

Untersuchungen an Stoffwechselprodukten von Mikroorganismen, IX¹⁾

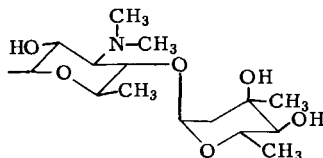
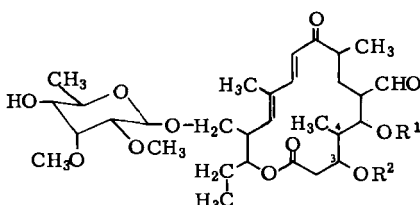
Notiz zur Struktur des Tylosins

Hans Achenbach*, Walter Regel und Wolfgang Karl

Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg i. Br.,
D-7800 Freiburg i. Br., Albertstr. 21

Eingegangen am 30. Dezember 1974

Tylosin²⁾ ist ein Makrolid-Antibiotikum, das in der Veterinärmedizin und zur Tieraufzucht verwendet wird^{3,4)}. Arbeiten über die Konstitution führten zu den alternativen Strukturen 1 oder 2⁵⁾.

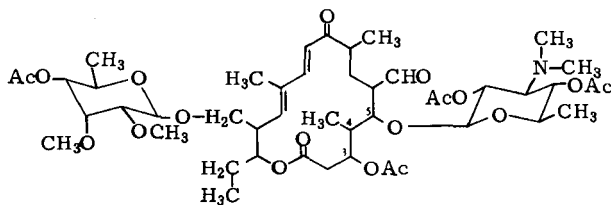


- 1: R¹ = 4-Mycarosyl-mycaminosyl; R² = H
2: R¹ = H; R² = 4-Mycarosyl-mycaminosyl

4-Mycarosyl-mycaminosyl

Durch ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchungen am Desmycosin und dessen Acetyl-Derivaten kann gezeigt werden, daß Tylosin Struktur 1 besitzen muß.

Desmycosin²⁾ (= Desmycarosyl-tylosin) entsteht bei der milden Hydrolyse von Tylosin und bildet mit Acetanhydrid in Pyridin Tetraacetyl-desmycosin (3), während mit Acetanhydrid in Aceton ein Diacetyl-Derivat anfällt.



3

¹⁾ VIII. Mittel.: H. Achenbach und W. Karl, Chem. Ber. 108, 780 (1975).

²⁾ R. L. Hamill, M. E. Haney jr., M. Stamper und P. F. Wiley, Antibiotics & Chemotherapy 11, 328 (1961).

³⁾ L. E. Barnes, E. E. Ose und F. O. Gossett, Poultry Sci. 39, 1376 (1960); Ceva, S. A. (Erf. M. Gug), Ger. Offen. 2327392 (13. Dez. 1973) [C. A. 80, 124774b (1974)].

⁴⁾ H. Brown, N. G. Elliston, J. W. McAskill, O. A. Muenster und L. V. Tokinson, J. Anim. Sci. 37, 1085 (1973); Lilly, Eli and Co. (Erf. E. H. Massey, A. P. Raun und R. M. Kline), Ger. Offen. 1817858 (21. Dez. 1972) [C. A. 78, 56738z (1973)]; Lilly, Eli and Co. (Erf. M. Mazurczak, A. Markowski und M. Wojnowska), Med. Wet. 30, 87 (1974) [C. A. 81, 10156s (1974)].

⁵⁾ R. B. Morin und M. Gorman, Tetrahedron Lett. 1964, 2339; R. B. Morin, M. Gorman, R. L. Hamill und P. V. Demarco, ebenda 1970, 4737.

Anhand der Verschiebung der Schlüsselfragmente läßt sich massenspektrometrisch nachweisen⁶⁾, daß im Diacetyl-desmycosin nur die OH-Gruppen der Mycaminose acetyliert wurden.

Im ¹H-NMR-Spektrum von **3** (Abb. 1a) erscheint bei δ 5.12 ein Signal (1 H, $J_{AX} = 10$ Hz, $J_{BX} \approx J_{CX}$ ca. 1–2 Hz), das in den Spektren von Tylosin, Desmycosin und Diacetyl-desmycosin nicht beobachtet wird.

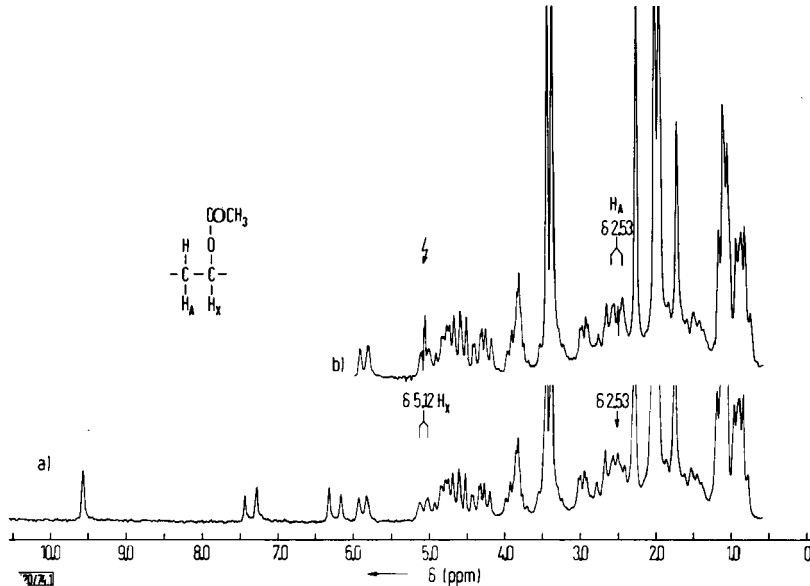


Abb. 1. a) ¹H-NMR-Spektrum von Tetraacetyl-desmycosin (**3**)
b) Teilspektrum; Einstrahlung bei δ 5.12

Dieses Signal ist daher entweder dem Methinproton an der acetylierten Alkoholgruppe des Makrolacton-Ringes (C-3 oder C-5) oder am C-4 der acetylierten Mycinoase zuzuordnen.

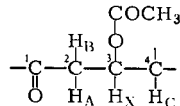
Das ¹H-NMR-Spektrum von Diacetyl-mycinoase schließt ein Signal bei diesem δ -Wert aus⁷⁾.

Durch Entkopplungsexperimente kann gezeigt werden, daß die große Kopplungskonstante ($J_{AX} = 10$ Hz) durch Wechselwirkung mit einem vicinalen Proton entsteht, dessen Resonanz bei δ 2.53 auftritt. Die Einstrahlung bei δ 5.12 (Abb. 1b) vereinfacht das Signal dieses Protons zum Dublett mit $J_{AB} = 14$ Hz.

Aufgrund der großen Kopplungskonstante muß eine Methylengruppe vorliegen, deren chemische Verschiebung unter den gegebenen Umständen nur durch Nachbarschaft einer Carbonyl-Funktion erklärt werden kann.

Das Proton H_B dieser Methylengruppe wurde durch Entkopplung bei δ 2.00 nachgewiesen: Einstrahlung dieser Frequenz führt zum Wegfall der großen Kopplungskonstante des Signals bei δ 2.53 und gleichzeitig zur Verschärfung des Dubletts bei δ 5.12.

Damit ist das Strukturelement **a** in **3** bewiesen und Formel **2** für Tylosin ausgeschlossen.



a

⁶⁾ H. Achenbach und W. Karl, Chem. Ber. **108**, 772 (1975).

⁷⁾ M. Brufani und W. Keller-Schierlein, Helv. Chim. Acta **49**, 1962 (1966).

Eine freie 3-Hydroxy-Anordnung besitzen auch die dem Tylosin sehr ähnlichen Cirramycine⁸⁾, das Rosamycin⁹⁾ und einige Leukomycine¹⁰⁾.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemie danken wir für Sachbeihilfen.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Kofler-Heiztischmikroskop (Fa. Reichert) bestimmt und sind unkorrigiert. ¹H-NMR-Spektren (aufgenommen in CDCl₃): Gerät vom Typ HA 100 (Fa. Varian). Innerer Standard Tetramethylsilan. Massenspektren: Massenspektrometer vom Typ SM 1 B (Fa. Varian-MAT). Ionisierungsenergie 70 eV; Probentemperatur 190–200°C.

Zur Dünnschichtchromatographie verwendeten wir Platten, beschichtet mit Kieselgel H (Fa. Merck), unter Zusatz von 1.5% Fluoreszenzindikator F₂₅₄ (Fa. Merck), Schichtdicke 0.25 mm. Nach Lufttrocknung erfolgte die Aktivierung bei 105°C/30 min. Die Entwicklung erfolgte in Chloroform/Methanol (98:2), die Detektion durch Fluoreszenz und Joddampf.

Reines Tylosin erhielten wir durch die Fa. Eli Lilly and Company, Indianapolis, USA *).

Desmycosin wurde durch saure Hydrolyse von Tylosin nach bekannter Vorschrift hergestellt²⁾.

Diacetyl-desmycosin: 1.1 g Desmycosin in 5 ml Aceton werden mit 0.3 ml Acetanhydrid versetzt. Nach 6 h bei Raumtemp. wird i. Vak. zur Trockne eingengt und aus Aceton/Petroläther (60 bis 80°C) umkristallisiert. Diacetyl-desmycosin fällt in farblosen Rhomben vom Schmp. 199–200°C an. $[\alpha]_D^{20} = -28.4^\circ$ ($c = 0.275$ in CHCl₃).

MS: M⁺ 855 (16%); charakteristische Ionen > m/e 200: m/e 665 (24%), 391 (7), 390 (9), 258 (100).

C₄₃H₆₉NO₁₆ (856.0) Ber. C 60.33 H 8.12 N 1.63 Gef. C 60.70 H 8.17 N 1.64

Tetraacetyl-desmycosin (3): 1 g Desmycosin in 2 ml trockenem Pyridin wurde mit 2 ml Acetanhydrid versetzt. Nach 20 h bei +5°C wurde i. Vak. zur Trockne eingengt und im Vak.-Exsiccator über NaOH und H₂SO₄ aufbewahrt. Die chloroformische Lösung des schwach-braunen Rückstandes wurde säulenchromatographisch (Ø 3.2 cm) an 30 g Kieselgel (Fa. Mallinckrodt, < 100 mesh) aufgetrennt. Eluiert wurden Fraktionen (zu je 3 ml) mit: 50 ml Chloroform, 100 ml Chloroform/Methanol (99:1) und 150 ml Chloroform/Methanol (98:2). Nach dünn-schichtchromatographischer Kontrolle wurden entsprechende Fraktionen vereinigt. Die Fraktionen Nr. 25–40 enthielten 475 mg reines Tetraacetyl-desmycosin. Kristallisationsversuche blieben erfolglos. $[\alpha]_D^{20} = +4.9^\circ$ ($c = 1.53$ in CHCl₃).

MS: M⁺ 939 (7%); charakteristische Ionen > m/e 200: m/e 879 (14%), 647 (6), 605 (3), 373 (6), 372 (7), 258 (100), 217 (46).

C₄₇H₇₃NO₁₈ (940.1) Ber. C 60.05 H 7.83 N 1.49 Gef. C 59.28 H 7.83 N 1.77

⁸⁾ T. Suzuki, Bull. Chem. Soc. Japan **43**, 292 (1970).

⁹⁾ H. Reimann und R. S. Jaret, J. C. S. Chem. Commun. **1972**, 1270.

¹⁰⁾ S. Omura, M. Katagiri, T. Hata, M. Hiramatsu, T. Kimura und K. Naya, Chem. Pharm. Bull. **16**, 1181 (1968); S. Omura, M. Katagiri und T. Hata, J. Antibiot. **21**, 272 (1968).

* Wir danken Herrn Dr. R. B. Morin, School of Pharmacy, University of Wisconsin, Madison, USA, für die freundliche Überlassung des Tylosins.