

## 111. $^{13}\text{C}$ -kernresonanzspektroskopische Untersuchung der Wechselwirkung von Makrotetrolid-Antibiotica mit $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Rb}^+$ , $\text{Cs}^+$ , $\text{NH}_4^+$ und $\text{Ba}^{2+}$

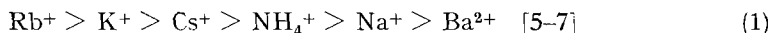
von E. Pretsch, M. Vařák und W. Simon

Laboratorium für Organische Chemie, Eidg. Technische Hochschule, Zürich

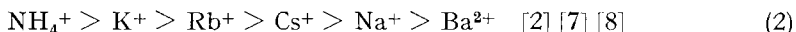
(6. 3. 72)

*Summary.* The  $^{13}\text{C}$  NMR. spectra of nonactin have been recorded at 22.6 MHz. Additivity rules, chemical shift reagents and spectra of model compounds enabled a full assignment of the lines to be made. A comparison of the spectra of the nonactin complexes with  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{Ba}^{2+}$  showed that no H-bridges between  $\text{NH}_4^+$  and the nonactin carbonyls exist. This is corroborated by the infrared spectra of the complexes.

**1. Einleitung.** – Im Laufe der zahlreichen Untersuchungen der in unserem Laboratorium nachgewiesenen Komplexbildung [1] von elektrisch neutralen Träger-Antibiotica mit Kationen [2] hat sich gezeigt, dass die Makrotetrolide [3] einerseits und Valinomycin [4] andererseits vollständig verschiedene Selektivitätssequenzen aufweisen. So ist für Valinomycin die Sequenz



und unter vergleichbaren Bedingungen für Makrotetrolide die Reihenfolge



beobachtet worden. Die Selektivitätssequenzen für Alkali- und Erdalkali-Ionen lassen sich aufgrund einfacher Berechnungen zwanglos rationalisieren [2]. Jedoch stehen zur Zeit für das unterschiedliche Verhalten der Ammoniumionen gegenüber Valinomycin und den Makrotetroliden befriedigende Erklärungen aus.

Ergebnisse von Untersuchungen mit  $^1\text{H}$ - [9] [10] und  $^{23}\text{Na}$ -Kernresonanzspektroskopie [11] an Träger-Antibiotica bzw. ihrer Wechselwirkung mit Ionen stimmen hinsichtlich der Geometrie der Komplexe im wesentlichen mit Befunden der Röntgenstrukturanalyse<sup>1)</sup> überein. Da die durch Komplexbildung und Konformationsänderungen bedingte Beeinflussung der chemischen Verschiebung in der  $^{13}\text{C}$ -Resonanz recht gross sein dürfte, drängen sich solche Untersuchungen auf. Soeben sind erste derartige Ergebnisse bekannt geworden [12]. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird  $^{13}\text{C}$ -resonanzspektroskopisch abgeklärt, inwieweit sich die Wechselwirkung der Ammoniumionen mit Makrotetroliden von denen der Alkaliionen unterscheidet.

**2. Signalzuordnung.** – Das  $^{13}\text{C}$ -Resonanzspektrum von Nonactin (Fig. 1) natürlicher Häufigkeit an  $^{13}\text{C}$  ist in Fig. 2 wiedergegeben. Bisher konnten lediglich vier der total 10 Signale eindeutig zugeordnet werden [12]. Allein mit Hilfe von Additivitätsregeln [13] [14] ergibt sich bei Berücksichtigung von Korrekturtermen [13] eine

<sup>1)</sup> Vergleiche dazu zusammenfassende Betrachtung in [2].

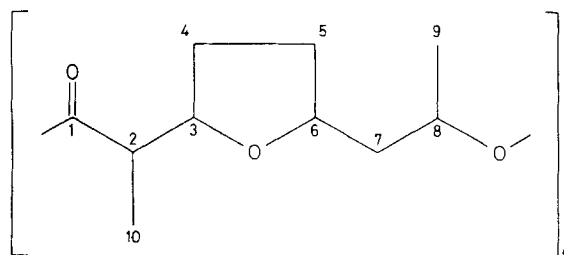
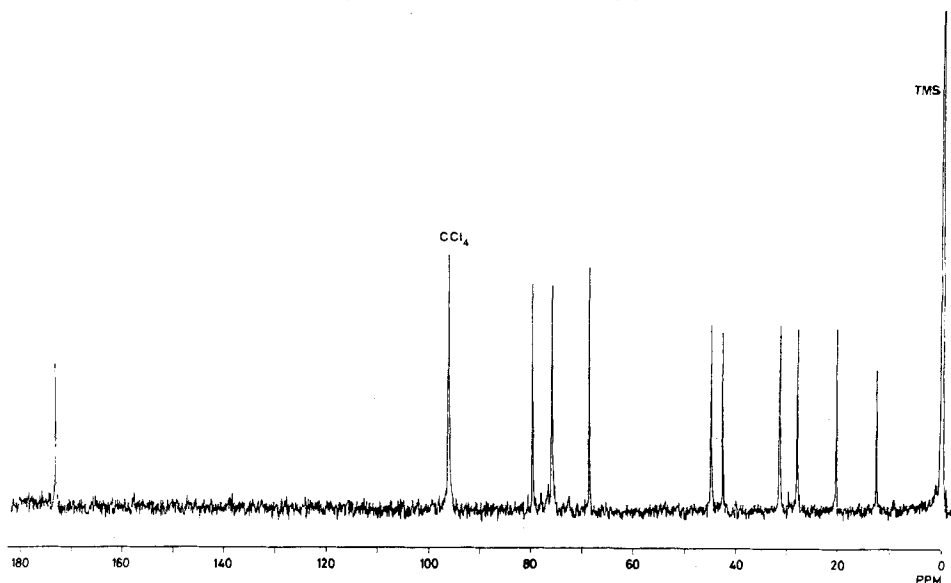
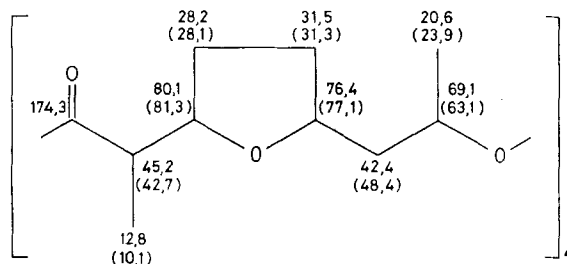


Fig. 1. Struktur von Nonactin [3]


 Fig. 2. Breitbandenthoppeltes  $^{13}\text{C}$ -Resonanzspektrum von Nonactin (aufgenommen in  $\text{CCl}_4/\text{CDCl}_3$  6:1; chemische Verschiebungen in ppm relativ zu TMS.)

vorläufige, vollständige Signalzuordnung, wie sie in Fig. 3 festgehalten ist. Bedingt durch die kleinen chemischen Verschiebungsdifferenzen vor allem der Zentren 3/6 bzw. 4/5 (Fig. 3) ist eine zusätzliche Bestätigung angezeigt. Eine Zuordnung der Signale mittels chemischer Verschiebungsreagenzien [15] ist erschwert, da mehrere


 Fig. 3. Beobachtete und abgeschätzte (in Klammern)  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebungen in Nonactin (in ppm relativ zu TMS.)

funktionelle Gruppen vorhanden sind und dementsprechend die Struktur des Adduktes unbekannt ist. Unter der Annahme, dass die die zusätzliche chemische Verschiebung bestimmenden geometrischen Faktoren für die  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Zentren die gleiche Sequenz aufweisen, lassen sich aufgrund der bekannten Zuordnung der Protonenresonanzsignale [3] [9] auch die Signale der  $^{13}\text{C}$ -Zentren festlegen (vgl. Fig. 4). Entsprechend Fig. 4 ergibt sich die Zuordnung der Kohlenstoffe 3 und 6 sowie eine

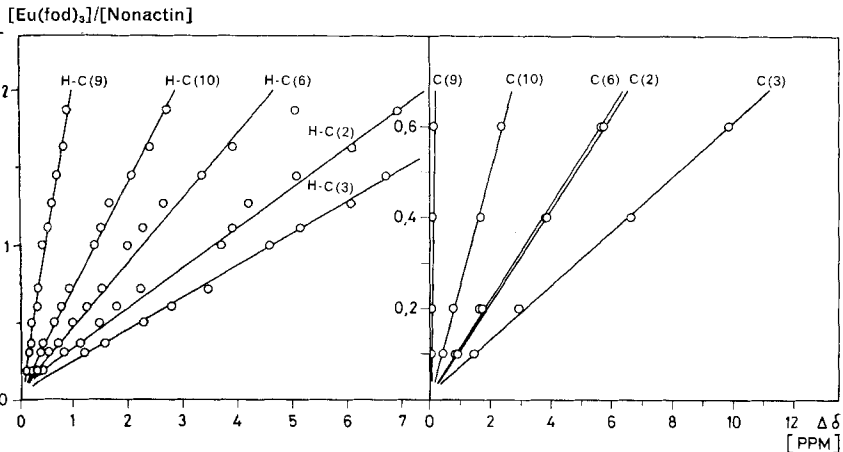


Fig. 4. Einfluss  $\Delta\delta$  des chemischen Verschiebungsreagens  $\text{Eu}(\text{fod})_3$  auf die  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -chemischen Verschiebungen  $\delta$  von Nonactin<sup>2)</sup>

Bestätigung für jene der Atome 9 und 10. Das  $^{13}\text{C}$ -Resonanzspektrum eines Gemisches des an C-(2) epimeren 8-Desoxy-nonactinsäuremethylesters [16] (Fig. 5) bestätigte

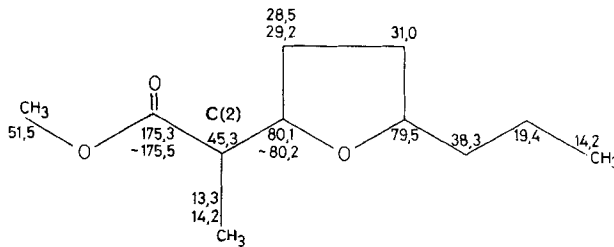


Fig. 5.  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebungen im Gemisch des an C(2) epimeren 8-Desoxy-nonactinsäuremethylesters (aufgenommen in  $\text{CDCl}_3$ ; chemische Verschiebungen in ppm relativ zu TMS.)

schliesslich auch die Zuordnung der Signale der Zentren 4 und 5. Erwartungsgemäss zeigen die Kohlenstoffatome in der näheren Umgebung des C(2) der beiden Diastereomeren eine magnetische Nichtäquivalenz und somit sind ihre Resonanzsignale aufgespalten.

**3. Einfluss der Komplexbildung.** – Entsprechend den Ergebnissen in Tab. 1 wird bei der Komplexbildung mit sämtlichen untersuchten Kationen eine Entschirmung des Carbonyl-Kohlenstoffes beobachtet (vgl. [12]). Obwohl aufgrund der

<sup>2)</sup> Bearbeitet von R. Büchi im Rahmen seiner Diplomarbeit, ETH Zürich, 1971.

Röntgenstrukturanalyse [18] auch die Sauerstoffatome der Tetrahydrofuranringe das Kation koordinieren (vgl. Fig. 6), nehmen die benachbarten Zentren C(3) und C(6)

Tabelle 1.  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebungen von Nonactin und seinen Komplexen mit verschiedenen Ionen (in ppm relativ zu TMS)

Kohlenstoff-atome	Nonactin in				Komplex mit den Ionen (ca. 100 mg Komplex in ca. 2 ml $\text{CDCl}_3$ )					
	$\text{CCl}_4$ $\text{CDCl}_3$ 6:1	$\text{CDCl}_3$	$\text{CDCl}_3/$ $\text{CD}_3\text{OD}$ 1:1	$\text{CD}_3\text{NO}_2$	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$	$\text{Ba}^{2+}$	$\text{NH}_4^+$	$\text{Rb}^+$	$\text{Cs}^+$
1	173,2	174,3	174,9	175,7	177,4	177,5	179,5	176,3	176,3	176,6
2	44,8	45,2	45,7	46,7	45,9	46,1	45,2	46,5	46,4	46,1
3	79,9	80,1	80,5	81,8	80,9	82,0	80,8	82,8	82,6	81,6
4	28,0	28,2	28,4	29,2	29,0	28,8	29,4	28,9	28,8	28,8
5	31,4	31,5	31,6	32,5	31,3	31,5	31,3	31,0	31,0	31,2
6	75,9	76,4	76,6	77,5	74,5	74,5	75,0	74,8	74,7	74,7
7	42,4	42,4	42,5	43,6	44,3	44,5	43,8	43,6	43,6	43,4
8	68,5	69,1	69,5	70,2	67,9	67,1	69,9	66,9	66,9	68,1
9	20,6	20,6	20,6	21,0	20,9	21,0	21,6	20,8	20,8	20,9
10	12,6	12,8	12,8	13,5	15,1	15,3	14,8	15,0	15,0	14,5

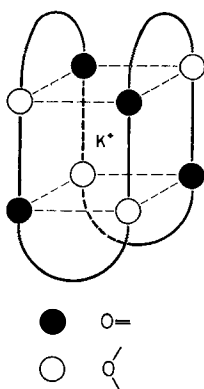


Fig. 6. Schematische Darstellung des Nonactin- $\text{K}^+$ -Komplexes [18]

(Fig. 1) insofern keine Sonderstellung ein, als durchwegs C(3) entschirmt und C(6) abgeschirmt wird. Diese Abschirmung von C(6) dürfte auf eine sterische Wechselwirkung mit der besonders nahen Carbonylgruppe im Komplex (vgl. Fig. 2 und 3 in [18]) zurückzuführen sein. In Analogie könnte die Entschirmung der Methylgruppen C(10) und auch C(9) auf eine Verminderung der sterischen Wechselwirkung beim Übergang vom freien Liganden zum Komplex beruhen. Da die  $\text{K}^+$ -Komplexe des Valinomycins eine oktaedrische [19] und jene des Nonactins eine angenähert kubische [18] Koordination mit Sauerstoffatomen aufweisen (Fig. 6), kann vermutet werden, dass bei den Makrotetroliden eine bevorzugte Wechselwirkung zwischen den vier Wasserstoffatomen des Ammoniumions und den vier etwa tetraedrisch angeordneten Carbonyl- bzw. Tetrahydrofuran-Sauerstoffzentren vorliegt (vgl. auch [6]). Eine derartige Wasserstoffbrückenbildung zu Carbonylgruppen dürfte zu einer Entschirmung des Carbonyl-Kohlenstoffs führen [17]. In Übereinstimmung mit anderen Beobachtungen [20] wird zwar für sämtliche untersuchten Kationen bei der Komplexbildung eine

Entschirmung von C(1) beobachtet (Tab. 1, Fig. 7), doch nimmt dabei das Ammonium-Ion relativ zu den übrigen Alkaliionen keine Sonderstellung ein.

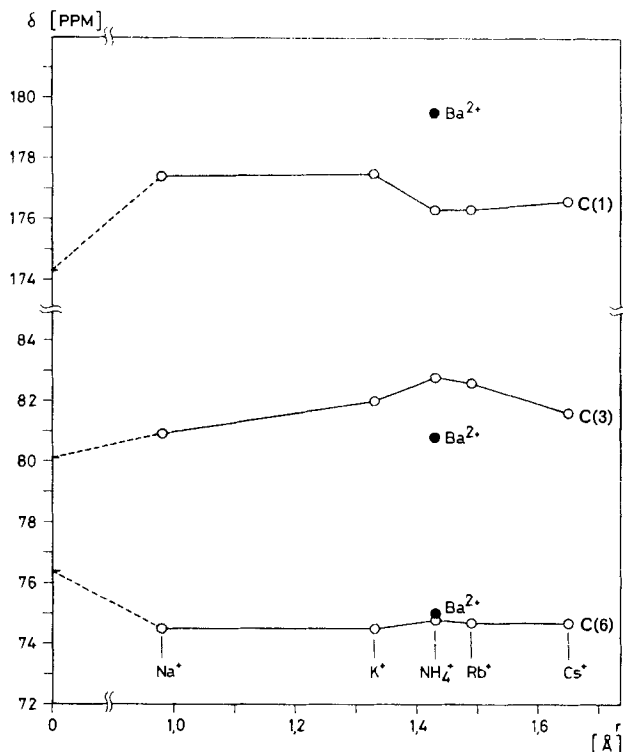


Fig. 7. Abhängigkeit der chemischen Verschiebung einiger Kohlenstoffatome des Nonactins und seiner Komplexe vom Radius des komplexierten Ions

Carbonylstreckschwingungsfrequenzen einer Reihe von Nonactin- und Monactin-Komplexen sind in Tab. 2 wiedergegeben. Die gegenüber den K<sup>+</sup>- und Rb<sup>+</sup>-Komplexen beobachtete relativ hohe Schwingungswellenzahl im NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Komplex

Tabelle 2. Carbonylstreckschwingungsfrequenzen einiger Makrotetrolide und ihrer Komplexe

Ligand	Lösungs- mittel	Carbonylstreckschwingungsfrequenzen [cm <sup>-1</sup> ]							
		Freier Ligand	Na <sup>+</sup>	Komplexe der Ionen					
			K <sup>+</sup>	Rb <sup>+</sup>	Cs <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ba <sup>2+</sup>		
Nonactin	CHCl <sub>3</sub>	1720 [21]		1710 [21]	1721	1713	1719 [21]		
	CH <sub>3</sub> OH	1712/ 1735	1714	1712	1712	1712	1720	1692	
Monactin	CHCl <sub>3</sub>	1723/ 1722 [21]	1714	1712/ 1710 [21]	1721	1713	1721/ 1719 [21]	1696/ 1685	
		CH <sub>3</sub> OH	1732/ 1713 [21]	1716	1712	1712	1712	1720	1690
	Ionenradius in Å [22]			0,98	1,33	1,49	1,65	1,43	1,43

bestätigt, dass dort keine Wasserstoffbrücke zur Carbonylgruppe vorliegen dürfte. Aufgrund dieser hohen Streckschwingungsfrequenz und der besonderen Bevorzugung der Ammoniumionen durch die Makrotetrolide (vgl. [2]) kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Wasserstoffatome des Ammoniumions besonders mit den Tetrahydrofuransauerstoffen in Wechselwirkung treten.

#### 4. Experimentelles

*IR.-Absorptionsspektren:* Sie wurden mit einem *Perkin-Elmer* Spektrophotometer Modell 125 und einer Calciumfluoridzelle (0,5 mm Schichtdicke) bei einer Temperatur von ca. 30° aufgenommen. Die Messungen in Methanol erfolgten durch Zugaben derartiger Mengen der Rhodanide der betreffenden Kationen zu den Makrotetroliden, dass diese entsprechend den bekannten Bildungskonstanten [2] zu >99,5% als Komplexe vorlagen. Zur Aufnahme der Spektren an Chloroformlösungen wurde das Methanol abgedampft, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und der Salzüberschuss abfiltriert.

*Kernresonanzmessungen:* Es fand ein bei 21,15 KGauss arbeitendes Spektrometer Typ HFX-10 der Firma *Bruker-Spectrospin* mit einer *Fourier-Transformations-Einheit* B-SC-FFT-12 Verwendung (90 MHz für  $^1\text{H}$ ; 22,6 MHz für  $^{13}\text{C}$ ).

Die  $^{13}\text{C}$ -Kernresonanzmessungen erfolgten an einem Makrotetrolid-Homologengemisch (100 mg in 2 ml  $\text{CDCl}_3$  entsprechend 0,07 M) bestehend aus 72% Nonactin, 27% Monactin und 1% Dinactin. Aufgrund der Symmetrie der Molekeln ergeben die höheren Homologen Störsignale, die kleiner als 10% sind und daher im Rauschen untergehen. Für die Erfassung der Komplexe wurden jeweils 100 mg Homologengemisch in wasserfreiem Methanol mit einem Überschuss des Rhodanids des entsprechenden Kations versetzt und nach dem Abdampfen des Lösungsmittels in Deuteriochloroform aufgenommen und in einem Proberöhrchen von 10 mm Durchmesser zur Messung gebracht. In zwei untersuchten Fällen stimmten die so erhaltenen Ergebnisse mit jenen überein, die nach dem Auflösen kristalliner Komplexe [21] erhalten wurden.

*Verschiebungsreagenzien:* Es fanden  $\text{Eu}(\text{fod})_3$  (*Norell Chemical Comp., Inc., Landing, N.J. 07850, USA*) bzw.  $\text{Eu}(\text{fod})_3\text{-d}_{27}$  (*Merck Scharp & Dohme Canada Ltd., P.O. Box 899, Pointe-Claire Dorval 700, Quebec, Kanada*) für  $^1\text{H}$ - bzw.  $^{13}\text{C}$ -Untersuchungen Einsatz ( $\text{fod} = 1,1,1,2,2,2,3,3\text{-Heptafluoro-7,7-dimethyl-4,6-oxandionat}$ ).

Herrn PD Dr. *H. Gerlach*, ETH Zürich, und Herrn Dr. *H. Bickel*, CIBA-GEIGY AG, Basel, danken wir für die Überlassung einer Probe Desoxyonactinsäuremethylesters bzw. von Makrotetroliden und Herrn *H. P. Meier* für die Aufnahme von Kernresonanzspektren.

Die vorliegende Arbeit wurde durch den *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* unterstützt.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *Z. Štefanac & W. Simon*, *Chimia* 20, 436 (1966); *Z. Štefanac & W. Simon*, *Microchem. J.* 12, 125 (1967).
- [2] *W. E. Morf & W. Simon*, *Helv.* 54, 2683 (1971).
- [3] *W. Keller-Schierlein & H. Gerlach* in *L. Zechmeister*, Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, XXVI, Springer-Verlag, Wien, New York, 1968.
- [4] *H. Brockmann & G. Schmidt-Kastner*, *Chem. Ber.* 88, 57 (1955); *H. Brockman, M. Springorum, G. Träxler & I. Höfer*, *Naturw.* 50, 689 (1963).
- [5] *Lavinia A. R. Pioda, V. Staňková & W. Simon*, *Analyt. Letters* 2 (12), 665 (1969); *Lavinia A. R. Pioda, H.-K. Wipf & W. Simon*, *Chimia* 22, 189 (1968).
- [6] *G. Eisenmann*, International Symposium on Modern Technology in Physiological Sciences, München, Juli 1971, im Druck.
- [7] *M. B. Feinstein & H. Felsenfeld*, *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 68, 2037 (1971).
- [8] *G. Szabó, G. Eisenman & S. Ciani*, *J. Memb. Biol.* 1, 346 (1969); *G. Eisenman, S. Ciani & G. Szabó*, *J. Memb. Biol.* 1, 294 (1969); *L. A. R. Pioda & W. Simon*, *Chimia* 23, 72 (1969); *R. P. Scholer & W. Simon*, *Chimia* 24, 372 (1970).

- [9] *J. Beck, H. Gerlach, V. Prelog & W. Voser*, *Helv.* **45**, 620 (1962).
- [10] *J. H. Prestegard & Sunney I. Chan*, *Biochemistry* **8**, 3921 (1969); *J. H. Prestegard & Sunney I. Chan*, *J. Amer. chem. Soc.* **92**, 4440 (1970); *M. Ohnishi & D. W. Urry*, *Biochem. biophys. Res. Commun.* **36**, 194 (1969); *D. H. Haynes, A. Kowalsky & B. C. Pressman*, *J. Biol. Chem.* **244**, 502 (1969); *M. M. Shemyakin, Yu. A. Ovchinnikov, V. T. Ivanov, V. K. Antonov, E. I. Vinogradova, A. M. Shkyrob, G. G. Malenkov, A. V. Evstratov, I. A. Laine, E. I. Melnik & I. D. Ryabov*, *J. Memb. Biol.* **1**, 402 (1969); *D. H. Haynes*, *FEBS Letters* **20**, 221 (1972).
- [11] *D. H. Haynes, B. C. Pressman & A. Kowalsky*, *Biochem.* **10**, 852 (1971).
- [12] *M. Ohnishi, M.-C. Fedarko, J. D. Baldeschwieler & L. F. Johnson*, *Biochem. biophys. Res. Commun.* **46**, 312 (1972).
- [13] *D. M. Grani & E. G. Paul*, *J. Amer. chem. Soc.* **86**, 2984 (1964).
- [14] *T. D. Brown*, *Ph. D. Thesis*, University of Utah, Salt Lake City, Utah, 1967, S. 34; *W. J. Horsley & H. Sternlicht*, *J. Amer. chem. Soc.* **90**, 3738 (1968).
- [15] *C. C. Hinckley*, *J. Amer. chem. Soc.* **91**, 5160 (1969).
- [16] *H. Gerlach & V. Prelog*, *Liebigs Ann. Chem.* **669**, 121 (1963); *H. Gerlach & E. Huber*, *Helv.* **50**, 2087 (1967).
- [17] *J. B. Stothers & P. C. Lauterbur*, *Can. J. Chemistry* **42**, 1563 (1964).
- [18] *B. T. Kilbourn, J. D. Dunitz, L. A. R. Pioda & W. Simon*, *J. Mol. Biol.* **30**, 559 (1967).
- [19] *M. Pinkerton, L. K. Steinrauf & P. Dawkins*, *Biochem. biophys. Res. Commun.* **35**, 512 (1969).
- [20] *E. Pretsch & W. Simon*, Veröffentlichung in Vorbereitung.
- [21] *Lavinia A. R. Pioda, H. A. Wachter, R. E. Dohner & W. Simon*, *Helv.* **50**, 1373 (1967).
- [22] *V. M. Goldschmidt*, *Skrifter Norske Videnskaps-Akad. Oslo, I., Mat.-Naturvis. Kl.* (1926).

## 112. Poly-aminoalkylation d'amines, en solution aqueuse ou aquo-alcoolique, à l'aide d'acides amino-2-alkylsulfuriques par Joseph Rabinowitz<sup>1)</sup>

Laboratoires de Recherches, Département des Colorants et Produits Chimiques,  
SANDOZ S.A., 4002 Bâle

(29 II 72)

*Summary.* Alkali stable primary and secondary amines (of the types  $H_2NCH_2CH_2OPO_3Na_2$ ,  $H_2NCH_2COONa$ ,  $H_2NCH_2CH_2OH$ ,  $H_3CNHCH_2CH_2OH$ , etc.) heated with  $n$  mole-equiv. of a 2-amino-1-alkylsulfuric acid in aqueous solution, in the presence of  $2n$  mole-equiv. of NaOH, give rise to a mixture of poly-aminoalkylated derivatives with an average degree of aminoalkylation close to  $n$ . If the amine is insoluble in water, a mixture of water + an alcohol can be used. In the case of N-methylaminoethylsulfuric acid, the reaction is carried out in a closed vessel since the intermediate N-methylaziridine boils at  $27,5^\circ$  under normal pressure.

These polyaminoalkyl derivatives are capable of being acylated, alkylated, and cyclized. Some stearylated products are described.

La fixation, sur une fonction amine (primaire ou secondaire), d'une chaîne linéaire de structure  $(CH_2-CHR'-NH)_nH$  en se servant d'éthylène-imines (aziridines), a déjà fait l'objet de nombreux travaux [1].

Un des procédés industriels de fabrication de l'éthylène-imine consiste à chauffer l'acide aminoéthylsulfurique dans NaOH conc. et à distiller l'imine formée. Or, nous

<sup>1)</sup> Adresse actuelle: 20, rue Dancet, 1205 Genève.