

ZUR CHEMISCHEN STRUKTUR DER STREPTOVIRUDINE

D. TRESSELT,

Abteilung Biophysikochemie

K. ECKARDT,

Antibiotika-Chemie

W. IHN, und D. KREBS

Chemische Analyse, Akademie der Wissenschaften der DDR, Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin, Zentralinstitut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie Jena

ABSTRACT.—Streptovirudins are antibiotics that were found to be chemically and biologically related to the tunicamycins. Previous investigations resulted in the determination of D-glucosamine, uracil, dihydrouracil, and four fatty acids (10-methyl-2-undecenoic acid, 10-methyl-2-dodecenoic acid, 12-methyl-2-tridecenoic acid, and 12-methyl-2-tetradecenoic acid) as hydrolysis products of the streptovirudins. Based on these results and on the proton resonance spectra as well as ^{13}C -nmr measurements, complete chemical structures are proposed for all isolated streptovirudins (A_1 , A_2 , B_1 , B_2 , C_1 , C_2 , D_1 , and D_2).

Streptovirudin ist ein Komplex neuer Nukleosidantibiotika, der aus Fermentationssansätzen von *Streptomyces griseoflavus* isoliert wurde (1). Die einzelnen Streptovirudine sind antibakteriell sowie gegen verschiedene DNA- und RNA-Viren wirksam. Ausserdem hat sich gezeigt, dass die Streptovirudine auch, analog den Tunicamycinen, Hemmstoffe der Glykoproteinsynthese sind. Aus dem natürlichen Gemisch wurden bisher acht reine Einzelkomponenten, die Streptovirudine A_1 , A_2 , B_1 , B_2 , C_1 , C_2 , D_1 , und D_2 , abgetrennt. In ersten Untersuchungen zur chemischen Struktur wurden zunächst säurehydrolytische Abbauprodukte identifiziert (2,3,4): Glukosamin, Uracil bzw. Dihydrouracil, und vier verschiedene ungesättigte aliphatische Monokarbonsäuren. Für die einzelnen Streptovirudine sind diese Ergebnisse in Tab. 1 als Partialformeln zusammenfassend dargestellt. Sie liessen zusammen mit den biologischen und physikochemischen Daten eine nahe strukturelle Verwandtschaft mit den Tunicamycinen erwarten, deren Strukturformeln kürzlich von Ito *et al.* publiziert worden sind (5).

TABELLE 1. Identifizierte Hydrolyseprodukte der Streptovirudine

Streptovirudin	Hydrolyseprodukte		
A_1 (MG=790)	D-Glukosamin	Dihydrouracil	10-Methyl-2-undecensäure
A_2 (MG=788)	D-Glukosamin	Uracil	10-Methyl-2-undecensäure
B_1 (MG=804)	D-Glukosamin	Dihydrouracil	10-Methyl-2-dodecensäure
B_2 (MG=802)	D-Glukosamin	Uracil	10-Methyl-2-dodecensäure
C_1 (MG=818)	D-Glukosamin	Dihydrouracil	12-Methyl-2-tridecensäure
C_2 (MG=816)	D-Glukosamin	Uracil	12-Methyl-2-tridecensäure
D_1 (MG=832)	D-Glukosamin	Dihydrouracil	12-Methyl-2-tetradecensäure
D_2 (MG=830)	D-Glukosamin	Uracil	12-Methyl-2-tetradecensäure

Alle Tunicamycine enthalten im Molekül *N*-Azetylglukosamin, Uracil und einen langkettigen Fettsäurerest. Diese Teilbausteine ergeben, gebunden an den neuen Zucker Tunicamin, die vollständigen Tunicamycinmoleküle. Einen weiteren Hinweis auf die nahe Strukturverwandtschaft gab die Hydrolyse mit 3 N HCl. Aus den Tunicamycinen entsteht das Spaltprodukt Tunicaminyluracil, das unter analogen Bedingungen auch in den Hydrolysaten der Streptovirudine der Serie II (A_2 , B_2 , C_2 , und D_2) entstand und chromatographisch nachgewiesen wurde. Nach unserer Arbeitshypothese sollten sich die Streptovirudine der Serie II daher von den Tunicamycinen

nur im Fettsäurerest unterscheiden, die Streptovirudine A₁, B₁, C₁, und D₁ (Serie I) darüber hinaus noch Dihydrouracil an Stelle von Uracil enthalten. Nunmehr haben wir genügend gereinigtes Material von den Einzelkomponenten des Streptovirudins hergestellt, so dass eingehende ¹H- und ¹³C-Kernresonanzuntersuchungen möglich wurden. Nachfolgend werden die Kernresonanzdaten der Streptovirudine diskutiert und mit den bisher vorliegenden Angaben über die Tunicamycine (5,6,7) verglichen, sowie vollständige Strukturformeln für alle Streptovirudine vorgeschlagen.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In den Hydrolysaten aller acht Einzelstreptovirudine wurde schon früher Glukosamin nachgewiesen (2) (Tab. 1). Zur genaueren Bestimmung haben wir es nunmehr—wie im experimentellen Teil beschrieben—in reiner Form als Hydrochlorid isoliert und auf Grund der spezifischen Drehung als α-D-Glukosamin identifiziert. Aus den Kernresonanzuntersuchungen geht jedoch hervor (Tab. 2 und 3), dass es in allen Streptovirudinen in Form von *N*-Azetyl-D-glukosamin vorliegt.

Enge Zusammenhänge zwischen den einzelnen Streptovirudinkomponenten zeigen sich auch bei Betrachtung der Molekulargewichte (Tab. 1). Sie unterscheiden sich für die einzelnen Paare A₁/A₂, B₁/B₂, C₁/C₂, und D₁/D₂ jeweils nur um 2 Daltons. Das entspricht der MG-Differenz Dihydrouracil/Uracil. Bedingt durch die Kettenverlängerung der Monocarbonsäuren um je eine CH₂-Einheit, nimmt das Molekulargewicht innerhalb der Reihe A, B, C, D jeweils um 14 Daltons zu.

Die wesentlichen Protonenresonanzdaten der Streptovirudine sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Verglichen mit den Angaben von Ito *et al.* (5,7) finden sich alle charakteristischen ¹H-nmr-Signale der aus Tunicaminylluracil und *N*-Azetyl-D-glukosamin bestehenden Tunicamycingrundstruktur (Abb. 1) auch in den Protonenresonanzspektren der Streptovirudine der Serie II wieder.

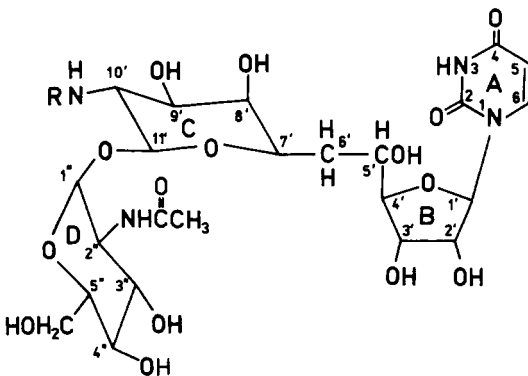


ABB. 1. Grundstruktur der Tunicamycine (7), R=H. In den vollständigen Tunicamycinmolekülen ist R ein langkettiger Fettsäurerest.

Lediglich die Signalaufspaltung des H-1'-Signals wurde von uns—bei übereinstimmender chemischer Verschiebung von $\delta = 5,92$ ppm in Methanol-d₄—mit 5,3 Hz bestimmt [Tunicaminylluracil·HBr in D₂O: 4,0 Hz (7), Tunicamycinkomponente V in Methanol-d₄: 4,5 Hz (5)]. Diese Diskrepanz beruht aber offensichtlich nur auf der schlechten Zugänglichkeit der H-1'-Kopplung (Signalüberlagerungen—siehe auch Fussnote c und b in Tabelle 3). Durch direkte vergleichende Untersuchungen von Tunicamycin¹ und den Streptovirudinkomponenten der Serie II in

¹Wir danken Herrn Prof. T. Ito, Universität Tokyo, für die Überlassung einer Probe Tunicamycin.

Pyridin-d₅-Lösung konnte belegt werden, dass auch eine völlige Übereinstimmung hinsichtlich der H-1'-Kopplung besteht. In diesem Lösungsmittel erscheint das H-1'-Signal sowohl beim Tunicamycin als auch bei den Streptovirudinen der Serie II nach tiefem Feld verschoben, von anderen Signalen isoliert, als scharfes Dublett mit einer Kopplung von 5,3 Hz. Wie Abb. 1 zeigt, gehört das Proton H-1' zu einem Ribosebaustein, der an C-5' über eine Methylengruppe (C-6') nichtglykosidisch an einen 6-Ring Zucker gebunden ist. Beide Teile (C-1' bis C-11') bilden den neuen

Tabelle 2. ¹³C-NMR-Daten der Streptovirudine A₁, B₁, C₁ sowie A₂ und B₂

Streptovirudin:	A ₁	B ₁	C ₁	A ₂	B ₂	Signalgruppen
C-Atom	δ(ppm)	δ(ppm)	δ(ppm)	δ(ppm)	δ(ppm)	
C-2	153,23	153,23	153,30	150,81	150,84	A ₁ -O,C: 98,79; 100,81
C-4	170,48	170,48	170,72	163,02	162,97	A ₁ -O : 69,63; 69,75; 69,93;
C-5	30,84 ^{a)}	30,88	30,79	102,09	102,06	70,33; 70,63; 70,98;
C-6	35,43 ^{b)}	35,43 ^{b)}	35,52 ^{b)}	140,37	140,34	71,17; 72,97
C-1'	86,99	86,99	86,93	88,36	88,39	A ₁ -H : 52,84; 52,95
C-2'	A ₁ -O	B ₁ -O	C ₁ -O	73,37	73,34	A ₁ -C : 26,64; 27,34; 27,83;
C-3'	A ₁ -O	B ₁ -O	C ₁ -O	A ₂ -O	B ₂ -O	28,67; 29,10
C-4'	86,12	86,12	86,19	86,41	86,38	E ₁ -O,C: 98,82; 100,81
C-5'	66,99	66,99	67,08	66,86	66,80	E ₁ -O : 69,63; 69,79; 69,90;
C-6'	35,43 ^{b)}	35,43 ^{b)}	35,52 ^{b)}	35,39	35,33	70,33; 70,65; 70,98;
C-7'	A ₁ -O	B ₁ -O	C ₁ -O	A ₂ -C	B ₂ -O	71,17; 72,98
C-8'	A ₁ -O	B ₁ -O	C ₁ -O	A ₂ -O	B ₂ -O	B ₁ -H : 52,84; 52,97
C-9'	A ₁ -O	B ₁ -O	C ₁ -O	A ₂ -O	B ₂ -O	B ₁ -C : 27,86; 28,67; 28,88;
C-10'	A ₁ -H	B ₁ -H	C ₁ -H	A ₂ -H	B ₂ -H	29,18
C-11'	A ₁ -O,O	B ₁ -O,O	C ₁ -O,C	A ₂ -O,O	B ₂ -O,C	C ₁ -O,O: 98,68; 100,64
C-1''	A ₁ -O,O	B ₁ -O,O	C ₁ -O,O	A ₂ -O,O	B ₂ -O,O	C ₁ -O: 69,64; 69,71; 69,95;
C-2''	A ₁ -H	B ₁ -H	C ₁ -H	A ₂ -H	B ₂ -H	70,30; 70,67; 70,93;
C-3''	A ₁ -O	B ₁ -O	C ₁ -O	A ₂ -O	B ₂ -O	71,19; 72,90
C-4''	A ₁ -O	B ₁ -O	C ₁ -O	A ₂ -O	B ₂ -O	C ₁ -H : 52,94; 53,03
C-5''	A ₁ -O	B ₁ -O	C ₁ -O	A ₂ -O	B ₂ -O	C ₁ -C : 26,69; 27,32; 27,79;
C-6''	60,41	60,41	60,59	60,62	60,56	28,60; 28,79; 28,89;
CO von NAc	169,10	169,10	169,69	169,18	169,06	29,21
CH ₃ von NAc	22,92	22,92	22,75	22,91	22,85	A ₂ -O,C: 98,75; 100,85
C-1'''	166,06	166,09	166,41	166,10	166,04	A ₂ -O : 69,23; 70,06; 70,26;
C-2'''	124,80	124,80	124,50	124,78	124,81	70,68; 70,91; 71,12;
C-3'''	142,42	142,40	142,98	142,47	142,35	73,01
C-4'''	31,17	31,20	31,18	31,16	31,13	A ₂ -H : 52,93; 53,05
C-5'''	A ₁ -C	B ₁ -C	C ₁ -C	A ₂ -C	B ₂ -C	A ₂ -C : 26,63; 27,34; 27,82;
C-6'''	A ₁ -C	B ₁ -C	C ₁ -C	A ₂ -C	B ₂ -C	28,64; 29,09
C-7'''	A ₁ -C	B ₁ -C	C ₁ -C	A ₂ -C	B ₂ -C	
C-8'''	A ₁ -C	26,35	C ₁ -C	A ₂ -C	26,28	B ₂ -O,O: 98,72; 100,88
C-9'''	38,42	35,97	C ₁ -C	38,26	35,92	B ₂ -O : 69,17; 70,03; 70,23;
C-10'''	A ₁ -C	33,71	C ₁ -C	A ₂ -C	33,64	70,65; 70,82; 71,09;
C-11'''	----	B ₁ -C	38,41	----	B ₂ -C	72,98
C-12'''	----	----	C ₁ -C	----	----	B ₂ -H : 52,92; 52,92 (Signal- überlagerung)
CH ₃ an C-10'''	22,49	19,07	----	22,46	19,00	B ₂ -C : 27,79; 28,61; 28,82;
CH ₃ an C-11'''	----	11,17	----	----	11,10	29,12
CH ₃ an C-12'''	----	----	22,43	----	----	

Eine Reihe von Signalen mit fast gleicher chemischer Verschiebung konnte vorerst nicht einzelnen C-Atomen, sondern nur bestimmten Atomgruppierungen zugeordnet werden. Diese Signalgruppen sind im rechten Teil der Tabelle aufgeführt. Die Gruppenbezeichnungen -O,O; -O; -H und -C vergegenwärtigen dabei die für die chemische Verschiebung des betrachteten C-Atoms maßgeblich verantwortlichen Nachbaratome.

Die chemischen Verschiebungen wurden auf Tetramethylsilan (TMS) bezogen. Lösungsmittel: DMSO-D₆. a) Signalzuordnung durch heteronukleare Doppelresonanz ¹³C{¹H}.

b) Die Signalüberlagerung von C-6 und C-6' kann durch Verwendung von Pyridin-D₅ als Lösungsmittel aufgehoben werden.

Tabelle 3. Charakteristische ¹H-NMR-Daten der Streptoviridine A₁, B₁, C₁, D₁ sowie A₂, B₂ und C₂

Streptoviridin H-Atom	A ₁ δ (ppm)	B ₁ δ (ppm)	C ₁ δ (ppm)	D ₁ δ (ppm)	A ₂ δ (ppm)	B ₂ δ (ppm)	C ₂ δ (ppm)
H-5	2,68 T (XX')	2,68 T (XX')	2,68 T (XX')	2,67 T (XX')	5,75 D (A)	5,75 D (A)	5,75 D (A)
H-6	3,43 M (AB)	3,43 M (AB)	3,43 M (AB)	3,43 M (AB)	7,91 D (X)	7,91 D (X)	7,91 D (X)
	XX'-Triplet:	XX'-Triplet:	XX'-Triplet:	XX'-Triplet:	J _{AX} = 8,0 Hz	J _{AX} = 8,0 Hz	J _{AX} = 8,0 Hz
	J = 6,7 Hz	J = 6,7 Hz	J = 6,7 Hz	J = 6,7 Hz			
	J _{AB} ca. 13 Hz ^a)	J _{AB} ca. 13 Hz ^a)	J _{AB} ca. 13 Hz ^a)	J _{AB} ca. 13 Hz ^a)			
H-1'	5,85	5,85	5,85	5,85	5,92 D	5,92 D	5,92 D
	J = 6,3 Hz ^b)	J = 6,3 Hz ^b)	J = 6,3 Hz ^b)	J = 6,3 Hz ^b)	J = 5,3 Hz ^c)	J = 5,3 Hz ^c)	J = 5,3 Hz ^c)
H-11'	4,57 D	4,57 D	4,56 D	4,56 D	4,59 D	4,58 D	4,58 D
	J = 8,3 Hz	J = 8,3 Hz	J = 8,5 Hz	J = 8,5 Hz	J = 8,3 Hz	J = 8,5 Hz	J = 8,3 Hz
H-1''	4,92 D	4,91 D	4,91 D	4,92 D	4,93 D	4,93 D	4,93 D
	J = 3,4 Hz	J = 3,2 Hz	J = 3,4 Hz	J = 3,4 Hz	J = 3,4 Hz	J = 3,4 Hz	J = 3,4 Hz
NAO	1,93 S	1,93 S	1,93 S	1,93 S	1,93 S	1,93 S	1,93 S
H-2''''	5,94 D,T (A)	5,94 D,T (A)	5,93 D,T (A)	5,93 D,T (A)	5,94 D,T (A)	5,94 D,T (A)	5,94 D,T (A)
H-3''''	6,81 D,T (B)	6,82 D,T (B)	6,81 D,T (B)	6,81 D,T (B)	6,82 D,T (B)	6,81 D,T (B)	6,82 D,T (B)
	J _{AB} = 15,5 Hz	J _{AB} = 15,5 Hz	J _{AB} = 15,5 Hz	J _{AB} = 15,5 Hz	J _{AB} = 15,5 Hz	J _{AB} = 15,5 Hz	J _{AB} = 15,5 Hz
	J _{A,CH₂} = 1,5 Hz	J _{A,CH₂} = 1,5 Hz	J _{A,CH₂} = 1,5 Hz	J _{A,CH₂} = 1,5 Hz	J _{A,CH₂} = 1,5 Hz	J _{A,CH₂} = 1,5 Hz	J _{A,CH₂} = 1,5 Hz
	J _{B,CH₂} = 7,0 Hz	J _{B,CH₂} = 7,0 Hz	J _{B,CH₂} = 7,0 Hz	J _{B,CH₂} = 7,0 Hz	J _{B,CH₂} = 7,0 Hz	J _{B,CH₂} = 7,0 Hz	J _{B,CH₂} = 7,0 Hz
CH ₃ an C-10''''	0,87 D	0,87 D ^d)	---	---	0,87 D	0,87 D ^d)	---
	J = 6,5 Hz				J = 6,5 Hz		
CH ₃ an C-11''''	---	0,87 ca. T ^d)	---	---	---	0,87 ca. T ^d)	---
CH ₃ an C-12''''	---	---	0,87 D	0,87 ca. T ^d)	---	---	0,87 D
			J = 6,5 Hz				J = 6,5 Hz
CH ₃ an C-13''''	---	---	---	0,87 D ^d)	---	---	---

Die chemischen Verschiebungen wurden auf Tetramethylsilan (TMS) bezogen. Lösungsmittel: Methanol-D₄.

Abkürzungen: D = Dublett, T = Triplet, D,T = doppeltes Triplet, M = Multiplett.

a) Der linienreiche AB-Teil des ABX'-Spinsystems ist auf Grund von Fremdsignallüberlagerungen schlecht auswertbar. Die geminale Kopplungskonstante J_{AB} ist jedoch dem Spektrum nach Spinentkopplung der XX'-Protonen (Einstrahlung auf 2,68 ppm) leicht zu entnehmen.

b) Bei den Streptoviridinen der Serie 1 tritt das H-1'-Signal in Methanol-D₄-Lösung nicht als Dublett auf, sondern als X-Teil eines Spinsystems höherer Ordnung (ABX'). Da es außerdem partiell von H-2''''-Signal überlagert wird, wurde die Kopplungskonstante des Pyridin-D₅-Spektrum entnommen. Hier führen Lösungsmittelbedingte Signalverschiebungen näherungsweise zu einem Spinsystem 1. Ordnung. Das H-1'-Signal erscheint als Dublett von anderen Signalen isoliert und beträchtlich nach niederem Feld verschoben.

c) Wegen Signalüberlagerung mit dem H-2''''-Signal wurde auch hier die Kopplungskonstante des Pyridin-D₅-Spektrum entnommen.

d) Signalüberlagerung.

Zucker Tunicamin. Uracil ist an C-1' des Ribosebausteins gebunden. Dieser Molekülteil (Baustein A+B) ist daher dem Uridin vergleichbar. Die Kopplungskonstante für H-1' beträgt bei Uridin $J=4,2$ Hz in Methanol- d_4 ,² 4,5 Hz in DMSO- d_6 ² und D₂O (8). Der demgegenüber in den Antibiotika etwas erhöhte Wert der H-1'-Kopplung dürfte auf eine veränderte Konformation des Riboseringes, verursacht durch den in 5'-Stellung substituierten voluminösen Molekülrest, zurückzuführen sein. Die Struktur dieses Molekülteils wird durch die vergrößerte Kopplungskonstante nicht in Zweifel gezogen, da sie durch weitere Untersuchungen von Ito *et al.* (7) und vergleichende ¹³C-nmr-Messungen abgesichert ist. Die Ergebnisse eigener Messungen im Vergleich zum Uridin (und Dihydrouridin im Falle der Serie I—Streptoviridine) sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

TABELLE 4. ¹³C-nmr-Daten. Chemische Verschiebungen der C-Atome mit vergleichbarer magnetischer Abschirmung in Uridin und Streptovirudin A₂ bzw. Dihydrouridin und Streptovirudin A₁

C-Atom	Uridin δ(ppm)	Streptovirudin A ₂ δ(ppm)	Dihydrouridin δ(ppm)	Streptovirudin A ₁ δ(ppm)
C-2	150,8	150,8	152,9	153,2
C-4	163,1	163,0	170,3	170,5
C-5	101,7	102,1	30,8	30,8
C-6	140,7	140,4	35,7	35,4
C-1'	87,8	88,4	87,3	87,0
C-2'	73,6	73,4		

Die chemischen Verschiebungen wurden auf Tetramethylsilan bezogen. Lösungsmittel: DMSO- d_6 .

Die bisherigen vergleichenden Untersuchungen lassen den Schluss zu, dass die Grundstruktur der Tunicamycine (bestehend aus Tunicamin, Uracil, und *N*-Azetyl-D-glukosamin) auch für die Streptoviridine der Serie II zutrifft. Zusammen mit den Ergebnissen der Analyse der Fettsäuren aus den Einzelkomponenten (4) (Tabelle 1) ergeben sich daraus die Strukturformeln der Streptoviridine A₂, B₂, C₂, und D₂ (Abb. 2). Da durch Hydrolyse des Streptovirudins C₂ die gleiche Fettsäure erhalten wird, wie von Ito *et al.* (5) für Tunicamycin Faktor II beschrieben, sollten diese beiden Verbindungen identisch sein.

¹³C-nmr-Spektren liegen bisher von Tunicaminyluracil·HBr und von *N*-Azetyldihydrötunicaminyluracil (6,7) vor, nicht aber von den vollständigen Tunicamycinmolekülen. Wir haben die ¹³C-Spektren der in ausreichender Menge vorhandenen Streptovirudinkomponenten A₁, A₂, B₁, B₂, and C₁ aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Auf Grund der angegebenen Daten von Ito *et al.* (6,7), der Übereinstimmung mit dem ¹³C-Spektrum von Uridin in DMSO- d_6 (Tab. 4) und theoretischer Abschätzungen (Inkrementberechnungen für die C-Atome der Seitenketten) konnte eine Reihe von aussagekräftigen Signalen eindeutig zugeordnet werden. Sie bestätigen die bisherigen Ergebnisse. Die nach den angegebenen Strukturformeln zu erwartenden restlichen ¹³C-Signale sind ebenfalls in den Spektren vorhanden. Wegen der zum Teil sehr engen Nachbarschaft haben wir diese Absorptionen nicht einzelnen C-Atomen zugeordnet. Sie sind, zu Signalgruppen zusammengefasst, im rechten Teil der Tabelle 2 enthalten.

²Eigene Messungen.

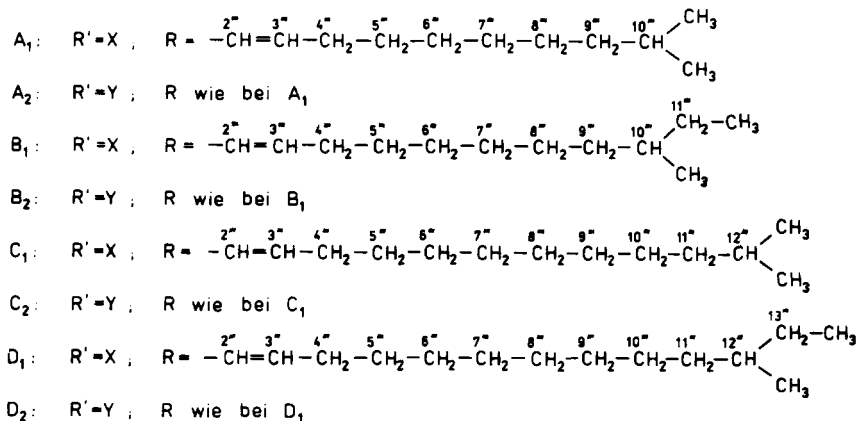
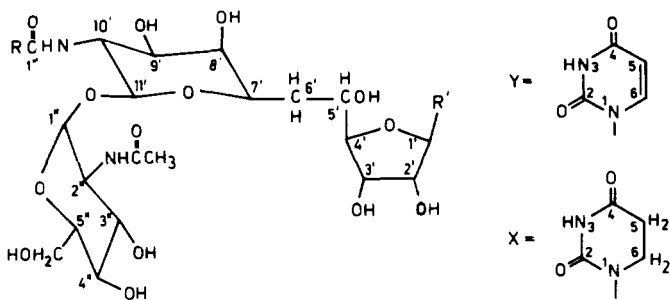


ABB. 2. Chemische Struktur der Streptoviridine.

Wie schon die Partialformeln der Tabelle 1 erwarten liessen, unterscheiden sich die Streptovirudinkomponenten der Serie I von den entsprechenden Vertretern der Serie II nur dadurch, dass sie an Stelle von Uracil 5,6-Dihydrouracil enthalten. In den ^1H -nmr-Spektren fehlen demzufolge bei allen Verbindungen dieser Serie die Signale der olefinischen Protonen H-5 und H-6. Dafür ist ein ABXX'-Spinsystem nachweisbar, das den 4 Protonen der hydrierten Doppelbindung zugeordnet werden kann. Im Gegensatz zu Dihydrouracil (9) (schnelle Ringinversion) sind jedoch die chemischen Verschiebungen der beiden Protonen an C-6 etwas verschieden. Die Ursache dafür liegt sicher nicht in einer behinderten Ringinversion, sondern in der Anwesenheit des nahe gelegenen Asymmetriezentrums an C-1'. Durch die fehlende Doppelbindung im Uracilring wird ferner bei den Streptovirudinkomponenten der Serie I die Lage und Kopplung des H-1'-Signals etwas verändert. Es ist bei vergrößerter Aufspaltung ($\Delta J = 1 \text{ Hz}$) um 0,07 ppm nach höherem Feld verschoben. Vergleichende Protonenresonanzuntersuchungen an Uridin und 5,6-Dihydrouridin haben völlig analoge Befunde ergeben.

Auch die ^{13}C -Spektren bestätigen diese Ergebnisse. In den Spektren der Streptovirudine der Serie I (Tab. 2) fehlen die Signale der beiden sp^2 -hybridisierten C-Atome C-5 und C-6 (102 bzw. 140 ppm). Dafür finden sich, wie im Spektrum des 5,6-Dihydrouridins (Vergleich siehe Tab. 4), zwei Absorptionen bei 30 und 35 ppm, die eindeutig den sp^3 -hybridisierten C-Atomen 5 und 6 zugeordnet werden können.

Wie die ^1H - und ^{13}C -nmr-Spektren der Restmoleküle (Zusammenstellung in den Tabellen 2 und 3) und die bereits identifizierten Hydrolyseprodukte (Tabelle 1) zeigen, bestehen—abgesehen von der fehlenden Doppelbindung im Uracilring—strukturell keine weiteren Unterschiede im Vergleich zu den entsprechenden Komponenten der Serie II. Für die Streptovirudinkomponenten A_1 , B_1 , C_1 , und D_1 werden daher die in

Abb. 2 angegebenen Strukturformeln vorgeschlagen. Wegen den mit den Tunicamycinen übereinstimmenden Kopplungskonstanten von H-1" und H-11' muss auch in allen Streptoviridinen C-1" α - und C-11' β -konfiguriert sein. Die beiden Protonen an der Doppelbindung C-2"', C-3"' sind auf Grund von $J_{AB} = 15,5$ Hz in allen Verbindungen *trans*-ständig.

In einer der vorhergehenden Publikationen wurde erwähnt, dass im Gegensatz zu den Streptoviridinen der Serie II (A₂, B₂, C₂, D₂) in den Hydrolysaten der Streptoviridine A₁, B₁, C₁, und D₁ mit 6 N HCl neben Glukosamin noch ein weiteres Ninhydrin-positives Spaltprodukt entsteht (1). Dieses zusätzliche Hydrolyseprodukt hat sich jedoch als Sekundärprodukt erwiesen, das durch Einwirkung von 6 N HCl auf das freigesetzte Dihydrouracil gebildet wird und somit keinen direkten Baustein der Streptoviridine darstellt.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die ¹H-nmr-Spektren wurden bei einer Arbeitsfrequenz von 200,13 MHz, die ¹³C-Spektren bei 50,327 MHz mit einem FT-Spektrometer (WP 200) der Firma Bruker unter Verwendung deuterierter Lösungsmittel aufgenommen. Alle angegebenen chemischen Verschiebungen beziehen sich auf Tetramethylsilan (TMS) als inneren Standard.

Die in Tabelle 1 angegebenen Molekulargewichte der Streptoviridine A₁, A₂, B₁, B₂, und C₁, C₂ wurden mit Hilfe der Feld-Desorptionsmassenspektrometrie von John L. Occolowitz und Robert L. Hamill, Lilly Research Laboratories, Indianapolis, bestimmt (11). Die Molekulargewichte der Streptoviridine D₁ und D₂ wurden aus den Strukturuntersuchungen abgeleitet.

Uridin wurde von der Firma Reanal, VR Ungarn, bezogen, Dihydrouracil nach Angaben von F.J. Di Carlo *et al.* (10) aus Uracil hergestellt. Analog wurde Uridin (500 mg) in 15 ml Eisessig mit 300 mg Platinoxid 5 Stunden bei Zimmertemperatur hydriert. Zur Reinigung wurde der Eisessig nach Filtration durch Vakuumdestillation und Waschen des Rückstandes mit CHCl₃ entfernt, der ölige Rückstand heiss in wenig CH₃OH gelöst und Dihydrouridin durch Zugabe von Äther gefällt. Das farblose Öl wurde nach Trocknen an der Trockenpistole direkt für die nmr-Messungen eingesetzt.

Reinigung der Streptoviridine. Die Gewinnung der einzelnen Streptoviridinkomponenten erfolgte wie beschrieben durch Chromatographie des vorgereinigten Antibiotikumkomplexes an Sephadex LH-20 (1). Die Verbindungen waren danach für die nmr-Analyse rein.

Bestimmung von α -D-Glukosamin. Glukosamin wurde aus Hydrolysaten von Streptoviridin (3 h mit 3 N HCl am Rückfluss) nach Ausäthern der Fettsäuren durch Chromatographie an Dowex 50 W \times 8, 200-400 mesh, Elution mit 3 N HCl, isoliert. Das aus der Ninhydrin-positiven Fraktion gewonnene Hydrochlorid war nach dünnschichtchromatographischem Vergleich und Vergleich der JR-Spektren mit D-Glukosamin·HCl identisch. Die α -Konfiguration ergab sich aus der spezifischen Drehung auf Grund der abfallenden Drehwerte in wässriger Lösung (Mutarotation): $[\alpha]^{25}_D$ des isolierten Hydrochlorides änderte sich im Untersuchungszeitraum von +83,5° auf +75,3°.

DANKSAGUNG

Die Kernresonanzuntersuchungen wurden im NMR-Labor (Leiter: Doz. Dr. A. Zschunke) der Sektion Chemie der Martin-Luther-Universität Halle durchgeführt. Wir danken Herrn Dr. Meier und Frl. R. Patz für die Aufnahme der Spektren. Für erste orientierende NMR-Messungen sprechen wir Herrn Dr. Radics, Zentrales Forschungsinstitut der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest, unseren Dank aus.

LITERATUR

1. K. Eckardt, H. Thrum, G. Bradler, E. Tonew and M. Tonew, *J. Antibiotics*, **28**, 274 (1975).
2. K. Eckardt, H. Wetzstein, H. Thrum, and W. Ihn, *J. Antibiotics*, **33**, 908 (1980).
3. K. Eckardt, W. Ihn, D. Tresselt, and D. Krebs, Proc. 1st Int. Conf. Chem. Biotechn. Biologically Act. Nat. Prod., Varna (1981).
4. W. Ihn, D. Krebs, K. Eckardt und D. Tresselt, *Tetrahedron*, **38**, 1781 (1982).
5. T. Ito, A. Takatsuki, K. Kawamura, K. Sato, and G. Tamura, *Agr. Biol. Chem.*, **44**, 695 (1980).
6. T. Ito, Y. Kodama, K. Kawamura, K. Suzuki, A. Takatsuki, and G. Tamura, *Agr. Biol. Chem.*, **41**, 2303 (1977).
7. T. Ito, Y. Kodama, K. Kawamura, K. Suzuki, A. Takatsuki, and G. Tamura, *Agr. Biol. Chem.*, **43**, 1187 (1979).
8. J. H. Prestegard and Sunney I. Chan, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 2843 (1969).
9. P. Rouillier, J. Delmau, and C. Nofre, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1966**, 3515.
10. F.J. Di Carlo, A.S. Schultz, and A.M. Kent, *J. Biol. Chem.*, **199**, 333 (1952).
11. A.D. Elbein, J.L. Occolowitz, R.L. Hamill, and K. Eckardt, *Biochemistry*, **20**, 4210 (1981).