers mit dem entsprechenden Abbauprodukt **6** aus Niphimycin verglichen. Obwohl für die beiden Strukturen **6a** und **6b** deutliche Unterschiede im Fragmentierungsmuster zu erwarten gewesen wären, stimmten die Spektren in allen Einzelheiten überein. Durch diese Untersuchungen ist die Identität von Scopafungin mit Niphimycin gesichert.

Schema. *MS-Fragmentierung von 1,3,5,7,11,13-Hexahydroxy-2,6,10-trimethyltridecan (6a)*. Die im Spektrum nicht erscheinenden Fragmente (s. *Exper. Teil*) sind in Klammern gesetzt.



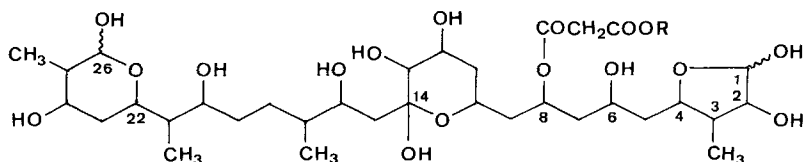
Obwohl uns die Lage der strittigen Methylgruppe an C(14) durch das Abbauprodukt **8**, das aus Niphimycin durch Abbau mit HNO_3 erhalten worden war [4], genügend bewiesen schien, haben wir die Struktur von **6** anhand der Messenspektren überprüft.

Nach unseren früheren Erfahrungen [2] sind beim Polyol **6** gemäss *Schema* vor allem Fragmente zu erwarten, die durch Kettenbruch neben den OH-Gruppen zustandekommen und die die positive Ladung auf dem O-Atom tragen. Im Spektrum des Abbauprodukts **6** (s. *Exper. Teil*) sind mit Ausnahme von Fragmenten mit m/z 277, 263 und 245 alle Primärspaltprodukte, die gemäss Formel **6a** zu erwarten sind, gut zu erkennen. In allen Fällen werden die Primärfragmente durch zahlreiche Wasserabspaltungsprodukte gemäss *Schema* für **6a** erhärtet.

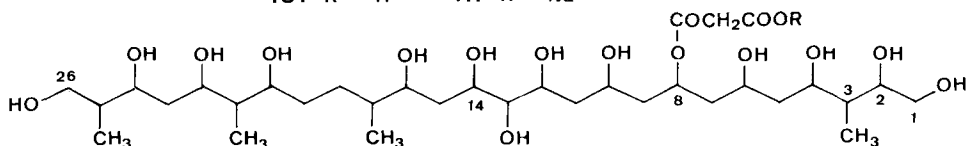
Einige der beobachteten Zerfallsreihen wären für einen Alkohol der Formel **6b** nicht zu erwarten, während andererseits für den Alkohol **6b** spezifisch zu erwartende Zerfallsreihen im Spektrum nicht auftreten. Damit ist die Lage einer Methylgruppe an C(10) von **6** und damit an C(14) von Desmalonylniphimycin (**1**) eindeutig festgelegt, während C(8) einer Methylgruppe angehört. Die Konstitutionsformel **2** für Desmalonylscopafungin ist somit widerlegt.

Unsere früheren Untersuchungen zur Strukturaufklärung von Niphimycin [2] haben keine Anhaltspunkte über die Lage des Malonsäurehalbesteres gegeben, da bei allen beschriebenen Abbaureaktionen dieser Rest verlorengegangen war. Dagegen wurden beim Abbau des Scopafungins [3] mehrere Produkte gefasst, die diesen Rest noch enthielten, und die für dessen Lage an OC(23) sprachen (insbesondere die Verbindungen **27** und **34** in [3]), so dass dem Niphimycin die Konstitutionsformel **9** zugeteilt werden kann. Im folgenden führen wir eigene Versuche an, die diese Formel stützen.

Bei der reduktiven Spaltung des Ozonids von Niphimycin mit H_2 und Pd unter neutralen Bedingungen konnte das Produkt **10** erhalten werden, das den Malonylrest noch enthält. Das Abbauprodukt wurde zunächst als Natriumsalz **11** gereinigt und nachher an einer Säule aus *CM-Sephadex C-15* in die freie Säure **10** übergeführt. Diese zeigte im FAB-MS Pike mit m/z 749 ($M^+ + \text{Na}$) und 727 ($M^+ + \text{H}$), die mit der Bruttoformel $\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{O}_{17}$ (726,36) vereinbar sind. Gemäss ^{13}C -NMR von **11** (*Tab. 1*) liegen die beiden durch die Ozonidspaltung gebildeten Aldehydgruppen in der Cyclohalb-



10: R = H **11:** R = Na



12: R = H **13:** R = CH_3

Tab. 1. ^{13}C -NMR-Spektren der Abbauprodukte **10**, **11** und **12** in CD_3OD (75,47 MHz)

10	11	12	Bemerkungen ^{c)}
8,41 <i>q</i>	8,27 <i>q</i>	10,73 <i>q</i>	4 $\text{CH}_3\text{-C}$
10,42 <i>q</i>	10,26 <i>q</i>	10,78 <i>q</i>	
13,15 <i>q</i>	13,06 <i>q</i>	13,87 <i>q</i>	
15,28 <i>q</i>	15,36 <i>q</i>	15,79 <i>q</i>	
30,13 <i>t</i>	30,03 <i>t</i>	29,70 <i>t</i>	8 CH_2
32,98 <i>t</i>	32,90 <i>t</i>	33,49 <i>t</i>	
38,19 <i>t</i>	38,13 <i>t</i>	36,88 <i>t</i>	
38,63 <i>t</i>	38,54 <i>t</i>	38,67 <i>t</i>	
40,86 <i>t</i>	40,58 <i>t</i>	43,35 <i>t</i>	4 CH
(2 C)	41,00 <i>t</i>	44,51 <i>t</i>	
41,66 <i>t</i>	41,45 <i>t</i>	a)	
42,02 <i>t</i>	41,98 <i>t</i>		
39,51 <i>d</i>	39,41 <i>d</i>	40,26 <i>d</i>	2 $\text{CH}_2\text{-O}$
40,35 <i>d</i>	40,17 <i>d</i>	41,75 <i>d</i>	
42,95 <i>d</i>	42,88 <i>d</i>	42,51 <i>d</i>	
43,82 <i>d</i>	43,70 <i>d</i>	44,07 <i>d</i>	
–	–	65,59 <i>t</i>	11 CH-O
–	–	65,84 ^{b)}	
65,60 <i>d</i>	65,22 <i>d</i>	65,84 ^{b)}	
65,75 <i>d</i>	65,84 <i>d</i>	66,39 <i>d</i>	
69,51 <i>d</i>	69,46 <i>d</i>	69,30 <i>d</i>	2 O-CH-O
70,14 <i>d</i>	70,14 <i>d</i>	71,14 <i>d</i>	
70,33 <i>d</i>	71,59 <i>d</i>	72,68 <i>d</i>	
72,07 <i>d</i>	72,06 <i>d</i>	73,34 <i>d</i>	
72,33 <i>d</i>	72,28 <i>d</i>	75,36 <i>d</i>	1 O-C-O
73,59 <i>d</i>	73,51 <i>d</i>	75,81 <i>d</i>	
77,63 <i>d</i>	77,94 <i>d</i>	76,11 <i>d</i>	
78,24 <i>d</i>	78,19 <i>d</i>	76,45 <i>d</i>	
80,12 <i>d</i>	80,08 <i>d</i>	78,05 <i>d</i>	2 C=O
97,55 <i>d</i>	97,49 <i>d</i>	–	
102,97 <i>d</i>	102,87 <i>d</i>	–	
99,92 <i>s</i>	99,98 <i>s</i>	–	
171,72 <i>s</i>	168,82 <i>s</i>	171,90 <i>s</i>	
173,96 <i>s</i>	170,40 <i>s</i>	173,88 <i>s</i>	

a) Dazu einzelne schlecht erkennbare überlappende Signale.

b) Die Multiplizität dieses 2-Atome repräsentierenden Signals ist wegen der Überlappung nicht eindeutig zu erkennen.

c) Die schwachen Begleitsignale, die von diastereomeren Halbacetalen stammen, sind nicht angegeben.

acetalform vor; die Halbacetal-C-Atome geben sich durch die Signale bei 97,55 und 102,97 ppm zu erkennen, die bei «off-resonance»-Aufspaltung als Dublette erscheinen. Daneben findet sich noch der ursprüngliche Halbacetalring, hier zwischen C(10) und C(14), der durch das Signal bei 99,92 ppm (*s*) zu erkennen ist. Die Abbauprodukte **10** und **11** sind demnach als Gemische von diastereomeren Halbacetalen zu erwarten, doch zeigen die Spektren, dass eine der epimeren Formen stark vorherrscht (gegen 80%). Die Diastereomeren geben sich nur durch recht kleine zusätzliche Signale zu erkennen. Auch im ^1H -NMR-Spektrum von **10** herrschen die Signale von einem der Diastereomeren stark vor, so dass eine eingehende spektroskopische Untersuchung durchaus möglich ist.

Zu einem Produkt **12** gelangten wir durch Reduktion des Halbesters **10** mit NaBH_4 . Durch Umsetzung des Natriumsalzes **12** mit CH_3I wurde ferner der Methylester **13** hergestellt. Ein weiterer Abbau von **12** oder **13** mit HIO_4 war dagegen nur unter Verlust des Malonylrestes möglich (vgl. [5]). Die Verbindungen **10** bis **13** sind somit die kleinsten Abbauprodukte von Niphimycin, die noch den Malonylrest besitzen.

Im $^1\text{H-NMR}$ der Säure **10** fallen im Bereich um 5 ppm 3 Signale auf. Das Dublett bei 5,12 ppm ($J = 1,6$) ist im Einklang mit dem Proton am Anomeriezentrum C(1) eines Halbacetal-Fünfringes, das Dublett ($J = 8,6$) bei 4,68 ppm mit demjenigen eines Halbacetal-Sechsringes. Demnach muss das breite, wenig strukturierte Multipllett bei 5,30 ppm dem Proton neben dem Ester-O-Atom zugeordnet werden. Gleichartige Signale bei 5,3 ppm sind auch in den Spektren von Niphimycin [4] und Copiamycin (= Niphitricin [6]) zu erkennen. Als Modellverbindungen für den Vergleich der Spektren wurden die Malonsäurehalbester von Cyclohexanol und von 2-Methyl-3-pentanol nach dem Verfahren von *Junek et al.* [7] aus Meldrumsäure hergestellt. Der Malonsäurehalbester von 2-Methyl-3-pentanol zeigte für das Proton an C(3) bei 4,7 ppm (CDCl_3) ein gut strukturiertes Signal, das einem leicht verzerrten Quartett ähnelt. Im Gegensatz dazu ist das Signal von HC(1) (4,8 ppm, CDCl_3) im Spektrum des Malonsäure-monocyclohexylesters ein wenig strukturiertes breites Multipllett, das den entsprechenden Signalen im Niphimycin, Copiamycin und in den Abbauprodukten **10** bis **13** recht ähnlich sieht.

Als Ergänzung zu diesen experimentellen Vergleichen haben wir eine grosse Anzahl Signale von Protonen mit 3 bzw. 4 Kopplungspartnern durch Computerberechnung simuliert, wobei die Kopplungskonstanten von 3 bis 11 Hz variiert wurden. Als Auflösungsgrenze haben wir eine Halbwertsbreite b von 2 Hz eingesetzt, wie sie an einem gut aufgelösten Signal von **11** gemessen wurde²⁾.

Die 165 berechneten Signale von Protonen mit 3 Kopplungspartnern waren ausnahmslos gut strukturierte Multiplette, von denen keines eine Ähnlichkeit mit den experimentell gefundenen Signalen hatte. Dagegen waren unter den berechneten Signalen für Protonen mit 4 Kopplungspartnern mehrere, die von den experimentellen Spektren nur wenig abwichen.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich einleuchtend, dass das Proton neben dem Ester-O-Atom zwei Methylengruppen benachbart ist. Für das Abbauprodukt **10** kommen somit noch die O-Atome an C(6) und C(8) als Sitz der Malonylgruppe in Frage. Diese entsprechen im Niphimycin (**9**) den Positionen 23 und 25. Ein Entscheid zwischen diesen beiden Stellungen wurde durch Spinentkopplungs-Versuche mit dem Abbauprodukt **10** möglich (vgl. Tab. 2), wobei allerdings wegen zahlreicher Überlappungen eine völlig selektive Einstrahlung nur bei wenigen Signalen möglich war, was die Interpretation wesentlich erschwerte.

Ausgangspunkt für die Untersuchungen war das isolierte Multipllett bei 2,43 ppm, dessen Aufspaltungsmuster einem Sextuplett ($J = 6$) nahekommt und dessen chemische Verschiebung einem Proton in einem Fünfring entspricht. Die Zuordnung zu HC(3) wird bestätigt durch die Nachbarschaftsbeziehungen. Bei der Einstrahlung bei 2,43 ppm werden ausser einem Methylsignal (0,96 ppm) Signale im Bereich von 3,95 ppm (u. a. HC(2)) und ein isoliertes Signal bei 4,37 ppm entkoppelt. Das letztere mit der

²⁾ Herrn A. Manz danken wir für seine Mithilfe bei den Berechnungen.

Tab. 2. *Spinentkopplungsversuche mit dem Malonsäurehalbester von 3,17,21,25-Tetramethyl-1,14,26-trioxo-2,4,6,8,10,12,13,16,20,22,24-undecahydroxyhexacosan-trihemiacetal (10); CD₃OD, 300 MHz*

Einstrahlung [ppm]	Multiplizität	Zuordnung	Verändertes Signal		Zuordnung
0,96 ^{a)}	<i>d</i>	CH ₃ –C(3)	2,43	<i>t</i> (<i>J</i> = 6)	H–C(3)
1,46 ^{b)}	<i>m</i>	H–C(25)	4,68	<i>s</i>	H–C(26)
		1 H–C(5)	4,37	<i>dd</i> (<i>J</i> = 9 und 6)	H–C(4)
			keine Veränderung bei 5,30 ppm!		
1,73 ^{c)}	<i>m</i>	H ₂ C(9)	5,30	br. <i>d</i> (<i>J</i> = 12)	H–C(8)
		H ₂ C(7)			
		1 H–C(5)	4,37	<i>t</i> (<i>J</i> = 6)	H–C(4)
2,43	<i>sext.</i>	H–C(3)	4,37	<i>dd</i> (<i>J</i> = 9 und 2)	H–C(4)
			3,95	überlappend	u. a. H–C(2)
			0,96	<i>s</i>	CH ₃ –C(3)
4,37	<i>ddd</i> (<i>J</i> = 9,6 und 2)	H–C(4)	2,43	<i>quint.</i>	H–C(3)
			1,4–1,8		u. a. H ₂ C(5)
4,68	<i>d</i>	H–C(26)	1,46		H–C(25)
5,30	br. <i>m</i>	H–C(8)	1,55–1,85		u. a. H ₂ C(7)
					H ₂ C(9)

^{a)} Wegen Überlappung keine selektive Einstrahlung möglich; weitere Veränderungen im Bereich 1,4–1,8 ppm erkennbar.

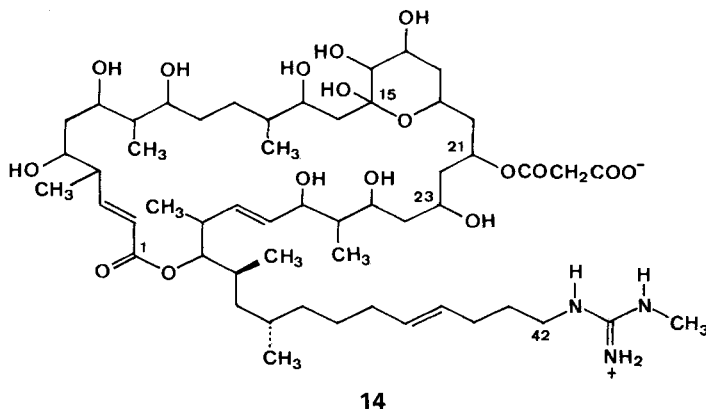
^{b)} Keine selektive Einstrahlung möglich; weitere Veränderungen bei 3,8–4,0 und 0,9–1 ppm erkennbar.

^{c)} Keine selektive Einstrahlung möglich; weitere Veränderungen bei 3,8–4,0, 1,05 und 0,93 ppm.

Multiplizität *ddd* (*J* = 9, 6 und 2) muss dem Proton an C(4) zugeordnet werden, denn die Einstrahlung bei 4,37 ppm verändert neben dem Signal bei 2,43 ppm nur noch Signale von Methylenprotonen im überlappenden Bereich von 1,4–1,8 ppm. Im Hochfeld-Gebiet dieses Bereiches sind u. a. Signale von Protonen an C(5) und C(25) enthalten, denn die Einstrahlung bei 1,46 ppm hat eine Vereinfachung des Signals bei 4,37 ppm und gleichzeitig eine Umwandlung des Dubletts bei 4,68 ppm (H–C(26)) in ein Singulett zur Folge. Im Tieffeldbereich des Signalaufens (*ca.* 1,6–1,8 ppm) findet man auch Signale der Protonen an C(7) und C(9), denn die Einstrahlung bei 1,73 ppm verändert das Signal bei 5,30 ppm (H neben Ester-O-Atom) in ein breites Dublett (*J* = 12), während anderseits die Einstrahlung bei 5,30 ppm ausschliesslich den Bereich von *ca.* 1,55–1,8 ppm verändert.

Entscheidend für die Struktur von **10** ist nun, dass die Einstrahlung bei 1,46 ppm (HC(5) und HC(25)) wohl das Signal von HC(4) vereinfacht, das Signal bei 5,30 ppm aber völlig unverändert lässt. Das H-Atom an C(4) besitzt demnach ein Nachbarproton an C(5), das nicht gleichzeitig ein Kopplungspartner des Protons neben dem Ester-O-Atom ist. Die Stellung 6 des Abbauproduktes **10** scheidet damit als Sitz des Malonesterrestes aus. Es bleibt als einzige mögliche Stellung dieser Gruppe die Position 8 übrig, die dem C-Atom 23 im Niphimycin I entspricht. Dem Niphimycin I muss demnach die Konstitutionsformel **9** zugeschrieben werden.

Das dem Niphimycin nahe verwandte Antibioticum Copiamycin [8], das von uns unter dem Namen Niphitricin eingehend charakterisiert wurde [6], und dessen in unserem Laboratorium durchgeführter Abbau [2] zur gleichen Teilstruktur führte, die auch Iwasaki *et al.* [8] für Copiamycin vorgeschlagen haben, gibt beim analogen Abbau den



gleichen Malonsäurehalbester **10** wie das Niphimycin. Somit kann auch die Konstitutionsformel des Copiamycins zur Formel **14** mit dem Malonylrest an C(21) vervollständigt werden. Während die Chiralität an C(32) und C(34) im Copiamycin bzw. an C(36) und C(38) im Niphimycin durch ein gut definiertes Abbauprodukt gesichert ist [4], bleibt die Konfiguration an den übrigen Chiralitätszentren vorläufig offen.

Der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich danken wir für einen Forschungskredit, Herrn Dr. H. Bickel, Ciba-Geigy AG, Basel, für das Niphimycin.

Experimenteller Teil

Allgemeines. S. [4].

Scopafungin; Vergleich mit Niphimycin. – DC mit BuOH/AcOH/H₂O 67:10:23, R_f 0,25; mit CHCl₃/MeOH/H₂O/AcOH 100:65:10:0,25, R_f 0,28; in beiden Fließmitteln von Niphimycin **1a** nicht unterscheidbar. HPLC: Reversed-phase-Säule, RP-C₁₈ 5 μ , 25 cm; Laufmittel: MeOH/H₂O 4:1, pH 8, 1 ml/Min. Scopafungin und Niphimycin **1a** verhielten sich gleich, t_R = 18,8 Min. Ein Gemisch von Scopafungin und Niphimycin **1a** gab einen einheitlichen Pik.

Abbau von Scopafungin. – Das Ozonid-Gemisch aus 35 mg Scopafungin wurde wie früher für Niphimycin und Copiamycin beschrieben [2] mit 90 mg NaBH₄ reduziert. Das rohe Gemisch zeigte im DC 4 Flecke mit R_f 0,14; 0,20; 0,23; 0,78, die mit denen aus dem Abbau von Niphimycin **1** übereinstimmten. Aus dem Gemisch wurde die Guanidinoverbindung **3** (R_f 0,14) an Amberlite CG-50 (H-Form) adsorbiert und nach dem Waschen der Säule mit 10proz. AcOH eluiert. Das Acetat von **3** kristallisierte nach dem Eindampfen und Trocknen. Ausbeute 6 mg. DC (BuOH/AcOH/H₂O 67:23:10; Anfärben mit I₂-Dampf): R_f 0,19 wie das entsprechende Abbauprodukt aus Niphimycin und synthetisches **3** [2]. ¹H-NMR ((D₆)DMSO; 300 MHz): 1,45 (*m*, 4H); 1,70 (*s*, 3H, AcO); 2,65 (*br. s.* nach Austausch mit D₂O scharfes *s*, N-CH₃); 3,03 (*br. t*, *J* = 5,3, 2H); 3,39 (*t*, *J* = 6,3, 2H); 3,56 (*br. s.*, H₂O); 8,25 (*s*, Austausch mit D₂O); kein Unterschied zum Abbauprodukt aus Niphimycin **1**. MS: 146 (9, *M*⁺ + H), 145 (3), 129 (12), 115 (27), 102 (25), 101 (19), 98 (3), 88 (19), 86 (35), 75 (5), 73 (31), 70 (10), 60 (20), 57 (100), 55 (20), 45 (36), 43 (84), 41 (18), 31 (26), 30 (47), 28 (20); Übereinstimmung mit dem Acetat von **3** aus Niphimycin **1** und synthetischem Produkt [2].

Die am Ionenaustauscher-Harz nicht adsorbierten Abbauprodukte wurden durch Chromatographie an Sephadex LH-20 (MeOH) in das Triol **4** (R_f 0,78) und das Gemisch der Diastereomeren von **5** (R_f 0,20 und 0,23) aufgetrennt. Das letztere (17 mg) wurde wie früher bei Niphimycin beschrieben mit 20 mg NaIO₄ gespalten und das rohe Abbaugemisch mit 15 mg NaBH₄ reduziert [2]. Die beiden Produkte wurden durch präp. DC getrennt. Das 2-Methylundecan-1,3,5,7,9,11-hexaol (**7**) wurde durch DC (R_f 0,22) mit dem Abbauprodukt aus Niphimycin und Copiamycin identifiziert. Das Eluat aus der Zone mit R_f 0,5 (2 mg) stimmte nach DC mit dem 2,6,10-Tri-

methyltridecan-1,3,5,7,11,13-hexaol **6a** aus Niphimycin überein und gab ein identisches MS: 323 (4, $M^+ + H$), 305 (1), 287 (2), 269 (0,5), 259 (1), 251 (0,5), 241 (3), 227 (12), 223 (2), 219 (4), 209 (4), 201 (2), 191 (3), 183 (7), 173 (21), 172 (15), 165 (6), 161 (4), 155 (8), 147 (4), 143 (100), 137 (9), 135 (6), 133 (4), 131 (4), 129 (7), 125 (50), 115 (65), 109 (30), 107 (42), 99 (17), 97 (35), 95 (46), 89 (62), 85 (40), 83 (22), 81 (50), 75 (22), 71 (48), 69 (64), 68 (70), 57 (70), 55 (80), 45 (40), 43 (59), 41 (77), 39 (18), 31 (36), 29 (45), 27 (20), 19 (15).

Die Präparate aus Scopafungin und Niphimycin I wurden mit Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid in die Hexa(trimethylsilyl)äther übergeführt. Beide Derivate gaben übereinstimmende MS: 754 (0,1, M^+), 709 (0,2), 693 (0,2), 664 (1,8), 649 (0,7), 637 (0,7), 619 (0,2), 603 (0,2), 592 (0,4), 574 (22), 529 (2), 502 (2), 485 (5), 457 (1), 443 (7), 389 (3), 377 (16), 361 (4), 347 (2), 316 (2), 299 (51), 287 (93), 271 (3), 259 (90), 233 (97), 219 (98), 209 (6), 203 (11), 197 (73), 191 (22), 187 (10), 169 (45), 157 (11), 147 (77), 143 (40), 129 (99), 117 (18), 107 (30), 103 (100), 95 (11), 81 (9), 73 (100), 59 (5), 55 (7), 41 (6), 28 (2).

Abbau von Niphimycin. – *Malonsäurehalbester des Trishemiacetals von 3,17,21,25-Tetramethyl-1,14,26-trioxo-2,4,6,8,10,12,13,16,20,22,24-undecahydroxyhexacosan (10)*. Eine Lösung von 415 mg Niphimycin I in 25 ml MeOH wurde während 10 Min. bei -78° ozonisiert. Darauf wurde Ar durch die Lösung geleitet und nach Zugabe von 54 mg Pd auf Aktivkohle (10%) bei 0° über Nacht hydriert. Durch Chromatographie an *Sephadex LH-20* (1,8 cm $\times$ 20 cm, MeOH) wurde eine Hauptfraktion von 184 mg (68%) eines farblosen Pulvers erhalten, das gemäss DC nahezu einheitliches **10** war. Eine vollständige Reinigung wurde erzielt durch Überführung ins Natriumsalz **11** an einer Säule ans *CM-Sephadex C-25* (Na-Form, 0,8 cm $\times$ 20 cm, MeOH/H₂O 1:1 als Eluierungsmittel). Das Salz bildete ein farbloses Pulver, das sich zwischen 130 und 140° unter Aufschäumen zersetzte. DC (CHCl₃/MeOH/AcOH 100:65:10): R_f 0,15, einheitlich. IR (KBr): 3700–3000 br., 1720, 1600. ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD): s. *Tab. 1*.

Die freie Säure von **10** wurde durch Chromatographie von **11** an *CM-Sephadex C-25* (H-Form, 0,8 $\times$ 20 cm, MeOH/H₂O 1:1) als farbloses Pulver erhalten. IR (KBr): 3700–3000 br., 1735, 1725. ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD): 0,8–1,2 (*m*, *ca.* 12H, 4 CH₃); 1,5–1,9 (*m*, *ca.* 20H); 2,43 (*m*, 1H, H–C(3)); 3,3–3,55 (*m*, 2H); 3,7–4,2 (*m*, *ca.* 6H); 4,37 (ddd, *J* = 9,6 und 2, H–C(4)); 4,68 (*d*, *J* = 8,6, 1H, H–C(26)); 5,12 (*d*, *J* = 1,6, 1H); 5,30 (br. *m*, 1H, H–C(8)). Spinentkopplung: s. *Tab. 2*. ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD): s. *Tab. 1*. FAB-MS: 749 (30, $M^+ + Na$), 727 (40, $M^+ + H$), 709 (17), 691 (72), 673 (25), 655 (63), 637 (100), 619 (93), 601 (26), 417 (100), 399 (100).

Die Ozonolyse von 1,238 g Copiamycin und anschliessende Hydrierung gab nach gleicher Aufarbeitung wie oben 935 mg Malonsäurehalbester, der sich durch DC IR- und NMR-Spektren nicht von **10** aus Niphimycin unterscheiden liess.

Malonsäurehalbester von 3,17,21,25-Tetramethyl-1,2,4,6,8,10,12,13,14,16,20,22,24,26-tetradecahydroxyhexacosan (12). Zu 935 mg **10** in 25 ml EtOH wurden 500 mg NaBH₄ gegeben und 2 Std. bei RT. gerührt. Nach dem Ansäuern mit verd. HCl wurde von den ausgeschiedenen Salzen abfiltriert und die Lösung i. V. eingedampft. Durch Chromatographie an *CM-Sephadex C-25* (Na-Form, MeOH/H₂O 1:1) wurden 667 mg (88%) einheitliches Natriumsalz von **12** als farbloses Pulver erhalten. DC (BuOH/AcOH/H₂O 67:10:23): R_f 0,17, einheitlich. IR (KBr): 3600–3000 br., 1720, 1600. ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD): 0,85–1,00 (4 *d*, 12H); 1,2–1,8 (*m*, *ca.* 20H); 1,93 (*t*-ähnlich, 1H); 3,4–4,2 (*m*, *ca.* 14H); 5,33 (br. *m*, 1H). ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD): s. *Tab. 1*. FAB-MS: 754 ($M^+ - C_{33}H_{63}O_{17}Na$), 736 ($M^+ - H_2O$).

Aus 200 mg Natriumsalz von **12** in 12 ml DMF wurde mit 0,16 ml Et₃N und 3,2 ml CH₃I (0°, 16 Std.) der Methylester **13** bereitet. Nach der Zugabe von 25 ml MeOH wurde i. V. eingedampft und der Rückstand an *Sephadex LH-20* (1,5 cm $\times$ 49 cm, MeOH) chromatographiert. Die gemäss DC einheitlichen Fraktionen gaben 133 mg (67%) Methylester als blass gelbliches Pulver, das durch Tröpfchen-Gegenstromchromatographie mit CHCl₃/MeOH/H₂O (aufsteigende Methode) weiter gereinigt wurde. IR (KBr): 3500–3100, 1725. ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD): 3,75 (*s*, 3H); übrige Signale sehr ähnlich denen des Natriumsalzes von **12**. FAB-MS: 747 ($M^+ + H$; C₃₄H₆₆O₁₇).

Herstellung der Vergleichssubstanzen. – *Malonsäure-monocyclohexylester*. Durch Erhitzen von 14,41 g 1,5-Dioxa-6,6-dimethylcyclohexan-2,4-dion (Meldrumsäure, Fluka AG, CH-9470 Buchs/SG) und 10,02 g Cyclohexanol auf 100° (2,5 Std.) wurden nach dem Trocknen i. V. und nach dem Abtrennen von *ca.* 1 g auskristallisierte Malonsäure 15,0 g (81%) roher Malonsäure-monocyclohexylester erhalten. Die weitere Reinigung durch Flash-Chromatographie an Silicagel mit Et₂O/MeOH 30:1 gab 13,6 g (74%) reines Produkt als farblose Flüssigkeit. IR (CHCl₃): 3520, 1740, 1725. ¹H-NMR (CDCl₃): 1,1–2,0 (*m*, 10H); 3,36 (*s*, 2H); 4,82 (br. *m*, 1H); 10,34 (*s*, 1H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 23,6 (*t*, 2C), 25,4 (*t*), 31,4 (*t*, 2C); 41,5 (*t*), 74,4 (*d*), 166,6 (*s*), 171,5 (*s*).

Malonsäure-mono-(1'-isopropyl)propylester. Aus 14,41 g Meldrumsäure und 10,22 g 2-Methyl-3-pentanol wurde wie oben der Halbester bereitet. Nach der Flash-Chromatographie (Et₂O/Hexan/MeOH 30:1:10) 13,4 g

(71%) farblose Flüssigkeit. IR (CHCl_3): 3520, 3100 br., 1740, 1725. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 0,86 (*t*, $J = 6$, 3H); 0,88 (*d*, $J = 6$, 6H); 1,56 (*quint.*, $J = 6$, 2H); 1,81 (*m*, $J = 6$, 1H); 3,38 (*s*, 2H); 4,72 (*q*, $J = 6$, 1H); 10,60 (*br.s*, 1H).

Frl. B. Brandenberg und Herrn F. Bangerter danken wir für die NMR-Spektren, Frau L. Golgowski und Herrn Dr. J. Meili für die Massenspektren.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. Drautz, P. Reuschenbach, H. Zähler, J. Rohr & A. Zeeck, J. Antibiot. im Druck.
- [2] W. Keller-Schierlein, B. Joos, H.-P. Kaiser & P. Gassmann, Helv. Chim. Acta 66, 226 (1983).
- [3] D. Samain, J. C. Cook & K. L. Rinehart, J. Am. Chem. Soc. 104, 4129 (1982).
- [4] L. Bassi, B. Joos, P. Gassmann, H.-P. Kaiser, H. Leuenberger & W. Keller-Schierlein, Helv. Chim. Acta 66, 92 (1983).
- [5] C. F. Huebner, S. R. Ames & E. C. Bubl, J. Am. Chem. Soc. 68, 1621 (1946).
- [6] H. P. Fiedler, H. Wörner, H. Zähler, H.-P. Kaiser, W. Keller-Schierlein & A. Müller, J. Antibiot. 34, 1107 (1981).
- [7] H. Junek, E. Ziegler, U. Herzog & H. Kroboth, Synthesis 1976, 332.
- [8] K. Fukushima, T. Arai, S. Iwasaki, M. Namikoshi & S. Okuda, J. Antibiot. 35, 1480 (1982); T. Arai, S. Kuroda, H. Ohara, Y. Kato & H. Kaji, J. Antibiot., Ser. A 18, 63 (1965).