

## NEUE HEPTAEN-MAKROLIDE—I CHARAKTERISIERUNG UND ABBAU

F. BOHLMANN, E. V. DEHMLow, H.-J. NEUHAHN, R. BRANDT und B. REINICKE

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität, Berlin

(Received in Germany 22 December 1969; Received in the UK for publication 20 January 1970)

**Abstract**—The antibiotic DJ-400 isolated from streptomycetes was separated by counter current distribution into two similar components B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub>. Retroaldolizations yielded N-methyl-*p*-aminoacetophenone and 3,5-heptadienone from B<sub>1</sub>, and *p*-aminoacetophenone from B<sub>2</sub>. With stronger alkali an octaenal was isolated from both components. Both, B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub>, contain free  $\beta$ -ketoacid systems and the amino sugar mycosamine. Further experiments have led to partial structures 8 or 9 for the surrounding of the chromophore.

**Zusammenfassung**—Das aus Streptomyceten isolierte Antibiotikum DJ-400 lässt sich durch Gegenstromverteilung in die beiden recht ähnlichen Komponenten B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub> zerlegen. Retroaldolspaltungen von B<sub>1</sub> liefern N-Methyl-*p*-aminoacetophenon und 3,5-Heptadienon und von B<sub>2</sub> nur *p*-Aminoacetophenon. Mit stärkerem Alkali erhält man aus beiden Komponenten ein Octaenal. Beide Komponenten enthalten freie  $\beta$ -Ketosäuresysteme und glykosidisch gebunden den Aminozucker Mycosamin. Auf Grund weiterer Versuche werden die Partialstrukturen 8 oder 9 für die Umgebung des Chromophors abgeleitet.

DJ-400 ist ein Antibiotikum mit fungistatischer und trichomonastatischer Wirksamkeit aus dem Mycel einer Streptomycetenart.\* Es lässt sich aufgrund seines UV-Spektrums (Maxima bei 402, 381, 360 und 340 m $\mu$  in die Heptaengruppe der Polyenantibiotika<sup>1</sup> einordnen.

Obwohl eine grössere Anzahl solcher Heptaene in der Literatur beschrieben und z.T. physikalisch und mikrobiologisch charakterisiert wurde, ist bisher noch keine Verbindung dieser Art in ihrer Struktur voll aufgeklärt worden. Nur für Trichomycin A<sup>2</sup> und Amphoterizin B<sup>3,4</sup> liegen eingehendere Untersuchungen vor, die zu Partialstrukturen führten. Auch unsere Arbeit an DJ-400 erwies sich als ungewöhnlich schwierig, da die Substanz gegenüber Hitze, Licht, Luft, Säure und Base empfindlich ist.

DJ-400 fällt als gelb-braunes, in organischen Lösungsmitteln schwerlösliches Pulver an. In mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln ist es etwas löslich und zeigt deutlich amphotere Eigenschaften.

Zur Reinigung des rohen Antibiotikums haben wir die Gegenstromverteilung benutzt, die sich wegen der Schwerlöslichkeit des Naturstoffs schwierig gestaltet. Am geeignetsten waren die Systeme Methanol/Chloroform/Borat-Puffer p<sub>H</sub> 8.4 oder p<sub>H</sub> 8.0 sowie Chloroform/Methanol/Äthanol-Boratpuffer p<sub>H</sub> 8 (15: 17: 3: 10). Man erhält so eine Auftrennung in die Komponenten A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> und C. A und C sind offenbar Abbauprodukte, während B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub> mikrobiologisch aktiv sind. Obwohl durch mehrfache Verteilung keine weitere Auftrennung zu erreichen war, konnte bisher keine der Komponenten kristallisiert erhalten werden. Andere Trennmethode wie Verteilungschromatographie an Cellulose oder Polyamidsäulen waren präparativ

\* Entdeckt von G. Johnson und L. W. Durrel (Colorado State University, U.S.A.).

wenig erfolgreich, jedoch war die analytische Auftrennbarkeit an Polyamid-Dünnschichtplatten von grossem Nutzen.

Wie schon erwähnt, zeigen die UV-Spektren das Vorliegen von Heptaenen an. Andere spektrale Methoden konnten nur einen geringeren Beitrag zur Strukturaufklärung leisten. Verwandlung in einen Poly-trimethyl-silyläther-ester macht die Komponenten nicht flüchtig genug, um das Massenspektrum aufnehmen zu können, wie dies bei einfacheren Antibiotika mit Erfolg möglich ist.<sup>5,15</sup> Die Trimethylsilylderivate sind ausreichend löslich für NMR-Messungen, jedoch sind die Spektren zu komplex, um brauchbare Informationen zu liefern. In den IR-Spektren findet man zunächst eine breite, wenig strukturierte Absorption von 3650 bis 2450  $\text{cm}^{-1}$ , aus der man auf zahlreiche OH- und evtl. NH-Gruppen sowie auf eine freie Säuregruppe schliessen kann. Aus dieser breiten Bande ragen Einzelmaxima bei 3025  $\text{cm}^{-1}$  (Olefin und Aromaten) und um 2935  $\text{cm}^{-1}$  (gesättigte C—H-Valenz-Schwingung) heraus. Eine breite, schwach strukturierte Carbonylabsorption bei 1750–1690 lässt verschiedenartige Carbonylfunktionen vermuten. Durch Banden bei 1640 und 1010  $\text{cm}^{-1}$ , die nach der katalytischen Hydrierung verschwinden, gibt sich das hochkonjugierte Olefin zu erkennen, und Maxima bei 1605 und 1570  $\text{cm}^{-1}$  geben einen weiteren Hinweis auf einen Aromaten.

*Aufklärung von Seitenketten.* Behandlung mit 2 n Säure spaltet sowohl aus B<sub>1</sub> als auch aus B<sub>2</sub> den Aminozyucker Mycosamin (3-Amino-3,6-didesoxy-D-aldohexose<sup>6</sup>) ab, der auch in zahlreichen anderen Polyen-Antibiotika<sup>7</sup> aufgefunden wurde. Sein NMR-Spektrum stützt die angegebene Konfiguration, wie auch von Ceder<sup>7</sup> berichtet wurde. Diese Glykosidspaltung zerstört das Aglykon zumindest teilweise, was man am Abnehmen des Extinktionskoeffizienten feststellen kann.

Die Einwirkung von Alkali setzt aus B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub> offenbar durch Retroaldolspaltung aromatische Ketone frei. Hier zeigt sich der erste Unterschied der beiden Komponenten: Aus B<sub>2</sub> entsteht *p*-Aminoacetophenon, das man auch aus Trichomycin<sup>2</sup> und Candidicin<sup>8</sup> erhält. Dagegen entsteht aus B<sub>1</sub> *p*-[N-Methylamino]-acetophenon.<sup>9</sup> Vor kurzem wurde diese Gruppierung auch in dem Antibiotikum Perimycin<sup>10</sup> aufgefunden. Weitere Stickstoff-Funktionen sind nicht vorhanden.

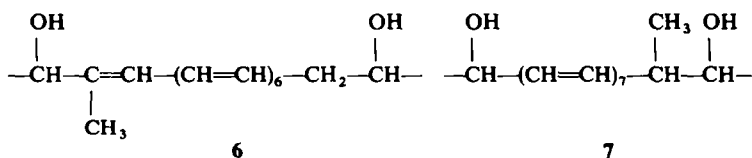
Durch Schütteln mit Acetanhydrid in Methanol erhält man N,N'-Diacetate, die etwas günstigere Lösungseigenschaften in organischen Lösungsmitteln aufweisen, so dass eine potentiometrische Titration durchgeführt werden konnte. Nach den zwei Aminofunktionen lässt sich so eine Säuregruppe nachweisen, wodurch die amphoteren Eigenschaften erklärt werden. Auf acetylfreie Verbindungen umgerechnet ergeben sich Molgewichte von 1200–1400; jedoch sind diese Werte offensichtlich mit grossen Fehlern behaftet und können allenfalls als Anhaltspunkte dienen. Die Analysenwerte streuen ebenfalls stark, so dass keine eindeutige Summenformel zu errechnen ist. Diese Schwierigkeit tritt auch schon bei viel einfacher gebauten Antibiotika auf.\*

Bei der potentiometrischen Titration tritt nach Neutralisation besonders beim Erwärmen ein weiterer langsamer Alkaliverbrauch auf, was möglicherweise auf die Öffnung eines Lactonringes hinweist, denn die drastischere Verseifung liefert keinen niederen Alkohol. Die durch Titration aufgefundene Säure erweist sich als decarboxylierbare Carboxylgruppe: In siedendem Wasser entwickeln B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub> 1 Mol CO<sub>2</sub>. Wird zuvor mit NaBH<sub>4</sub> reduziert, so bleibt Kohlensäurebildung aus. In beiden

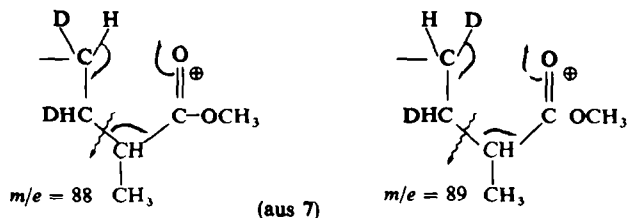
\* Seither sind die Summen- (und damit natürlich auch die Struktur-) formeln berichtigt worden bei Pikromycin,<sup>12</sup> Magnamycin<sup>13</sup>) und bei Pimaricin<sup>14,15</sup> sogar zweimal!



Bei der praktischen Durchführung der Reaktion erhält man ein Gemisch homologe Dicarbonsäuren—durch Weiteroxydation der primären Verbindung—das nach Diazomethanveresterung gaschromatographisch trennbar ist. Die Retentionszeit des Diesters mit der längsten Kohlenstoffkette kommt der des  $C_{17}$ -Dicarbonsäuredimethylesters sehr nahe.<sup>21</sup> Das gaschromatographisch abgetrennte Abbauprodukt hat jedoch eine um  $CH_2$  grössere Summenformel, was auf eine Methylverzweigung hindeutet. Im Massenspektrum treten Mc-Lafferty-Umlagerungsionen der Massenzahlen 74 und 88 auf, und der entsprechend hergestellte Äthylester zeigt diese Mc-Lafferty-Peaks bei 88 und 102. Das bedeutet, dass eine Methylverzweigung  $\alpha$ -ständig zu einer der Carboxylgruppen vorhanden sein muss. Die Abbausäure ist also 2-Methylheptadecandisäure-(1,17), wie durch Vergleich mit authentischem Material<sup>20</sup> gesichert werden kann. Partialstruktur 4 muss dementsprechend durch 6 oder 7 ersetzt werden. Zur Unterscheidung wird die katalytische Deuterierung mit anschliessendem analogen oxydativen Abbau durchgeführt. Die Mc-Lafferty-Peaks des aus deuteriertem 6



entstehenden Dicarbonesters sollten an der Seite mit der Verzweigung  $m/e = 89$  und 90 und an der anderen Seite  $m/e = 74$  und 75 sein. Das Abbauprodukt aus 7 jedoch sollte 88 und 89 sowie 75 und 76 zeigen:

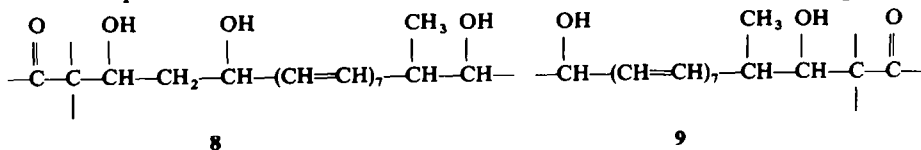


Letzteres ist der Fall; es muss also Partialstruktur 7 mit unverzweigter Polyenkette vorliegen.

Behandelt man das Antibiotikum längere Zeit mit 2 n Natronlauge, so lässt sich in geringer Menge ein neuer, noch langwelligerer Chromophor (438  $m\mu$ , breit, wenig Feinstruktur in Benzol) nachweisen. Die entstandene Substanz ist recht polar und enthält noch acetylierbare OH-Gruppen. Da sie nur in geringer Ausbeute entsteht und sehr empfindlich ist, haben wir nur eine qualitative Charakterisierung durchgeführt. Die Form des UV-Maximums lässt eine achtfach konjugierte Carbonylverbindung\* vermuten. In der Tat reagiert die Substanz mit Natriumborhydrid und Methylmagnesiumjodid. Dabei entstehen Chromophore mit Maxima bei 421, 398, 376 und 355  $m\mu$ . Auch diese Werte entsprechen Verbindungen mit 8 konjugierten Doppelbindungen,<sup>23</sup> das Abbauprodukt muss also ein Octaenal oder Octaenon sein. Die mit Silberoxyd erhaltene Säure zeigt in  $CH_2Cl_2$  ein breites UV-Maximum bei

\* Blout *et al.*<sup>22</sup> fanden für 13- $\alpha$ -F7ryl-tridecahexaenal  $\lambda_{\max}$  429  $m\mu$ , für 11- $\alpha$ -Furylundecapentaenal  $\lambda_{\max}$  412  $m\mu$  und für das offenkettige Octadecaheptaenal 415  $m\mu$  in Dioxan. Unser Abbauprodukt hat in Dioxan  $\lambda_{\max}$  430  $m\mu$ .

425 m $\mu$ , das nach Reduzieren mit Alanat wieder in das stark strukturierte Octaen-Spektrum übergeht. Damit ist das Vorliegen eines Aldehyds bewiesen. Verbindet man diese Information mit der oben abgebildeten Partialstruktur 7, so muss in beiden Komponenten des Antibiotikums die Partialstruktur 8 oder 9 vorliegen:



Bei 8 würde nach Retroaldolspaltung formal ein nichtkonjugierter Aldehyd entstehen, der jedoch durch Wasserabspaltung sehr leicht ins Octaenal übergehen könnte. Andererseits wäre die Bildung des Octaenals aus 9 eher noch plausibler, da hier der zunächst gebildete Aldehyd bereits durch Enolisierung konjugiert wird. In einem zweiten Reaktionsschritt würde dann das zum Chromophor  $\omega$ -ständige Hydroxyl eliminiert.

#### EXPERIMENTELLER TEIL

Die UV-Spektren wurden mit dem Beckman DK-1A, die IR-Spektren mit dem Beckman IR 4, IR 5 oder IR 9 in KBr oder CCl<sub>4</sub> und die Massenspektren mit dem MS 9 der Firma AEI aufgenommen. Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heiztisch-Mikroskop bestimmt, sie sind unkorrigiert. Wenn nicht anders angegeben, wurden die Abbaureaktionen mit dem Gemisch von B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub> ausgeführt.

**Reinigung von DJ-400.** 50 g Rohantibiotikum wurden 10-mal mit je 750 ccm Methylenchlorid ausgekocht, wobei nach Trocknen 60–85% zurückblieben. 5 g vorgereinigtes Produkt wurden in 700 ccm Oberphase des Systems Pyridin-Wasser-Essigester (35:70:80) unter schwacher Erwärmung auf dem Wasserbad gelöst. Nach Absaugen vom Ungelösten wurde bei möglichst niedriger Temperatur im Vak. auf ca. 70 ccm eingengt und in der Kälte zur Ausfällung gebracht. Es wurde abgesaugt und mit Wasser, Aceton und Äther gewaschen. Ausbeute: ca. 40–50%.  $E_{1(380\text{ m}\mu)}^1 = 940$  (Substanz bei allen UV-Messungen in 5 ccm 50-proz. Essigsäure gelöst und sofort mit 80-proz. Methanol auf 100 ml aufgefüllt).

**Gegenstromverteilung.** Eine Craig-Apparatur mit 200 Zellen (je 25 ccm Unterphase und Oberphase), bei der die Oberphase die mobile Phase war, wurde wie folgt gefüllt: ca. 1–1.5 g Antibiotikum wurde in 125 ccm Oberphase gelöst in die Zellen 2–6 eingefüllt. Nach 200 Überführungen unter schwachem N<sub>2</sub>-Durchleiten lagen im System Methanol-Chloroform-p<sub>H</sub>8.4-Boratpuffer (2:2:1) die Maxima bei A: Zelle 17; B<sub>1</sub>: Zelle 55; B<sub>2</sub>: Zelle 109; C: Zelle 184. Die erhaltenen Ausbeuten schwankten stark mit der verwendeten technischen Charge. Eine intensive Suche nach geeigneteren Lösungsmittelsystemen brachte keine grossen Fortschritte, ausser, dass Boratpuffer p<sub>H</sub> 8.0 etwas bessere Trennungen erbrachte. Höchste UV-Extinktionen: B<sub>1</sub>:  $E_{1(404)}^1$  926,  $E_{1(380)}^1$  1075,  $E_{1(360)}^1$  760,  $E_{1(340)}^1$  416, B<sub>2</sub>:  $E_{1(404)}^1$  883,  $E_{1(380)}^1$  1036,  $E_{1(360)}^1$  710,  $E_{1(340)}^1$  327.

Typische Analysenwerte: B<sub>1</sub> Gef: C, 55.98; H, 7.38; N, 1.97; (C)-CH<sub>3</sub>, 3.97%. B<sub>2</sub> Gef: C, 57.03; H, 7.26; N, 2.26; (C)-CH<sub>3</sub>—3.74%.

**Analytische Dünnschichtchromatographie an Polyamid.** Man trägt ca. 20  $\gamma$  DJ-400-Rohprodukt gelöst in 0.005 ccm Chloroform-Methanol-Boratpuffer p<sub>H</sub> (4:4:1) auf eine Polyamidplatte (DC-Alufolie Polyamid II F 254, Merck) und entwickelt mit der Oberphase folgenden Systems: Chloroform-Methylenchlorid-Methanol-p<sub>H</sub>8-Boratpuffer (1:4 mit Wasser verdünnt) (8:2:10;5). B<sub>1</sub>:  $R_f = 0.45$ , B<sub>2</sub>: 0.55 als UV dunkel fluoreszierende Flecken. Versuche zur Übertragung auf die Säulen-Verteilungschromatographie waren bisher nur zur Anreicherung geeignet.

**Anreicherung durch Verteilungschromatographie an Cellulosesäulen.** 500 g Cellulosepulver wurden in 800 ccm der Unterphase des Lösungsmittelgemisches Pyridin-Wasser-Essigester (35:70:80) aufgeschlämmt und in eine Säule gebracht. Es wurde mit Oberphase gewaschen und dann 1 g vorgereinigtes DJ-400 in 100 ccm Oberphase auf die Säule gebracht und mit Oberphase entwickelt und eluiert. Die mittleren Fraktionen wurden vereinigt, i. Vak. eingengt, bis Ausscheidung des Antibiotikums erfolgte.  $E_{1(380)}^1$  865 m $\mu$ .

**N,N'-Diacetat.** 1 g Antibiotikum wurde in 50 ccm absol. Methanol aufgeschlämmt und nach Zugabe von 4 ccm Acetanhydrid 6–8 Stdn. geschüttelt. Nach Filtration dampfte man i. Vak. ein und goss in Petroläther/Äther 1:1. Das ausgefallene amorphe Produkt (0.8 g) konnte nicht weiter gereinigt werden. IR:

3500, 1750, 1680, 1615, 1260, 1020  $\text{cm}^{-1}$ . Mittelwerte mehrerer Analysen:  $B_1$  Gef: C, 60.48; H, 7.75; N, 1.61%.  $B_2$  Gef: C, 60.99; H, 7.58; N, 2.40%.

**Veresterung mit Diazomethan.** 1 g DJ-400-Gemisch wurde in Methanol aufgeschlämmt, 12 Stdn. bei  $-20^\circ$  mit 4 mMol Diazomethan in Äther zur Reaktion gebracht. Die gelösten Anteile goss man in Äther und saugte den rohen Ester ab. Ausbeute 150 mg. Eine Reinigung gelang auch hier nicht. Gef: C, 61.30; H, 8.08; N, 2.71;  $\text{OCH}_3$ , 2.53%.

Das N,N-Diacetat konnte weder direkt noch nach Alkalibehandlung mit Perjodat zur Reaktion gebracht werden. Das gleiche gilt für das Antibiotikum selbst bzw. das Hydrierungsprodukt.

**Mycosamintetraacetat.** 4.7 g rohes Antibiotikum wurden in der Kälte in ein Gemisch von 70 ccm Acetanhydrid, 30 ccm Eisessig und 2 ccm konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  eingerührt. Nach 3-tägigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde der Neutralteil an Aluminiumoxyd (sauer, Aktivitätsstufe II) mit Benzol-Chloroform 1:1 chromatographiert. Das ölige Produkt kristallisierte aus Benzol, Schmp. und Misch-Schmp. 159–161°.  $[\alpha]_D^{25} + 34.7^\circ$  ( $c = 1.01$ , Alkohol). Die Identität mit authentischem Material wurde auch NMR-spektroskopisch und dünnschichtchromatographisch überprüft.

**Retroaldolspaltung von  $B_2$  zu p-Aminoacetophenon.** 1.0 g  $B_2$  wurden in 20 ccm 10-proz. NaOH 15 Min. auf  $100^\circ$  erhitzt. Nach Verdünnen mit Wasser wurde mit Chloroform extrahiert. Den Rückstand (100 mg) in 10 ccm Pyridin versetzte man bei  $0^\circ$  mit 2 ccm Acetylchlorid und goss nach 2 Stdn. in Wasser. Das mit Chloroform isolierte Reaktionsprodukt chromatographierte man an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Akt.-St. III) mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Man erhielt 65 mg p-Acetaminoacetophenon. Schmp. und Mischschmp. mit authentischem Material 167–168°.

**Retroaldolspaltung von  $B_1$  zu p-Methylamino-acetophenon.** 0.5 g  $B_1$  wurden mit 150 ccm Wasser und 25 ccm 2n NaOH 2 Stdn. gekocht. Das Reaktionsprodukt wurde mit Äther-Petroläther 1:1 an Kieselgel chromatographiert. Fraktionen mit  $\lambda_{\text{max}}$  307–310 m $\mu$  wurden vereinigt und durch präparative Dünnschichtchromatographie an Kieselgel (Äther/Petroläther 1:1) gereinigt. Ausb. 15 mg, Schmp. und Misch-Schmp. mit authentischem Material<sup>9</sup> 102–103°.

**Decarboxylierung.** 1 g DJ-400 (Gemisch,  $B_1$  oder  $B_2$  oder hydriertes  $B_1$  oder  $B_2$ ) wurde in 20 ccm Wasser unter Rühren langsam erwärmt. Bei 115–120° Ölbadtemperatur setzte die  $\text{CO}_2$ -Entwicklung ein, die unter Durchleiten von  $\text{N}_2$  und Einleiten in Barytwasser kontrolliert wurde. Nach einer Stunde war die Reaktion beendet. Wurde zuvor (in gepufferter Lösung) mit Borhydrid reduziert, so blieb die  $\text{CO}_2$ -Entwicklung aus.

**Katalytische Hydrierung.** 2 g Antibiotikum (Gemisch,  $B_1$  oder  $B_2$ ) wurden in 250 ccm Methanol/Eisessig 4:1 suspendiert unter Zusatz von 350 mg  $\text{PtO}_2$  24 Stdn. bei Normaldruck hydriert. Man erhielt 1.8 g amorphes farbloses Pulver.  $\text{H}_2$ -Aufnahme auf das titrimetrische ermittelte Mol-Gewicht bezogen für  $B_1$  8–11.5 Mol und für  $B_2$  7–9 Mol.

**Titrimetrische Mol-Gewichtsbestimmung.** 50.5 mg N,N'-Diacetat  $B_1$  bzw. 50.2 mg N,N'-Diacetat  $B_2$  wurden in je 10 ccm DMF gelöst mit  $\frac{1}{100}$  NaOH titriert. Errechnetes Mol-Gewicht  $B_1$  1200,  $B_2$  1400. (bezogen auf nicht acetylierte Verbindungen).

**Retroaldolspaltungen unter Isolierung flüchtiger Ketone.** 500 mg Substanz ( $B_1$ ,  $B_2$  oder deren Hydrierungsprodukte) wurden in 100 ccm gesättigter Natriumbicarbonatlösung suspendiert einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Die als Dinitrophenylhydrazon isolierten flüchtigen Carbonylverbindungen trennte man dünnschichtchromatographisch und verglich mit authentischen Verbindungen. Aus  $B_1$  erhielt man ca. 10 mg Heptadienon-Dinitrophenylhydrazon, Schmp. und Misch-Schmp. mit authentischem Material 196–197°, sowie kleinere Mengen an Aceton-DNPH und Acetaldehyd-DNPH.  $B_2$  ergab nach vorangegangener Hydrierung: Heptanon-DNPH, Schmp. und Misch-Schmp. 74°, Aceton-DNP und Acetaldehyd-DNPH,  $B_2$  (unhydriert oder hydriert): Aceton- und Acetaldehyd-DNPH. Deuteriertes Heptanon-(2)-DNPH: Massenspektroskopisch bestimmtes Mol-Gewicht: 298.

Nach vorangegangener Na-Boranatreduktion blieben diese Spaltungen aus.

**Drastische Oxidation von DJ-400.** 2 g gereinigtes Antibiotikum wurden 3 Tage mit 10 ccm konz.  $\text{HNO}_3$  bei Zimmertemp. stehen gelassen. Nach Diazomethan-Veresterung der Reaktionsprodukte ließen sich nur Spuren von Dicarbonsäureestern nachweisen. Unter gleichen Bedingungen wird Adipinsäure nur in ganz geringem Masse zu Bernsteinsäure und Glutarsäure abgebaut.

**Oxidation mit Chromsäure bei  $0^\circ$ .** (a) 1.1 g DJ-400 in 110 ccm Eisessig-Wasser-Gemisch (1:1) wurde bei  $0^\circ$  mit einer eiskalten Lösung von 1 g  $\text{CrO}_3$  und 1 g  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  in 100 ccm Eisessig und 50 ccm Wasser versetzt. Nach 35 Min. Rühren bei  $0^\circ$  wurde aufgearbeitet und an Kieselgel chromatographiert. Mit Petroläther/Äther 4:1 eluierte man 3 mg Octatriendial (1), Schmp. und Misch-Schmp. 145° (Zers.). Mit Petroläther/Äther (1:1) eluierte man 3 mg Decatetraendial (2), Schmp. und Misch-Schmp. 163–165° (Zers.).

(b) 1 g DJ-400 wurde in 200 ccm Eisessig/Wasser 1:1 gelöst, bei 0° mit einer Lösung von je 0.4 g  $\text{CrO}_3$  und  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  in 50 ccm Eisessig und 50 ccm Wasser versetzt. Nach 75 Sek. Rühren bei 0° wurde w.o. aufgearbeitet. Bei der Chromatographie an Kieselgel mit Benzol mit steigendem Chloroformzusatz eluierte man zuerst 1, dann 2, dann mit 20% Chloroform-Zusatz ein Gemisch von 2 und Dodecapentaendial 3, spektroskopisch und dünnschichtchromatographisch identisch mit authentischem Material.

*Darstellung von 1.* 140 mg Octadien(2,6)-in(4)-dial-(1,8)<sup>23</sup> wurden in 50 ccm Äther in Gegenwart von 225 mg Lindlar-Katalysator bis zur Aufnahme der theoretischen Menge hydriert. Das Hydrierungsprodukt wurde durch Erwärmen mit einer Spur Jod isomerisiert und aus Petroläther kristallisiert. Schmp. 145° (Zers.) (Lit.-Schmp.<sup>17</sup>: 144–145°).

*Darstellung von 2.* 100 mg Decadien(2,8)-diin(4,6)-dial-(1,10)<sup>24</sup> wurden in Äther unter Zusatz von 165 mg Lindlar-Katalysator wie bei 1 hydriert und isomerisiert, Schmp. 163–165° (Zers.) (Lit.-Schmp. 163–165.5°).<sup>18</sup>

*Darstellung von 3.* 0.6 g Nonadiin(1,3)-dien(5,7)-al<sup>25</sup> wurden in 50 ccm Methanol, mit einer Spur *p*-Toluolsulfonsäure, versetzt und 14 Stdn. stehen gelassen. Sodann wurde mit 30 mg  $\text{Cu}_2\text{Cl}_2$ , 55 mg Hydroxylamin-Hydrochlorid und 2.5 ccm 6-proz. Äthylamin versetzt. Bei 0° wurde 1 g Brompropargylaldehyddimethylacetal in 15 ccm Methanol zugetropft und nach 1 stdg. Rühren bei 20° aufgearbeitet. Das rohe Reaktionsprodukt hydrierte und isomerisierte man wie oben. Das erhaltene Acetal wurde in 10 ccm Dioxan mit 2 ccm *n*/10 HCl über Nacht stehen gelassen. Nach Aufarbeiten kristallisierten aus Petroläther 125 mg 3. Schmp. bei raschem Erhitzen 180° (Zers.), Literaturschmp. 173–174°.<sup>18</sup>

*Oxidation des hydrierten B<sub>1</sub> oder B<sub>2</sub>.* 1 g B<sub>1</sub> bzw. B<sub>2</sub> wurde mit 20 ccm 65-proz.  $\text{HNO}_3$  am Rückfluss gekocht. Danach wurde mit 300 ccm Wasser verdünnt und über Nacht mit Äther perforiert. Der Extrakt wurde mit Diazomethanolösung verestert und das Estergemisch i. Vak. sublimiert. Der höchst siedende Ester wurde durch Gaschromatographie isoliert (Säule: 5% Diäthylenglykoladipat auf Chromosorb W, 80–100 mesh. Temperatur 200°). Massenspektrum:  $M^+ = 342$  (6%), 311 (12), 310 (9), 283 (10), 255 ( $M - \text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_3$ , 24), 214 (27), 126 (21), 112 (65), 98 (76), 88 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3^+$ , 100), 74 ( $\text{CH}_3 - \text{COOCH}_3^+$ , 95), 43 (48). Er erwies sich im gaschromatographischen Verhalten und im Massenspektrum als identisch mit authentischem 2-Methylheptadecan-disäure-(1,17)-dimethylester.<sup>20</sup>

*Oxidation des deuterierten B<sub>1</sub> oder B<sub>2</sub>* erfolgte nach Deuterierung in  $\text{CH}_3\text{COOD}$  mit  $\text{D}_2/\text{PtO}_2$  w.o. beschrieben. Massenspektrum: 356 ( $M^+$ , 2, 3), 325 (6), 324 (6), 297 (4), 269 (8), 133 (14), 132 (16), 131 (16), 130 (15), 118 (18), 117 (30), 116 (33), 103 (49), 102 (52), 89 ( $\text{CH}_3 - \text{CHD} - \text{COOCH}_3^+$ , 85), 88 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2 - \text{COOCH}_3^+$ , 100), 76 ( $\text{CHD}_2 - \text{COOCH}_3^+$ , 41), 75 ( $\text{DCH}_2 - \text{COOCH}_3$ , 62), 74 ( $\text{CH}_3\text{COOCH}_3$ , 33), 59 (53), 43 (43).

*Spaltung zum Octaenal.* 100 mg DJ-400 (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> oder Gemisch) wurde 24 Stdn. in 2*n* Methanol NaOH unter  $\text{N}_2$  bei 0° stehen gelassen. Der Neutralteil war ein amorphes, sehr instabiles Pulver.  $\lambda_{\text{max}}$  (breit) 434 ( $\text{CHCl}_3$ ), 432–434 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), 423 (Methanol, Äther), 438 (Benzol), 430 (Dioxan), 448, 423, 404 (Petroläther).

Mit Natriumboranat in Methanol erhielt man einen Alkohol mit Maxima bei 421, 397, 376, 355  $\mu\text{m}$  (in Äther), 429, 406, 382 (in  $\text{CHCl}_3$ ). Die ätherische Lösung der Carbonylverbindung gab mit Methylmagnesiumjodid einen Alkohol mit dem gleichen UV-Spektrum, während die alkoholische Lösung mit Silberoxyd gerührt eine Säure ergab,  $\lambda_{\text{max}}$  425  $\mu\text{m}$  (in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Die Säure konnte mit Diazomethan verestert werden. Reduktion mit Alanat lieferte wiederum ein Octaen, das mit Acetylchlorid in Pyridin ein Acetat mit unverändertem UV-Spektrum ergab.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem ERP-Sondervermögen danken wir für die Förderung dieser Arbeit, der Schering AG Berlin für jahrelange grosszügige Versorgung mit immer neuen Mengen der rohen Antibiotika sowie für mikrobiologische Tests.

## LITERATUR

- W. Oroshnik und A. D. Mebane in *Fortschr. Chem. Organ. Naturst.* **21**, 17 (1963)
- K. Hattori, *J. Antibiotics Japan Ser. B* **15**, 37, 39 (1962), *Chem. Abstr.* **58**, 5532 (1963)
- E. Borowski, W. Mechlinski, L. Falkowski, T. Ziminski und J. D. Dutcher, *Roczn. Chemii* **39**, 1933 (1965); **41**, 61 (1967) und frühere Arbeiten
- A. C. Cope, U. Axen, E. P. Burrows und J. Weinlich, *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 4228 (1966)
- B. T. Golding, R. W. Rickards und M. Barber, *Tetrahedron Letters* 2615 (1964)

- <sup>6</sup> M. H. v. Saltza, J. Reid, J. D. Dutcher und O. Wintersteiner, *J. Am. Chem. Soc.* **83**, 2785 (1961)
- <sup>7</sup> O. Ceder, G. Eriksson, J. M. Waisvisz und M. G. van der Hoeven, *Acta Chem. scand.* **18**, 98 (1964)
- <sup>8</sup> C. P. Schaffner und E. Borowski, *Antibiotics & Chemotherapy* **11**, 724 (1961).
- <sup>9</sup> H. Staundinger und N. Kon, *Liebigs Ann.* **384**, 111 (1911)
- <sup>10</sup> C.-H. Lee und C. P. Schaffner *Tetrahedron* **25**, 2229 (1969)
- <sup>11</sup> M. Berry: *Quarterly Rev.* **17**, 343 (1963).
- <sup>12</sup> H. Muxfeldt, S. Shrader, P. Hansen und H. Brockmann *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 4748 (1968);  
R. W. Richards, R. M. Smith und J. Majer, *Chem. Commun.* 1049 (1968)
- <sup>13</sup> M. E. Kuehne und B. W. Benson, *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 4660 (1965);  
R. B. Woodward, L. S. Weiler und P. C. Dutta, *Ibid.* 4662 (1965)
- <sup>14</sup> O. Ceder, *Acta Chem. Scand.* **18**, 126 (1964)
- <sup>15</sup> B. T. Golding, R. W. Rickards, W. E. Meyer, J. B. Patrick und M. Barber, *Tetrahedron Letters* 3551 (1966)
- <sup>16</sup> T. S. Sorensen, *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 5075 (1965)
- <sup>17</sup> R. Anet, *Tetrahedron Letters* 720 (1961)
- <sup>18</sup> B. G. Kovalev, L. A. Yanovskaya, V. F. Kucherov und G. A. Kogen, *Ber. Akad. Wiss. UdSSR, Abt. Chem. Wiss.* 145 (1963); *Chem. Abstr.* **58**, 11209 (1963)
- <sup>19</sup> K. Wei, J.-C. Mani und J. N. Pitts jr., *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 4225 (1967); S. M. Makin, G. A. Lapitskii und R. V. Strel'tsov *J. Allg. Chem. Russ.* **64** (1964); *Chem. Abstr.* **60**, 10535 (1964)
- <sup>20</sup> E. Borowski, W. Mechlinski, L. Falkowski, T. Ziminski und J. D. Dutcher, *Tetrahedron Letters* 473 (1965)
- <sup>21</sup> A. Kreuchunas, *J. Am. chem. Soc.* **75**, 3339 (1953)
- <sup>22</sup> E. R. Blout und M. Fields, *Ibid.* **70**, 189 (1948)
- <sup>23</sup> F. Bohlmann und H.-J. Mannhardt, *Chem. Ber.* **89**, 1307 (1956)
- <sup>24</sup> B. C. L. Weedon, *J. Chem. Soc.* 4168 (1954)
- <sup>25</sup> F. Bohlmann und W. Sucrow, *Chem. Ber.* **97**, 1846 (1964)