

2. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

178. Mitteilung¹⁾

Die Avilamycine A und C: Chemischer Abbau und spektroskopische Untersuchungen

von **Walter Keller-Schierlein, William Heilman,**

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

W. David Ollis

Research Laboratories, May & Baker Ltd., Dagenham, Essex RM 10 7XS

und **Christopher Smith**

Department of Chemistry, The University, Sheffield S3 7HF

(14.XI.78)

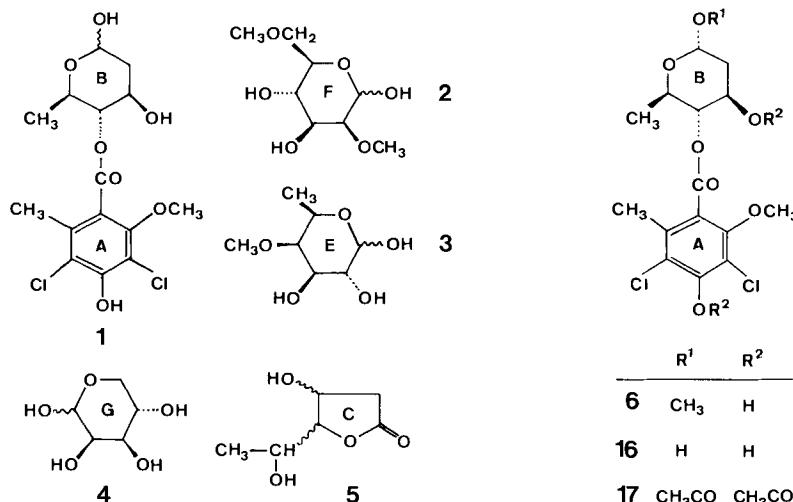
Summary

Hydrolysis and methanolysis of Avilamycin C yielded a series of mono- and oligosaccharide-like products, which were, with one exception, identical with degradation products of flambamycin. Instead of evalose (6-deoxy-3-methyl-D-mannose), a building stone of Flambamycin and Everninomicin B, evermicose (2,6-dideoxy-3-methyl-D-mannose) was identified as a constituent of the Avilamycins. This sugar was known as a degradation product of the Everninomicins C and D. From the degradation results a structure of Avilamycin A was postulated which differs from that of Flambamycin only by the lack of a hydroxyl group in position 2 of the evalose residue. This hypothesis was confirmed by a careful ¹H- and ¹³C-NMR. study.

Die Avilamycine A [2] und C [1] sind zwei Antibiotica der Orthosomycin-Gruppe aus *Streptomyces viridochromogenes*, Stamm ETH 23575. Die den beiden Antibiotica zugeschriebenen Bruttoformeln $C_{61}H_{88}Cl_2O_{32}$ bzw. $C_{61}H_{90}Cl_2O_{32}$ ergeben sich nicht eindeutig aus den Mikroanalysen, die nur dann passen, wenn man annimmt, dass die Verbindungen 1-2 Moleküle Kristallwasser enthalten, wie dies auch für das nahe verwandte Flambamycin [3] der Fall ist. Die wesentlichsten Stützen für diese Formeln sind die in dieser Arbeit abgeleitete Beziehung zum Flambamycin und die NMR-.(insbesondere ¹³C-NMR.-)Spektren.

¹⁾ 177. Mitt. s. [1].

Schema. Hydrolyseprodukte von Avilamycin A [2]



Durch Hydrolyse von Avilamycin A wurden seinerzeit [2] eine Reihe von meist zuckerartigen Abbauprodukten erhalten, die im *Schema* zusammengefasst sind: Curacin (**1**), ein Dichlorisoeverninsäureester der 2-Desoxy-D-*l*-ramnose; 2,6-Di-*O*-methyl-D-mannose (Curamicose, **2**)²⁾; 4-*O*-Methyl-D-fucose (D-Curacose, **3**) und L-Lyxose (**4**), die auch als Abbauprodukte des Curamycins nachgewiesen wurden [4], sowie ein 3,5-Dihydroxy- γ -caprolacton (**5**) unbekannter Konfiguration, das als Diacetyl derivat charakterisiert wurde.

Durch die strukturelle Verknüpfung der beiden Avilamycine A und C [1] ist klar geworden, dass die genannten einfachen Verbindungen auch Bausteine des Avilamycins C sein müssen. Um einerseits einen tieferen Einblick über den Aufbau dieser Antibiotica aus den Bausteinen zu gewinnen und anderseits möglichst weitere Bausteine zu identifizieren, die seinerzeit aus Avilamycin A nicht erfasst worden waren³⁾, führten wir mit Avilamycin C zwei Abbaureihen unter wesentlich milderden Bedingungen durch.

Die Produkte einer milden Methanolysen wurden in eine kristalline, wasserunlösliche Verbindung und ein Gemisch von ca. 7 wasserlöslichen Produkten getrennt. Die erstere konnte durch den Misch-Smp. und die Spektren mit α -1-*O*-Methylcuracin (**6**) identifiziert werden, das bereits früher als Baustein des Avilamycins A [2], des Curamycins [4], des Flambamycins [3] [5] und der Evernino-micine [6] festgelegt worden war. Die α -Konfiguration der Methylglykosidbindung ergibt sich vor allem aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in Pentadeuteriopyridin, in dem das Signal von H-C(1) bei 4,8 ppm als $d \times d$ mit $J_{1e,2a} = 4$ Hz und $J_{1e,2c} \text{ ca. } 1$ Hz erscheint, während sich in Deuteriochloroform die Signale von H-C(1) und H-C(4) bei 4,8 ppm überlappen.

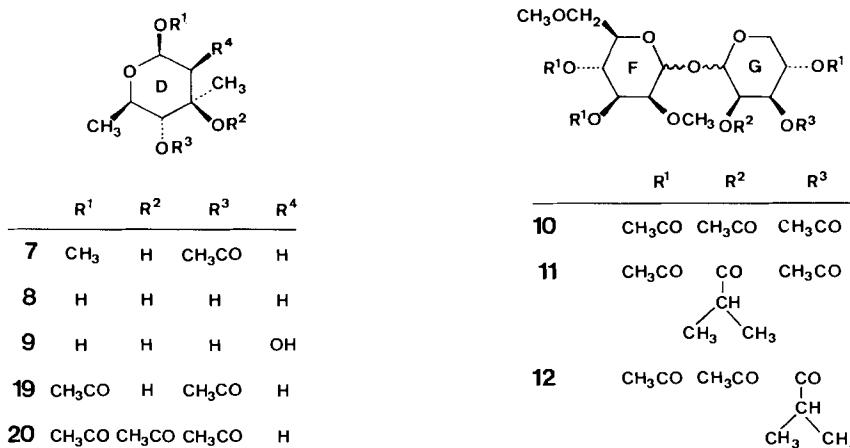
²⁾ Es fehlte damals die Bestimmung der Chiralität. Diese ergibt sich aus der spektroskopischen Verknüpfung mit Flambamycin.

³⁾ Die Bausteine **1** bis **5** umfassen lediglich 41 der insgesamt 61 C-Atome.

Die wasserlöslichen Methanolyseprodukte wurden zunächst durch Verteilungschromatographie an Kieselgel weitgehend in vier dünnsschichtchromatographisch nahezu einheitliche Verbindungen und ein Gemisch eines fünften und sechsten Abbauproduktes aufgetrennt. Für die vollständige Reinigung wurde jede der Fraktionen acetyliert und die Acetate erneut chromatographiert. Es wurden die Verbindungen 7 und **10–14** identifiziert, die im folgenden einzeln besprochen werden.

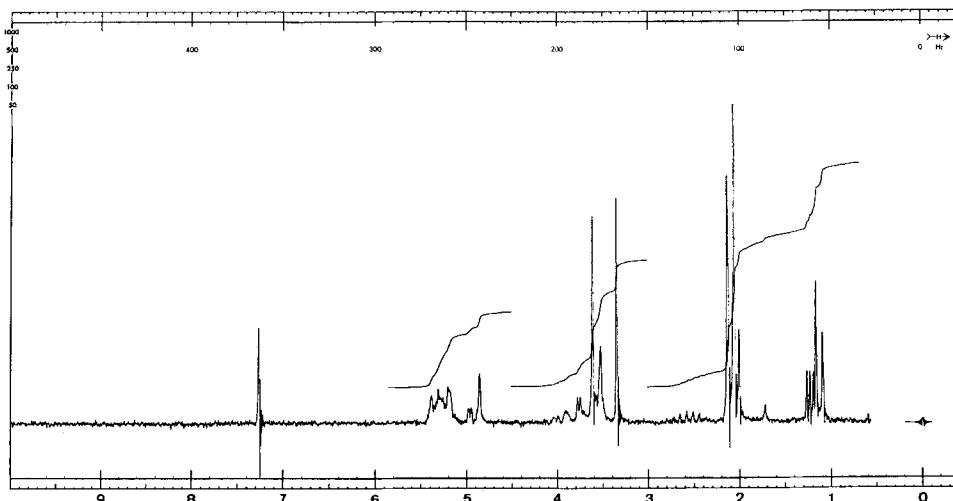
1) 4-O-Acetyl- β -methyl-evermicosid (7). Das Präparat wurde zuerst als öliges Gemisch der beiden anomeren Glycoside erhalten, aus dem nach längerem Stehen das reine β -Anomere auskristallisierte. Die Verbindung konnte durch Misch-Smp., IR- und $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum mit einem authentischen Präparat identifiziert werden⁴⁾. Die Evermicose (8) tritt auch als Baustein der Everninomicine C, D und 2 auf [6], während das Everninomicin B [7] und das Flambamycin [3] an deren Stelle die Evalose (9) enthalten. Beim früheren Abbau des Avilamycins A war die Evermicose der Beobachtung entgangen [2].

2) *Flambabiose-pentaacetat* (**10**) wurde in Form farbloser Plättchen mit Smp. 148–149° erhalten. Das ¹H-NMR.-Spektrum stimmte mit einer aus Flambamycin erhaltenen Probe [3] überein. Die Flambabiose ist das 1,1'-Glycosid der 2,6-Di-*O*-methyl-*D*-mannose (Curamicose) mit der *L*-Lyxose. Diese zwei Monosaccharide wurden bei der Hydrolyse von Avilamycin A erhalten [2] und sind auch Bausteine des Curamycins [4].



3) *Flambabiose-isobutyryl-tetraacetat* (**11+12**). Eine dünnenschichtchromatographisch einheitliche flüssige Fraktion zeigte im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in den meisten Bereichen Übereinstimmung mit Flambabiose-pentaacetat (**10**). Dagegen zeigt das Spektrum im 1-ppm-Gebiet Signale von 2 Methylgruppen, im 2-ppm-Gebiet solche von lediglich 4 Acetylgruppen und bei 2,5 ppm ein Proton (*m*) neben zwei Methylgruppen. Nachdem für das Flambamycin nachgewiesen war, dass die Stellung 2 des Lyxoserestes mit Isobuttersäure verestert ist [5], war der Schluss naheliegend, dass in diesem Produkt eine Isobutyryl-tetraacetyl-flambabiose vorliegt. Das $^1\text{H-NMR}$ -

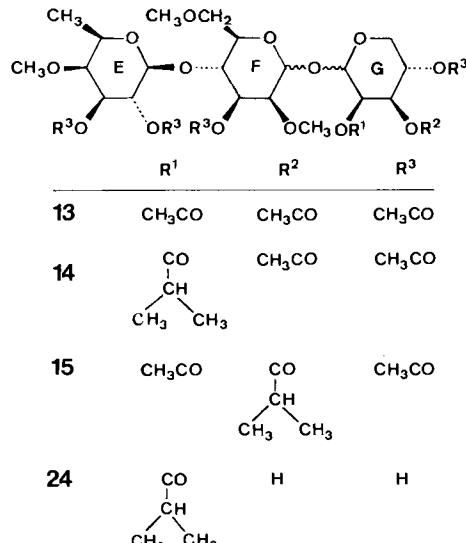
⁴⁾ Herrn Dr. *A. K. Ganguly* danken wir für eine Vergleichsprobe.



Figur. ^1H -NMR-Spektrum von Flambabiose-isobutyryl-tetraacetat (**11** + **12**) in CDCl_3 (100 MHz)

Spektrum stimmt im wesentlichen mit dieser Annahme überein, nur ist die Kompliziertheit in der Methyl- und in der Acetylgegend grösser, als man für die einheitliche Verbindung **11** erwarten würde (Fig.). Offensichtlich liegt ein Gemisch von **11** und **12** vor, das durch teilweise Isomerisierung im Verlauf der Methanolyse entstanden sein könnte, wie es in der Zuckerreihe schon von anderer Seite beobachtet worden ist [8] (vgl. auch [3 b]).

4) *Flambatriose-hexaacetat* (**13**) wurde in Kristallen mit Smp. 91–92° [3] [5] erhalten. Die Spektren stimmen mit denen des entsprechenden Abbauproduktes aus Flambamycin überein. Der dritte Zuckerbaustein dieser Verbindung, 4-*O*-Methyl-*D*-fucose, wurde als Abbauprodukt von Avilamycin A [2] und Curamycin [4] bereits früher erhalten.



5) *Flambatriose-isobutyryl-pentaacetat* (**14**). Eine flüssige, dünnsschichtchromatographisch einheitliche Fraktion unterschied sich im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum vom Flambatriose-hexaacetat (**13**) nur durch die zusätzlichen Signale eines Isobuttersäurerestes, während bei ca. 2 ppm nur die Signale von 5 Acetylgruppen vorhanden waren. Das Spektrum stimmt mit dem des entsprechenden Abbauproduktes von Flambamycin überein. Die Stellung des Isobuttersäurerestes an $O-\text{C}(2)$ des Lyxoseteils ergibt sich aus den Resultaten des Flambamycinabbaus [3]. Auch hier muss im Verlauf der sauren Methanolysen eine teilweise Wanderung des Acylrestes in die Stellung 3 der Lyxose erfolgt sein, was sich in der Feinstruktur des Spektrums im 1- und 2-ppm-Gebiet auswirkt.

Dass die Isobuttersäure tatsächlich ein Baustein von **14** ist, wurde durch eine alkalische Hydrolyse bewiesen. Die mit Wasserdampf flüchtigen Säuren wurden in die *p*-Phenylphenacylester übergeführt und durch Chromatographie in Essigsäure-(*p*-phenylphenacyl)ester und Isobuttersäure-(*p*-phenylphenacyl)ester getrennt. Der letztere wurde durch Vergleich mit einer authentischen Probe identifiziert (Misch-Smp., IR., NMR., Rf). In den $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren der intakten Antibiotica (s. unten und Tab. 1) sind die Signale der C-Atome des Isobuttersäurerestes gut zu erkennen.

Bei der Hydrolyse von Avilamycin C mit verd. Schwefelsäure wurde ein etwas komplizierteres Abbaugemisch erhalten. Als wasserunlösliche Verbindung wurde Curacin (**16**) mit Smp. 144–145° gefasst [2]. Die wasserlöslichen Anteile wurden ähnlich wie oben getrennt und als Acetyldeivate charakterisiert. Es wurden die Verbindungen **17–19** und **21** identifiziert, die im folgenden einzeln besprochen werden.

6) *Triacetyl-curacin* (**17**) mit Smp. 191–192°, identifiziert mit einer Vergleichsprobe aus Avilamycin A [2]. Gemäß $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum liegt trotz des kristallinen Zustandes ein Gemisch (ca. 1:1) der beiden Anomeren vor.

7) *3,4,5-Triacetoxyacronäure-butylester* (**18**). Die Konstitution dieses flüssigen Abbauproduktes ergibt sich aus dem Massenspektrum: m/e 346 (M^+), 287 ($M^+ - \text{CH}_3\text{CO}_2$), 273 ($M^+ - \text{C}_4\text{H}_9\text{O}$), aus der mit der Mikroanalyse übereinstimmenden Bruttoformel $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_8$ und vor allem aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, das alle Signale aufweist, die der Formel **18** entsprechen. Die relative Lage dieser Gruppen zueinander ergab sich aus Spinentkopplungsversuchen. Das entsprechende γ -Lacton wurde seinerzeit [2] als Abbauprodukt des Avilamycins A nachgewiesen und ist auch beim Abbau von Flambamycin erhalten worden [3]. Der Butylester hat sich offensichtlich im Verlaufe der Verteilungschromatographie mit Butanol/Eisessig/Wasser durch Umesterung gebildet.

8) *Diacetyl-D-evermicose* (**19**) wurde in Kristallen mit Smp. 72–73° erhalten und mit dem Acetyldeivat von authentischer Evermicose verglichen⁴⁾. Alkalische Hydrolyse gab kristalline Evermicose mit Smp. 112–113° und $[\alpha]_D = +19,6^\circ$ (Endwert, in Wasser) in Übereinstimmung mit dem Vergleichspräparat [9].

Bei der Acetylierung der Evermicose unter üblichen Bedingungen wurde neben dem Diacetat (**19**) auch das Triacetat (**20**) erhalten und durch das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum charakterisiert. Die Acetylierung der tertiären Hydroxylgruppe erfolgt wahrscheinlich durch eine Acylwanderung von der sekundären auf die benachbarte tertiäre Funktion.

Tabelle 1. $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren von Flambamycin, Avilamycin A, Avilamycin C und Derivaten (Lösungsmittel: Flambamycin in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; Avilamycine in CDCl_3)

Art der C-Atome	Zuordnung vg. [3b]	Flambamycin vg. [3b]	Avilamycin A	(Avilamycin A)-acetat	Avilamycin C	(Avilamycin C)-mono- methyl- äther	(Avilamycin C)-acetat	Bemerkungen
$\text{H}_3\text{C}-\text{C}$	C(58) C(35) C(27) C(8) C(28) C(15) C(21) C(51) C(52) C(60)	14,3 16,3 17,8 17,8 18,0 18,6 18,8 19,2 19,3 27,5	13,5 16,3 17,4 17,4 18,0 18,6 18,6 19,1 19,7 25,4	13,5 16,3 17,2 17,7 18,0 18,5 18,6 19,3 19,8 25,3	13,9 16,2 17,4 17,5 17,7 18,0 18,6 19,0 19,8 18,6	13,9 16,2 17,4 17,4 17,7 18,0 18,6 19,1 19,8 18,6	13,0 16,3 17,2 17,4 17,7 17,9 18,1 19,0 19,8 15,5	^{a)} Dazu CH_3 -Signale von Acetylgruppen: 20,2 - 20,8 - 21,0 (2mal) - 21,2 ^{b)} CH_3 -Signale von Acetylgruppen: 18,5 - 18,6 - 20,1 - 21,0 (3mal)
CH	C(50)	34,1	33,9	33,9	34,0	34,0	33,8	CH von Isobuttersäurerest
CH_2	C(11) C(17) C(23)	41,1 41,4 -	39,2 40,1 43,9	36,6 38,4 43,9	39,2 40,1 43,9	39,1 40,1 43,7	36,6 38,4 43,8	
CH_3O	C(43) C(41) C(34) C(7) $\text{CH}_3\text{OC}(1)$	59,0 61,8 61,8 62,1 -	59,2 61,7 62,0 62,3 -	59,2 61,8 62,1 62,3 -	59,2 61,8 62,1 62,3 60,6	59,2 61,8 62,1 62,3 60,6	59,2 61,8 62,1 62,3 60,6	siehe Text siehe Text
CH-O	Von 63,2 bis 88,3 ppm z.T. stark überlappende Signale von ca. 25 C-Atomen; vgl. Text							
$\text{O}-\text{CH}_2-\text{OC}(61)$	96,9	96,9	96,9	96,7	96,7	96,7	96,5	
$\text{O}-\text{CH}-\text{O C}(44)$	95,3 C(36) C(10) C(22) C(29)	94,9 96,1 100,9 101,7 104,4	94,9 95,0 99,5 101,0 101,6	95,0 96,1 100,9 101,5 104,6	94,9 96,1 100,8 101,2 104,5	94,9 94,8 99,5 101,0 101,6		
$-\text{C}(\text{O})_2\text{O}$	C(53) C(16)	119,8 120,9	118,9 120,2	118,9 119,8	118,8 120,2	118,7 120,2	118,6 119,8	
aromat. Ring	C(2) C(4) C(6) C(5) C(3) C(1)	115,0 119,8 122,3 133,4 152,8 153,1	113,2 117,9 122,3 132,9 150,4 151,9	113,1 117,8 122,5 132,9 150,2 152,0	120,9 126,0 126,6 133,1 151,7 154,2			^{c)} Signal von Lösungsmittel-Pik überdeckt
$\text{C}=\text{O}$	C(9) C(49) C(59)	166,7 175,1 210,3	166,3 175,2 206,2	165,0 175,3 205,9	166,3 175,1 -	166,1 175,1 -	165,0 175,1 -	^{d)} Signale von Acetyl-Carbonylen: 166,8 - 168,7 - 169,3 - 169,8 - 170,0 ^{e)} Signale von Acetyl-Carbonylen: 165,6 - 166,8 - 168,7 - 169,7 - 169,9 (2mal)

Numerierung gleich wie beim Flambamycin [3]. Einzelheiten der Zuordnung s. [3b]. Signale, die aufgrund ihrer Intensität mehreren C-Atomen zugeordnet werden, sind in der Tabelle mehrfach aufgeführt. Eine Vertauschung der Zuordnung benachbarter Signale ist in einzelnen Fällen noch möglich.

9) *Triacetyl-curacose* (**21**) wurde in Kristallen mit Smp. 113° erhalten und mit dem früher aus Avilamycin A erhaltenen Präparat [2] identifiziert.

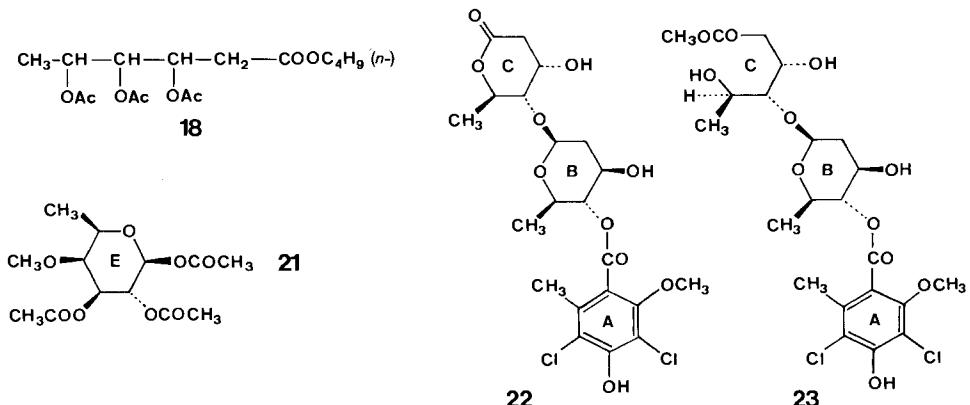
Als weitere reine Produkte wurden die Acetylderivate der Flambabiose (**10**), des Flambabiose-isobutyrats (**11+12**), der Flambatriose (**13**) und des Flambatriose-isobutyrats (**14+15**) isoliert und mit den bei der Methanolyse erhaltenen Präparaten identifiziert.

Das für die Strukturaufklärung des Flambamycins bedeutsame Flambalacton (**22**) [10] konnten wir unter den von uns angewandten Bedingungen der Methanolyse oder Hydrolyse nicht erhalten, doch gelang es, diese Verbindung aus Nebenfraktionen der Isolierung von Avilamycin A und C [1] zu isolieren und mit dem Abbauprodukt von Flambamycin zu identifizieren. Eine weitere Nebenkomponente aus der Gewinnung der Avilamycine [1], die in etwa 90proz. Reinheit erhalten wurde, gab ein ¹H-NMR.-Spektrum, das mit der Strukturformel **23** von Methylflambat gut vereinbar ist. Methylflambat (**23**) ist ebenfalls als Abbauprodukt von Flambamycin bekannt [10]. Beobachtungen deuten darauf hin, dass Methylflambat im Verlauf der Chromatographie teilweise in **22** umgewandelt wird (vgl. [14]). Flambalacton und Methylflambat bilden sich offensichtlich bei der Züchtung oder bei der Aufarbeitung durch partiellen Abbau der Avilamycine.

Die Einzelbausteine von **22** und **23** sind dagegen schon früher [1] beim Abbau von Avilamycin A erhalten worden und traten auch beim hier beschriebenen Abbau von Avilamycin C in Form von Curacin und dem Butylester **18** wieder auf. Die Konfiguration des Lactons blieb damals offen. Sie ergibt sich jetzt aus der Beziehung zum Flambamycin.

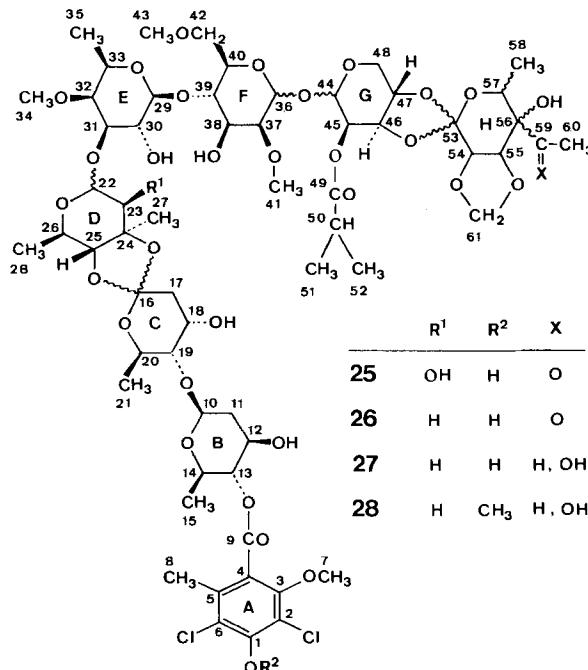
Die grössten durch diesen Abbau erfassten Bausteine der Avilamycine sind die Verbindungen **1**, **5**, **8** und **27** (eventuell **22** anstelle von **1+5**), die übrigen sind Produkte eines weiteren Abbaus dieser vier Komponenten. Es fällt auf, dass mit einer einzigen Ausnahme (Evermicose statt Evalose) alle auch Bausteine des Flambamycins (**25**) sind.

Die Elementar-Analysen der Avilamycine [1] passen auf die Anwesenheit von 61 C-Atomen wie beim Flambamycin. Die oben genannten Bausteine enthalten zusammen 52 C-Atome, es fehlt somit noch ein Baustein von ca. 9 C-Atomen, die einem Baustein von der Art der Eurekansäure (Baustein **H** in Formel **25**) entspre-



chen. Diese Befunde drängen die Vermutung auf, dass die Eurekansäure (bzw. Dihydroeurekansäure) auch ein Baustein der Avilamycine ist, d.h., dass sich das Avilamycin A vom Flambamycin nur durch das Fehlen einer Hydroxylgruppe an C(23) des Bausteins **D** unterscheidet. Diese Vermutung wurde durch den Nachweis einer Methylketon-Gruppe [1], die sich im bisher nicht gefassten Teil des Avilamycins A befinden muss, bestärkt, allerdings konnte bisher bei unseren Abbauversuchen von Avilamycin kein der Eurekansäure entsprechendes Produkt gefasst werden. Die vermutete Beziehung zwischen den Avilamycinen und dem Flambamycin konnte aber durch einen differenzierten Vergleich der ^1H -, aber hauptsächlich der ^{13}C -NMR.-Spektren der drei Antibiotika und einiger ihrer Derivate erhärtet werden.

So ergibt das Integral aller C-Methylgruppen an gesättigten C-Atomen (1-ppm-Bereich) im ^1H -NMR.-Spektrum des Avilamycins C (Fig. s. [1]) ca. 27 Protonen entsprechend 9 Methylgruppen, wie es Formel **27** verlangt. Avilamycin A besitzt gemäss ^1H -NMR.-Spektrum 7-8 Methylgruppen an gesättigten C-Atomen, die Formel **26** verlangt 8 solche Gruppen. Bei 2,3 ppm zeigt das Spektrum von Avilamycin C (**27**) ein *s* zu 3 Protonen ($\text{Ar}-\text{CH}_3$), dasjenige von Avilamycin A (**26**) deren zwei ($\text{Ar}-\text{CH}_3$ und $\text{CO}-\text{CH}_3$). Beide Avilamycine zeigen, wie auch das Flambamycin, vier *s* von OCH_3 -Gruppen (je bei 3,40, 3,61, 3,64 und 3,90 ppm, vgl. [1]) in Übereinstimmung mit den Formeln **25** bis **27**. Die übrigen Bereiche der ^1H -NMR.-Spektren zeigen zahlreiche, oft sich überlappende Signale, die bei den beiden Avilamycinen über weite Gebiete praktisch deckungsgleich sind und auf die Strukturformeln **26** und **27** passen, wobei allerdings die einzelnen Signale nicht immer exakt zugeordnet werden können.



Avilamycin C gibt ein kristallines Acetylderivat, dessen Analysen auf das Dihydrat eines Hexaacetates, $C_{73}H_{106}Cl_2O_{40}$, passen und dessen Spektren (1H -NMR. und ^{13}C -NMR.) mit der Anwesenheit von 6 Acetylgruppen vereinbar sind. Unter der plausiblen Annahme, dass die tertiären Hydroxylgruppen in **26** nicht acetylierbar sind, ist gemäss der Formel **27** ein Hexaacetat zu erwarten. Die Spektren des Acetylderivates von Avilamycin A passen auf ein Pentaacetat, wie gemäss Formel **26** zu erwarten ist.

Besonders aufschlussreich erwies sich ein Vergleich der ^{13}C -NMR.-Spektren der Avilamycine mit dem des Flambamycins⁵⁾. Die rauschentkoppelten Spektren von Flambamycin, Avilamycin A und C und einigen ihrer Derivate sind in der *Tabelle 1* zusammengestellt. Im $C-CH_3$ -Bereich finden wir in allen drei Antibiotica Signale von 10 C-Atomen. Jedem Signal des Flambamycins entspricht eines des Avilamycins A, während beim Avilamycin C und seinem Monomethyläther ein Signal von 25 ppm nach 18,6 ppm verschoben ist, entsprechend der früher nachgewiesenen Beziehung zwischen den beiden Avilamycinen (Methylketon/Methylcarbinol). Da die durch Abbauprodukte erfassten Teile der Avilamycin-Moleküle 8 $C-CH_3$ -Gruppen enthalten, müssen im noch unbekannten, 9 C-Atome enthaltenden Teil 2 solche Gruppen enthalten sein, was mit der Annahme, dass es sich um die beim Flambamycin nachgewiesene Eurekansäure handelt, im Einklang steht.

Nahe bei 34 ppm besitzen alle untersuchten Verbindungen ein einzelnes Signal, das dem Methin-C-Atom des Isobuttersäurerestes zugeordnet werden muss. Im Bereich um 60 ppm zeigen Flambamycin und die Avilamycine je vier Signale von Methoxylgruppen, die alle auch durch Abbauprodukte (z. B. **1**, **2** und **3**) erfasst wurden. Beim (Avilamycin C)-methyläther kommt ein fünftes OCH_3 -Signal dazu, offensichtlich dasjenige bei 60,6 ppm, für die neu eingeführte Methylgruppe an $O-C(1)$ des Dichlorisoeverninsäure-Restes. Bei den Acetylderivaten der Avilamycine sind einzelne Signale der nachfolgenden Gruppe ($C-O$ -Signale) nach höherem Feld verschoben, so dass die OCH_3 -Signale nicht mehr klar isoliert erscheinen.

Am schwierigsten interpretierbar war der Bereich von *ca.* 63–90 ppm, da zahlreiche Überlappungen und z.T. Verbreiterungen von Signalen auftraten. Bei allen untersuchten Verbindungen entspricht die Summe aller Signale etwa 25 C-Atomen, was den Partialformeln **25–28** entspricht. Am klarsten sind die Verhältnisse noch beim (Avilamycin C)-monomethyläther (**28**). Es muss hier ein besonders intensives Signal bei 72,7 ppm vier, eines mit etwa der doppelten normalen Intensität bei 69,3 ppm 2 C-Atomen zugeordnet werden. Die andern 21 Signale erscheinen entweder isoliert oder doch mit gut getrennten Spitzen.

Recht übersichtlich ist der Bereich um 100 ppm, der für Acetal-C-Atome charakteristisch ist. Alle untersuchten Avilamycin-Derivate zeigen in diesem Gebiet 6 deutlich unterscheidbare Signale. In den durch Abbau nachgewiesenen Bausteinen sind 5 Anomeriezentren enthalten [$C(10)$, $C(22)$, $C(29)$, $C(36)$ und $C(44)$]. Da der Baustein **H** über eine Orthoester-Bindung an den Lyxoserest gebunden sein muss (s. unten), ist es naheliegend, für das sechste Acetal-C-Atom eine $O-CH_2-O$ -Brücke anzunehmen, wie sie für die Eurekansäure nachgewiesen wurde.

⁵⁾ Da die Arbeiten über Avilamycin und Flambamycin ursprünglich unabhängig voneinander durchgeführt wurden, wurden die Spektren in verschiedenen Lösungsmitteln aufgenommen. Trotzdem lassen sie sich sehr gut miteinander vergleichen (s. *Tab.*). Einzelheiten der Zuordnung s. [3b].

Die Signale der Orthoester-C-Atome und der C-Atome des aromatischen Ringes treten zusammen in einer Gruppe zwischen ca. 118 und 150 ppm auf, in der wir insgesamt 8 Signale finden. Die Zuordnung der beiden Signale bei 119 und 120,2 ppm zu den Orthoester-C-Atomen ergibt sich daraus, dass diese dem Spektrum des *O*-Methyl-curarins (**6**) fehlen. Zudem sind diese beiden Signale durchwegs höher als diejenigen der aromatischen C-Atome. Dies tritt besonders deutlich in den Spektren der beiden Acetyl-derivate in Erscheinung, bei denen, offenbar wegen ungünstiger Relaxationsbedingungen, die Signale der Ring-C-Atome kaum mehr erkennbar sind, während die beiden Orthoester-Signale deutlich auftreten. Das Vorliegen von zwei Orthoestergruppen spricht wiederum stark dafür, dass die Eurekansäure auch ein Baustein des Avilamycins A, eine Dihydroeurekansäure ein Baustein des Avilamycins C ist.

Von den übrigen 6 Signalen dieser Gruppe sind die beiden bei ca. 150 ppm den sauerstofftragenden C-Atomen des Dichlorisoeverninsäure-Restes zuzuschreiben. Die Zuordnung der restlichen 4 ist nicht ganz eindeutig, da erfahrungsgemäss die in den Standard-Werken (z. B. [12]) angegebenen Verschiebungskremente nur bei niedrig substituierten Benzolringen einigermassen zuverlässig sind. Es fällt auf, dass die Signale dieser Gruppe bei den Avilamycinen A und C fast perfekt übereinstimmen, während der Methyläther **28** ziemlich starke Abweichungen zeigt. Es ist bekannt [12], dass die Verschiebungsbeiträge von OCH_3 -Gruppen an aromatischen Ringen von denen der OH-Gruppen erheblich verschieden sind.

Der Bereich der Ester-Carbonylsignale weist bei Flambamycin und den Avilamycinen je 2 Signale auf, entsprechend den Formeln **25-28**. Für die Acetyl-derivate sind diese Gebiete der Spektren vereinbar mit der Anwesenheit von 5 Acetylgruppen beim Avilamycin-A-Derivat und 6 Acetylgruppen beim Avilamycin-C-Acetat.

Schliesslich finden wir oberhalb 200 ppm je ein Signal bei Flambamycin, Avilamycin A und dessen Acetyl-derivat, entsprechend der Anwesenheit einer Methylketongruppe. Beim Avilamycin C und dessen Derivaten fehlt dieses Signal.

Recht informativ ist auch ein Vergleich der Massenspektren der Avilamycine A und C mit demjenigen von Flambamycin. Wie beim letzteren finden wir beim Avilamycin A die 4 charakteristischen Fragmente mit m/e 637 (Spaltung f^* gemäss [3c], Bausteine **F+G+H**; C(1), HC(1) und Ring-O von E), 401 (Spaltung j [3c], Bausteine **G+H**), 362 (Spaltung b^* [3c], Bausteine **A+B**) und 233 (Spaltung a , Baustein **A**). Die beiden letzteren Fragmente treten beim Avilamycin C unverändert auf, die ersten beiden besitzen Massenzahlen von 639 und 403, entsprechend dem Mehrgehalt von 2 H-Atomen in Stellung 59. Einzelheiten zu den Massenspektren s. [3c].

Die zahlreichen identischen Abbauprodukte, die aus den Avilamycinen und dem Flambamycin erhalten wurden, sowie die geschilderten spektroskopischen Übereinstimmungen veranlassen uns, für die Avilamycine A und C die Formeln **26** und **27** vorzuschlagen, in denen nur noch die Konfiguration an einigen Chiralitätszentren nicht abgeklärt ist.

Für Avilamycin-Präparate danken wir Herrn Prof. Dr. *H. Zähner*, Tübingen, und der *Ciba-Geigy AG*, Basel, die das Projekt auch finanziell unterstützt hat.

Experimenteller Teil

1. Pentaacetyl-avilamycin A. - Aus 200 mg Avilamycin A [1] mit 2 ml Essigsäureanhydrid und 2 ml Pyridin (48 Std., 20°) wurden nach dem Zersetzen mit Eis und Umkristallisieren aus Methanol 190 mg farblose Kristalle erhalten, Smp. 175–176°. - IR. (KBr): 1783 ν , 1746 ν , 1715 (Schulter). - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 1,0–1,45 ppm (*m*, 24 H); 2,08 (*s*, 12 H); 2,13 (*s*, 3 H); 2,31 (*s*, 3 H); 2,33 (*s*, 3 H); 3,41 (*s*, 3 H); 3,51 (*s*, 3 H); 3,58 (*s*, 3 H); 3,87 (*s*, 3 H); zahlreiche sich überlappende Signale von 1,5–2,8 und 3,3–5,6 ppm. - $^{13}\text{C-NMR}$. (CDCl_3): *s*. *Tabelle 1*.

2. Hexaacetyl-avilamycin C. - Das in gleicher Weise aus Avilamycin C bereitete Acetylderivat gab aus Methanol/Äther farblose Kristalle, Smp. 152–153°. - IR. (KBr): 1783 ν , 1745 ν . - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 1,1–1,5 (*m*, 27 H); 2,08 (*s*, 9 H); 2,10 (*s*, 3 H); 2,13 (*s*, 6 H); 2,30 (*s*, 3 H); 3,40 (*s*, 3 H); 3,51 (*s*, 3 H); 3,58 (*s*, 3 H); 3,87 (*s*, 3 H); zahlreiche sich überlappende Signale von 1,5–2,7 und 3,2–5,5 ppm. - $^{13}\text{C-NMR}$. (CDCl_3): *s*. *Tabelle 1*.



3. Methanolysen von Avilamycin C. - 3 g Avilamycin C in 150 ml Methanol und 5 ml 1N H_2SO_4 wurden nach 96 stdg. Stehen bei RT. auf $\frac{1}{3}$ des Volumens eingedampft. Nach Zufügen von 50 ml Wasser schied sich in der Kälte ein farbloser kristalliner Niederschlag ab.

3.1. *1-a,O-Methylcuracin (6)*. Nach Umkristallisieren des im vorigen Abschnitt erhaltenen Niederschlags aus Methanol/Wasser 750 mg Kristalle mit Smp. 145–146°, nach IR., Rf und Misch-Smp. identisch mit *1-a,O-Methylcuracin* aus Avilamycin A [2]. - IR. (CCl_4): 3530, 1738, 1570, 1540 (Sch.). - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 1,34 (*d*, $J = 6$; 3 H); 1,82 (*m*, $J_{2a,2e} = 13$; $J_{2a,3a} = 12$; $J_{2a,1e} = 4$; $\text{H}_a-\text{C}(2)$); 2,25 (*m*, $J_{2e,2a} = 13$; $J_{2e,3a} = 5$; $J_{2e,1e} = 1$; $\text{H}_e-\text{C}(2)$); 2,37 (*s*, 3 H; CH_3-Ar); 3,33 (*s*, 3 H; $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}(1)$); 3,90 (*s*, 3 H; $\text{CH}_3\text{O}-\text{Ar}$); 3,7–4,3 (*m*, 2 H; $\text{H}-\text{C}(3)$ und $\text{H}-\text{C}(5)$); 4,80 (*m*, 2 H; $\text{H}-\text{C}(1)$ und $\text{H}-\text{C}(4)$); 6,20 (br., OH). - $^1\text{H-NMR}$. ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): 4,87 ($d \times d$, $J_{1e,2a} = 4$; $J_{1e,2e} = 1$; $\text{H}_e-\text{C}(1)$); 5,36 (*t*, $J_{4a,3a} = J_{4a,5a} = 9$; $\text{H}-\text{C}(4)$). - $^{13}\text{C-NMR}$. (CDCl_3): 17,37 ν , 17,65 ν , 37,87 ν , 54,79 ν , 62,35 ν , 65,47 ν , 69,80 ν , 80,24 ν , 98,32 ν , 113,13 ν , 117,85 ν , 122,76 ν , 133,14 ν , 150,20 ν , 152,13 ν , 166,74 ν . - MS.: 394, 396, 398 (*ca.* 9:6:1): M^+ mit $^{35}\text{Cl}_2$, $^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ und $^{37}\text{Cl}_2$.



Das Filtrat nach dem Abtrennen von **6** wurde mit Bariumcarbonat neutralisiert, durch *Celite* filtriert, i.V. eingedampft und der Rückstand (1,3 g), der gemäss Dünnschichtchromatographie (*Tab. 2*) 7 Komponenten enthielt, an 110 g Kieselgel mit Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1 chromatographiert. Es wurden 5 nahezu einheitliche Verbindungen und zuletzt ein Gemisch von 2 Komponenten erhalten (*Tab. 2*). Der Rückstand aus den Fraktionen 21–60 gab nach dem Umkristallisieren reines Methylglycosid **6** mit den gleichen Eigenschaften wie oben.

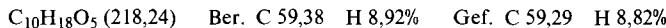
3.2. *4-O-Acetyl- β -methyl-evermicosid (7)*. Der Rückstand der Fraktionen 61–95 wurde mit Essigsäureanhydrid und Pyridin acetyliert und das Produkt an 5 g Kieselgel chromatographiert. Das Eluat war nach $^1\text{H-NMR}$ -Spektren ein Gemisch der beiden anomeren Methylglycoside, durch Kristallisation aus Äther wurde das reine β -Anomere (**7**) erhalten. Smp. 85–86°. - IR. (CCl_4): 3490, 1740, 1728

Tabelle 2. Trennung des Methanolysengemisches an 110 g Kieselgel-60 (Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1, Fraktionen *ca.* 5 ml)

Fraktionen	Rf ^a	Menge	Identifiziert als
21– 60	0,73	157 mg	1- <i>O</i> -Methyl-curacin
61– 95	0,62	53 mg	Methyl-evermicosid
96–130	0,56	74 mg	uneinheitlich, nicht charakterisiert
131–170	0,51	76 mg	Flambabiose-isobutyrat
171–230	0,35	64 mg	Flambatriose-isobutyrat
231–280	0,29 und 0,15	75 mg	Flambabiose und Flambatriose

^{a)} Kieselgel-Fertigplatten F₂₅₄ (*Merck*); Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1; Sprühmittel: Konz. Schwefelsäure oder Anilin-phthalat. Die meisten Fraktionen enthielten noch geringe Mengen der Nachbarkomponenten.

(Schulter). Fingerprint-Region in Übereinstimmung mit einem aus authentischer Evermicose⁴⁾ bereiteten Vergleichspräparat. – ¹H-NMR (CDCl₃): 1,28 (s, 3 H; H₃C–C(3)); 1,28 (d, J = 6; 3 H; H₃C–C(5)); 1,80 (d × d, J_{2a,2e} = 13; J_{2a,1a} = 8,5; H_a–C(2)); 2,07 (z.T. überdeckt, d × d, J_{2e,1a} = 2,5; H_e–C(2)); 2,15 (s, 3 H; Ac); 2,63 (br. s; OH); 3,50 (m; H–C(5)); 3,51 (s, 3 H; CH₃O–C(1)); 4,47 (d × d, J_{1a,2a} = 8,5; J_{1a,2e} = 2,5; H–C(1)); 4,59 (d, J = 9; H_a–C(4)). – MS.: 218 (M⁺).



3.3. *Flambabiose-isobutyrat-tetraacetat (11+12)*. Die Fraktionen 131–170 gaben nach Acetylieren und Chromatographie an 5 g Kieselgel eine dünnsschichtchromatographisch einheitliche Flüssigkeit. [α]_D = – 54,7° (c = 0,66, Methanol). – IR. (CCl₄): 1750, keine Bande im OH-Gebiet. – ¹H-NMR. (CDCl₃): s. Figur.

3.4. *Flambatriose-isobutyrat-pentaacetat (14+15)*. Nach Acetylieren der Fraktionen 171–230 und Chromatographie farblos, amorph, dünnsschichtchromatographisch einheitlich. [α]_D = – 62,7° (c = 0,36, Methanol). – IR. (CCl₄): 1748, OH-Gebiet leer. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 1,12 (d, J = 7; 3 H); 1,20 (d, J = 7, ca. 1,5 H); 1,23 (d, J = 7; ca. 1,5 H); 1,32 (d, J = 7; 3 H); 2,00 (s, ca. 1,5 H); 2,05 (s, 6 H); 2,10 (s, 3 H); 2,14 (s, ca. 1,5 H); 2,17 (s, 3 H); 2,60 (m, J = 7; CH vom Isobuttersäurerest); 3,39 (s, 3 H); 3,52 (s, 3 H); 3,58 (s, 3 H); 3,4–3,8 (m, 7 H); 3,90 (m, 1 H); 4,03 (t, J = 8, 1 H); 4,46 (d, J = 7,5; 1 H); 4,80 (br. s, 1 H); 4,9–5,4 (m, 7 H). – MS.: 781 (M⁺ + 1), 780 (M⁺, C₃₄H₅₂O₂₀), 749, 721, 693 etc.

Aus Flambamycin ist auf etwas anderem Wege ein einheitliches kristallisiertes Flambabiose-isobutyrat-pentaacetat mit dem Isobuttersäurerest an O–C(2) des Lyxoserestes erhalten worden [10]. Mit Ausnahme des 1-ppm- und 2-ppm-Gebietes völlige Übereinstimmung der NMR.-Spektren dieser 2 Präparate.

3.5. *p-Phenylphenacyl-isobutyrat*. 60 mg Flambabiose-isobutyrat-pentaacetat (14+15) wurden mit 100 mg Kaliumhydroxid in 6 ml Methanol/Wasser 2 Std. zum Sieden erhitzt. Nach Abdampfen des Methanols i. V. wurde das wässrige Konzentrat mit Schwefelsäure angesäuert und die flüchtigen Säuren mit Wasserdampf destilliert. Das Destillat wurde mit verd. NaOH-Lösung neutralisiert (Phenolphthalein) und i. V. eingedampft. Der Rückstand wurde mit 30 mg *p*-Phenylphenacylbromid in Alkohol 2 Std. gekocht, mit Wasser verdünnt und mit Benzol ausgezogen. Nach Waschen mit Wasser, Trocknen und Eindampfen gab der Rückstand bei der Dünnsschichtchromatographie (Chloroform/Äthylacetat 4:1) 2 Flecke mit den Rf-Werten von *p*-Phenylphenacyacetat (0,68) und *p*-Phenylphenacyl-isobutyrat (0,78). Präparative Trennung an 10 g Kieselgel gab reines *p*-Phenylphenacyl-isobutyrat [13], Smp. 87–88°, IR.- und ¹H-NMR.-Spektrum in Übereinstimmung mit einer Vergleichsprobe.

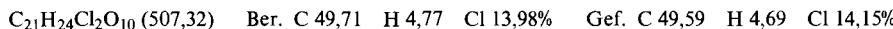
3.6. *Pentaacetyl-flambabiose (10)*. Die Fraktionen 231–280 gaben nach der Acetylierung und Chromatographie an Kieselgel 2 kristalline Produkte. Das erste mit Smp. 148–149° und [α]_D = – 49,2° (c = 0,36, Methanol) erwies sich im direkten Vergleich (IR., ¹H-NMR.) als identisch mit dem entsprechenden Abbauprodukt von Flambamycin [5]. – IR. (KBr): 1748. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 2,03 (s, 3 H); 2,06 (s, 3 H); 2,08 (s, 3 H); 2,13 (s, 3 H); 2,15 (s, 3 H); 3,35 (s, 3 H); 3,62 (s, 3 H); 3,4–3,7 (m, 3 H); 3,76 (br. d, J = 3,5; 1 H); 3,90 (d × d, J₁ = 2,5; J₂ = 3; 1 H); 4,08 (d × d, J₁ = 6,5; J₂ = 12; 1 H); 4,86 (s, 1 H); 4,92 (d × d, J₁ = 3; J₂ = 10; 1 H); 5,1–5,5 (m, 5 H).

3.7. *Hexaacetyl-flambatriose (13)*. Die Spektren des zweiten kristallinen Acetats, Smp. 91°, stimmten mit denen von authentischer Hexaacetyl-flambatriose (13) [5] überein. [α]_D = – 82,6° (c = 0,54, Methanol). – IR. (CCl₄): 1750, keine OH-Banden. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 1,32 (d, J = 7; 3 H); 2,02 (s, 3 H); 2,05 (s, 3 H); 2,07 (s, 3 H); 2,09 (s, 3 H); 2,15 (s, 3 H); 2,16 (s, 3 H); 3,39 (s, 3 H); 3,52 (s, 3 H); 3,58 (s, 3 H); 3,35–3,95 (m, 7 H); 4,02 (t, J = 8,5; 1 H); 4,46 (d, J = 7,5; 1 H); 4,75–5,4 (m, 8 H); von 3,3–5,4 ppm gleicher Kurvenverlauf wie im Spektrum von 14+15 (s. oben). – ¹³C-NMR. (CDCl₃): 16,2 (CH₃–C); 20,7 (sehr intensiv, 5 CH₃CO); 21,0 (1 CH₃CO); 59,2; 60,3; 61,1; 61,7; 66,4; 68,3; 69,1; 69,7; 70,4; 70,6; 72,4; 73,3; 74,4; 75,0; 76,9; 79,2 (16 C–O); 93,9; 94,6; 100,9 (3 O–C–O); 169,0; 169,5; 169,6; 169,8; 170,1; 170,4 (6 Ester-CO).

4. Hydrolyse von Avilamycin C. – Die Suspension von 2 g Avilamycin C in 100 ml 1N H₂SO₄ wurde 2 Std. auf 80° erwärmt. Der unlösliche Niederschlag wurde abfiltriert und aus Methanol/Wasser umkristallisiert.

4.1. *Curacin (1)*. Die Kristalle aus vorigem Abschnitt, 570 mg, schmolzen bei 144–145° und stimmten nach Misch-Smp., IR.- und NMR.-Spektren mit Curacin aus Avilamycin A [2] überein. Das Produkt wurde weiter als Triacetylterivat 17 (Smp. 191–192°) charakterisiert, das gemäss NMR. ein

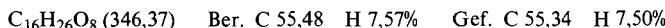
Gemisch der beiden Anomeren ist: u.a. 5,80 ($d \times d$, $J_{1a,2a} = 8$; $J_{1a,2e} = 2,5$) und 6,22 ($d \times d$, $J_{1e,2a} = 4$; $J_{1e,2e} = 1,5$), je ca. 0,5 H (in CDCl_3). - MS.: 506, 508 und 510 (ca. 9:6:1): M^+ mit $^{35}\text{Cl}_2$, $^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ und $^{37}\text{Cl}_2$.



Das Filtrat mit den wasserlöslichen Abbauprodukten wurde wie oben mit Bariumcarbonat neutralisiert und gab nach dem Eindampfen i.V. 1,1 g viskoses Öl, das gemäss Dünnschichtchromatogramm (Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1) 9 Komponenten enthielt. Die präparative Trennung erfolgte wie oben mit Butanol/Eisessig/Wasser an Kieselgel und gab aus den Fraktionen 81-106 86 mg Curacin (1), aus 107-125 54 mg 3,4,5-Trihydroxycapronsäure-butylester, aus 126-148 38 mg Evermicose, aus 149-170 74 mg Flambabiose-isobutyryl, aus 171-200 80 mg Gemisch von Curacose und Flambatriose-isobutyryl, aus 201-230 48 mg Flambabiose und Flambatriose.

Die noch nicht ganz einheitlichen Fraktionen wurden acetyliert und die Acetate an je ca. der 100fachen Menge Kieselgel mit Chloroform/Essigester (meist 4:1) chromatographiert. Die bereits bei der Methanolyse erhaltenen Abbauprodukte: Flambabiose-isobutyryl-tetraacetat (11+12), Flambatriose-isobutyryl-pentaacetat (14+15), Flambabiose-pentaacetat (10) und Flambatriose-hexaacetat (13) wurden durch direkten Vergleich (IR., NMR., Rf) identifiziert. Die neuen Verbindungen werden nachfolgend charakterisiert.

4.2. 3,4,5-Triacetoxycapronsäure-butylester (18). Farbloses Öl, destilliert bei 150° Badtemperatur (0,05 Torr). IR. (CCl_4): 1750, keine OH-Banden. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 0,92 (degeneriert t , J ca. 6; 3 H; CH_3 von Butylrest); 1,22 (d , $J = 6,5$; 3 H); 1,1-1,7 (m , 4 H; CH_2-CH_2 von Butylrest); 2,05 (s , 3 H; Ac); 2,06 (s , 3 H; Ac); 2,16 (s , 3 H; Ac); 2,54 (d , $J = 5$; 1 H); 2,55 (d , $J = 7$; 1 H; 2 H and C(2)); 4,09 (t , $J = 5$; 2 H; 2 H-C(1) von Butylrest); 4,8-5,2 (m , 2 H; H-C(4) und H-C(5)); 5,58 ($d \times t$, $J_d = 3$; $J_t = 6$; H-C(3)). Spinentkopplung: Einstrahlung bei 1,22; 4,95 $\rightarrow d$, $J = 8$; bei 1,53; 0,92 $\rightarrow s$; 4,09 $\rightarrow s$; bei 2,54; 5,58 $\rightarrow d$, $J = 3$; bei 5,13; 5,58 $\rightarrow t$, $J = 6$; bei 5,58: 2,55 $\rightarrow s$, 2 H. - MS.: 346 (M^+), 287 ($M^+ - \text{CH}_3\text{COO}$), 273 ($M^+ - \text{C}_4\text{H}_9\text{O}$).



4.3. Tri-O-acetyl-evermicose (20). Die Fraktionen 126-148 gaben nach der Acetylierung zwei Produkte mit Rf 0,75 und 0,71 (Chloroform/Essigester 4:1, Kieselgel F₂₅₄). Durch Chromatographie an 3 g Kieselgel wurden zunächst 10 mg Eluat erhalten, Smp. nach Umkristallisieren aus Äther/Petroläther 66-67°. - IR. (CCl_4): 1752, 1740, keine OH-Banden. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 1,24 (d , $J = 6$; 3 H an C(6)); 1,66 (s , 3 H; $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(3)$); 1,98 (s , 3 H; Ac); 2,12 (s , 3 H; Ac); 2,14 (s , 3 H; Ac); 2,15 (teilweise verdeckt, m ; H_a-C(2)); 2,80 ($d \times d$, $J_{2e,2a} = 13$, $J_{2e,1a} = 3$; H_e-C(2)); 3,68 (m , H-C(5)); 5,04 (d , $J = 9$; H-C(4)); 5,78 ($d \times d$, $J_{1a,2a} = 9,5$; $J_{1a,2e} = 3$; H-C(1)). - MS.: M^+ fehlt; 245 ($M^+ - \text{CH}_3\text{CO}$), 228 ($M^+ - \text{CH}_3\text{COOH}$).

4.4. 1,4-Di-O-acetyl-evermicose (19). Das Acetyl-derivat mit Rf 0,71 gab aus Aceton/Petroläther 20 mg Kristalle mit Smp. 72-73° und stimmte nach Misch-Smp., IR. und NMR. überein mit dem Hauptprodukt der Acetylierung von authentischer Evermicose [9]⁴. - IR. (CCl_3): 3500, 1753, 1730 (Schulter).

4.5. D-Evermicose (8). 10 mg Diacetyl-derivat **19** wurden mit 5 ml 10proz. äthanolischer KOH-Lösung 1 Std. auf 70° erwärmt, nach dem Verdünnen mit Wasser auf Phenolphthalein neutralisiert (Salzsäure) und i.V. eingedampft. Der Rückstand wurde mit Aceton ausgezogen und der Extrakt aus Aceton/Petroläther umkristallisiert: 4 mg, Smp. 112-113°; $[\alpha]_D = +19,6^\circ$ (Wasser, Endwert nach 24 Std.), in Übereinstimmung mit den Daten der authentischen D-Evermicose [9].

4.6. 1,2,3-Tri-O-acetyl-curacose (21). Die Fraktionen 171-200 wurden nach der Acetylierung in 2 Komponenten aufgetrennt. Das Flambatriose-isobutyryl-pentaacetat wurde durch IR.- und $^1\text{H-NMR}$ -Spektren mit dem oben beschriebenen Präparat identifiziert. Die zweite Komponente war ein farbloses Öl und bestand gemäss NMR-Spektrum aus den beiden anomeren Triacetaten der Curacose (Verhältnis ca. 2:1). - IR. (CCl_4): 1755, keine OH-Banden. - $^1\text{H-NMR}$. (CDCl_3): 1,27 (d , $J = 6,5$; ca. 1 H); 1,34 (d , $J = 6,5$; ca. 2 H); 2,0-2,2 (m , 9 H; 3 Ac); 3,56 (s , 3 H; CH_3O); 3,4-3,6 (m , teilweise verdeckt, H-C(4)); 3,80 ($d \times q$, J_d ca. 1, $J_{qa} = 6,5$; ca. 0,65 H); 4,15 (m , ca. 0,35 H; H-C(5)); 4,97 ($d \times d$, $J_{3a,2a} = 10,5$; $J_{3a,4e} = 3$; ca. 0,65 H; H-C(3)); 5,1-5,7 (m , ca. 2,3 H); 6,30 (d ,

$J_{1c,2a} = 3,5$; *ca.* 0,3 H; H–C(1) von α -Anomer). Curacose war seinerzeit aus Avilamycin A in Form eines einheitlichen, krist. β -Triacetats mit Smp. 113–114° erhalten worden [2].

5. Isolierung von Flambalacton (22) und Methylflambat (23)⁶⁾. Die uneinheitlichen Fraktionen (2,18 g, *ca.* 4 Komponenten gemäss Dünnschichtchromatographie), die bei der Reinigung der Avilamycine A und C nach dem letzteren eluiert wurden [1], wurden erneut an 260 g Kieselgel mit Essigsäure-methylester/Methanol 98:2 chromatographiert. Die ersten 170 mg Eluat gaben 132 mg Eindampfrückstand, der dünnschichtchromatographisch einheitlich war, gemäss Hochdruck-Flüssigchromatographie (UV.-Detektor) aber noch geringe Mengen einer zweiten Komponente enthielt. Nach Umkristallisieren aus Chloroform/Äther/Hexan farblose Kristalle, Smp. 215°. – IR. (CHCl₃): 3520, 1745. – ¹H-NMR. (CD₃OD): 1,37 (*d*, *J* = 6,5; 3 H); 1,45 (*d*, *J* = 6,5; 3 H); 1,4–1,85 (*m*, 2 H; 2,35 (*s*, 3 H; H₃C–Ar); 2,50 (*d* \times *d*, *J*₁ = 17; *J*₂ = 5,5; 1 H); 2,98 (*d* \times *d*, *J*₁ = 17; *J*₂ = 4,5; 1 H); 3,45–3,7 (*m*, 2 H); 3,7–4,0 (*m*, 1 H); 3,84 (*s*, 3 H; CH₃O–Ar); 4,1–4,5 (*m*, 2 H); 4,7–4,9 (*m*, teilweise überdeckt von OH-Signal). Identifiziert mit authentischem Flambalacton [3] [10] durch Misch-Smp., Rf und das Fragmentierungsmuster im MS. ($M^+ = 508$, 510 und 512). Das in CD₃COCD₃ aufgenommene ¹H-NMR.-Spektrum von Flambalacton stimmte – abgesehen von geringen Abweichungen in den δ -Werten – ebenfalls mit dem obigen Spektrum überein.

Eine spätere Fraktion des beschriebenen Chromatogramms (126 mg) enthielt neben Flambalacton eine zweite Komponente, die nach erneuter Chromatographie an Kieselgel (56 mg Hauptfraktion) und präparativer Hochdruck-Flüssigchromatographie 5,6 mg der neuen Verbindung (23) von *ca.* 90proz. Reinheit gab. – IR. (CHCl₃): 3520, 1740. – ¹H-NMR. (CDCl₃): 1,28 (*d*, *J* = 6; 3 H); 1,34 (*d*, *J* = 6; 3 H); 1,55–2,0 (*AB*-Teil von *ABX*; *J*_{AB} = 12; 2 H); 2,36 (*s*, 3 H); 2,67 (br. *d*, *J* = 6; 2 H); 3,74 (*s*, 3 H; COOCH₃); 3,88 (*s*, 3 H; H₃C–Ar); 3,3–4,9 (schlecht aufgelöster Signalhaufen, *ca.* 11 H).

Herrn *W. Manser* danken wir für die Mikroanalysen, dem Instrumentalservice der ETHZ (Leitung Prof. *J. F. M. Oth*) für die NMR.-Spektren und Herrn Prof. *J. Seibl* für die Massenspektren.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *W. Heilman, E. Kupfer, W. Keller-Schierlein, H. Zähner, H. Wolf & H. H. Peter*, Helv. 61, 1 (1978).
- [2] *F. Buzzetti, F. Eisenberg, H. N. Grant, W. Keller-Schierlein, W. Voser & H. Zähner*, Experientia 24, 320 (1968).
- [3] a) *W. D. Ollis, Ch. Smith & D. E. Wright*, Tetrahedron (im Druck); b) *W. D. Ollis, I. O. Sutherland, B. F. Taylor, Ch. Smith & D. E. Wright*, Tetrahedron (im Druck); c) *W. D. Ollis, S. Jones, Ch. Smith & D. E. Wright*, Tetrahedron (im Druck). Vgl. auch *W. D. Ollis, Ch. Smith, I. O. Sutherland & D. E. Wright*, J. chem. Soc. Chem. Commun. 1976, 350.
- [4] *O. L. Galmarini & V. Deulofeu*, Tetrahedron 15, 76 (1961); *E. G. Gros, V. Deulofeu, O. L. Galmarini & B. Frydman*, Experientia 24, 323 (1968).
- [5] *W. D. Ollis, Ch. Smith & D. E. Wright*, J. chem. Soc. Chem. Commun. 1974, 881.
- [6] *H. Reimann, R. S. Jaret & O. Z. Sarre*, J. Antibiotics (Tokyo) 22, 131 (1969); *A. K. Ganguly & S. Szmulewicz*, J. Antibiotics (Tokyo) 28, 710 (1975); *A. K. Ganguly, O. Z. Sarre, A. T. McPhail & K. D. Onan*, J. chem. Soc. Chem. Commun. 1977, 313; *A. K. Ganguly, S. Szmulewicz, O. Z. Sarre & V. M. Girijavallabhan*, J. chem. Soc. Chem. Commun. 1976, 609.
- [7] *A. K. Ganguly & A. K. Saksena*, J. Antibiotics (Tokyo) 28, 707 (1975).
- [8] *J. M. Sugihara*, Adv. in Carbohydrate Chemistry 8, 1 (1953); *R. Kuhn, H. Tritschmann & I. Löw*, Angew. Chem. 67, 32 (1955).
- [9] *A. K. Ganguly & O. Z. Sarre*, Chem. Commun. 1969, 1149.
- [10] *W. D. Ollis, Ch. Smith & D. E. Wright*, J. chem. Soc. Chem. Commun. 1974, 882.
- [11] *W. D. Ollis, Ch. Smith & D. E. Wright*, J. chem. Soc. Chem. Commun. 1976, 347, 348.
- [12] *E. Pretsch, T. Clerc, J. Seibl. & W. Simon*, «Strukturaufklärung organischer Verbindungen mit spektroskopischen Methoden». Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1976.
- [13] *A. T. Nielsen & E. B. Ovist*, J. Amer. chem. Soc. 76, 5165 (1954).
- [14] *A. K. Ganguly, O. Z. Sarre, D. Greeves & J. Morton*, J. Amer. chem. Soc. 95, 942 (1973).

⁶⁾ Mitbearbeitet von Frl. *Margrit Meyer*, Diplomarbeit ETHZ, 1976.