

141. Röntgenstrukturanalyse eines neuartigen spirocyclischen Diglycosides, eines Abbauproduktes der Antibiotika Papulacandin A, B and C

von Greti Rihs und Peter Traxler

Physikalische Abteilung, Zentrale Funktion Forschung und Departement Forschung, Division Pharma, Ciba-Geigy AG, CH-4002 Basel

(6.IV.81)

X-Ray Analysis of a Novel Spirocyclic Diglycoside, a Degradation Product of the Antibiotics Papulacandin A, B and C

Summary

Structure **4** has been established for a novel spirocyclic diglycoside which is a degradation product of the antibiotics papulacandin A, B and C. By X-ray analysis the diglycoside was shown to consist of a galactose moiety connected by a β -1,4-linkage to a glucose. This diglycoside is further connected by a spiro union to a oxaindan-diol moiety.

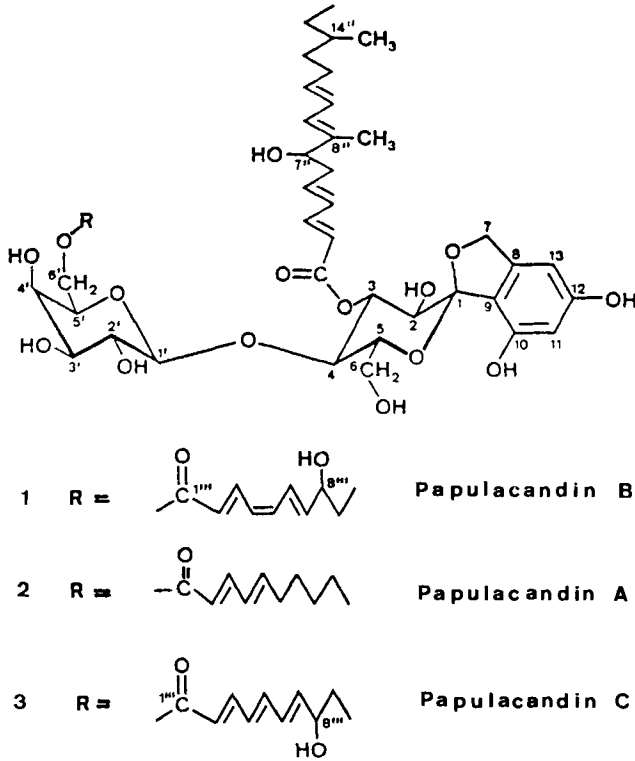
Die Papulacandine, die aus Kulturen des Deuteromyceten *Papularia sphaerosperma* isoliert wurden, bilden eine neue Klasse von Antibiotika [1] [2]. Sie zeigen alle sehr gute *in-vitro*-Wirkung gegen *Candida albicans*.

Bis heute konnten die Strukturen der Hauptkomponenten Papulacandin B (**1**) [3] sowie der Nebenkompenten Papulacandin A (**2**), C (**3**) und D aufgeklärt werden [4] (s. *Schema 1*). Gemeinsames Strukturelement der Papulacandine A, B und C ist dabei ein strukturell neuartiger Zuckerbaustein. Dieser besteht aus einem Galactoseteil, der durch eine β -1,4-Verknüpfung mit einem Glucoserest verbunden ist. Dieses Diglycosid ist zusätzlich spiroartig mit einem aromatischen Rest verbunden, der noch zwei zueinander *m*-ständige Hydroxylgruppen trägt (s. *Fig. 1*). In den Papulacandinen A, B und C sind zwei Hydroxylgruppen des Zuckerteils mit zwei mehrfach ungesättigten Hydroxyfettsäuren verestert. Die Strukturen von Papulacandin A, B und C unterscheiden sich dabei nur in der Struktur der kürzeren Fettsäuren, die mit der primären Hydroxylgruppe des Galactoserests verknüpft ist; die längere Fettsäure ist jeweils mit der Hydroxylgruppe in 3-Stellung des Glucoserests verestert¹).

Die spirocyclische Verknüpfung eines Zuckerbausteines mit einem aromatischen Rest, wie sie in der Gruppe der Papulacandine gefunden wurde, ist ein bisher in der Natur noch nicht beobachtetes Strukturelement. Aus diesem Grunde wurde die räumliche Struktur dieses Spiro-diglycosids eingehender untersucht.

¹) In Papulacandin D fehlt der ganze Rest der Galactose mit der kurzen Fettsäure. Hingegen ist die lange Fettsäure wiederum mit der Hydroxylgruppe in 3-Stellung des Glucoserests verestert.

Schema 1. Strukturen der Papulacandine A, B und C



Das spirocyclische Diglycosid **4** liess sich durch basische Hydrolyse von Papulacandin B (**1**) bzw. A (**2**) oder C (**3**) leicht gewinnen (s. *Schema 2*). Spektroskopische Daten (360-MHz- $^1\text{H-NMR}$., $^{13}\text{C-NMR}$. und MS.) sowie weitere Abbaureaktionen ergaben die postulierte Struktur **4** [3] [4]. Die Kopplungskonstanten im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum deuteten dabei auf eine β -1,4-Verknüpfung der beiden Zuckerbausteine hin. Noch offen blieb jedoch die Konfiguration der spiroartigen Verknüpfung der Glucose-Einheit mit dem aromatischen Rest.

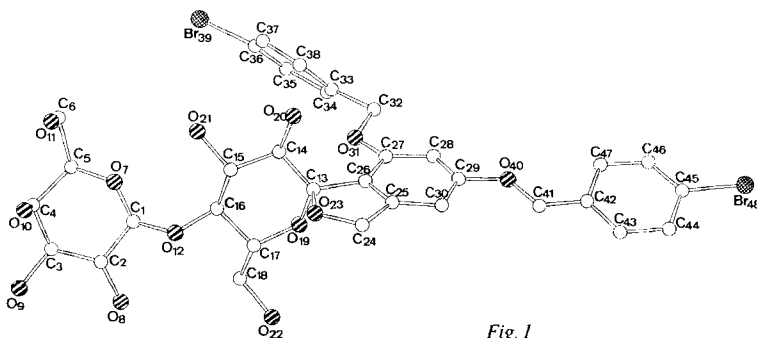
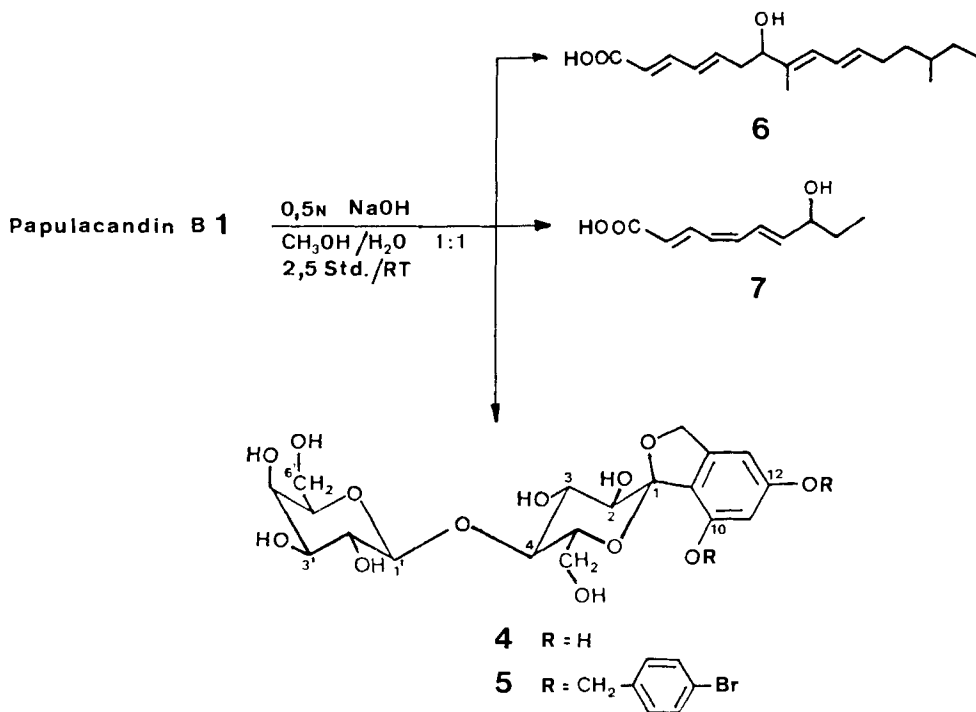


Fig. 1

Schema 2. *Basische Hydrolyse von Papulacandin B*


Diese Frage wurde nun durch eine Röntgenstrukturanalyse des 10,12-Bis-*O*-(*p*-brombenzyl)-Derivats **5** des Spiro-diglycosids **4** beantwortet. Danach nimmt das *O*-Atom des Oxaindanrestes eine axiale Stellung am Glucosering ein. Bestätigt wurden auch die postulierte β -1,4-Verknüpfung der beiden Zuckerbausteine sowie die *m*-Stellung der beiden phenolischen Hydroxygruppen zueinander.

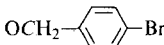
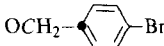
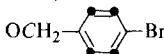
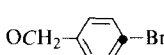
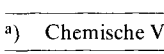
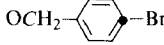
Das für die Röntgenstrukturanalyse verwendete Derivat **5** liess sich in guter Ausbeute durch Verätherung der beiden phenolischen Hydroxygruppen von **4** mit *p*-Brombenzylbromid in Gegenwart von Silberoxid herstellen. Es kristallisierte aus Acetonitril/Methanol in Nadeln vom Smp. 255–258°. Im Massenspektrum von **5** wird M^+ bei m/z 799 gefunden²⁾. Im ¹H-NMR.-Spektrum sind die Signale der acht aromatischen Protonen der beiden *p*-Brombenzylgruppen zwischen 7,3–7,8 ppm und die beiden benzylicischen Methylengruppen bei 4,65 ppm feststellbar. Die beiden zueinander *m*-ständigen aromatischen Protonen des Oxaindanrestes liegen bei 6,55 und 6,57 ppm, während die Methylengruppe desselben als *AB*-System bei 5,1 ppm gefunden wird³⁾. Die diversen Protonen der beiden Zuckerbausteine konnten dagegen nicht zugeordnet werden, da sich deren Signale überlappen⁴⁾. Die ¹³C-

2) Wir danken Herrn Dr. *W.J. Richter* für die Aufnahme dieses Massenspektrums.

3) Diese chemischen Verschiebungen sind in Übereinstimmung mit den bei den Papulacandinen für diese Protonen gefundenen Werte [4].

4) Eine lückenlose Zuordnung dieser Protonen erfolgte für das peracetylierte Diglycosid **4** in [3] und [4].

Tabelle 1. Zuordnung der C-Atome im ^{13}C -NMR.-Spektrum^{a)} des Diglycosids **4** und seines 10,12-Bis-O-(p-Brombenzyl)-Derivats **5**

C-Atom	5	4		
C(1)	112,0	111,9		
C(1')	105,2	105,0		
C(2), C(3), C(4), C(5)	} 81,5, 77,0, 74,8 (2 C), 74,4	} 80,5, 77,0, 74,8 (2 C), 74,3		
C(2'), C(3'), C(4'), C(5')			} 73,9, 73,4, 73,1, 72,6	} 73,8, 73,2, 72,6, 70,3
C(7)				
C(8)	145,6	145,5		
C(9)	120,0	116,8		
C(10)	163,0	161,4		
C(11)	100,0	100,2		
C(12)	156,2	154,5		
C(13)	101,2	103,2		
C(6)	} 62,6	} 62,0		
C(6')				
	70,4 (2 C)	-		
	137,7 (2 C)	-		
	132,6 (4 C)	-		
	130,4 (2 C)	-		
	130,2 (2 C)	-		
	122,6 (2 C)	-		

a) Chemische Verschiebungen in ppm relativ zu Tetramethylsilan (= 0 ppm) als internem Standard.

NMR.-Signale liessen sich mit Ausnahme derjenigen von C(2), C(2'), C(3), C(3'), C(4), C(4'), C(5) und C(5') der Zuckerbausteine den Angaben von *Tabelle 1* gemäss zuordnen.

Röntgenstrukturanalyse. - *Kristalldaten.* Formel $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{Br}_2\text{O}_{13}$, Kristallsystem monoklin, Raumgruppe P_{21} , Zellkonstanten: $a = 21,572(2)$, $b = 8,238(1)$, $c = 10,145(1)$ Å, $\beta = 113,34(1)^\circ$. Die Elementarzelle mit einem Volumen von 1655 \AA^3 enthält zwei Molekeln. Im Bereich von $2^\circ < 2\theta < 100^\circ$ wurden auf einem *Picker-FACS-I*-Diffraktometer 2045 Reflexe vermessen (Cu-K α -Strahlung, Graphit-Monochromator, (θ - 2θ)-Scan-Verfahren), von denen 1841 als beobachtet angenommen wurden ($I > 2\sigma(I)$). Ausser einer Absorptionskorrektur wurden alle üblichen Korrekturen angebracht. Die Struktur wurde mit der klassischen Schweratom-Methode gelöst. Aus der dreidimensionalen *Patterson*-Synthese wurden die Lagen der beiden Brom-Atome berechnet. Sukzessive Anwendung von Strukturfaktorrechnung und *Fourier*-Synthesen führten zur Lokalisierung aller Nicht-H-Atome. Vollmatrix-Least-Squares-Verfeinerungen, zuerst mit isotropen, dann mit anisotropen Temperaturfaktoren konvergierten bei einem *R*-Faktor von 0,10 für die 1841 als beobachtet angenommenen Reflexe.

Beschreibung der Struktur. Die verfeinerten Atomkoordinaten und ihre Standardabweichungen sind in *Tabelle 2* zusammengestellt. *Figur 1* gibt eine räumliche Darstellung der Molekel und die willkürlich gewählte Numerierung der Atome. Für *Figur 2* wurde die Molekel um 85° um die Achse C(26)...C(29) gedreht. Die Konfiguration am Spiro-Kohlenstoffatom ist in *Figur 2* deutlich er-

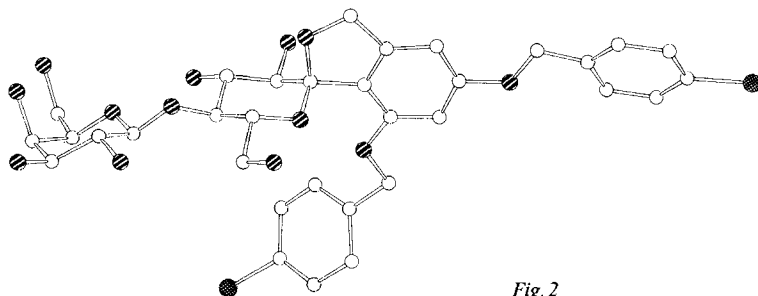


Fig. 2

kennbar. Die Bindungslängen sind in *Tabelle 3* aufgeführt. Sie sind innerhalb der Fehlergrenzen in guter Übereinstimmung mit den Literaturwerten. Die mittleren (C, C)- und (C, O)-Abstände des Lactose-Diglycosids betragen 1,509 bzw. 1,441 Å. Die Bindungswinkel an sp^3 -hybridisierten C-Atomen liegen zwischen 104 und 116°, an aromatischen C-Atomen zwischen 114 und 128°. Die Standardabweichung beträgt 2–3°. Das Oxaindan-Ringsystem ist innerhalb der Messgenauigkeit planar. Die beiden Glycoside liegen in der erwarteten 4C_1 -Konformation [5] vor. Am β -D-Galactosidring nimmt einzig O(10) die axiale, alle andern Substituenten nehmen die äquatoriale Lage ein. Am Glucosidring ist nur O(23) in axialer, die andern Substituenten sind in äquatorialer Stellung.

Tabelle 2. Koordinaten der Atome von 5

Atom	x/a	y/b	z/c	Atom	x/a	y/b	z/c
C(1)	0,3008(11)	0,592(3)	0,597(3)	C(25)	-0,0353(13)	0,174(3)	0,310(3)
C(2)	0,3200(12)	0,757(4)	0,660(3)	C(26)	0,0177(11)	0,163(3)	0,267(3)
C(3)	0,3956(12)	0,791(3)	0,690(3)	C(27)	0,0114(13)	0,084(3)	0,142(3)
C(4)	0,4405(10)	0,664(3)	0,772(3)	C(28)	-0,0495(13)	0,027(3)	0,048(3)
C(5)	0,4127(13)	0,499(3)	0,701(3)	C(29)	-0,1012(13)	0,044(3)	0,095(3)
C(6)	0,4538(13)	0,344(4)	0,782(3)	C(30)	-0,1009(12)	0,123(3)	0,221(2)
O(7)	0,3443(7)	0,477(2)	0,685(2)	O(31)	0,0678(8)	0,084(2)	0,114(2)
O(8)	0,2764(8)	0,874(2)	0,561(2)	C(32)	0,0656(13)	-0,005(5)	-0,012(3)
O(9)	0,4140(9)	0,952(2)	0,755(2)	C(33)	0,1361(10)	-0,000(3)	0,003(3)
O(10)	0,4397(8)	0,657(2)	0,916(2)	C(34)	0,1499(13)	0,048(3)	-0,124(3)
O(11)	0,4521(10)	0,332(3)	0,921(2)	C(35)	0,2196(14)	0,040(4)	-0,107(3)
O(12)	0,2362(8)	0,560(2)	0,589(2)	C(36)	0,2681(10)	-0,013(3)	0,018(3)
C(13)	0,0797(11)	0,247(3)	0,378(3)	C(37)	0,2520(13)	-0,071(3)	0,132(3)
C(14)	0,1449(11)	0,171(3)	0,441(3)	C(38)	0,1863(11)	-0,054(4)	0,122(3)
C(15)	0,1954(12)	0,280(3)	0,550(3)	Br(39)	0,3600(2)	-0,0126(7)	0,0453(4)
C(16)	0,1980(10)	0,441(2)	0,481(2)	O(40)	-0,1651(6)	-0,012(2)	-0,005(2)
C(17)	0,1298(11)	0,514(3)	0,411(2)	C(41)	-0,2262(11)	0,012(4)	0,019(3)
C(18)	0,1363(11)	0,663(3)	0,325(3)	C(42)	-0,2830(11)	-0,051(3)	-0,105(3)
O(19)	0,0839(7)	0,397(2)	0,311(2)	C(43)	-0,3467(11)	-0,006(4)	-0,119(2)
O(20)	0,1401(9)	0,018(2)	0,507(2)	C(44)	-0,4067(12)	-0,069(4)	-0,234(3)
O(21)	0,2613(7)	0,201(2)	0,606(2)	C(45)	-0,3965(14)	-0,185(4)	-0,333(3)
O(22)	0,0735(13)	0,745(3)	0,267(2)	C(46)	-0,3337(13)	-0,221(3)	-0,321(3)
O(23)	0,0555(7)	0,290(2)	0,491(2)	C(47)	-0,2746(12)	-0,161(4)	-0,207(3)
C(24)	-0,0158(11)	0,256(3)	0,456(3)	Br(48)	-0,4731(1)	-0,2727(7)	-0,4698(3)

Tabelle 3. Bindungslängen (\AA) in 5

C(1)–C(2)	1,48(3)	C(14)–O(20)	1,45(3)	C(33)–C(34)	1,48(4)
C(1)–O(7)	1,38(3)	C(15)–C(16)	1,51(3)	C(33)–C(38)	1,34(4)
C(1)–O(12)	1,39(3)	C(15)–O(21)	1,46(3)	C(34)–C(35)	1,45(4)
C(2)–C(3)	1,56(4)	C(16)–C(17)	1,48(3)	C(35)–C(36)	1,36(4)
C(2)–O(8)	1,44(3)	C(17)–C(18)	1,55(4)	C(36)–C(37)	1,42(4)
C(3)–C(4)	1,45(4)	C(17)–O(19)	1,46(3)	C(36)–Br(39)	1,89(2)
C(3)–O(9)	1,46(3)	C(18)–O(22)	1,42(4)	C(37)–C(38)	1,39(4)
C(4)–C(5)	1,54(4)	C(24)–C(25)	1,53(4)	O(40)–C(41)	1,45(3)
C(4)–O(10)	1,47(3)	C(25)–C(26)	1,38(4)	C(41)–C(42)	1,46(4)
C(5)–C(6)	1,58(4)	C(25)–C(30)	1,41(4)	C(42)–C(43)	1,37(3)
C(5)–O(7)	1,43(3)	C(26)–C(27)	1,38(4)	C(42)–C(47)	1,44(4)
C(6)–O(11)	1,43(4)	C(27)–C(28)	1,37(4)	C(43)–C(44)	1,45(4)
O(12)–C(16)	1,46(3)	C(27)–O(31)	1,36(3)	C(44)–C(45)	1,47(4)
C(13)–C(14)	1,44(3)	C(28)–C(29)	1,38(4)	C(45)–C(46)	1,35(4)
C(13)–O(19)	1,43(3)	C(29)–C(30)	1,43(4)	C(45)–Br(48)	1,84(2)
C(13)–O(23)	1,48(3)	C(29)–O(40)	1,43(3)	C(46)–C(47)	1,42(4)
C(13)–C(26)	1,53(3)	O(31)–C(32)	1,46(4)		
C(14)–C(15)	1,50(4)	C(32)–C(33)	1,47(4)		

Die Konformation des Lactose-Diglycosid-Teils ist praktisch identisch mit derjenigen von α -Lactose [6]. Die einzige Ausnahme bildet die Hydroxymethylgruppe des Galactosids. In α -Lactose hat diese Hydroxymethylgruppe die *gauche/trans* (synclinal/antiperiplanar)-Konformation (Torsionswinkel an C(5)–C(6) sind 59 und 179°), in der vorliegenden Untersuchung die weniger häufig vorkommende [7] *gauche/gauche* Konformation (Torsionswinkel O(7)–C(5)–C(6)–O(11) – 62° und C(4)–C(5)–C(6)–O(11) 63°).

Die H-Atome konnten neben den Br-Atomen nicht lokalisiert werden, weshalb auf eine Diskussion der Packung über H-Brücken verzichtet wird. Es ist jedoch anzunehmen, dass die intramolekulare H-Brücke (O(7)–O(21) 2,80 Å), wie sie in β -1,4-verknüpften Di-, Oligo- und Polysacchariden vorkommt, auch in 5 vorliegt.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Für die Säulenchromatographie wurde Silicagel *Merck* 60 (0,063–0,20 mm) und für die Dünnschichtchromatographie Silicagel-Platten F₂₅₄ (*Merck*) verwendet. UV.-Spektren: Angabe von $\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$. IR.-Spektren (Angaben in cm^{-1}) wurden mit einem *Perkin-Elmer*-221-Spektrophotometer, ¹³C-NMR.-Spektren mit einem *Varian*-XL-100-15-Spektrometer und 360-MHz-¹H-NMR.-Spektren mit einem *Bruker-Spektrospin*-HX-360-Spektrometer aufgenommen. Angabe der chemischen Verschiebungen in ppm bezüglich Tetramethylsilan (= 0 ppm) als internem Standard.

Basische Hydrolyse von Papulacandin B(1). Eine Lösung von 1,65 g 1 in 200 ml Methanol/1N NaOH 1:1 wurde 3 Std. bei RT. gerührt. Dann wurde die Lösung 5mal bei pH 7,5 mit Essigester extrahiert. Die vereinigten Essigester-Extrakte wurden über Na₂SO₄ getrocknet und zur Trockene eingedampft. Der ölige Rückstand (505 mg) enthielt die Fettsäure 6 in angereicherter Form. Die restliche wässrige Lösung wurde auf pH 2,5 angesäuert und wiederum 5mal mit Essigester extrahiert. Die vereinigten Essigester-Extrakte ergaben nach Trocknen und Eindampfen 525 mg öligen Rückstand, der die Fettsäure 7 in angereicherter Form enthielt. Zur Isolierung des spirocyclischen Diglycosids 4⁵)

5) Der IUPAC-konforme Name dieses Glucosides lautet: (1S)-Spiro[4-O-(β -D-Galactopyranosyl)-1-deshydroxy-D-glucopyranose]-1,1'-(2'-oxaindan)]-5',7'-diol. Die damit auftretende Bezifferung stimmt mit der im theoretischen Teil verwendeten nicht überein (Red.).

wurde die wässrige Phase mit NaOH neutralisiert und zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in wenig Methanol aufgeschlämmt und von Unlöslichem (NaCl) filtriert. Das Filtrat wurde auf ca. 10 ml eingengt und auf einer *Sephadex-LH-20*-Säule mit Methanol chromatographiert. Die Fraktionen, die nach DC. (Butanol/Eisessig/Wasser 11:3:7) **4** enthielten, wurden vereinigt und nochmals an *Sephadex-LH-20* chromatographiert. Nach Fällern aus Methanol/Äther wurden 250 mg **4** als farbloses, wasserlösliches Pulver erhalten: $[\alpha]_D^{23} = +31 \pm 1^\circ$ ($c=0,25$, CH₃OH). - UV. (C₂H₅OH): 222 (7200), 273 (1300), 278 (1300). - ¹³C-NMR. (CD₃OD): *Tabelle 1*.

Herstellung des 10,12-Bis-O-(p-brombenzyl)-Derivats 5⁶. Ein Gemisch von 1 g **4**, 5,14 g Ag₂O (10 Mol-Äquiv.) und 5,4 g *p*-Brombenzylbromid (10 Mol-Äquiv.) in 50 ml DMF wurde 1½ Std. bei RT. intensiv gerührt. Die Lösung wurde über *Hyflo* filtriert und das Filtrat zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde an einer Säule mit 200 g Silicagel in Chloroform chromatographiert. Als Eluierungsmittel wurde Chloroform mit steigenden Mengen Methanol (5-50%) verwendet. Der Äther **5** wurde bei einem Gehalt von ca. 20% Methanol eluiert. Nach Kristallisation aus Acetonitril/Methanol wurde reines **5** in farblosen Nadeln vom Smp. 255-258° erhalten, die für die Röntgenstrukturanalyse verwendet wurden; $[\alpha]_D^{23} = +18 \pm 1^\circ$ ($c=0,14$, CH₃OH). - UV. (C₂H₅OH): 269 (2100), 276 (2000). - IR. (KBr): 3450, 2950, 2910, 1615, 1495, 1450, 1410, 1380, 1340, 1300, 1210, 1155, 1070, 1045, 1015, 805, 795, 780. - ¹H-NMR. (CD₃OD): 7,3-7,8 (8 arom. H); 6,55 und 6,57 (s, H-C(11) und H-C(13)); 5,1 ppm (AB, H-C(7)). - ¹³C-NMR. (CD₃OD): *Tabelle 1*.

C₃₃H₃₆Br₂O₁₃ (800,483) Ber. C 49,52 H 4,53 Br 19,96% Gef. C 49,04 H 4,57 Br 18,06%

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. Gruner & P. Traxler, *Experientia* 33, 137 (1977).
- [2] P. Traxler, J. Gruner & J. A. L. Auden, *J. Antibiot.* 30, 289 (1977).
- [3] P. Traxler, H. Fritz & W. J. Richter, *Helv. Chim. Acta* 60, 578 (1977).
- [4] P. Traxler, H. Fritz, H. Fuhrer & W. J. Richter, *J. Antibiot.* 63, 967 (1980).
- [5] *British and U.S. Carbohydrate Nomenclature Committees*, 'Rules for Conformation Nomenclature for Five- and Six-membered Rings in Monosaccharides and their Derivatives', *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1973, 505.
- [6] D. C. Fries, S. T. Rao & M. Sundaralingam, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 27, 994 (1971).
- [7] F. Longchambon, J. Ohannessian, D. Avenel & A. Neumann, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 31, 2623 (1975).

6) Der IUPAC-konforme Name dieser Verbindung lautet: (1S)-Spiro[4-O-(β-D-galactopyranosyl-1-dehydroxy-D-glycoparanose-1,1'-(5',7'-bis(p-brombenzyloxy)-2'-oxaindan)]. Die damit auftretende Bezifferung stimmt mit der im theoretischen Teil verwendeten nicht überein (Red.).