

136. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

227. Mitteilung¹⁾

Isolierung und Strukturaufklärung von Rutamycin B

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

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

und **Barbara Wahl**

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

(30.IV.84)

Isolation and Structure of Rutamycin B

Summary

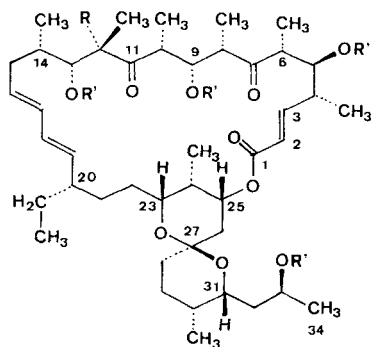
Botrycidin was found to be identical with rutamycin. From the cultures of the actinomycete producing botrycidin and the venturicidines A and B, a fourth antifungal antibiotic, rutamycin B, was isolated. Through a series of degradation products its structure could be correlated to that of rutamycin, which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

Vor längerer Zeit haben wir über die Isolierung der Venturicidine A und B und des Botrycidins, dreier antifungischer Antibiotica aus *Streptomyces aureofaciens* DUGGAR (Stamm Tü 342) berichtet [2]. Während die Strukturaufklärung der Venturicidine bald abgeschlossen wurde [3], musste die weitere Untersuchung des Botrycidins damals aufgeschoben werden. Bei der Wiederaufnahme unserer Arbeiten über Botrycidin stellten wir bald fest, dass seine analytischen und spektroskopischen Eigenschaften mit denen von Rutamycin (Antibioticum A 272) [4] weitgehend übereinstimmten. Der direkte Vergleich mit einer authentischen Probe²⁾ (DC, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR) bestätigte die Identität von Botrycidin mit Rutamycin. Die Strukturformel **1** und die relative Konfiguration beruhen zur Hauptsache auf einer Röntgen-Strukturanalyse [5].

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

¹⁾ 226. Mitt. s. [1].

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



- 1 $R = OH, R' = H$
- 2 $R = R' = H$
- 3 $R = H, R' = COCH_3$
- 4 $R = OH, R' = COCH_3$
- 5 $R = OCOCH_3, R' = COCH_3$

Im FAB-MS von Rutamycin B liegt der Pik des Quasimolekularions $(M + 1)^+$ bei 761 und damit um 16 Einheiten tiefer als beim Rutamycin und ist im Einklang mit der Bruttoformel $C_{44}H_{72}O_{10}$. Die Vermutung, dass im Rutamycin B ein Desoxyrutamycin vorliegt, wird gestützt durch das ^{13}C -NMR-Spektrum (Tab. 1), das wie dasjenige von **1** 44 ^{13}C -Signale aufweist. Der auffälligste Unterschied liegt im Fehlen eines tertiären Alkohol-C-Atoms (83,00 ppm bei **1**). Dafür zeigt der Bereich der CH-Signale bei 49,48 ppm ein Signal mehr. Die darauf gegründete Vermutung, dass im Rutamycin B das 12-Desoxyrutamycin (**2**) vorliegt, wird erhärtet durch das 1H -NMR-Spektrum, in dem ausser dem Signal bei 0,84 ppm (*t*) alle CH_3 -Signale als Dublette vorliegen, während bei **1** das Signal von $CH_3-C(12)$ bei 1,15 ppm als *s* erscheint (vgl. [5]).

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

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

Dass das Rutamycin B nicht nur in der Konstitution sondern auch in der Konfiguration weitgehend mit Rutamycin übereinstimmt, ergibt sich aus dem nahezu identischen Verlauf der CD-Kurven (Tab. 2). Die strukturelle Beziehung der beiden Antibiotica gemäss den Strukturformeln **1** und **2** konnte durch eine Reihe von Abbauprodukten bestätigt werden. Durch eine Ozonolyse und anschliessende Ozonidsplaltung mit $NaBH_4$ wurde bei gleichzeitiger Spaltung der Esterbindung aus beiden Antibiotica ein identisches Abbauprodukt **6** erhalten und durch das Acetylderivat **7** ergänzend charakterisiert. Aufgrund der Spektren und gestützt auf die Röntgenstruktur **1** für Rutamycin muss es sich um ein Spiroacetal des 5,11-Dimethyl-15-hydroxymethyl-8-oxo-2,4,10,12-tetrahydroxyheptadecans handeln, das aus dem Bereich C(19) bis C(34) des Rutamycins stammt und die konstitutionelle und konfigurative Übereinstimmung von Rutamycin und Rutamycin B in diesem Molekelteil beweist. Ein Homologes von **6** mit einer zusätzlichen CH_3 -Gruppe an C(9) wurde von Carter [7] als Abbauprodukt des Oligomycins A beschrieben.

Tabelle 1. ^{13}C -NMR-Spektren (75 MHz, CDCl_3) von Rutamycin (1) und Rutamycin B (2)

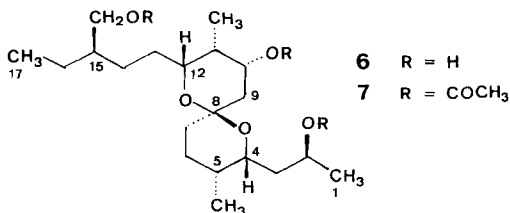
Rutamycin (1)		Rutamycin B (2)		Zuordnung
[ppm]	Multipl. (off-resonance)	[ppm]	Multipl. (off-resonance)	
5,33	<i>q</i>	5,06	<i>q</i>	10 CH_3
8,44	<i>q</i>	8,27	<i>q</i>	
9,41	<i>q</i>	9,58	<i>q</i>	
11,27	<i>q</i>	11,27	<i>q</i>	
12,07	<i>q</i>	12,07	<i>q</i>	
14,10	<i>q</i>	12,79	<i>q</i>	
14,53	<i>q</i>	13,30	<i>q</i>	
17,83	<i>q</i>	13,48	<i>q</i>	
21,27	<i>q</i>	17,79	<i>q</i>	
24,62	<i>q</i>	24,71	<i>q</i>	
26,44	<i>t</i>	26,47	<i>t</i>	8 CH_2
28,51	<i>t</i>	28,49	<i>t</i>	
29,80	<i>t</i>	29,83	<i>t</i>	
30,86	<i>t</i>	30,84	<i>t</i>	
31,30	<i>t</i>	31,21	<i>t</i>	
35,50	<i>t</i>	35,52	<i>t</i>	
38,43	<i>t</i>	37,39	<i>t</i>	
42,44	<i>t</i>	42,58	<i>t</i>	
30,50	<i>d</i>	30,55	<i>d</i>	
33,63	<i>d</i>	33,43	<i>d</i>	
35,37	<i>d</i>	35,19	<i>d</i>	8 bzw. 9 CH
40,23	<i>d</i>	40,11	<i>d</i>	
42,29	<i>d</i>	45,77	<i>d</i> ^{a)}	
45,85	<i>d</i>	45,77	<i>d</i> ^{a)}	
46,10	<i>d</i>	47,29	<i>d</i>	
46,25	<i>d</i>	48,77	<i>d</i>	
–		49,48	<i>d</i>	7 CH–O
64,59	<i>d</i>	64,54	<i>d</i>	
67,47	<i>d</i>	67,40	<i>d</i>	
69,67	<i>d</i>	69,65	<i>d</i>	
70,89	<i>d</i>	70,78	<i>d</i>	
72,57	<i>d</i>	71,02	<i>d</i>	
72,82	<i>d</i>	71,30	<i>d</i>	1 bzw. 0 C–O 1 O–C–O
73,01	<i>d</i>	72,79	<i>d</i>	
83,00	<i>s</i>	–		3 CH=CH
97,28	<i>s</i>	97,26	<i>s</i>	
122,59	<i>d</i>	122,69	<i>d</i>	
129,55	<i>d</i>	129,60	<i>d</i>	
130,47	<i>d</i>	130,39	<i>d</i>	
132,42	<i>d</i>	132,16	<i>d</i>	
137,47	<i>d</i>	137,43	<i>d</i>	1 C=O (Ester)
148,66	<i>d</i>	148,39	<i>d</i>	
164,89	<i>s</i>	164,92	<i>s</i>	2 C=O (Keton)
219,86	<i>s</i>	216,05	<i>s</i>	
220,17	<i>s</i>	221,41	<i>s</i>	

^{a)} 2 überlappende Signale.

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

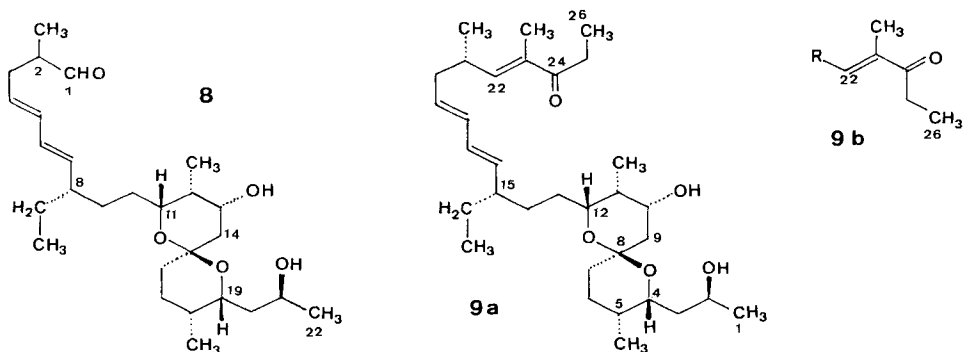
Tabelle 2. CD-Spektren von Rutamycin (1) und Rutamycin B (2) in EtOH ($c = 3,35 \cdot 10^{-5}$ Mol/l); Extremwerte

Rutamycin (1)		Rutamycin B (2)	
λ [nm]	$\Delta\epsilon$	λ [nm]	$\Delta\epsilon$
227	1,49	227	1,92
232	1,69	232	2,26
240 (sh)	0,89	240 (sh)	0,95
292 (br.)	-0,30	ca. 280 (br.)	-0,47



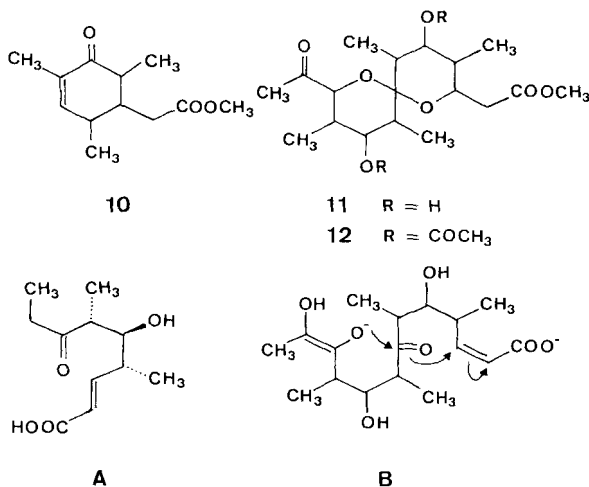
und von Carter [7] formelmässig interpretiert und anschliessend auf Oligomycin A und Oligomycin C angewandt wurde. Rutamycin gab beim Erhitzen mit methanolischer NaOH den schon von Arnoux *et al.* [5] beschriebenen Aldehyd **8** sowie mehrere weitere Abbauprodukte, die alle durch Aldolspaltungen an verschiedenen Stellen der Molekel und durch Hydrolyse der Lactongruppe entstanden waren. Aus Rutamycin B wurde beim analogen Abbau der gleiche Aldehyd **8** erhalten, wodurch zusätzlich die Übereinstimmung mit Rutamycin im Bereich von C(13) bis C(19) mindestens in konstitutioneller Hinsicht festgelegt und die oben abgeleitete konstitutionelle und konfigurative Übereinstimmung von C(20) bis C(34) bestätigt wird. Ein Homologes von **8** mit einer zusätzlichen CH₃-Gruppe an C(14) ist als Abbauprodukt von Oligomycin A bekannt [7].

Als zweites neutrales Abbauprodukt wurde beim Rutamycin B ein Keton erhalten, dessen Entstehung beim Rutamycin nicht beobachtet wurde. Wie der Aldehyd **8** enthält dieses Produkt aufgrund der Spektren das Spiroacetalssystem und die konjugierte Diengruppe. Die Verbindung ist aber gemäss MS und ¹³C-NMR-Spektrum um 5 C-Atome grösser als **8** und enthält anstelle der Aldehydgruppe eine α,β -ungesättigte Ketonfunktion. Die Spektren sind in Übereinstimmung mit der Strukturformel **9**. Das Produkt ist demnach durch eine Aldolspaltung zwischen C(9) und C(10) und eine β -Elimination der OH-Gruppe an C(13) von Rutamycin B entstanden, die in analoger



Weise auch beim Oligomycin C (= 12-Desoxyoligomycin A) beobachtet wurde, dessen alkalische Spaltung zu einem Homologen von **9** mit einer CH_3 -Gruppe an C(9) geführt hatte [7]. Das Keton **9** zeigt im IR eine zweifache Carbonylabsorption bei 1720 und 1670 cm^{-1} , ein Anzeichen dafür, dass die beiden Konformeren **9a** und **9b** in vergleichbaren Anteilen in einem Gleichgewicht vorliegen [9]. In den NMR-Spektren ist wegen der raschen Gleichgewichtseinstellung keine Aufspaltung zu beobachten.

Aus der Säurefraktion des basischen Abbaus von Rutamycin und von Rutamycin B wurde nach der Veresterung mit Diazomethan der (2,4,6-Trimethyl-5-oxo-3-cyclohexenyl)essigsäure-methylester (**10**) erhalten, dessen MS und $^1\text{H-NMR}$ mit denen eines Produktes übereinstimmen, das beim gleichartigen Abbau der Oligomycine A, B und C erhalten worden war [7]. Eine plausible Erklärung über die Bildung dieser Verbindung aus den C-Atomen 1 bis 8 der Oligomycine durch eine *Michael*-Cyclisierung des hypothetischen primären Spaltproduktes A diskutiert *Carter* [7]. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **10** aus den Rutamycinen zeigt, dass vorwiegend eine Verbindung vorliegt, die von geringeren Mengen von 2 bis 3 Diastereomeren begleitet ist (vgl. [7]).



Nur aus Rutamycin, nicht aber aus Rutamycin B, wurde ein zweiter Methylester **11** erhalten. Die Spektren des Esters stimmen in wesentlichen Zügen überein mit denen eines Abbauproduktes aus Oligomycin A [7]. Insbesondere das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigt, dass ein Gemisch von Diastereomeren vorliegt, das wahrscheinlich in der prozentualen Zusammensetzung etwas abweicht von demjenigen, das *Carter* aus Oligomycin A erhalten hatte. Nach der Acetylierung zu **12** konnte dagegen durch präp. DC ein Produkt isoliert werden, in dem ein Diastereomer stark vorherrscht, und das sich recht gut für die spektroskopische Charakterisierung eignet. Die Bildung von **11** aus dem Bereich C(1) bis C(12) der Oligomycine über ein primäres Aldol-Spaltprodukt **B** durch eine intramolekulare *Michael*-Addition wird von *Carter* [7] eingehend diskutiert.

Durch die gemeinsamen Abbauprodukte **6**, **8** und **10** sind alle C-Atome ausser C(9) von Rutamycin und Rutamycin B durch grössere gemeinsame Spaltstücke miteinander verknüpft. Dass das durch die Abbauprodukte nicht erfasste C(9) wie beim Rutamycin einer sekundären Alkoholgruppe angehört, ergibt sich aus den Aldolspaltungen, die

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

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

a) Polyoxin-empfindlich.

b) Polyoxin-resistent.

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

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

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

Experimenteller Teil

Allgemeines. S. [10].

Isolierung und Charakterisierung von Rutamycin B (2). – Eine Fraktion (5 g), die bei der chromatographischen Reinigung von Venturicidin A vor dem letzteren eluiert worden war [2] und vorwiegend Rutamycin B enthielt, gab bei der nochmaligen Chromatographie an 150 g Kieselgel mit AcOEt/CHCl₃ 1:1 als Eluierungsmittel neben Mischfraktionen 330 mg reines Rutamycin B als farbloses amorphes Pulver. $[\alpha]_D^{20} = -70,0^\circ$ ($c = 1,22$, CHCl₃). CD: s. Tab. 2. UV (EtOH): 220 sh (4,49), 225 (4,52), 232 (4,49), 240 sh (4,28), 295 br. sh (2,53). IR (KBr): 3490 br., 2980s, 2930s, 2890m, 2860m, 1705s, 1690m, 1460m, 1380m, 1337w, 1305 sh, 1278s, 1245w, 1228w, 1188m, 1170 sh, 1130w, 1095 br. m, 1056w, 1045w, 1015 sh, 987s, 975s, 880w, 870w, 843w. ¹H-NMR (300

MHz, CDCl_3): 0,83 (*d*, $J = 7$, 3H); 0,84 (*t*, $J = 7,5$, 3H); 0,89 (*d*, $J = 7$, 3H); 0,93 (*d*, $J = 7$, 6H); 1,07 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,11 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,19 (*d*, $J = 6,5$, 3H); 1,24 (*d*, $J = 6,5$, 3H); 1,25 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,2–1,9 (*m*, *ca.* 18H); 2,02–2,23 (*m*, 4H); 2,39 (*m*, 1H); 2,71 (*dq*, $J_d = 8,5$, $J_q = 7$, 1H); 2,82–2,89 (*m*, 2H); 3,78–3,86 (*m*, 3H); 4,0–4,1 (*m*, 3H); 5,26–5,34 (*m*, 2H); 5,48 (*ddd*, $J_1 = 4$, $J_2 = 11$, $J_3 = 15$, 1H); 5,83 (*d*, $J = 16$, 1H); 5,96 (*dd*, $J_1 = 10$, $J_2 = 15$, 1H); 6,08 (*dd*, $J_1 = 10$, $J_2 = 15$, 1H); 6,64 (*dd*, $J_1 = 10$, $J_2 = 16$, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): s. *Tab. I* FAB-MS: 761 ($M + H$)⁺ für $\text{C}_{44}\text{H}_{72}\text{O}_{10}$. Antifungische Wirkung: s. *Tab. 3*.

Tetraacetylrutamycin B (3). Herstellung mit Ac_2O und Pyridin (20 Std., RT.). Nach chromatographischer Reinigung an Kieselgel farbloßes amorphes Pulver. IR (KBr): 1740, 1720, 1650. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 2,02–2,06 (4s, je 3H); 5,00–5,14 (*m*, 4H), im übrigen nur geringfügige Abweichungen gegenüber 2.

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

Tetraacetylrutamycin (4). R_f 0,59. IR (KBr): 3700–3200, 1740, 1720, 1650. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 2,02–2,06 (4s, je 3H); 5,00–5,14 (*m*, 4H), übrige Signale wie beim Rutamycin.

Pentaacetylrutamycin (5). R_f 0,68. IR (KBr): 1740, 1720, 1650. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 2,00–2,06 (5s, je 3H); 5,00–5,14 (*m*, 4H), übrige Signale wie beim Rutamycin.

Abbau von Rutamycin B und von Rutamycin mit Ozon. – Durch eine Lösung von 400 mg Rutamycin B in 40 ml CH_2Cl_2 wurde bei -78° während 45 Min. ein O_3 -haltiger O_2 -Strom durchgeleitet. Nach dem Vertreiben des überschüssigen O_3 mit O_2 wurde die Lösung in kleinen Portionen zu 300 mg NaBH_4 in 40 ml THF gegeben und über Nacht bei RT. gerührt. Nach dem Eindampfen i.V. wurde der Rückstand mit 30 ml H_2O aufgeschlämmt und das überschüssige Reduktionsmittel mit wenig verd. HCl zersetzt. Darauf wurde mit CHCl_3 ausgeschüttelt, mit H_2O gewaschen und nach dem Trocknen (Na_2SO_4) eingedampft.

2-[3-(Hydroxymethyl)pentyl]-8-(2-hydroxypropyl)-3,9-dimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undecan-4-ol (6). Nach der Reinigung an Kieselgel mit $\text{AcOEt}/\text{CHCl}_3$ 1:1 wurden 90 mg 6 als farbloses amorphes Pulver erhalten. DC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 14:1): R_f 0,34, einheitlich. $[\alpha]_D = -88,6^\circ$ ($c = 1,10$, CHCl_3). IR (KBr): 3400 br., kein C=O . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 0,85 (*d*, $J = 7$, 3H); 0,92 (*t*, $J = 7,5$, 3H); 0,93 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,22 (*d*, $J = 6,5$, 3H); 1,2–1,8 (*m*, *ca.* 15H); 1,87 (*m*, 1H); 2,0–2,3 (*m*, 4H); 3,51 (*dd*, $J_1 = 5,5$, $J_2 = 11$, 1H); 3,66 (*dd*, $J_1 = 4,5$, $J_2 = 11$, 1H); 3,72 (*ddd*, $J_1 = 2$, $J_2 = 5$, $J_3 = 8$, 1H); 4,01 (*m*, 1H); 4,08 (*dt*, $J_d = 11$, $J_t = 2,5$, 1H); 4,18 (*dt*, $J_d = 12$, $J_t = 5$, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): 4,01 (*q*); 11,26 (*q*); 11,42 (*q*); 23,42 (*t*); 24,59 (*q*); 26,57 (*t*); 26,67 (*t*); 29,08 (*t*); 29,80 (*t*); 30,79 (*d*); 37,77 (*d*); 39,00 (*t*); 42,00 (*d*); 42,39 (*t*); 64,41 (*t*); 64,61 (*d*); 67,27 (*d*); 67,42 (*d*); 71,29 (*d*); 97,46 (*s*). MS: 359 (1,5, $M + H$), 341 (7), 323 (2), 270 (13), 252 (3, 5), 239 (3), 231 (10), 228 (20), 210 (26), 199 (9), 195 (10), 171 (74), 170 (100).

Acetylderivat 7 (= Essigsäure-{2-[3-(Acetoxymethyl)pentyl]-8-acetoxypentyl-3,9-dimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undec-4-yl}ester). Das aus 30 mg 6 mit je 2 ml Ac_2O und Pyridin (20 Std., RT.) bereitete Acetylderivat 7 wurde durch präp. DC gereinigt ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 14:1) und gab 30 mg farbloses viskoses Öl. IR (CHCl_3): 1730 br., kein OH. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 0,83 (*d*, $J = 7$, 3H); 0,92 (*t*, $J = 8$, 3H); 0,93 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,25 (*d*, $J = 6$, 3H); 1,3–1,8 (*m*, *ca.* 12H); 1,86 (*dd*, $J_1 = 5$, $J_2 = 12,5$, 1H); 2,02 (*s*, 3H); 2,03 (*s*, 3H); 2,07 (*s*, 3H); 3,62 (*ddd*, $J_1 = 2$, $J_2 = 6$, $J_3 = 8$, 1H); 3,75 (*ddd*, $J_1 = 2,5$, $J_2 = 5$, $J_3 = 9$, 1H); 4,00 (*d*, $J = 6$, 2H); 4,98 (*m*, 1H); 5,24 (*dt*, $J_d = 12$, $J_t = 5$, 1H). MS: 484 (0,5, M^+), 424 (0,8), 364 (2), 354 (3), 294 (7), 281 (2), 252 (47), 237 (7), 212 (45), 192 (17), 152 (22), 137 (10), 134 (11), 109 (60). Das gleiche Abbauprodukt 6 wurde in ähnlicher Ausbeute erhalten, wenn 400 mg Rutamycin (1) in gleicher Weise abgebaut wurden (DC, IR, $^1\text{H-NMR}$, MS, $[\alpha]_D$; IR, $^1\text{H-NMR}$ und MS des Acetylierungsproduktes 7).

Abbau der Rutamycine mit NaOH. – *Rutamycin*. In einer Lösung von 4 ml 1N NaOH in 30 ml MeOH wurden 400 mg Rutamycin 2 Std. unter Rückfluss erwärmt. Nach dem Eindampfen i.V. wurde der Rückstand in 10 ml H_2O aufgenommen und nach Zugabe von 3 mg 2,6-Di(*tert*-butyl)-*p*-kresol mit CHCl_3 ausgezogen. Die Säuren wurden durch Ausschütteln mit 5-proz. NaHCO_3 abgetrennt und die CHCl_3 -Phase nach dem Waschen und Trocknen (Na_2SO_4) i.V. eingedampft. Das Produkt wurde durch präp. DC gereinigt und gab 55 mg amorphes farbloses Pulver.

8-Äthyl-10-{4-hydroxy-8-(2-hydroxypropyl)-3,9-dimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undec-2-yl}-4,6-decadien-1-al (8). DC ($\text{AcOEt}/\text{CHCl}_3$ 2:1): R_f 0,43, einheitlich, $[\alpha]_D = -42^\circ$ ($c = 1,10$, CHCl_3). UV (EtOH): 226 (4,22), 232 (4,23), 240 sh (4,08). IR (CHCl_3): 3600, 3450 br., 1723, 1690, 1680. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 0,83 (*d*, $J = 7$, 3H); 0,84 (*t*, $J = 7,5$, 3H); 0,94 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,12 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,24 (*d*, $J = 6,5$, 3H); 1,2–2,3 (*br. m. ca.* 20H); 2,46 (*m*, 1H); 3,68 (*ddd*, $J_1 = 2$, $J_2 = 5$, $J_3 = 6,5$, 1H); 4,01 (*m*, 2H); 4,15 (*dt*, $J_d = 12$, $J_t = 5$, 1H); 5,37 (*ddd*, $J_1 = 9$, $J_2 = 15$, 1H); 5,48 (*dt*, $J_d = 15$, $J_t = 7$, 1H); 5,9–6,15 (*m*, 2H); 9,66 (*d*, $J = 1,5$, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): 4,07 (*q*); 11,33 (*q*); 11,73 (*q*); 13,14 (*q*); 24,08 (*q*); 26,47 (*t*); 27,80 (*t*); 29,83 (*t*); 30,31 (*t*); 30,64

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

(2,4,6-Trimethyl-5-oxo-3-cyclohexenyl)essigsäure-methylester (**10**). Die sauren Abbauprodukte aus dem NaHCO_3 -Auszug wurden durch Ansäuern mit konz. HCl und Extraktion mit Et_2O gewonnen. Nach dem Einengen der Lösung auf ca. 25 ml wurde mit CH_2N_2 -Lösung versetzt und nach einigen Min. i.V. eingetrocknet. Durch präp. DC wurden die beiden Hauptprodukte voneinander getrennt. Es wurden 12 mg **10** als blass gelbliches Öl erhalten. DC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 14:1): R_f 0,75, einheitlich. UV (EtOH): 234 (4,25). IR (CHCl_3): 1735, 1673, kein OH. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 1,08 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,17 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,2–1,3 (*m*, 1H); 1,76 (*s*, 3H); 2,3–2,6 (*m*, 3H); 2,69 (*m*, 1H); 3,68 (*s*, 3H); 6,43 (*br. s*, 1H). Das Spektrum enthält zahlreiche kleinere Signale von Diastereomeren von **10**. MS: 210 (9, M^+), 179 (6), 151 (5), 149 (9), 137 (48), 136 (73), 121 (14), 109 (13), 96 (100).

(8-Acetyl-4,10-dihydroxy-3,5,9-trimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undec-2-yl)essigsäure-methylester (**11**). Der zweite durch präp. DC abgetrennte Methylester (R_f 0,51) gab nach dem Eluieren und Eindampfen i.V. 25 mg glasartiges Produkt, gemäss NMR ein Gemisch von Diastereomeren (vgl. [7]). IR (CHCl_3): 3600, 3450 *br.*, 1730 *br.* $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): 11,17 (*q*); 11,33 (*q*); 11,90 (*q*); 13,42 (*q*); 29,7 (*t*); 31,18 (*q*); 37,90 (*d*); 38,13 (*d*); 42,23 (*d*); 42,83 (*d*); 52,09 (*q*); 71,11 (*d*); 72,67 (*d*); 73,84 (*d*); 75,33 (*d*); 104,21 (*s*); 172,00 (*s*); 209,16 (*s*). Folgende Signale von deutlich geringerer Intensität eines Diastereomeren von **11** sind gut erkennbar: 51,73 (*q*); 104,69 (*s*); 171,80 (*s*) sowie zahlreiche Signale in den Bereichen 10–40 und 60–80 ppm. Durch Acetylierung von 20 mg **11** mit 1 ml Ac_2O und 0,5 ml Pyridin (12 Std., RT.) und präp. DC des Rohproduktes wurden 9 mg Acetylderivat **12** (= (4,10-Diacetoxy-8-acetyl-3,5,9-trimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undec-2-yl)essigsäure-methylester) erhalten, in dem ein Diastereomeres stark vorherrschte. DC ($\text{AcOEt}/\text{CHCl}_3$ 1:1) R_f 0,66 (Nebenkomponente) und 0,76 (Hauptkomponente). IR (CHCl_3): 1730 *br.*, kein OH. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 0,84 (*d*, $J = 6,5$, 3H); 0,90 (*d*, $J = 7$, 3H); 0,95 (*d*, $J = 7,5$, 3H); 1,00 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,0–2,0 (*br. m*); 2,06 (*s*, 3H); 2,08 (*s*, 3H); 2,28 (*dd*, $J_1 = 3,5$, $J_2 = 16$, 1H); 2,34 (*s*, 3H); 2,61 (*dd*, $J_1 = 10$, $J_2 = 16$, 1H); 3,70 (*m*, 1H); 3,74 (*s*, 3H); 4,07 (*d*, $J = 11$, 1H); 4,86 (*m*, 2H). Dazu Signale von ca. 4 mal geringerer Intensität eines Diastereomeren. MS: 414 (0,5, M^+), 399 (1), 339 (20), 291 (2), 279 (24), 252 (4), 247 (3), 229 (3, 5), 212 (5), 205 (4), 199 (4), 169 (10), 154 (17), 137 (13), 125 (31), 109 (18), 97 (20), 95 (28), 85 (11), 83 (19), 81 (20), 69 (31), 57 (28), 55 (40), 43 (100).

Abbau von Rutamycin B. In gleicher Weise wurden 820 mg Rutamycin B abgebaut. Der Neutralteil bestand aus 2 Hauptkomponenten, die durch präp. DC ($\text{AcOEt}/\text{CHCl}_3$ 2:1) getrennt wurden. Die Verbindung mit dem kleineren R_f -Wert (84 mg) stimmte in allen Eigenschaften (R_f , $[\alpha]_D$, IR, $^1\text{H-NMR}$, MS) mit dem oben beschriebenen Aldehyd **8** überein. Die zweite, 26 mg glasartige Substanz, war beim Abbau des Rutamycins nicht beobachtet worden: 12-Äthyl-14-{4-hydroxy-8-(2-hydroxypropyl)-3,9-dimethyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undec-2-yl}-4,6-dimethyl-3-tetradecanon (**9**). UV (EtOH): 226 (4,21), 231 (4,20), 238 *sh* (4,11). IR (CHCl_3): 3620, 3480 *br.*, 1720, 1670. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 0,82 (*d*, $J = 7$, 3H); 0,84 (*t*, $J = 7,5$, 3H); 0,94 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,05 (*d*, $J = 7$, 3H); 1,10 (*t*, $J = 7,5$, 3H); 1,24 (*d*, $J = 6,5$, 3H); 1,79 (*d*, $J = 1$, 3H); 1,1–2,7 (*br. m*); 2,68 (*m*, 2H); 3,68 (*m*, 1H); 4,02 (*m*, 2H); 4,16 (*dt*, $J_d = 11,5$, $J_t = 5$, 1H); 5,35 (*dd*, $J_1 = 9$, $J_2 = 15$, 1H); 5,48 (*dt*, $J_d = 15$, $J_t = 7$, 1H); 5,94 (*dd*, $J_1 = 10$, $J_2 = 15$, 1H); 6,10 (*dd*, $J_1 = 10$, $J_2 = 15$, 1H); 6,39 (*d*, $J = 9,5$, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): 4,08 (*q*); 8,98 (*q*); 11,36 (*q*); 11,66 (*q*); 11,75 (*q*); 19,67 (*q*); 24,14 (*q*); 26,52 (*t*); 27,86 (*t*); 29,86 (*t*); 30,36 (*t*); 30,46 (*t*); 30,72 (*d*); 31,57 (*t*); 33,94 (*d*); 38,07 (*d*); 38,93 (*t*); 39,75 (*t*); 42,02 (*t*); 44,72 (*d*); 65,09 (*d*); 67,43 (*d*); 67,56 (*d*); 71,13 (*d*); 97,43 (*s*); 128,63 (*d*); 130,03 (*d*); 132,52 (*d*); 135,51 (*s*); 137,40 (*d*); 147,14 (*d*); 203,00 (*s*). MS: 519 (4, $M + \text{H}$), 501 (24), 483 (1,5), 433 (5), 393 (9), 375 (48), 357 (11), 291 (9), 265 (6), 245 (8), 211 (36), 203 (35), 199 (22), 193 (35), 171 (44), 165 (26), 153 (36), 147 (20), 135 (30), 126 (100), 121 (46), 109 (48), 95 (66), 81 (37), 79 (36), 67 (42), 55 (60), 43 (66), 29 (16).

In den Säurefraktionen des Abbaus von Rutamycin B konnte nach der Veresterung mit CH_2N_2 nur ein Hauptprodukt nachgewiesen werden. Nach der Reinigung mit präp. DC erwies es sich als identisch mit dem Abbauprodukt **10** aus Rutamycin (DC, IR, $^1\text{H-NMR}$, MS).

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

LITERATURVERZEICHNIS

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