

140. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

236. Mitteilung¹⁾

Schwefelhaltige Ansa-Verbindungen des Naphthomycin-Typus

von Michael Meyer und Walter Keller-Schierlein*

Laboratorium für organische Chemie, Eidgenössische Technische Hochschule, CH-8092 Zürich

Salva Megahed und Hans Zähler

Institut für Biologie II, Lehrstuhl für Mikrobiologie I der Universität, Auf der Morgenstelle 28,
D-7400 Tübingen

und Annalaura Segre

Istituto di Strutturistica Chimica Giordano Giacomello, CNR, I-00016 Monterotondo Stazione, Roma

(13.V.86)

Metabolites of Microorganisms. Sulfur-Containing Ansa Compounds of the Naphthomycin Type

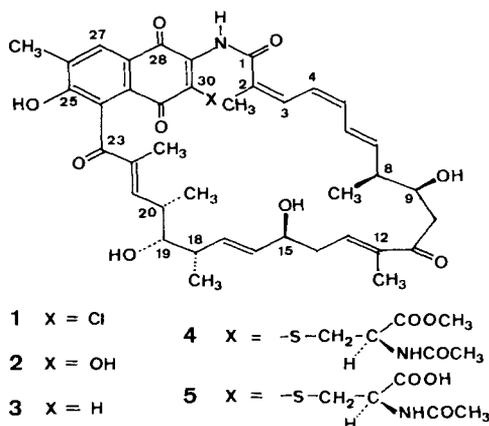
From a strain of *Streptomyces* (*Tü 2357*) in addition to naphthomycin A, 4 new yellow pigments were isolated and their structures determined by spectroscopic comparison with naphthomycin A. Whereas the naphthomycins D and E are simple derivatives of naphthomycin A, having OH and H, respectively, instead of Cl, the naphthomycins F and G contain an *N*-acetylcysteine residue linked to the aromatic moiety by a thioether group. Degradations with O₃ yielded identical products from the naphthomycins A, D, F, and G, showing coincident configurations in parts of the molecules. Naphthomycin F shows some biological activity against gram-positive bacteria and fungi, although much weaker than naphthomycin A. The naphthomycins D, E, and G are inactive against microorganisms.

Als wir vor bald 20 Jahren zum erstenmal Naphthomycin A (1), ein gegen Gram-positive Bakterien und Pilze wirksames Antibiotikum, aus Kulturen von *Streptomyces collinus* (Stamm *Tü 105*), isolierten, waren in den Rohextrakten ausser dem Antibiotikum keine nennenswerten Mengen anderer gelber Pigmente erkennbar [2]. Für die Herstellung grösserer Mengen Naphthomycin A²⁾ haben wir kürzlich auf einen neuen Produzenten, Stamm *Tü 2357* (*Streptomyces aurantiogriseus*) umgestellt. Durch DC waren in den Rohextrakten dieser Kulturen neben Naphthomycin A mehrere weitere gelbe bis orange Verbindungen in beträchtlichen Mengen nachweisbar. Die Isolierung reiner Komponenten wurde dadurch erleichtert, dass sich zwei von ihnen, die Naphthomycine D (2) und G (5), mit NaHCO₃ aus CHCl₃ unter Farbumschlag nach blau bis grün extrahieren lassen, während die Naphthomycine A (1), E (3) und F (4) in der CHCl₃-Phase blieben³⁾.

¹⁾ 235. Mitteilung: [1]

²⁾ Zur Konstitutionsaufklärung von Naphthomycin A s. [3]; rel. und abs. Konfiguration s. [4].

³⁾ Als Naphthomycine B und C wurden zwei Ansamycine aus anderen Actinomyceten-Stämmen bezeichnet, s. [5]; Naphthomycin H s. [6].



Einheitliche Verbindungen liessen sich dann leicht durch Chromatographie an Kieselgel gewinnen.

Naphthomycin E (3). Die als amorphes gelbes Pulver anfallende Verbindung 3 zeigte im FAB-MS Pike bei 708 ($M + \text{Na}$)⁺ und 686 ($M + \text{H}$)⁺, vereinbar mit einer Bruttoformel $\text{C}_{40}\text{H}_{47}\text{NO}_9$, die formell durch Ersatz des Cl-Atoms von 1 durch ein H-Atom zustande kommt. Diese Deutung wird bestärkt durch das ¹³C-NMR-Spektrum (Tab. 1), das sich von dem von 1 im wesentlichen dadurch unterscheidet, dass im Bereich aromatischer und olefinischer ¹³C-Signale ein Dublett mehr und ein Singulett weniger vorhanden sind. Vor allem im aliphatischen Bereich ist die Übereinstimmung so frappant, dass völlige, strukturelle Übereinstimmung im Ansa-Ring der beiden Verbindungen angenommen werden muss. Für das Naphthomycin E schlagen wir daher die Strukturformel 3 vor, mit der auch das ¹H-NMR-Spektrum (Tab. 2) vereinbar ist, das gegenüber dem von Naphthomycin A [4] ein zusätzliches Singulett bei 7,51 ppm für H-C(30) besitzt. Die Kopplungskonstanten der olefinischen Protonen sprechen, soweit erkennbar, dafür, dass auch die Konfigurationen an den Doppelbindungen gleich sind wie bei 1.

Naphthomycin D (2). Wie aus dem FAB-MS (Tab. 3) hervorgeht, ist das Molekül von Naphthomycin D (2) um 16 Einheiten (= 1 O-Atom) grösser als das von 3. Die erhöhte Acidität der Verbindung deutet an, dass das zusätzliche O-Atom zu einer stark sauren OH-Gruppe gehört. Das ¹³C- und das ¹H-NMR-Spektrum (Tab. 1 und 2) sind mit der Strukturformel 2 bestens vereinbar, bei der das Cl-Atom von 1 durch OH ersetzt ist. Besonders fällt wiederum auf, dass der Bereich von 0–80 ppm im ¹³C-NMR-Spektrum fast perfekt übereinstimmt mit demjenigen bei 1. Dass der Ansa-Ring von 2 mit demjenigen von 1 nicht nur in der Konstitution übereinstimmt, sondern mindestens an C(15), C(18) und C(20) auch den gleichen Chiralitätssinn besitzt, wurde bestätigt durch Abbau mit O₃, der gleich durchgeführt wurde wie früher bei 1 [4]. Er führte nach der reduktiven Ozonid-Spaltung zu den aus Naphthomycin A bekannten Verbindungen (*S*)-Butan-1,2,4-triol (6), aus C(13) bis C(16) von 2, das erst nach der Überführung ins Ac-Derivat 7 durch Chromatographie völlig rein erhalten wurde, und (*2S,4S*)-2,4-Dimethylpentan-1,3,5-triol (8), aus C(17) bis C(20) von 2, das sowohl als freier Alkohol wie auch als Ac-Derivat 9 mit den entsprechenden Abbauprodukten von 1 verglichen wurde. Die Drehwerte sind in Tab. 4 zusammengestellt. Dadurch ist die Übereinstimmung der Konfiguration an C(15), C(18) und C(20) von 1 und 2 bewiesen.

Tab. 1. ^{13}C -NMR-Daten (ppm, CDCl_3 , 75,47 MHz) von Naphthomycinen (Naphthomycin G in (D_5)Pyridin)

Zuordnung	Naphthomycin A (1)	Naphthomycin D (2)	Naphthomycin E (3)	Naphthomycin F (4)	Naphthomycin G (5)
CH_3	10,5(q)	10,5(q)	10,6(q)	10,6(q)	10,9(q)
(7 ×)	11,1(q)	11,2(q)	11,2(q)	11,1(q)	12,5(q)
	12,6(q)	12,7(q)	12,8(q)	12,4(q)	13,2(q)
	16,1(q)	15,9(q)	16,0(q)	16,3(q)	17,4(q)
	16,5(q)	16,5(q)	16,4(q)	16,5(q)	18,4(q) (2 C)
	17,2(q)	17,5(q)	17,5(q)	17,3(q)	
	20,5(q)	20,6(q)	20,4(q)	20,5(q)	21,0(q)
$\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$	—	—	—	23,0(q)	23,2(q)
CH_2	36,1(t)	36,9(t)	37,0(t)	36,1(t)	36,8(t)
	40,6(t)	40,4(t)	40,1(t)	40,4(t)	43,5(t)
CH_2-S	—	—	—	36,3(t)	37,4(t)
CH	33,7(d)	33,6(d)	33,6(d)	33,7(d)	36,4(d)
(3 ×)	41,6(d)	41,7(d)	41,6(d)	36,3(d)	41,9(d)
	45,0(d)	45,0(d)	44,8(d)	41,7(d)	46,7(d)
				45,0(d)	
$\text{CH}-\text{N}$	—	—	—	52,2(d)	53,9(d)
CH_3O	—	—	—	52,4(q)	—
$\text{CH}-\text{O}$	72,2(d)	71,1(d)	70,9(d)	71,7(d)	72,2(d)
(3 ×)	72,8(d)	73,5(d)	73,7(d)	73,1(d)	72,7(d)
	77,0(d) ^{a)}	76,1(d)	76,0(d)	76,8(d)	78,4(d)
sp^2-CH	—	—	119,8(d)	—	—
(10 bzw. 11 ×)	123,1(d)	124,3(d)	124,5(d)	123,6(d)	125,4(d)
	126,9(d)	126,4(d)	126,6(d)	126,7(d)	127,1(d)
	128,8(d)	131,1(d)	131,5(d)	129,6(d)	129,7(d)
	131,4(d)	133,9(d)	133,2(d)	130,9(d)	130,3(d)
	132,2(d)	134,4(d)	133,9(d)	132,1(d)	132,2(d)
	134,0(d)	136,1(d)	135,6(d)	133,9(d)	134,3(d)
	136,6(d)	137,4(d)	137,2(d)	136,3(d)	136,6(d)
	140,0(d)	140,9(d)	140,5(d)	139,9(d)	140,3(d)
	143,0(d)	142,1(d)	142,5(d)	142,8(d)	141,4(d)
	147,2(d)	146,2(d)	145,6(d)	147,2(d)	148,0(d)
sp^2-C	120,0(s)	117,7(s)	118,7(s)	120,5(s)	123,3(s) ^{b)}
(10 bzw. 9 ×)	121,7(s)	119,3(s)	121,8(s)	121,8(s)	127,9(s)
	131,4(s)	122,0(s)	127,8(s)	131,1(s)	133,3(s)
	133,6(s)	126,7(s)	132,2(s)	133,1(s)	133,6(s)
	134,1(s) ^{b)}	133,1(s)	137,8(s)	133,8(s)	136,4(s)
	134,4(s)	133,9(s)	137,9(s)	135,3(s)	137,8(s)
	136,4(s)	138,0(s)(2C)	138,4(s)	137,3(s)	138,2(s)
	137,6(s)	—	140,2(s)	137,7(s)	144,6(s)
	137,8(s)	147,2(s)	—	140,5(s)	151,0(s) ^{b)}
	161,5(s)	160,6(s)	161,8(s)	160,6(s)	159,8(s)
CO (Amid)	168,9(s)	169,6(s)	168,9(s)	169,4(s)	169,9(s)
	—	—	—	169,6(s)	171,5(s)
$\text{CO}-\text{O}$	—	—	—	170,7(s)	173,6(s)
CO (Chinon)	178,0(s)	179,5(s)	179,6(s)	178,4(s)	179,6(s)
	179,0(s)	181,5(s)	186,4(s)	181,4(s)	182,3(s)
CO (Keton)	201,9(s)	202,0(s)	202,3(s)	201,7(s)	198,2(s)
	203,8(s)	203,6(s)	204,0(s)	203,6(s)	201,5(s)

^{a)} Zum Teil Überlappung mit Signalen des Lsgm.

^{b)} Dieses Signal wurde früher aus Versehen bei 132,7 ppm angegeben [4].

Tab. 2. ¹H-NMR-Daten (CDCl₃) der Naphthomycine D, E, F (399 MHz), und G (500 MHz)

Zuordnung ^{a)}	Naphthomycin D (2)	Naphthomycin E (3)	Naphthomycin F (4)	Naphthomycin G (5)
3 CH ₃	0,82 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,5) 0,98 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,7) 1,21 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)	0,83 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,7) 0,99 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,7) 1,20 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)	0,81 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,7) 0,96 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,7) 1,20 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)	0,84 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,5) 0,98 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,7) 1,20 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)
CH ₃ C (12)	1,70 (<i>d</i> , <i>J</i> = 0,7)	1,70 (<i>d</i> , <i>J</i> = 0,7)	1,71 (<i>d</i> , <i>J</i> = 0,8)	1,71 (<i>s</i>)
CH ₃ C (22)	2,03 (<i>d</i> , <i>J</i> = 1,3)	2,02 (<i>d</i> , <i>J</i> = 1,3)	2,05 (<i>d</i> , <i>J</i> = 1,4)	2,05 (<i>s</i>)
CH ₃ C (2)	2,21 (<i>br. s</i>)	2,16 (<i>s</i>)	2,15 (<i>d</i> , <i>J</i> = 0,9)	2,13 (<i>s</i>)
CH ₃ Ar	2,38 (<i>d</i> , <i>J</i> = 0,8)	2,38 (<i>d</i> , <i>J</i> = 0,7)	2,38 (<i>d</i> , <i>J</i> = 0,7)	2,42 (<i>s</i>)
CH ₂ und CH	2,07 2,23 (<i>m</i> , 2H) 2,29 (<i>m</i> , 2H) 2,35 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 9,9, <i>J</i> ₂ = 3,2, 1H) 2,71 (<i>m</i>)	2,00 2,40 (<i>m</i> , 4H)	2,00 2,40 (<i>m</i> , 4H)	2,10–2,36 (<i>m</i> , 3H) 2,34 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 14, <i>J</i> ₂ = 8,5, 1H)
H–C (8)	2,71 (<i>m</i>)	2,72 (<i>m</i>)	2,72 (<i>m</i>)	2,77 (<i>m</i>)
CH ₂ (10)	2,78 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 17,3, <i>J</i> ₂ = 5,8, 1H) 2,98 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 17,3, <i>J</i> ₂ = 3,2, 1H)	2,85 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 17,0, <i>J</i> ₂ = 5,5, 1H) 2,94 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 17,0, <i>J</i> ₂ = 3,4, 1H)	2,62 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 17,1, <i>J</i> ₂ = 6,4, 1H) 3,17 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 17,1, <i>J</i> ₂ = 2,8, 1H)	2,49 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 17,4, <i>J</i> ₂ = 6,5, 1H) 3,29 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 17,4, <i>J</i> ₂ = 3,8, 1H)
H–C–O				
H–C (19)	3,16 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 9,9, <i>J</i> ₂ = 2,2)	3,13 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 8,7, <i>J</i> ₂ = 0,8)	3,16 (<i>br. d</i> , <i>J</i> = 9,8)	3,14 (<i>br. d</i> , <i>J</i> = 9,5)
H–C (9)	3,60 (<i>m</i>)	3,58 (<i>m</i>)	3,56 (<i>m</i>)	3,65 (<i>m</i>)
H–C (15)	4,06 (<i>m</i>)	4,07 (<i>m</i>)	4,03 (<i>m</i>)	3,95 (<i>m</i>)
CH ₃ O			3,44 (<i>s</i> , 3H)	
Olefinische H-Atome				
H–C (17)	5,48 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,3, <i>J</i> ₂ = 8,9)	5,40 5,60 (<i>m</i> , 3H)	5,48 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,1, <i>J</i> ₂ = 9,1)	5,46 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,3, <i>J</i> ₂ = 10,1)
H–C (7)	5,54 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,0, <i>J</i> ₂ = 10,4)		5,50 (<i>m</i> , überlapp.)	5,50 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,3, <i>J</i> ₂ = 9,3)
H–C (16)	5,61 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,3, <i>J</i> ₂ = 6,3)		5,60 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,1, <i>J</i> ₂ = 7,0)	5,61 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,1, <i>J</i> ₂ = 7,7)
H–C (21)	5,90 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 10,2, <i>J</i> ₂ = 1,3)	5,86 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 10,0, <i>J</i> ₂ = 1,3)	5,90 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 10,2, <i>J</i> ₂ = 1,4)	5,99 (<i>br. d</i> , <i>J</i> = 9,6)
H–C (4)	6,21 (<i>t</i> , <i>J</i> = 11,0)	6,17 (<i>t</i> , <i>J</i> = 11,1, 1H)	6,14 (<i>t</i> , <i>J</i> = 11,2)	6,10 (<i>t</i> , <i>J</i> = 11,1)
H–C (5)	6,43 (<i>t</i> , <i>J</i> = 11,1)	6,37 (<i>t</i> , <i>J</i> = 11,1, 1H)	6,23 (<i>t</i> , <i>J</i> = 11,2)	6,42 (<i>t</i> , <i>J</i> = 11,1)
H–C (6)	6,44 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,0, <i>J</i> ₂ = 11,1)	6,42 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,0, <i>J</i> ₂ = 11,1)	6,48 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,0, <i>J</i> ₂ = 11,2)	6,63 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 15,0, <i>J</i> ₂ = 11,4)
H–C (13)	6,72 (<i>br. t</i> , <i>J</i> = 5,9)	6,75 (überlappend)	6,64 (<i>m</i> , teilw. überl., 1H)	6,84 (<i>br. t</i> , <i>J</i> = 6,4)
H–C (3)	6,87 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 11,1, <i>J</i> ₂ = 1,1)	6,76 (<i>br. d</i> , <i>J</i> = 11,1)	6,76 (<i>m</i>)	6,68 (<i>d</i> , <i>J</i> = 11,4)
arom. H	7,94 (<i>d</i> , <i>J</i> = 0,8, 1H)	7,51 (<i>s</i> , 1H) 7,96 (<i>d</i> , <i>J</i> = 0,7, 1H)	7,94 (<i>d</i> , <i>J</i> = 0,7, 1H)	8,02 (<i>s</i> , 1H)
Austauschbare H-Atome				
OH	1,60 (<i>br.</i>)	1,73 (<i>br.</i>)	2,56 (<i>s</i>)	2,54 (<i>br.</i> , <i>ca.</i> 3H)
OH	2,97 (<i>br.</i>)	3,19 (<i>br. d</i> , <i>J</i> = 6,7)	3,64 (<i>br.</i>)	
OH	3,81 (<i>br.</i>)	3,85 (<i>br.</i>)	6,25 (<i>br. d</i> , <i>J</i> = 8)	6,93 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,7)
NH	8,51 (<i>s</i>)	8,51 (<i>s</i>)	8,37 (<i>s</i>)	9,1 (<i>br. s</i>)
Ar–OH	9,9 (<i>br.</i>)	9,90 (<i>br.</i>)	9,46 (<i>sehr br.</i>)	9,80 (<i>s</i>)
Signale des S-Acetylcystein-Teils				
CH ₃ CO	–	–	1,93 (<i>s</i>)	1,74 (<i>s</i>)
CH ₂ –S	–	–	3,35 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 14,4, <i>J</i> ₂ = 4,9, 1H) 3,84 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 14,4, <i>J</i> ₂ = 4,9, 1H)	3,35 (<i>dd</i> , <i>J</i> ₁ = 14,1, <i>J</i> ₂ = 4,5, 1H) 3,46 (<i>br. d</i> , <i>J</i> = 14,1, 1H)
H–C–N	–	–	4,77 (<i>dt</i> , <i>J</i> ₁ = 7,6, <i>J</i> ₂ = 4,9)	4,78 (<i>dt</i> , <i>J</i> ₁ = 8,1, <i>J</i> ₂ = 4,6)
NH	–	–	8,37 (<i>s</i> überlapp.)	1H

^{a)} Zuordnung in Analogie zu Naphthomycin A [3] [4].

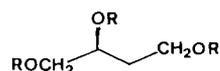
Tab. 3. Analytische Eigenschaften der Naphthomycine A, D, E, F und G

	Naphthomycin A [2] (1)	Naphthomycin D (2)	Naphthomycin E (3)	Naphthomycin F (4)	Naphthomycin G (5)
Aspekt	gelbe Nadeln	orange, amorph	gelb, amorph	gelb, amorph	orange Prismen
Schmp.	ca. 200° (Zers.)	–	–	–	188° (Zers.)
DC; R _f	0,25 (CHCl ₃ /AcOEt 1:1; Kieselgel mit Oxalsäure behandelt)	0,17 (wie A)	0,15 (wie A)	0,17 (Hexan/ Aceton 1:1; Kieselgel)	0,24 (CHCl ₃ / BuOH 9:1; Kieselgel)
[α] _D ²⁴	+432,0° (CHCl ₃)	+323° (CHCl ₃)	+133,5° (CHCl ₃)	+334,4° (CHCl ₃)	+254,0° (MeOH)
Bruttoformel	C ₄₀ H ₄₆ ClNO ₉ (720,26)	C ₄₀ H ₄₇ NO ₁₀ (701,81)	C ₄₀ H ₄₇ NO ₉ (685,81)	C ₄₆ H ₅₆ N ₂ O ₁₂ S (861,02)	C ₄₅ H ₅₄ N ₂ O ₁₂ S (846,99)
FAB-MS	742 (M+Na), 720 (M+H), 702, 684	724 (M+Na), 702 (M+H), 684, 666	708 (M+Na), 686 (M+H), 668, 475	883 (M+Na), 861 (M+H), 843, 827	869 (M+Na), 847 (M+H), 829, 811
UV (EtOH)	235 (4,62),	240 (4,60),	234 (4,55),	236 (4,59),	230 (4,64),
(λ _{max} [log ε])	307 (4,5), 360 (sh, 4,00)	283 (4,60), 350 (3,78)	280 (4,44), 312 (4,34)	285 (4,50), 320 (4,34)	283 (4,36), 360 (3,76)
IR (KBr)	–	–	–	1745s,	1728s,
	1660s, 1620s, 1580m	1660s, 1630s, 1580s	1655s, 1600s, 1580m	1660s, 1565s, –	1665s, 1650s, 1565m

Tab. 4. Spezifische Drehungen [α]_D²⁴ von Abbauprodukten der Naphthomycine A, D, F und G

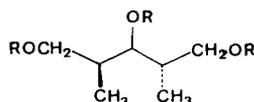
Substanz	Herkunft aus Naphthomycin			
	A [4]	D	F	G
(2S, 4S)-2,4-Dimethylpentan-1,3,5-triol (8) in MeOH	+5,15° (c = 1,36)	+5,20° (c = 4,02)	+6,66° (c = 2,69)	+5,20° (c = 2,30)
Essigsäure-[(2S,4S)-3,5-diacetoxy-2,4-methylpentyl]ester (9) in CH ₂ Cl ₂	-3,76° (c = 1,22)	-3,80° (c = 0,71)	-4,77° (c = 1,30)	-4,96° (c = 1,13)
Essigsäure-[(S)-2,4-diacetoxybutyl]ester (7) in CH ₂ Cl ₂ ^{a)}	-13,52° (c = 0,27)	-12,83° (c = 0,42)	-11,4° (c = 0,74)	-11,94° (c = 0,36)

^{a)} Synthetisches Präparat: [α]_D²⁴ = -12,00° (c = 2,05, CH₂Cl₂) [4].



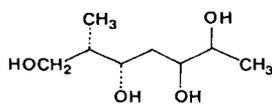
6 R = H

7 R = COCH₃

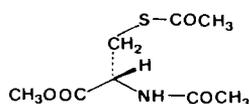


8 R = H

9 R = COCH₃



10



11

Das dritte Abbauprodukt **10**, aus dem Bereich C(7) bis CH₃-C(12) von **2**, wurde wegen der nicht stereospezifischen Reduktion an C(11) und C(12) des Ozonids von **2** nur als schwer trennbares Diastereoisomeren-Gemisch erhalten. Da das Gemisch von dem aus **1** erhaltenen [4] gemäss ¹H-NMR-Spektrum deutlich in der Zusammensetzung abweicht, sind die Drehwerte ein unzulängliches Mittel für die Zuordnung der Konfiguration an C(8) und C(9) von **2** und werden daher hier nicht registriert. In der Formel **2** sind die Konfigurationen an C(8), C(9) und C(19) daher lediglich in Analogie zu Naphthomycin A (**1**) eingesetzt (die Chiralität von C(19) geht beim Abbau zu **8** verloren). Im Naphthomycin D liegt ein Analoges des Actamycins [7] vor, das ebenfalls eine OH-Gruppe an C(30) aber keine CH₃-Gruppe an C(2) besitzt.

Naphthomycin G (5). Das Naphthomycin G, das in orange-gelben Kristallen erhalten wurde, enthält ein S-Atom. Das Molekulargewicht gemäss FAB-MS ist um 145 Einheiten grösser als das des Naphthomycins D (**2**) (Tab. 3). Die aus der Elementaranalyse abgeleitete und mit dem FAB-MS vereinbare Bruttoformel C₄₅H₅₄N₂O₁₂S unterscheidet sich von derjenigen von **2** um C₅H₇NO₂S. Im ¹³C-NMR-Spektrum, das wegen der geringen Löslichkeit in CDCl₃ in (D₅)Pyridin aufgenommen wurde (Tab. 1), finden wir zusätzlich zu den Signalen von **2** diejenigen einer Ac-Gruppe (23,2 (*q*) und 173,6 ppm (*s*)) sowie diejenigen eines Cystein-Restes (37,4 (*t*), 53,9 (*d*) und 171,5 ppm (*s*)), Gruppen, die durch das ¹H-NMR-Spektrum (Tab. 2) bestätigt wurden: Die nicht dem Naphthomycin-Teil zuzuordnenden Signale entsprechen etwa denjenigen der Modellverbindung **11**, *N,S*-Diacetylcystein-methylester. Mit dem Vorliegen eines Cystein-Restes ist auch das IR-Spektrum (Tab. 3) vereinbar, das zusätzlich zu den Banden der Naphthomycine A, D und E ein starkes Maximum bei 1728 cm⁻¹ aufweist. Die energische, saure Hydrolyse von **5** mit nachfolgender Oxidation (H₂O₂ in HCOOH) gab, wenn auch mit schlechter Ausbeute, als einzige ninhydrin-positive Verbindung Cysteinsäure, die sich nach der Isolierung durch Chromatographie an Cellulosepulver durch IR und spez. Drehung als L-Cysteinsäure erwies. Die ¹H-NMR-Signale dieses Teils der Molekel liegen sehr ähnlich wie beim soeben beschriebenen Diastovaricin II, einem *N*-Acetylcystein-Derivat der Naphthomycin-B-Reihe [8], während die Signale des Ansa-Ringes und weitgehend auch des aromatischen Teils gegenüber denen von **1** kaum verändert sind. Das Naphthomycin G ist offensichtlich das dem Diastovaricin II analoge **5** der Naphthomycin-A-Reihe.

Naphthomycin F (4). Dass auch das Naphthomycin F (**4**) einen *N*-Acetylcystein-Rest besitzt, ist aus einem Vergleich der ¹³C-NMR- (Tab. 1) und der ¹H-NMR-Daten (Tab. 2) offensichtlich. Seine Molekel ist nochmals um 14 Masseneinheiten grösser als die von **5** (FAB-MS, Tab. 3). Aus den Signalen bei 52,4 ppm im ¹³C-NMR-Spektrum (Tab. 1) und bei 3,44 ppm im ¹H-NMR-Spektrum (Tab. 2) ergibt sich unschwer, dass das zusätzliche C-Atom in einer CH₃O-Gruppe vorliegt. Da sich **4** mit NaHCO₃ nicht extrahieren lässt, handelt es sich offensichtlich um den Methylester von **5**.

Auch die Naphthomycine F und G konnten mit O₃ abgebaut werden und gaben die gleichen Produkte **6**, **8** und **10** wie die Naphthomycine A und D (Tab. 4). Damit ist die Konfiguration an C(15), C(18) und C(20) festgelegt als 15*S*, 18*S* und 20*S*, während für C(8), C(9) und C(19) wie schon bei **2** keine verbindlichen Aussagen gemacht werden können. Mit grosser Wahrscheinlichkeit liegen die gleichen Konfigurationen vor wie beim Naphthomycin A, dessen vollständige Konfiguration durch eine Röntgenstrukturanalyse festgelegt ist [4], denn offensichtlich verläuft die Biosynthese dieser vier Verbindungen über weite Strecken gleich.

Die antimikrobielle Wirkung des Naphthomycins F (4) geht etwa parallel zu der des Naphthomycins A (1) [2], ist aber *ca.* 30mal geringer. Im Plattendiffusionstest ist eine deutliche Wirkung vor allem gegen *Bacillus subtilis* (auf Minimalmedium), *Mucor mihei* und *Botrytis cinerea* zu erkennen. Die Naphthomycine D, E und G (2, 3 bzw. 5) zeigen dagegen keine antibakterielle und antifungische Aktivität. Über die biologische Bedeutung insbesondere der beiden S-haltigen Naphthomycine können noch keine Aussagen gemacht werden. Immerhin möchten wir daran erinnern, dass wir seinerzeit [2] beim Naphthomycin A (1) beobachtet haben, dass Zugabe von Cystein zur Testlösung die antimikrobielle Wirkung aufhebt. Über die leichte Bildung von Thioethern aus 1 mit Thiolen *in vitro* s. [9].

Die NMR-Spektren verdanken wir Frä. B. Brandenberg, die Massenspektren Frau L. Golgowski und Herrn Dr. J. Meili und die Elementaranalyse Herrn D. Manser. Das ¹H-NMR (500 MHz) von Naphthomycin G wurde im Istituto per lo studio delle macromolecole di interesse biologico del CNR, Napoli, Italia, aufgenommen.

Experimenteller Teil

Allgemeines. S. [10].

1.1. *Beschreibung des Actinomyceten-Stammes.* Der Stamm Tü 2357 wurde aus einer Erdprobe isoliert, die beim Rambagh Palace in Jaipur, Indien, gesammelt worden war. Der Stamm zeichnet sich aus durch ein aschgraues Luftmycel (*cinereus*), weite, auseinandergezogene Spiralen, Sporen mit glatter Oberfläche und die Bildung von braun-schwarzen Pigmenten auf pepton-haltigen Nährmedien. Der Stamm kann die folgenden C-Quellen gut verwerten: D-Glucose, L-Arabinose, Saccharose, L-Inosit, D-Mannit, D-Fructose, Rhamnose und Raffinose. Schlecht verwertet er D-Xylose. Auf Cellulose wächst er gar nicht, Stärke wird nicht hydrolysiert. Nach diesen Kriterien ist der Stamm der Art *Streptomyces aurantiogriseus* zuzuordnen.

1.2. *Isolierung der Produkte.* Das Filtrat aus 200 l Kulturbrühe wurde auf eine Säule aus *ca.* 35 l Amberlite XAD-2 gegeben. Nach dem Waschen mit H₂O wurde mit MeOH eluiert und das Filtrat i. V. bis zu einem wässr. Rückstand konzentriert. Dieser wurde mehrmals mit AcOEt extrahiert und die Auszüge zu 38,8 g Rohprodukt eingedampft. Dieses wurde mit H₂O aufgeschlämmt und mit CHCl₃ ausgezogen. Der wässr. Anteil, der keine Naphthomycine enthielt, wurde verworfen. Der CHCl₃-Auszug gab nach dem Eindampfen i. V. 24,3 g braune, halb feste Masse, die in zwei Chargen an Oxalsäure-Kieselgel (Säule 9 cm × 21 cm, 0,3 bar Überdruck, CHCl₃/BuOH 9:1) in 2 Fraktionen aufgetrennt wurde. Die *Fraktion I* (16 g) enthielt die Naphthomycine A, D, E und F, die *Fraktion II* (8 g) bestand zur Hauptsache aus Naphthomycin G.

Die *Fraktion I* wurde erneut an Oxalsäure-Kieselgel chromatographiert. Mit Hexan/CHCl₃ 1:1 wurden 6 g eines gelblichen Öls eluiert, das keine Naphthomycine enthielt. Anschliessend wurden mit CHCl₃/Aceton 9,9 g Naphthomycin-Gemisch erhalten. Dieses wurde in CHCl₃ gelöst und 3mal mit ges. wässr. NaHCO₃-Lsg. ausgezogen, wobei sich die wässr. Phase tief grün färbte.

Die mit H₂O gewaschene org. Phase gab nach dem Trocknen (MgSO₄) und Eindampfen i. V. 2,5 g Gemisch der Naphthomycine A, E und F. Die wässr. Phase wurde mit 2N H₂SO₄ schwach angesäuert (Farbumschlag nach orange-gelb) und mit CHCl₃ ausgeschüttelt. Nach dem Waschen mit H₂O, Trocknen (MgSO₄) und Eindampfen i. V. wurden 1,1 g fast reines Naphthomycin D erhalten.

Das Gemisch der Naphthomycine A, E und F wurde an 100 g Kieselgel mit CHCl₃/MeOH 25:1 aufgetrennt in 553 mg Naphthomycin A, 234 mg Naphthomycin E und 415 mg Naphthomycin F.

1.3. *Naphthomycin A (1).* Nach dem Umkristallisieren aus Aceton/Petroläther gelbe Kristalle. UV, IR, ¹H-NMR und ¹³C-NMR wie früher beschrieben [2] [4].

1.4. *Naphthomycin E (3).* Analysenproben weiter gereinigt durch präp. DC (20 mg pro Kieselgel-Fertigplatte, vor Gebrauch mit Oxalsäure-Lsg. in H₂O besprüht und im Ofen getrocknet, CHCl₃/AcOEt 1:1). Gelbes, amorphes Pulver. DC: R_f 0,15, einheitlich (Oxalsäure-Kieselgel, CHCl₃/AcOEt 1:1). Eigenschaften und Spektren: *Tab. 1, 2* und 3.

1.5. *Naphthomycin F (4).* Nach Umfällen aus CHCl₃/Hexan gelbes, amorphes Pulver. DC: R_f 0,17, einheitlich (Hexan/Aceton 1:1). Eigenschaften und Spektren: *Tab. 1, 2* und 3.

1.6. *Naphthomycin D (2).* Das Präparat aus dem Hydrocarbonat-Auszug wurde aus CHCl₃/Hexan umgefällt zu 830 mg orangem amorphem Pulver. DC: R_f 0,17 (Oxalsäure-Kieselgel, CHCl₃/AcOEt 1:1). Eigenschaften und Spektren: *Tab. 1, 2* und 3.

1.7. *Naphthomycin G (5)*. Die *Fraktion II* der ersten Chromatographie wurde in CHCl_3 aufgenommen und mit ges., wässr. NaHCO_3 -Lsg. ausgeschüttelt (wässr. Phase tief blau). Nach dem Ansäuern mit $2\text{N H}_2\text{SO}_4$ (Farbumschlag nach orange) wurde das Naphthomycin G wieder in CHCl_3 übergeführt. Nach 5maligem Waschen mit H_2O und Trocknen (MgSO_4) wurden 1,5 g Naphthomycin G erhalten, das 2mal aus $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$ zu 1,37 g orange-gelben Prismen umkristallisiert wurde. Schmp. 188° . DC: R_f 0,24 ($\text{CHCl}_3/\text{BuOH}$ 9:1), einheitlich. Eigenschaften und Spektren: *Tab. 1*, 2 und 3. Anal. ber. für $\text{C}_{45}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_{12}\text{S}$ (846,99): C 63,81, H 6,43, N 3,31, S 3,79; gef.: C 63,47, H 6,31, N 3,21, S 3,55.

2. *Hydrolyse von 5*. In 50 ml 6N HCl wurden 300 mg (0,35 mmol) **5** über Nacht im Bombenrohr auf 110° erhitzt. Nach dem Abfiltrieren von einem schwarz-braunen Rückstand wurde die Lsg. i. V. eingedampft und der Rückstand in 50 ml HCOOH aufgenommen. Nach der Zugabe von 5 ml 35% H_2O_2 wurde 2 h bei RT. gerührt und wieder i. V. eingedampft. Die Chromatographie des Rückstandes an 30 g Cellulosepulver mit $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{Pyridin}$ 20:5:1 gab 1,2 mg L-Cysteinsäure-pyridinium-Salz als farbloses, amorphes Pulver. DC: R_f 0,58 ($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{Pyridin}$ 20:5:1, Celluloseplatte, Besprühen mit Ninhydrin), Übereinstimmung mit einem authentischen Präparat. $[\alpha]_D^{25} = 8,5^\circ$ ($c = 0,12$, H_2O); Drehung und IR: wie das Vergleichspräparat.

3.1. *Abbau mit O_3* . Durch eine Lsg. von 1,0 g **5** in 40 ml EtOH wurde bei -78° während 3 h ein O_3 -haltiger O_2 -Strom durchgeleitet. Das Gemisch wurde darauf bei 0° langsam zu 3 g NaBH_4 in 33 ml H_2O zugetropft. Nach dem Stehen bei RT. über Nacht wurde mit $2\text{N H}_2\text{SO}_4$ auf pH 2 angesäuert und nach einigen min Stehen mit 2N NaOH neutralisiert. Die Lsg. wurde i. V. eingedampft und der Rückstand mit 50 ml abs. EtOH ausgezogen. Nach dem Filtrieren und Eindampfen i. V. wurde erneut mit 25 ml MeOH aufgenommen und an 50 g *Sephadex-LH-20* chromatographiert. Es wurden 500 mg borsäure-freies Gemisch erhalten, das gemäss DC die gleichen drei Komponenten enthält wie früher das entsprechende Abbaugemisch aus Naphthomycin A [4]. Durch Chromatographie an 50 g Kieselgel (AcOEt/MeOH 9:1) wurden 110 mg (*2S,4S*)-2,4-Dimethylpentan-1,3,5-triol (**8**), 116 mg 2-Methylheptan-1,3,5,6-tetrol (**10**) als Diastereoisomeren-Gemisch und 95 mg (*S*)-Butan-1,2,4-triol (**6**) erhalten. Das letztere war noch mit etwas **10** verunreinigt.

3.2. *Pentantriol (8)*. Farbloses Öl, $[\alpha]_D^{25}$: *Tab. 4*. DC und $^1\text{H-NMR}$ wie das entsprechende Abbauprodukt aus Naphthomycin A [4]. Von **8** wurden 10 mg mit 1 ml $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Pyridin}$ 1:1 bei RT. acetyliert und das Produkt chromatographisch gereinigt. $[\alpha]_D^{25}$: *Tab. 4*. DC, IR und $^1\text{H-NMR}$ wie **9** aus Naphthomycin A [4].

3.3. *Heptantetrol (10)*. Eine Spitzenfraktion von 10 mg war gemäss $^1\text{H-NMR}$ in CD_3OD einheitlich: 0,91 (*d*, $J = 6,6$, 3 H); 1,16 (*d*, $J = 6,4$, 3 H); 1,50–1,80 (*m*, 3 H); 3,46 (*dd*, $J_1 = 10,6$, $J_2 = 6,3$, 1 H); 3,53–3,67 (*m*, 2 H); 3,61 (*dd*, $J_1 = 10,6$, $J_2 = 6,5$, 1 H); 3,95 (*m*, 1 H). Spätere Fraktionen erschienen im DC einheitlich, waren aber gemäss $^1\text{H-NMR}$ Diastereoisomeren-Gemische variierender Zusammensetzung. DC: wie **10** aus Naphthomycin A [4].

3.4. (*S*)-Essigsäure-(2,4-diacetoxybutyl)ester (**7**). Die (Butan-1,2,4-triol)-haltige Fraktion wurde mit 2 ml $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Pyridin}$ 1:1 acetyliert und das Produkt an Kieselgel chromatographiert. Nach einem uneinheitlichen Vorlauf wurde das Hauptprodukt als einheitliches farbloses Öl erhalten. DC, IR und $^1\text{H-NMR}$: Übereinstimmung mit **7** aus Naphthomycin A und mit synthetischem Präparat [4]. $[\alpha]_D^{25}$: *Tab. 4*.

3.5. *Abbau von 4 und 2*. In gleicher Weise wurden 168 mg Naphthomycin F (**4**) und 216 mg Naphthomycin D (**2**) abgebaut und die Produkte wie oben getrennt und acetyliert. Das Pentantriol **8** konnte als freier Alkohol sowie als Triacetat **9** rein erhalten und durch DC, IR und $^1\text{H-NMR}$ identifiziert werden. Das Butantriol **6** wurde dagegen in beiden Fällen wiederum erst nach der Acetylierung und chromatographischen Reinigung rein erhalten. Die Drehwerte sind in der *Tab. 4* zusammengestellt. Das Heptantetrol **10** konnte beide Male nur als Diastereoisomeren-Gemisch gewonnen werden, die zudem gemäss $^1\text{H-NMR}$ in der Zusammensetzung erheblich schwankten.

4. *N,S-Diacetylcystein-methylester (2-(Acetylamino)-3-(acetylthio)propionsäure-methylester; 11)*. Eine Lsg. von 350 mg (2,8 mmol) Cystein-hydrochlorid in 35 ml 2N HCl in abs. MeOH wurde über Nacht gerührt und dann i. V. zur Trockne eingedampft. Der rohe Methylester wurde mit 6 ml $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Pyridin}$ 1:1 15 h stehengelassen und dann mit 50 ml CHCl_3 verdünnt. Nach dem Waschen mit 2N HCl , ges., wässr. NaHCO_2 und H_2O wurde getrocknet (MeSO_4), i. V. eingedampft und i. HV. getrocknet. Das gelbe Öl wurde im Kugelrohr bei $65^\circ/0,05$ Torr destilliert und dann aus $\text{CHCl}_3/\text{Et}_2\text{O}$ kristallisiert. 180 mg (0,9 mmol) farblose Kristalle, Schmp. 97° . IR (KBr): 1732, 1705, 1640. IR (CHCl_3): 3430, 3360, 1740 (br.), 1678. $^1\text{H-NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{Pyridin}$): 2,08 (*s*, 3 H); 2,20 (*s*, 3 H); 3,46 (*dd*, $J_1 = 13,8$, $J_2 = 7,8$, 1 H); 3,64 (*s*, 3 H); 3,72 (*dd*, $J_1 = 13,8$, $J_2 = 5,3$ 1 H); 5,17 (*dt*, $J_d = 5,3$, $J_1 = 7,8$ 1 H); 9,19 (br. *d*, $J \approx 8$, NH). EI-MS: 219 (0,4, M^+), 177 (11,3), 160 (5,0), 150 (1,2), 144 (2,0), 134 (2,9), 131 (1,3), 118 (14,4), 102 (6,6), 101 (1,5), 99 (3,6), 88 (15,7), 76 (12,8), 60 (15,2), 43 (100), 28 (15,3), 18 (10,4).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. P. Fiedler, J. Rohr, A. Zeeck, *J. Antibiot.*, im Druck.
- [2] M. Balerna, W. Keller-Schierlein, C. Martius, H. Wolf, H. Zähler, *Arch. Mikrobiol.* **1969**, *65*, 303.
- [3] T. H. Williams, *J. Antibiot.* **1975**, *28*, 85; M. Brufani, L. Cellai, W. Keller-Schierlein, *ibid.* **1979**, *32*, 167.
- [4] W. Keller-Schierlein, M. Meyer, L. Cellai, S. Cerrini, D. Lamba, A. Segré, W. Fedeli, M. Brufani, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 1357.
- [5] W. Keller-Schierlein, M. Meyer, A. Zeeck, M. Damberg, R. Machinek, H. Zähler, G. Lazar, *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 484.
- [6] T. Mukhopadhyay, C. M. M. Franco, G. C. S. Reddy, B. N. Ganguli, H. W. Fehlhaber, *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 948.
- [7] M. S. Allen, I. A. McDonald, R. W. Rickards, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1145; I. A. McDonald, R. W. Rickards, *ibid.* **1981**, *22*, 1149.
- [8] M. Hotta, Y. Hayakawa, K. Furihata, A. Shimazu, H. Seto, N. Otake, *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 311.
- [9] T. Okabe, K. Suzuki, H. Suzuki, Y. Inouye, S. Nakamura, N. Tanaka, *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 316.
- [10] L. Bassi, B. Joos, P. Gasmann, H.-P. Kaiser, H. Leuenberger, W. Keller-Schierlein, *Helv. Chim. Acta* **1983**, *66*, 92.