

Gruppen (z. B. Carboxylgruppen) handeln, die entweder zu den Membranmolekülen selbst oder zu dem am Axolemm zurückgebliebenen Axoplasmaeiweiss gehören. Die ausführliche Beschreibung der in Betracht gezogenen Hypothesen würde den Rahmen dieser Darstellung überschreiten; es ist jedoch ohne weiteres verständlich, dass die durch derartige Arbeitshypothesen angeregten weiteren Versuche möglicherweise genauere Auskunft über die physikalisch-chemische Beschaffenheit der die Membran aufbauenden Moleküle geben könnten.

Überblicken wir die bis jetzt vorliegenden Untersuchungen am perfundierten Riesenaxon, so stellen wir fest, dass sie die Richtigkeit der bisherigen theoretischen Vorstellungen über die Bedeutung der Membran,

das Zustandekommen des Ruhepotentials und die Entstehung des Aktionspotentials vollauf bestätigen. Sie führten darüber hinaus in der jüngsten Zeit zu neuartigen Befunden und Hypothesen, die einen hoffnungsvollen Ansatzpunkt zur Aufklärung der dem Erregungsvorgang zugrunde liegenden Veränderungen der Membranmoleküle bilden, die uns heute noch unbekannt sind.

Summary. The recently developed 'perfused nerve fibre technique', which consists of perfusing the interior of a squid giant fibre with artificial solutions, is described. The experimental results obtained with various perfusion fluids are discussed in relation to the theory of nerve excitation.

Die Synthese des Novobiocins*

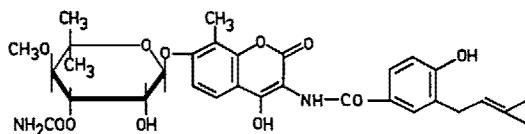
Von B. P. VATERLAUS**, K. DOEBEL, J. KISS, A. I. RACHLIN und H. SPIEGELBERG

Zu einem Zeitpunkt, in dem die Staphylokokkenresistenz gegen Penicillin zu einem bedeutenden Problem wurde, musste die Entdeckung eines neuen Antibiotikums, das in besonderem Masse gegenüber diesen Bakterienarten wirksam ist, grösserem Interesse begegnen.

WALLICK et al.¹ berichteten über die Isolierung und Kultivierung eines neuen Actinomycetenstammes, den sie als *Streptomyces sphaeroides* n. sp. charakterisierten. Die Spezies lieferte ein unbekanntes, kristallines Antibioticum, das als Cathomycin bekannt wurde. In seinem mikrobiologischen Verhalten² entsprach das Cathomycin einem gleichzeitig durch LIN und CORIELL³ aufgefundenen Antibioticum, das sie nach der Spezies *Streptomyces niveus* Streptonivicin nannten. Die Identität der beiden neu aufgefundenen Verbindungen war wahrscheinlich und wurde später durch einen Austausch bestätigt⁴. Kurz darauf stellte es sich heraus, dass ein weiteres Antibioticum, Cardelmycin, mit der Bezeichnung PA-93, mit Cathomycin und Streptonivicin identisch war⁵.

Das aus verschiedenen Quellen stammende Antibioticum erhielt, einem späteren Übereinkommen entsprechend, den neuen Namen Novobiocin⁶.

Die Voraussetzungen für die Synthese des Novobiocins waren 1958 gegeben. Zwei Arbeitsgruppen hatten sich erfolgreich mit der Strukturaufklärung befasst. Die Arbeiten von FOLKERS et al.⁷ sowie HINMAN, CARON und HOEKSEMA⁸ führten in unabhängiger Art zu folgender Strukturformel für Novobiocin:



Die im Novobiocin enthaltene Zuckerkomponente, die 3-O-Carbamoyl-noviose, ist zum ersten Mal in der Natur beobachtet worden. Sie ist eine 3-O-Carbamoyl-5,5-di-C-methyl-4-O-methyl-L-lyxopyranose^{7,8}. Die Bestimmung der Konfiguration^{7,9-11} stützte sich zum Teil auf Regeln der optischen Rotation. Es war daher wünschenswert, die Stereochemie chemisch zu beweisen. Dazu eignete sich ein Derivat der Noviose, die

* Chemische Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel.

** Vortrag Dr. B. P. VATERLAUS, gehalten an der Gordon Research Conference on Steroids and other Natural Products, 16.-20. Juli 1962, New Hampton, N.H., USA, und vor der Basler Chemischen Gesellschaft, 8. November 1962. Im Auszug: H. SPIEGELBERG, *Synthèse du 3-O-carbamoylnoviose, sucre de la novobiocine*, Symposium international de chimie organique, Bruxelles, 15. Juni 1962; J. Kiss, *The Synthesis of Noviose and Allied Compounds*, Birkbeck College (Univ. London), 23. Oktober 1962. Der vorliegende Aufsatz ist Gegenstand von Detailpublikationen in den Helv. chim. Acta, in Vorbereitung (1963).

¹ H. WALLICK, D. A. HARRIS, M. A. REAGAN, M. RUGER und H. B. WOODRUFF, *Antibiotics Annual 1955-56*, 909.

² M. FINLAND, *Antibiotics Annual 1955-56*, 929.

³ F. K. LIN und L. L. CORIELL, *Antibiotics Annual 1955-56*, 634.

⁴ H. WELCH und W. W. WRIGHT, *Antibiotics and Chemotherapy* 5, 670 (1955).

⁵ G. ROLLAND et al., *Farmaco [Pavia] Ediz. sci.* 1, 549 (1956), berichteten am IX. Kongress der Mikrobiologie in Palermo (April 1956) ebenfalls über eine neue Streptomycesgattung. Das Antibioticum, S-800, das dieser Mikroorganismus produzierte, erwies sich in der Folge als identisch mit Novobiocin.

⁶ *Antibiot. Med.* 2, 172 (1956).

⁷ C. H. SHUNK, C. H. STAMMER, E. A. KACZKA, E. WALTON, C. F. SPENCER, A. N. WILSON, J. W. RICHTER, F. W. HOLLY und K. FOLKERS, *J. Amer. chem. Soc.* 78, 1770 (1956).

⁸ J. W. HINMAN, E. L. CARON und H. HOEKSEMA, *J. Amer. chem. Soc.* 79, 3789 (1957).

⁹ E. WALTON, J. O. RODIN, F. W. HOLLY, J. W. RICHTER, C. H. SHUNK und K. FOLKERS, *J. Amer. chem. Soc.* 82, 1489 (1960).

¹⁰ E. WALTON, J. O. RODIN, C. H. STAMMER, F. W. HOLLY und K. FOLKERS, *J. Amer. chem. Soc.* 78, 5454 (1956).

¹¹ H. HOEKSEMA, E. L. CARON und J. W. HINMAN, *J. Amer. chem. Soc.* 78, 2019 (1956).

5-O-Methyl-novionsäure¹², die durch Synthese über mehrere Stufen aus dem Methyl-2,3-O-isopropyliden-L-rhamnofuranosid¹³ zugänglich war.

Das Aglycon, die Novobiocinsäure, wurde auf Grund der Abbaureultate als das Amid der 3-Iso-pentenyl-4-hydroxy-benzoësäure^{7,14} mit 3-Amino-4,7-dihydroxy-8-methyl-cumarin^{7,15} erkannt und in der Folge aus diesen beiden Komponenten, die synthetisiert wurden, durch Verknüpfung mit der 7-Hydroxygruppe, hergestellt¹⁶.

Beim Beginn unserer Arbeit im Frühjahr 1958 war die einzige ungelöste Frage in der Konstitution des Novobiocins diejenige der Stereochemie der Glycosidbindung. Diese wurde dann mit Hilfe der Regel der Isorotation nach HUDSON¹⁷ durch Vergleich der molaren Drehwerte der bekannten Methylnovioside und des Descarbamoylnovobiocins bestimmt und vor dem Abschluss der Synthese durch dieselbe Methode anhand der beiden isolierten Methyl-3-O-carbamoyl-novioside⁹ und des Novobiocins bestätigt. Novobiocin weist danach die α -Konfiguration auf.

Die vollständige Information über die Struktur des Moleküls erlaubte es nun, die Synthese zu planen. Sie wurde mit der Synthese der 3-O-Carbamoyl-noviose begonnen. Zu diesem Zweck sah man sich nach strukturell verwandten Zuckern um. Bei eingehender Prüfung erwies sich die D-Glucose als geeignetstes Ausgangsmaterial. Dieser Zucker wurde, wie es sich später herausstellte, auch von der Natur in die Biosynthese¹⁸ des Novobiocins einbezogen. Die Wahl der D-Glucose als Ausgangsmaterial für die 3-O-Carbamoyl-noviose verlangt deren Korrelation in sterischer Hinsicht. Die molekularen Veränderungen, die notwendig sind, gehen aus der Gegenüberstellung der Fischerschen Projektionsformeln hervor.

Als Ausgangsmaterial für unsere Synthese diente ein in der Literatur bereits beschriebenes Derivat der 2-O-Methyl-D-glucose, das von WEYGAND und TRAUTH synthetisierte Gemisch der beiden Methyl-3,5,6-tri-O-benzyl-2-O-methyl-D-glucofuranoside (1)¹⁹. Die Hydrolyse des Anomerengemisches 1 verursachte die ersten Schwierigkeiten. Die bekannte Säurelabilität der Me-

thyldglucofuranoside fand sich hier nicht vor. Unter Einhaltung genauer Bedingungen gelang es aber, 1 zu hydrolysieren und den freien Zucker 2 in der Folge direkt mit positiven Brom liefernden Reagenzien zum 3,5,6-Tri-O-benzyl-2-O-methyl-D-glucono- γ -lacton (3) zu oxydieren. Die Substanz, die als Öl erhalten wurde, zeigte im IR-Spektrum eine Carbonylbande bei 1788 cm⁻¹, aus der die γ -Lactonstruktur hervorging.

Die Verbindung 3 genügte den Erfordernissen zum Studium der Waldenschen Umkehrung der Hydroxylgruppe an C-4. Von den Möglichkeiten, die sich boten, führte die aminolytische Öffnung des Lactonringes in 3 mit Methylamin in alkoholischer Lösung unter Bildung des N-Methylamids der 3,5,6-Tri-O-benzyl-2-O-methyl-D-gluconsäure (4) in der Folge zum Ziel. Denn aus 4 konnte unter schonenden Bedingungen leicht das gut kristallisierende 3,5,6-Tri-O-benzyl-4-O-mesyl-2-O-methyl-D-gluconsäure-N-methylamid (5) hergestellt werden. Die präparative Bedeutung dieser Substanz ergibt sich aus der Beobachtung, dass durch Erwärmen in Essigsäure das 3,5,6-Tri-O-benzyl-2-O-methyl-D-galactono- γ -lacton (6)²⁰ entsteht. Das anfallende Produkt erwies sich von praktisch optischer Reinheit und war durch eine Carbonylbande bei 1799 cm⁻¹ als γ -Lacton gekennzeichnet.

¹² E. WALTON, J. O. RODIN, C. H. STAMMER, F. W. HOLLY und K. FOLKERS, J. Amer. chem. Soc. 80, 5168 (1958).

¹³ P. A. LEVENE und J. COMPTON, J. Amer. chem. Soc. 57, 2306 (1935); J. biol. Chem. 116, 169 (1936).

¹⁴ H. HOEKSEMA, J. L. JOHNSON und J. W. HINMAN, J. Amer. chem. Soc. 77, 6710 (1955).

¹⁵ J. W. HINMAN, H. HOEKSEMA, E. L. CARON und W. G. JACKSON, J. Amer. chem. Soc. 78, 1072 (1956).

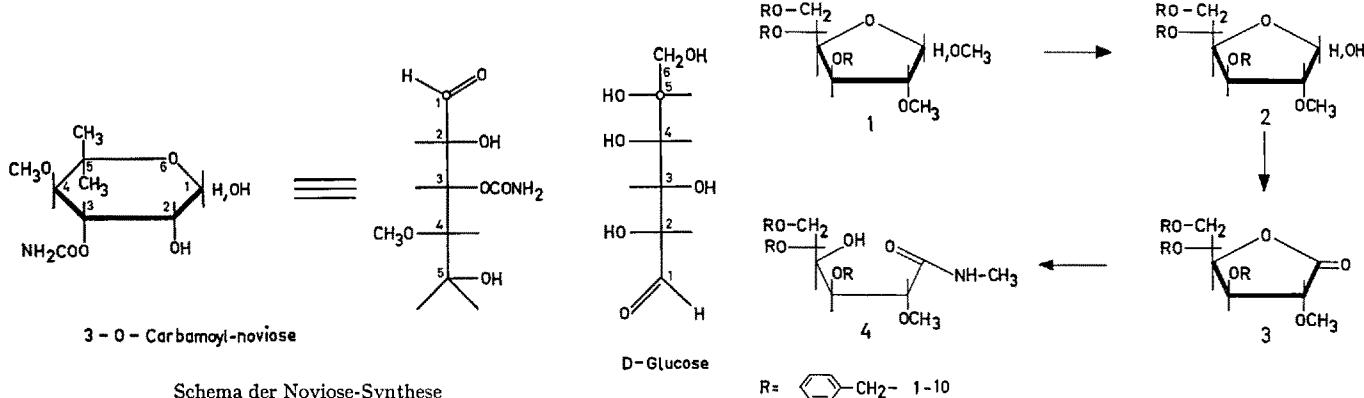
¹⁶ C. F. SPENCER, J. O. RODIN, E. WALTON, F. W. HOLLY und K. FOLKERS, J. Amer. chem. Soc. 80, 140 (1958).

¹⁷ C. S. HUDSON, J. Amer. chem. Soc. 31, 66 (1909).

¹⁸ A. J. BIRCH, P. W. HOLLOWAY und R. W. RICKARDS, Biochim. biophys. Acta 57, 143 (1962).

¹⁹ F. WEYGAND und O. TRAUTH, Chem. Ber. 85, 57 (1952).

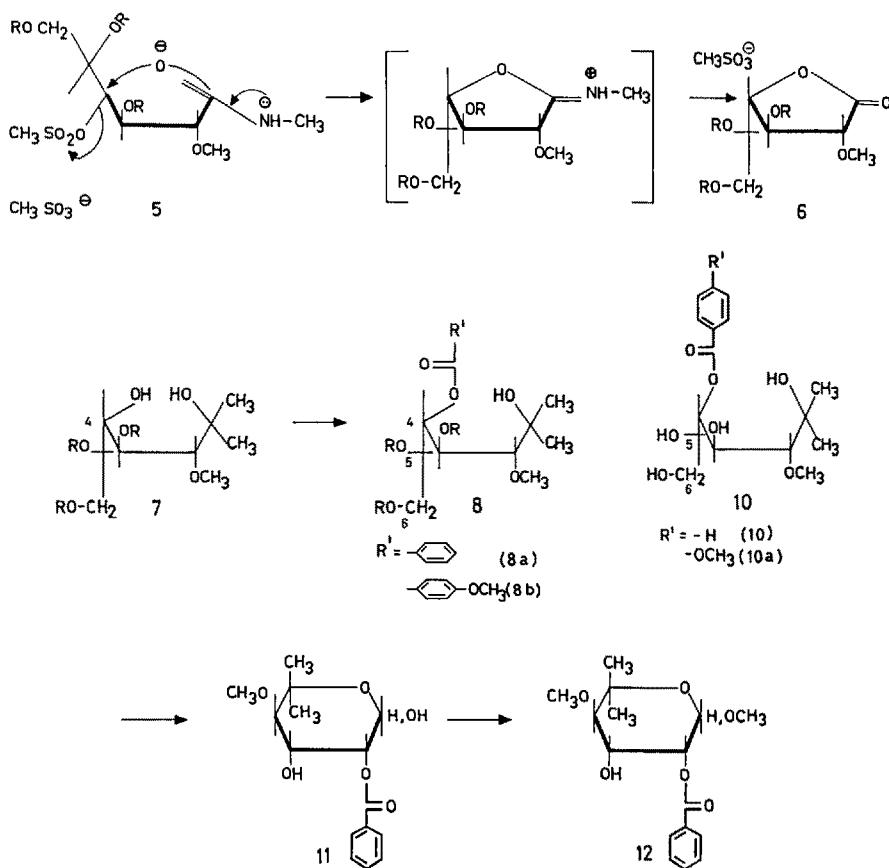
²⁰ Die Konfiguration an C-3 in 6 geht aus der Hudson-Lactonregel hervor (C. S. HUDSON, J. Amer. chem. Soc. 32, 338 (1910); 61, 1525 (1939)). Das 3,5,6-Tri-O-benzyl-2-O-methyl-D-galactono- γ -lacton (6) zeigt eine spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = -47^\circ$ ($c = 1\%$, CHCl₃), während das 3,5,6-Tri-O-benzyl-2-O-methyl-D-glucono- γ -lacton (3) ein $[\alpha]_D^{20} = +20^\circ$ ($c = 1\%$, CHCl₃) aufweist.



Dieser Typ einer Solvolysereaktion²¹ ist von einem Interesse für die präparative Waldensche Umkehrung von Hydroxylgruppen in Zuckern. Mit Hilfe der Sequenz: Lacton-N-Methylamid-Mesylat-Lacton und der nachfolgenden Reduktion der Lactone kann man schwerer zugängliche Hexosen und Pentosen in annehmbaren Ausbeuten erhalten. Orientierende Arbeiten²² über diese Reaktionsfolge zeigten, dass ihr nicht nur γ -Lactone, sondern auch δ -Lactone zugänglich sind. Dadurch werden Hexosen der schwerer zugänglichen L-Serie durch entsprechende Wahl aus Zuckern der D-Serie herstellbar. Als Ausgangsmaterialien für diese Umwandlungen können sowohl die Methylfuranoside als auch die Methylpyranoside dienen.

wendig sind, nicht auf ein frei werdendes Hydroxyl wandern, damit sich die für die oxydative Eliminierung des Kohlenstoffatoms 6 vorgesehene Glycolspaltung durchführen lässt. Diese Reaktion führt zu einer die Schutzgruppe tragenden Noviose, in der das freie Hydroxyl mit einer Carbamatgruppe verestert werden muss. Die Schutzgruppe musste daher auch in Gegenwart der Urethanfunktion selektiv entfernt sein.

Acylierung mit aliphatischen Säuren war nicht geeignet. Die Acetylierung der sekundären Hydroxylgruppe in der Verbindung 7 und anschliessende Hydrogenolyse der Benzyläther führte zum 6-Acetoxy-1,1-di-C-methyl-2-O-methyl-D-galactit (9)²⁴. Es fand also nach dem Prinzip der Umesterung die bevorzugte



Für die weiteren Umwandlungen, die zur Noviose führten, war das 3,5,6-Tri-O-benzyl-2-O-methyl-D-galactono- γ -lacton (6) die geeignete Substanz. Die Grignardreaktion²³ mit Methylmagnesiumbromid erlaubte die Einführung der geminalen Methylgruppen, die sich im IR-Spektrum des 3,5,6-Tri-O-benzyl-1,1-di-C-methyl-2-O-methyl-D-galactits (7) als Dublett bei 1380 cm^{-1} und 1360 cm^{-1} zu erkennen gaben.

Als nächster Schritt folgte die Einführung einer Schutzfunktion zur Blockierung der Hydroxylgruppe am C-4. Von dieser Schutzgruppe sind bestimmte Eigenschaften zu verlangen. Sie darf unter den Bedingungen, die zur Hydrogenolyse der Benzyläther not-

Wanderung auf das primäre Hydroxyl an C-6 statt. Eine gleichzeitig mögliche Wanderung auf die benachbarte Hydroxylgruppe an C-3 wurde nicht festgestellt.

²¹ S. WINSTEIN, L. GOODMAN und R. BOSCHAN, J. Amer. chem. Soc. **72**, 2311 (1950). – S. WINSTEIN und R. BOSCHAN, J. Amer. chem. Soc. **72**, 4669 (1950).

²² B. P. VATERLAUS und H. SPIEGELBERG, Helv. chim. Acta **46**, in Vorbereitung.

²³ W. A. BONNER, Advances Carbohydrate Chem. **6**, 251 (1951).

²⁴ Wanderungen von aliphatischen Acylgruppen, die meistens alkalikatalysiert sind, wurden in veresterten Polyhydroxyverbindungen oft beobachtet (K. JOSEPHSON, Ber. deutsch. chem. Ges. **63**, 3089 (1930), und dort zitierte Ref.).

Derivate aromatischer Säuren, wie das Benzoat *8a* und in vermehrtem Masse das *p*-Methoxybenzoat *8b*, erwiesen sich als erfolgreiche Lösungen zur Verhinderung von Acylwanderungen. Der bevorzugte Angriff auf die primäre Hydroxylgruppe wurde unter diesen Umständen nicht mehr beobachtet.

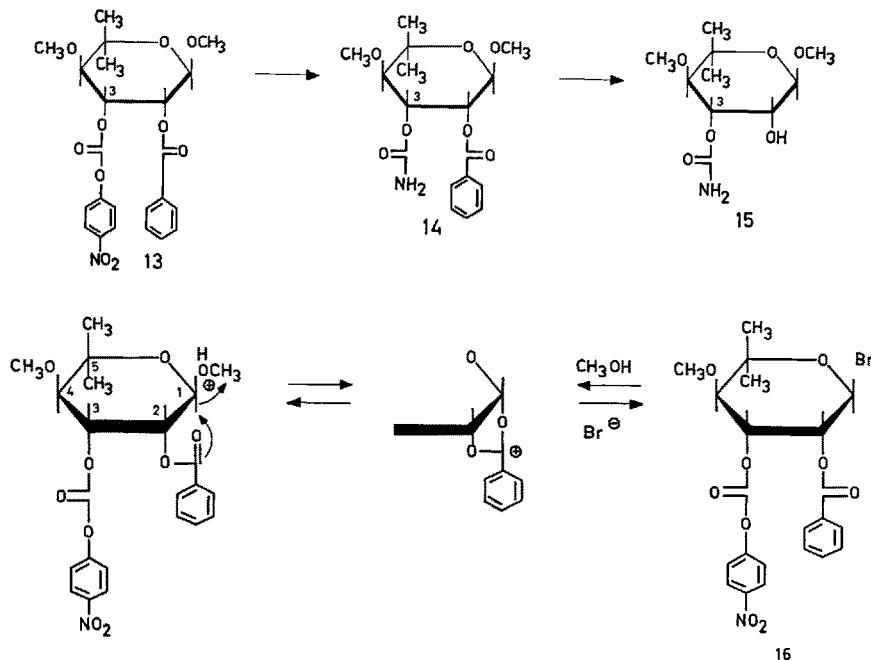
Die katalytische Debenzylierung der Substanz *8a*²⁵ führte zum 4-O-Benzoyl-1,1-di-O-methyl-2-O-methyl-D-galactit (*10*), der, mit Bleitetraacetat²⁶ in Eisessig oxydiert, eine Verbindung der Noviosereihe, die 2-O-Benzoyl-noviose (*11*), ergab.

Es galt nun, in diese Verbindung *11* eine Carbamoylgruppe am freien Hydroxyl an C-3 einzuführen. Um eine reibungslose Veresterung zu gewährleisten, wurden zuerst die anomeren Methyl-2-O-benzoyl-novioside (*12*)

Präparat, das durch saure Methanolysen^{27,28} von Novobiocin erhalten worden war.

Nach der Lösung des Problems der Synthese der 3-O-Carbamoyl-noviose rückte ein weiterer Aspekt der Synthese des Novobiocins in den Vordergrund. Es ist die Glycosidierung des Zuckers mit dem Aglycon.

Die wichtigste Klasse von Verbindungen der Zuckerreihe, die praktisch für Glycosidsynthesen²⁹ in Frage kommt, ist die der acylierten Glycosylhalogenide³⁰. Sie bilden hinsichtlich der Glycosidierung auf Grund der Stereochemie des Halogensubstituenten zwei Gruppen. Die Literatur³⁰ dokumentiert, dass das sterische Resultat einer Glycosidierungsreaktion von der Stereochemie des Halogensubstituenten in bezug auf die benachbarte Acyloxygruppe abhängt.



hergestellt. Durch Umsetzung von *11* in absolutem Methanol in Gegenwart von Salzsäuregas erhielt man das α -Anomere als kristalline Substanz.

Die direkte Umsetzung von *12* mit Carbamoylchlorid gelang nicht. Daher wurde zuerst mit Chlorameisensäure-*p*-nitrophenylester ein reaktionsfähiger Kohlensäureester hergestellt. Das so gewonnene, leicht kristallisierbare Methyl-2-O-benzoyl-3-O-(*p*-nitrophenoxy carbonyl)- α -noviosid (*13*) konnte in der Folge leicht mit alkoholischem Ammoniak quantitativ in das Methyl-2-O-benzoyl-3-O-carbamoyl- α -noviosid (*14*) umgewandelt werden.

Im Diester *14* liess sich die Benzoatgruppe selektiv durch Umesterung^{27,28} in absolutem Methanol mit Hilfe katalytischer Mengen Barium-methoxid verseifen. Das erhaltene Methyl-3-O-carbamoyl- α -noviosid (*15*) war in seinem chemischen Verhalten und in den physikalischen Daten vollständig identisch mit einem

Steht das Halogen zum Acyloxysubstituenten in *trans*-Stellung, so ist das sterische Resultat der Glycosidierungsreaktion bevorzugt Retention^{30,31} des anomeren Zentrums des Acylzuckers. Die dafür verantwortliche Reaktionsfolge ist eine doppelte Waldensche

²⁵ C. M. McCLOSKEV, Advances Carbohydrate Chem. *12*, 148 (1957).

²⁶ A. S. PERLIN, Advances Carbohydrate Chem. *14*, 9 (1959).

²⁷ J. CONCHIE, G. A. LEVY und C. A. MARSH, Advances Carbohydrate Chem. *12*, 173 (1957).

²⁸ R. W. JEANLOZ, H. G. FLETCHER JR. und C. S. HUDSON, J. Amer. chem. Soc. *70*, 4055 (1948).

²⁹ J. CONCHIE, G. A. LEVY und C. A. MARSH, Advances Carbohydrate Chem. *12*, 157 (1957).

³⁰ L. J. HAYNES und F. H. NEWTH, Advances Carbohydrate Chem. *10*, 207 (1955).

³¹ E. PACSU, Advances Carbohydrate Chem. *1*, 77 (1945). — H. S. ISBELL und H. L. FRUSH, J. Res. nat. Bur. Standards *43*, 161 (1949). — R. K. NESS, H. G. FLETCHER JR. und C. S. HUDSON, J. Amer. chem. Soc. *72*, 2200 (1950); *73*, 959 (1951). — R. U. LEMIEUX, Advances Carbohydrate Chem. *9*, 1 (1954). — P. A. J. GORIN und A. S. PERLIN, Canad. J. Chem. *39*, 2474 (1961).

Umkehrung mit Nachbargruppenbeteiligung³² des Acylrestes. Der Reaktion eigen ist das Auftreten eines intermediären Ions³³.

Im zweiten Fall sind die beteiligten Substituenten in *cis*-Lage. Die Stereochemie des Produktes hängt hier von den angewandten Reaktionsbedingungen ab. Bedingungen, die eine unimolekulare Solvolyse des Halogenatoms begünstigen und somit zum Auftreten eines Carbonium-ions in der Reaktion Anlass geben, sind durch racemische Produkte charakterisiert. Verläuft die Reaktion hingegen unter Bedingungen einer bimolekularen Reaktion ab, so erwartet man sterisch gesehen vor allem eine invertierte Verbindung.

Für die Glycosidierung des Aglycons oder einer passenden Vorstufe mit der Noviose kommen also sowohl ein α - als auch ein β -Derivat der Noviose in Frage. Man gab einem α -Derivat den Vorzug, da bei der Verwendung eines β -Derivates in der Glycosidierungsreaktion extensive Racemisierung zu erwarten ist, sollte es nicht gelingen, Bedingungen zu finden, die einen bimolekularen Ablauf der Reaktion garantieren.

Die ersten Versuche wurden mit dem 2-O-Benzoyl-3-O-(*p*-nitrophenoxycarbonyl)- α -noviosylbromid (16) unternommen. Diese Substanz liess sich als kristalline, stabile Verbindung in guten Ausbeuten durch Einwirkung von Bromwasserstoff in Eisessig aus dem entsprechenden Methyl-2-O-benzoyl-3-O-(*p*-nitrophenoxycarbonyl)- α -noviosid (13) gewinnen.

Die Stereochemie von 16 resultiert aus einer Nachbargruppenbeteiligung der Benzoylfunktion, die in der Reaktion die protonisierte Methoxygruppe verdrängt. Das gebildete intermediäre cyclische Ion reagiert nochmals unter Waldenscher Umkehrung mit einem Bromid-ion zum 2-O-Benzoyl-3-O-(*p*-nitrophenoxycarbonyl)- α -noviosylbromid (16). Das Resultat dieser Reaktion ist die Retention der Konfiguration am anomeren Zentrum des Zuckers als Folge einer doppelten Waldenschen Umkehrung³⁴.

Man vergewisserte sich der angegebenen Stereochemie in 16, indem die Substanz hydrolysiert wurde. Es resultierte daraus die freie 2-O-Benzoyl-3-O-(*p*-nitrophenoxycarbonyl)-noviose (17), die, zur β -Reihe gehörend, durch eine einfache, positiv verlaufende Rotationsdispersionskurve charakterisiert wurde. Die Substanz entstand demnach durch Zerfall der Orthosäure.

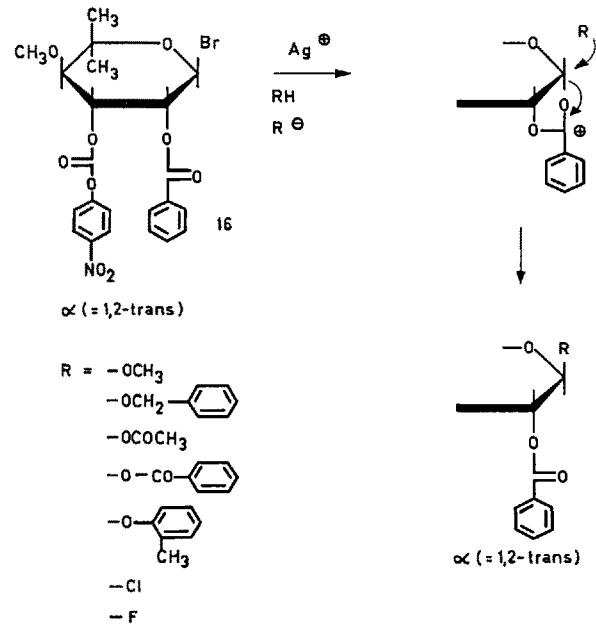
Es war zu erwarten, dass der bewiesenen α -Konfiguration entsprechend die Glycosidierung unter Erhaltung der Konfiguration ablaufen wird. Das war in der Tat der Fall. Die Glycosidierungen verliefen unter den angewandten Bedingungen mit doppelter Waldenscher Umkehrung des anomeren Zentrums mit so guten Nucleophilen, wie es die Anionen schwacher Säuren sind. Selbst einfache Phenole, Alkohole und Halogenidionen folgten demselben Wege.

Diese orientierenden Versuche berechtigten zur Annahme, dass sich das 2-O-Benzoyl-3-O-(*p*-nitrophenox-

carbonyl)- α -noviosylbromid (16) ebenso mit einem entsprechenden Aglyconpartner zu einer α -glycosidischen Novobiocinvorstufe umsetzen lässt. Die geeignete Substanz dazu war das 4-Benzylxyloxy-7-hydroxy-8-methylcumarin (18). In dieser Komponente ist das enolische Hydroxyl durch die leicht entfernbare Benzylgruppe verschlossen. Sie kann somit eindeutig nur am phenolischen Sauerstoff reagieren. Überraschenderweise traf unsere Annahme nicht zu. Es gelang unter den Bedingungen der Koenigs-Knorr-Reaktion nicht, auch nur eine Spur des entsprechenden α -Glycosids zu isolieren. Die Gründe für den Fehlschlag liegen in einer Anzahl von Faktoren.

In Übereinstimmung mit der Literatur³⁵ können acetylierte Glycosylhalogenide die beiden Sessel-Konformationen I und II einnehmen. Die Konformationsanalyse des 2-O-Benzoyl-3-O-(*p*-nitrophenoxycarbonyl)- α -noviosylbromids (16) nach REEVES³⁵ zeigt, dass identische Faktoren für die Stabilitäten der beiden Konformationen verantwortlich sind. Man hat es mit einem Beispiel konfigurativer Instabilität zu tun.

Trifft die Annahme zu, dass das Bromatom in der Glycosidierung mit Nachbargruppenbeteiligung³⁶ der



³² S. WINSTEIN und R. E. BUCKLES, J. Amer. chem. Soc. 65, 613 (1943).

³³ Das Ion gibt Anlass zur oft beobachteten Orthoesterbildung in dieser Reaktion. Die Reaktionsbedingungen sind weitgehend produktbestimmend (R. K. NESS, H. G. FLETCHER JR. und C. S. HUDSON, J. Amer. chem. Soc. 73, 296 (1951)).

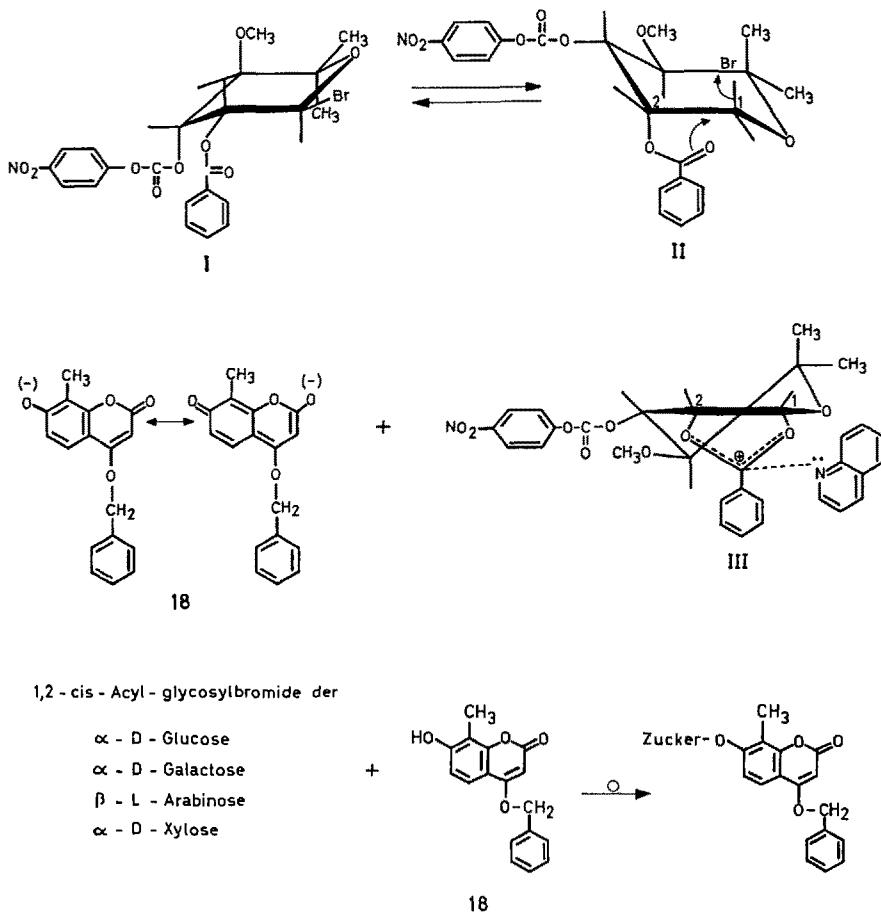
³⁴ Löst man die Verbindung 16 in absolutem Methanol, so kristallisierte das Ausgangsmaterial, das Methyl- α -noviosid-Derivat 13 aus dem Reaktionsmilieu. Dieses Resultat steht somit in direkter Analogie zum sterisch verwandten 2,3,4-Tri-O-benzoyl- α -D-lyxopyranosylbromid (H. G. FLETCHER JR., R. K. NESS und C. S. HUDSON, J. Amer. chem. Soc. 73, 3698 (1951)).

³⁵ R. E. REEVES, J. Amer. chem. Soc. 72, 1499 (1950).

³⁶ S. WINSTEIN und R. M. ROBERTS, J. Amer. chem. Soc. 75, 2297 (1953).

Benzoylgruppe eliminiert wird, so scheint es notwendig, dass um der möglichen anchimerischen Beihilfe willen das Molekül die Konfiguration I zugunsten der Konfiguration II aufgeben kann. In dieser Konformation nehmen die beiden wichtigen Substituenten am C-1 und C-2 die axiale Lage ein, bevor das Molekül in das cyclische Ion (III)³⁷ dissoziiert. Es nimmt in

2-O-Benzoyl-3-O-(*p*-nitrophenoxycarbonyl)-noviosylbromid entscheidende Bedeutung zukommt. Da sich keine experimentellen Bedingungen finden liessen, unter denen komplexere Phenole mit acylierten 1,2-*trans*-Glycosylhalogeniden³⁹ zu Glycosiden kondensiert werden konnten, schien es uns angezeigt, in die Studien auch die 1,2-*cis*-Isomeren einzuschliessen.



dieser Konformation eine Halbsesselform ein. Dieses cyclische Ion hat nun die Möglichkeit, am Kohlenstoffatom, das die positive Ladung trägt, zu reagieren; oder es wird unter Restaurierung der Acylfunktion an C-2, C-1 angegriffen, was einer Waldenschen Umkehrung an diesem Zentrum gleichkommt. Aus sterischen Gründen ist ein Angriff am positiven Kohlenstoff derjenigen der stärker behinderten Rückseite des anomeren Kohlenstoffatoms vorzuziehen. Somit war es verständlich, dass das isolierte Produkt dieser Glycosidierungsversuche stets die 2-O-Benzoyl-3-O-(*p*-nitrophenoxycarbonyl)-noviose (17) war. Zusätzlich zu den sterischen Faktoren, die den Zucker betreffen, ist darauf hinzuweisen, dass Phenole des angewandten Typus unter den basischen Bedingungen der Koenigs-Knorr-Synthese³⁸ schlechte Nucleophile sind.

Bei dieser Synthese zeigte es sich, dass dem phenolischen Aglyconpartner in Glycosidierungen mit dem

Diese Gruppe von Glycosylhalogeniden hat, wie einleitend dargelegt wurde, keine Möglichkeit, unter Nachbargruppenbeteiligung zu reagieren. Auf Grund dieser Überlegungen wurden die 1,2-*cis*-Glycosylbromide folgender Verbindungen in unsere Versuche mit einbezogen: D-Glucose⁴⁰, D-Galactose⁴¹, L-Arabinose⁴² und D-Xylose⁴³. Diese reagierten tatsächlich unter Walden-

³⁷ R. U. LEMIEUX und G. HUBER, Canad. J. Chem. 33, 128 (1955).

³⁸ W. KOENIGS und E. KNORR, Ber. deutsch. chem. Ges. 34, 957 (1901).

³⁹ Es wurde erfolglos versucht, die Verbindung 16 durch das sterisch verwandte 2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- α -D-mannosylbromid (R. K. Ness, H. G. FLETCHER JR. und C. S. HUDSON, J. Amer. chem. Soc. 72, 2200 (1950)) zu ersetzen und so die Glycosidierung mit der Substanz 18 auszuführen.

⁴⁰ D. H. BRAUNS, J. Amer. chem. Soc. 47, 1280 (1925).

⁴¹ H. OHLE, W. MARECEK und W. BOURJAU, Ber. deutsch. chem. Ges. 62, 833 (1929).

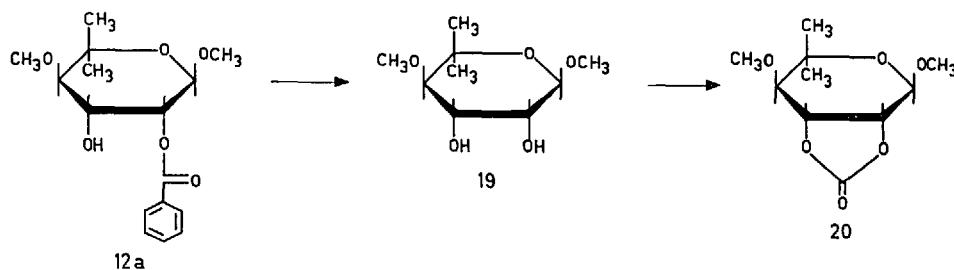
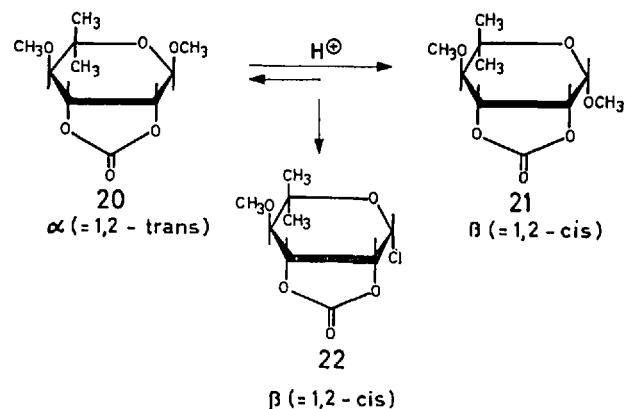
⁴² M. GEHRKE und F. X. AICHNER, Ber. deutsch. chem. Ges. 60, 918 (1927).

scher Umkehrung und erlaubten somit, zu Novobiocin-Analogen zu kommen.

Mit diesen Versuchen wurde gezeigt, dass man an eine erfolgreiche Glycosidierung des 4-Benzylxy-7-hydroxy-8-methyl-cumarins (18) denken konnte, sollte es gelingen, ein acyliertes β -Noviosylhalogenid zu synthetisieren. Ein solches Derivat muss zusätzlich noch eine potentielle Gruppe aufweisen, die nach der Glycosidierung in die 3-O-Carbamoyl-Gruppe umgewandelt werden kann.

Das Ausgangsmaterial, das dazu geeignet schien, war das Methyl-2-O-benzoyl- α -noviosid (12a) mit bewiesener *trans*-Lage der Substituenten am C-1 und C-2. Verseifte man diese Substanz und setzte das resultierende Methyl- α -noviosid (17) ^{7,8,11} mit Phosgen in Gegenwart einer tertiären Base um, so liess sich leicht das Methyl-2,3-O-carbonyl- α -noviosid (20) gewinnen. Studien am Molekülmodell zeigten, dass die Carbonatfunktion, bedingt durch ihre räumliche Lage, nicht mehr befähigt ist, bei Substitutionsreaktionen am C-1 zu intervenieren. Retention der Konfiguration des anomeren Zentrums ist auf dieser Basis ausgeschlossen ⁴³.

folgten Anomerisierung dieser Substanz in saurer Lösung, unter äquilibrierenden Bedingungen, das Methyl-2,3-O-carbonyl- β -noviosid (21) ⁸ die bevorzugte Verbindung ist. Dieses Anomere liess sich in der Folge leicht kristallin erhalten. Das Diastereomerenverhältnis der beiden Methyl-2,3-O-carbonyl-novioside (20 und 21) ging aus ihren Rotationsdispersionskurven hervor.



Die Kernfrage bei der Verwendung des Methyl-2,3-O-carbonyl- α -noviosids (20) liegt jedoch in der Konfiguration seines Halogenderivates ⁴⁴. Führen die sauren, äquilibrierenden Bedingungen, die zur Herstellung desselben notwendig sind, zum α (1,2-*trans*)- oder zum β (1,2-*cis*)-2,3-O-Carbonyl-noviosylhalogenid als der stabileren Konfiguration?

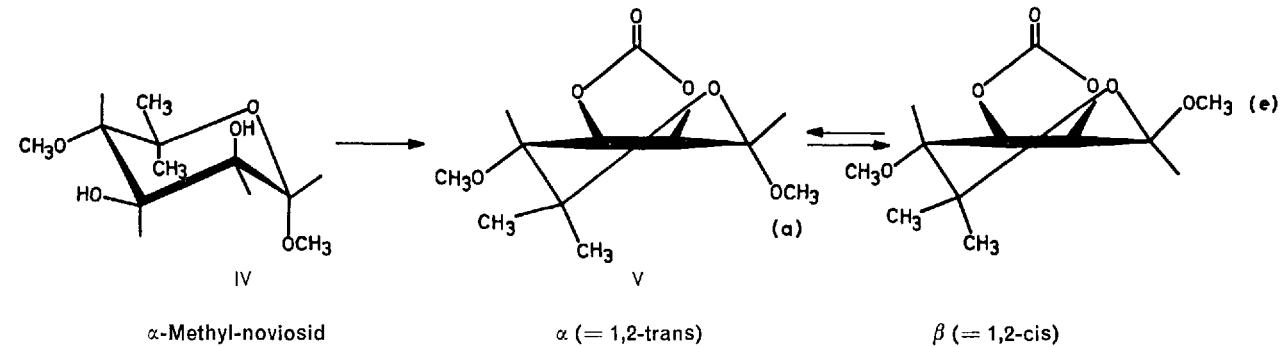
Diese konfigurative Frage konnte durch das Studium der Anomerisierung des Methyl-2,3-O-carbonyl- α -noviosids in saurem Milieu wenn nicht entschieden, so doch wahrscheinlich gemacht werden. Es zeigte sich überraschenderweise, dass bei der polarimetrisch ver-

⁴³ Eine erfolgreiche Anwendung desselben Gedankenganges findet man in der Synthese des 2,3-O-Carbonyl- α -D-ribofuranose-1-phosphats vor (G. M. TENER und H. G. KHORANA, J. Amer. chem. Soc. 79, 437 (1957). – G. M. TENER, R. S. WRIGHT und H. G. KHORANA, J. Amer. chem. Soc. 79, 441 (1957)).

⁴⁴ Die Ansicht, dass die bicyclischen 2,3-O-Carbonyl-noviosylhalogenide im Gegensatz zu den diacylierten Noviosylhalogeniden in bimolekularer Art reagieren können, somit Inversion am C-1 gewährleistet ist, lässt sich in Analogie zu der Reaktionsweise des 4,6-Di-O-acetyl-2,3-O-carbonyl- α -mannosylbromids (P. A. J. GORIN und A. S. PERLIN, Canad. J. Chem. 39, 2474 (1961)) vertreten. Es kann dies die Folge des angegliederten Cyclocarbonat-Fünfringes sein, der die ursprüngliche Sesselkonformation ^{45,46} des Moleküls so verändert, dass ein stabilisiertes, planares Carboniumion als Reaktionszwischenstufe wenig wahrscheinlich ist.

⁴⁵ S. J. ANGYAL und C. G. MACDONALD, J. chem. Soc. 1952, 686.

⁴⁶ E. L. ELIEL und C. PILLAR, J. Amer. chem. Soc. 77, 3600 (1955).



Es drängte sich die Schlussfolgerung auf, dass unter stark sauren, äquilibrierenden Bedingungen die Stabilität der Methylnovioside in der cyclischen Carbonatform umgekehrt ist, wie bei den gewöhnlichen Methylacyl-noviosiden.

Der Konfigurationswechsel, der bei der Anomerisierung des Methyl-2,3-O-carbonyl- α -noviosids (20) unter sauren, äquilibrierenden Bedingungen beobachtet wurde, lässt sich, basierend auf der Tatsache, dass die Konformation IV⁴⁷ des Methyl- α -noviosids die begünstigte Konformation ist, erklären.

Die strukturelle Folge der Angliederung eines Carbamatringes an die ursprüngliche Sesselform des Methyl- α -noviosids liegt darin, dass diese einer neuen begünstigten Konformation, der Halbsesselform V, weichen soll. Die Anomerisierung ist eine Gleichgewichtsreaktion und somit der Mechanismus der α - β -Umwandlung dem der β - α -Konversion identisch. Die in stark saurem Medium protonisierte Methoxylfunktion an C-1 wird im Fall des Methyl-2,3-O-carbonyl- α -noviosids (20) von der quasi-äquatorialen Seite her angegriffen. Der Übergangszustand, der dieser Reaktion entspricht, kann auf zwei Arten zusammenbrechen. Es scheint die Reaktion bevorzugt zu sein, in der das Produkt die Methoxygruppe an C-1 in quasi-äquatorialer Lage trägt. Dieser 1,2-cis-Konfiguration entspricht das Methyl-2,3-O-carbonyl- β -noviosid (21). Es zeichnet sich durch keine axiale 1,3-Wechselwirkungen der Substituenten aus wie die ursprüngliche 1,2-trans-Konfiguration des Methyl- α -noviosids 20.

Diese Feststellung gilt nicht nur für das Methyl-2,3-O-carbonyl-noviosid. Sie findet eine weitere Parallelie in der erfolgreichen Herstellung des entsprechenden 2,3-O-Carbonyl-noviosylhalogenids. Es besitzt sinngemäß ebenso die β -Konfiguration als stabilere Konfiguration unter den Bedingungen der Herstellung in stark sauren Medien.

Das 2,3-O-Carbonyl- β -noviosylchlorid (22) wurde als stabiles Derivat durch Umsetzung des anomeren Gemisches der Methyl-2,3-O-carbonyl-novioside mit Salzsäuregas in Nitromethan gewonnen.

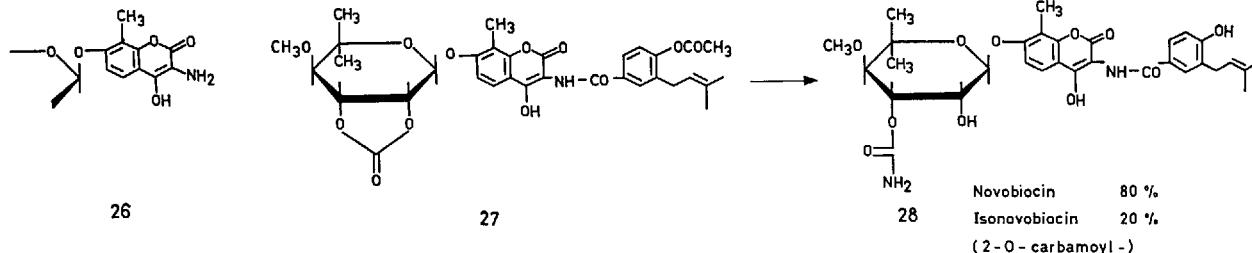
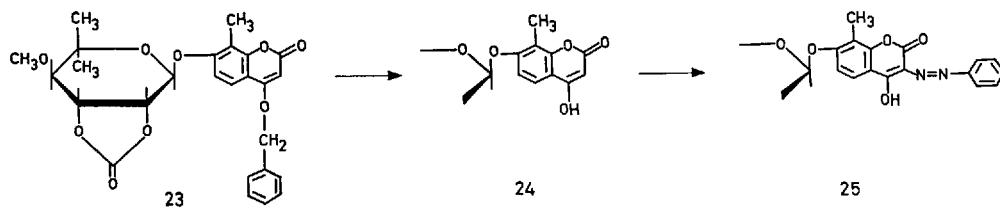
Die Koenigs-Knorr-Reaktion mit dem 4-Benzylxy-7-hydroxy-8-methyl-cumarin (18) in Chinolin in der Gegenwart von Silberoxid führte zum Glycosid 23. Die Verbindung wies nicht nur die notwendige α -Konfiguration auf, sondern besaß die notwendigen Voraussetzungen zur erfolgreichen Umwandlung in das Novobiocin.

Die katalytische Hydrogenolyse des 4-Benzylxy-7-(2,3-O-carbonyl- α -noviosyloxy)-8-methyl-cumarins (23) führte zum entsprechenden 7-(2,3-O-Carbonyl- α -noviosyloxy)-4-hydroxy-8-methyl-cumarin (24), einer Verbindung, die in alkalischem Milieu ein reaktives Carbanion in Stellung 3 des Cumarin-Ringes erzeugen kann. Sie war daher einer elektrophilen Substitution durch diaziertes Anilin zugänglich. Die 3-Phenylazo-Verbindung (25) wurde in der Folge zum 3-Amino-7-(2,3-O-carbonyl- α -noviosyloxy)-4-hydroxy-8-methyl-cumarin (26) hydriert. Dieses empfindliche Amin liess sich weiter mit 4-Acetoxy-3-isopentenyl-benzoylchlorid⁴⁸ in Pyridin zur Vorstufe des Novobiocins umsetzen.

Die Behandlung des 3-(4-Acetoxy-3-isopentenylbenzamido)-7-(2,3-O-carbonyl- α -noviosyloxy)-4-hydroxy-8-methyl-cumarins (27) mit flüssigem Ammoniak verseifte nicht nur die Phenolacetatgruppe, sondern öffnete in quantitativer Art das Cyclocarbonat zu einem Gemisch von Novobiocin (28) und dem isomeren Isonovobiocin (29)⁴⁸. Novobiocin selbst liess sich auf

⁴⁷ A. FURLENMEIER, C. v. PLANTA und B. P. VATERLAUS, Kurzreferat am XIXth International Congress of Pure and Applied Chemistry, 10.–17. Juli (1963), London.

⁴⁸ J. W. HINMAN, E. L. CARON und H. HOEKSEMA, J. Amer. chem. Soc. 79, 5321 (1957).



Grund des Löslichkeitsunterschiedes⁴⁹ leicht kristallin erhalten und vom Isomeren trennen. Die Verbindung zeigte physikalische Daten, wie Smp., optische Drehung, IR-Spektrum, sowie physiologische Aktivität, die mit denen des Antibioticums Novobiocin⁵⁰ identisch sind.

Die letzte, nicht stereospezifisch verlaufende Ringöffnung des Cyclocarbonats verlangt einen Kommentar. Novobiocin liess sich durch diese Reaktion, auf die physiologische Aktivität bezogen, in mehr als 80%iger Ausbeute erhalten. Die alkalische Isomerisierung des Novobiocins⁴⁸ führt dagegen zu einem Gleichgewicht von 67% Novobiocin und 33% Isonovobiocin. Die ammonolytische Ringöffnung ist somit das Resultat einer kinetisch kontrollierten Reaktion, die Novobiocin in besserer Ausbeute liefert, als dies die alkalische Isomerisierung des Novobiocins vermag. Der Unterschied in der Geometrie der beiden Isomeren Novobiocin und Isonovobiocin liegt darin, dass die Carbamatgruppe in 3-Stellung die äquatoriale Lage einnimmt, während im Isonovobiocin diese Funktion die axiale Lage beansprucht.

Die Synthese des Novobiocins bestätigt die auf Grund des Abbaus des Moleküls wahrscheinlich ge-

machte Struktur und ermöglicht es uns, die Arbeiten auszuführen, um derentwillen sie unternommen wurden. Wir sind in die Lage versetzt, das Molekül in gewoller Weise zu verändern, und können dadurch das Problem der Konstitution und Wirkung dieses interessanten Antibioticums systematisch verfolgen.

Summary. The synthesis of the antibiotic novobiocin is described. First the essential carbohydrate, the 3-O-carbamoylnoviose was synthesized from D-glucose. A number of steps (1-6) led to the 3,5,6-tri-O-benzyl-2-O-methyl-D-galactono- γ -lactone (6) which is characterized by the correct array of carbon atoms inherent to the noviose. Further transformations (7-15) finally yielded the carbohydrate. The problem of glycosidation is discussed in some detail. Glycosidation of a suitable aglycon precursor (78) with 2,3-O-carbonyl- β -noviosyl-chloride (22) proved possible and led to the isolation of an α -glycoside (23) which was further transformed (24-28) into novobiocin.

⁴⁹ Brit. Pat. 878907 (Upjohn Co., Kalamazoo Mich., USA).

⁵⁰ Novobiocin wurde aus Albamycin-Upjohn isoliert.

Brèves communications – Kurze Mitteilungen – Brevi comunicazioni – Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Synthese des Neopodophyllotoxins und der Podophyllinsäure¹

Die Herstellung der Podophyllinsäure (VI)², der konfigurativer dem Podophyllotoxin (I) entsprechenden 2:3-*trans*-Hydroxsäure, ist bisher nicht gelungen. Einwirkung von Alkalihydroxyden auf Podophyllotoxin (I) führt nämlich ausschliesslich zur isomeren 2:3-*cis*-Säure (III) (= Pikropodophyllinsäure²⁻⁴), da in basischem Milieu die Epimerisierung an C₃ zu Pikropodophyllin (II) wesentlich schneller verläuft, als die Hydrolyse⁴. Eine Öffnung des Lactonrings von Podophyllotoxin unter Erhaltung der 2:3-*trans*-Konfiguration kann zwar nach RUTSCHMANN und RENZ⁵ durch Hydrazinolyse erreicht werden; das gebildete Podophyllinsäurehydrazid liess sich jedoch nicht in die freie Säure VI überführen⁶.

Die im folgenden beschriebene erste Partialsynthese der Podophyllinsäure (VI) basiert auf einer neuartigen Methode zur stereospezifischen Aufspaltung des Podophyllotoxin-Lactonrings. Wir fanden, dass sich beim Erwärmen von Podophyllotoxin (I) in Methanol mit Zinkchlorid in einer Gleichgewichtsreaktion (Umesterung) ein Gemisch von Produkten bildet, in dem neben Ausgangsmaterial zwei neue Liganverbindungen (IV und V) vorliegen. Nach Abtrennung des Podophyllotoxins konnten die beiden neuen Komponenten durch Chromatographie in ein-

heitlicher kristallisierte Form isoliert und als Podophyllinsäure-methylester (IV) und Neopodophyllotoxin (V) – ein neues Isomeres des Podophyllotoxins – charakterisiert werden. Podophyllinsäure-methylester (IV), C₂₂H₂₆O₈, schmilzt bei 166–169°; [α]_D²⁰ = -199° (in Chloroform); IR-Bande bei 1738 cm⁻¹ in CH₂Cl₂. Durch Methanol-ZnCl₂ wird Podophyllinsäure-methylester (IV) zu Podophyllotoxin (I) relaxtonisiert. Verseifung von IV mit verdünnter Natronlauge liefert hingegen unter Epimerisierung Pikropodophyllinsäure (III) vom Doppel-smp. 153–157°/210–230°; [α]_D²⁰ = -179,8° (in Pyridin) und -100,4° (in Äthanol³).

Neopodophyllotoxin (V), C₂₂H₂₂O₈, kristallisiert aus Methanol-Äther-Pentan in Nadeln vom Smp. 225–237°; [α]_D²⁰ = -52,4° (in Chloroform); IR-Bande bei 1773 cm⁻¹ in CH₂Cl₂ (γ -Lacton). Mit Essigsäureanhydrid-Pyridin

¹ 12. Mitteilung über mitosehemmende Naturstoffe.

² Zur Nomenklatur der epimeren Hydroxsäuren aus Podophyllotoxin vgl. ⁵.

³ W. BORSCHE und J. NIEMANN, Liebigs Ann. 499, 59 (1932).

⁴ J. L. HARTWELL und A. W. SCHRECKER, Fortschr. Chem. org. Naturst. 15, 83 (1958).

⁵ J. RUTSCHMANN und J. RENZ, Helv. chim. Acta 42, 890 (1959).

⁶ Sämtliche Bruttoformeln sind durch Mikroanalysen belegt.