

KONSTITUTION UND KONFIGURATION VON β -RHODOMYCIN II UND β -ISO-RHODOMYCIN II

Hans Brockmann, Thomas Waehnelde und Jürgen Niemeyer

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

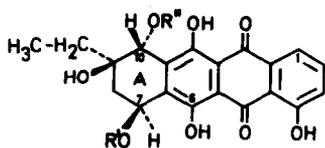
(Received in Germany 11 December 1968; received in UK for publication 24 December 1968)

Das als kristallisiertes Hydrochlorid und Perchlorat isolierte, das Wachstum von *St. aureus* und *Corynebacterium diphtheriae* bis zur Verdünnung $1 : 5 \times 10^6$ hemmende rote Antibioticum Rhodomycin A^{1, 2, 3)}, von jetzt ab β -Rhodomycin II⁴⁾, wird durch milde Säurehydrolyse in 1 Mol β -Rhodomycinon und 2 Mol Rhodosamin⁵⁾ gespalten⁶⁾. Rhodosamin hat als α -Anomeres die Struktur, Konfiguration und Konformation 2a⁷⁾ und für β -Rhodomycinon ist 1a bewiesen^{8, 9, 10, 11)}.

β -Rhodomycin II gleicht im Elektronenspektrum dem β -Rhodomycinon (1a) und wirkt nicht reduzierend. Seine beiden Rhodosamin-Reste sind demnach mit Ring A von 1a verknüpft und enthalten kein freies 1-Hydroxyl. Der folgende Beweis für ihre Stellung gründet sich darauf, daß das 7- und 10-Hydroxyl von Anthracyclinen – sofern einem phenolischen peri-Hydroxyl benachbart^{12, 13)} – bei Hydrierungen in Triäthanolamin/Äthanol durch Wasserstoff ersetzt wird^{14, 15, 16)} (das 7-Hydroxyl leichter als das 10-Hydroxyl); auch dann, wie wir fanden, wenn die Hydroxyle mit Rhodosamin-Resten veräthert sind.

β -Rhodomycin II gab mit 0.1 n Schwefelsäure (2 Stdn./40°) zu 60% eine rote, 1 Mol 1a und 2a enthaltende, das Wachstum von *B. subtilis* und *St. aureus* bis $1 : 2 \times 10^5$ hemmende Verbindung $C_{28}H_{33}NO_{10}$ (543.6, Ber. C 61.87 H 6.13 N 2.58. Gef. C 61.37 H 6.01 N 2.66). Sie ist identisch mit dem aus *Streptomyces purpurascens* isolierten Rhodomycin B⁶⁾ (von jetzt ab β -Rhodomycin I)⁴⁾ und wurde aus dem Chloroformextrakt des mit Ammoniak neutralisierten β -Rhodomycin II-Hydrolysates abgetrennt durch Chromatographie aus Butanol/Phosphatpuffer pH 5.8 an Cellulose und Zerlegung des dabei angefallenen β -Rhodomycin I/ β -Rhodomycinon-Gemisches an Carboxymethyl-Cellulose.

Katalytische Hydrierung von β -Rhodomycin I in Äthanol/Triäthanolamin (1 : 1) mit Pd/BaSO₄-Katalysator gab neben Ausgangsmaterial γ -Rhodomycinon 5a, das auf gleichem Wege auch aus β -Rhodomycinon (1a) entsteht⁸⁾. β -Rhodomycin I hat demnach die Konstitution 3.



1a : R' = R'' = H

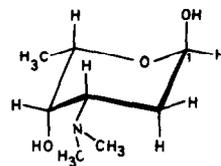
b : R' = R'' = 2b

c : R' = 2b [2-Desoxy-L-fucose, L-Rhodinose]; R'' = 2b

d : R' = R'' = H ; OH statt H an C-1

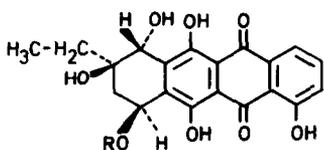
e : R' = R'' = H ; OH statt H an C-1 ; H statt OH an C-6

f : R' = R'' = 2b ; OH statt H an C-1 ; H statt OH an C-6

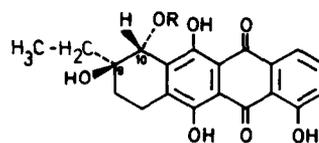


2a

b : ohne OH an C-1



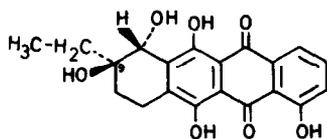
3 : R = 2b



4a : R = 2b

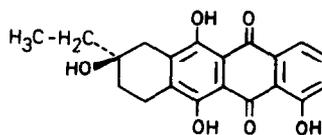
b : OR statt OH an C-9

OH statt OR an C-10 ; R : 2b

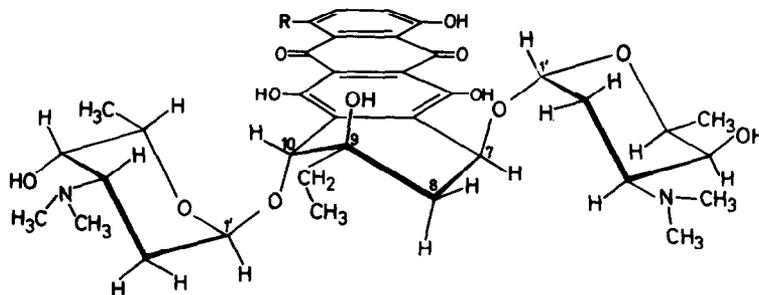


5a

b : H statt OH an C-9



6



7a : R = H

b : R = OH

Unter den gleichen Bedingungen erhielten wir aus β -Rhodomycin II ein Anthracyclin, das mit verd. Säure hydrolysiert Rhodosamin und γ -Rhodomycinon (5a) lieferte. Einer der beiden Rhodosamin-Reste von β -Rhodomycin II steht demnach an C-7 von 1a und wird bei der Hydrierung durch Wasserstoff ersetzt. Für das dabei entstandene γ -Rhodomycinon-rhodosaminid kamen demnach die Formeln 4a und 4b in Betracht. Aus 4a war bei weiterer Hydrogenolyse – je nachdem, ob diese wie bei 5a an C-10 einsetzt oder aber an C-9 – 10-Desoxy- γ -rhodomycinon (6)¹⁶⁾ zu erwarten, oder ein Rhodosaminid des noch unbekanntes 9-Desoxy- γ -rhodomycinons (5b); und aus 4b entweder das Rhodosaminid von 6 oder 5b. Tatsächlich fanden wir bei der Hydrierung von β -Rhodomycin II neben dem γ -Rhodomycinon-rhodosaminid auch das zweifellos aus diesem entstandene 10-Desoxy- γ -rhodomycinon (6). Damit ist für das Rhodosaminid Formel 4a und für β -Rhodomycin II die Konstitution 1b bewiesen.

Die C-1 Protonen der beiden Rhodosamin-Reste von 1b stehen, wie die geringe Halbwertsbreite (8 Hz) ihrer NMR-Signale ($\delta = 5.47, 5.52$ ppm, CDCl_3) zeigt, äquatorial. Daraus folgt, daß das Rhodosamin mit 1a α -glykosidisch verknüpft ist und für β -Rhodomycin II die Stereoformel 7a gilt.

Aufarbeitung einer Rhodomycin liefernden Streptomyces-Kultur ohne Verwendung von Säure wie bei den γ -Rhodomycinen^{17, 18)} (Trennung der basischen Anthracycline von den Anthracyclinonen durch Chromatographie aus Chloroform an Carboxymethyl-Cellulose, Desorption der Anthracycline mit 10 proz. wäßr. Kalium-dihydrogenphosphat, Chromatographie der Anthracyclin-Fraktion mit Butanol/Phosphatpuffer pH 5.8 an Cellulose) lieferte ein neues β -Rhodomycinon-Glykosid, das wie γ -Rhodomycin IV¹⁸⁾ 2 Mol Rhodosamin sowie 1 Mol 2-Desoxy-L-fucose und L-Rhodosinose^{19, 20)} enthält. Katalytische Hydrierung dieses " β -Rhodomycin IV" gab das γ -Rhodomycinon-rhodosaminid 4a. 2-Desoxy-L-fucose und L-Rhodosinose sind demnach mit dem an C-7 stehenden Rhodosamin-Rest von 1b verknüpft. Ist ihre Sequenz die gleiche wie im γ -Rhodomycin IV, so gilt für β -Rhodomycin IV Formel 1c.

Hydrolyse des an Carboxymethyl-Cellulose abgetrennten β -Rhodomycinon-glykosid-Gemisches mit 0.05n Schwefelsäure (30 Min./60°) und Chromatographie in Butanol/Phosphatpuffer pH 5.8 lieferte β -Rhodomycin II, das aus Chloroform/Petroläther in derben, roten Prismen kristallisierte. $\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_{12}$ (700.8) Ber. C 61.7 H 6.91 N 4.00 Gef. C 61.32 H 6.85 N 4.07.

Nach diesen Befunden ist anzunehmen, daß auch unsere früheren Kulturen³⁾ β -Rhodomycin IV geliefert haben und dieses durch die bei der Aufarbeitung verwendete Säure zu β -Rhodomycin II abgebaut worden ist.

Neben den Rhodomycinen produzierten unsere Streptomyces-Stämme auch Glykoside des β -Iso-rhodomycinons (1d)^{21, 10, 11)}. Von diesen haben wir durch Chromatographie aus Butanol/Phosphatpuffer pH 5.8 an Cellulose Iso-rhodomycin A abgetrennt. Die Analysenzahlen

seines kristallisierten Hydrochlorides ³⁾ passen auf ein Anthracyclin, in dem 1d mit zwei Moll. 2a verknüpft ist ²¹⁾. [$C_{36}H_{48}N_2O_{13} \cdot 2 HCl$ (789.7). Ber. C 54.75 H 6.38 N 3.55. Gef. C 54.25 H 6.84 N 3.12]. Das NMR-Spektrum (100 MHz, $CDCl_3$) von Iso-rhodomycin A (von jetzt ab β -Iso-rhodomycin II) stimmt im Bereich $\delta = 1 - 6$ ppm (aliphatische Protonen) mit dem von 7a überein und im Bereich $\delta = 6 - 8$ ppm (aromatische Protonen) mit dem von 1d ²¹⁾. β -Iso-rhodomycin II unterscheidet sich demnach von 7a nur durch das 1-Hydroxyl des Chromophors und ist somit nach 7b zu formulieren. Die gegen St. aureus wirksame Grenzkonzentration ist von gleicher Größenordnung wie die von 7a.

In kleiner Menge konnten wir chromatographisch ein Glykosid des α_2 -Rhodomycinons (1e) ¹³⁾ nachweisen. Da es nicht nur den gleichen R_F -Wert (Papierchromatogramm, Butanol/Phosphatpuffer pH 5.8) wie 7a und 7b hat, sondern auch aus der gleichen Kultur isoliert wurde, nehmen wir an, daß das als " α_2 -Rhodomycin II" zu bezeichnende, neue Glykosid analog zu 1b die Konstitution 1f besitzt. α_2 -Rhodomycin II (1f) wird - ebenso wie α_2 -Rhodomycinon (1e) - durch katalytische Hydrierung unter Bedingungen, unter denen 1b in 4a übergeht, nicht verändert.

β -Rhodomycin II hemmt sowohl die DNS-abhängige RNS-Synthese als auch die DNS-Synthese selbst ²²⁾.

REFERENCES

1. H. Brockmann, K. Bauer und I. Borchers, Chem. Ber. 84, 700 (1951).
2. H. Brockmann und I. Borchers, Chem. Ber. 86, 264 (1953).
3. H. Brockmann und P. Patt, Chem. Ber. 88, 1455 (1955).
4. Anthracycline des β -Rhodomycinons bezeichnen wir von jetzt ab, in Analogie zu den γ -Rhodomycinen (Zitat 18), als β -Rhodomycine mit einer die Zahl der Zucker-Reste angegebenden römischen Ziffer. Eine Anthracyclin-Nomenklatur, die außer der Zahl der Zucker-Reste auch deren Stellung, Konstitution und Konfiguration erkennen läßt, scheint uns erst dann erforderlich, wenn Struktur und Konfiguration einer größeren Zahl von Anthracyclinen bekannt ist.
5. H. Brockmann und E. Spohler, Naturwissenschaften 42, 154 (1955).
6. H. Brockmann und E. Spohler, Naturwissenschaften 48, 716 (1961).
7. H. Brockmann, E. Spohler und Th. Waehnelde, Chem. Ber. 96, 2925 (1963).
8. H. Brockmann, P. Boldt und J. Niemeyer, Chem. Ber. 96, 1356 (1963).
9. H. Brockmann, R. Zunker und H. Brockmann jr., Liebigs Ann. Chem. 696, 145 (1966).

10. H. Brockmann und J. Niemeyer, Chem. Ber. 100, 3578 (1967).
11. H. Brockmann, H. Brockmann jr. und J. Niemeyer, Tetrahedron Letters [London] 1968, 4719.
12. H. Brockmann und H. Brockmann jr., Chem. Ber. 96, 1771 (1963).
13. H. Brockmann und J. Niemeyer, Chem. Ber. 101, 1341 (1968).
14. H. Brockmann und P. Boldt, Chem. Ber. 94, 2174 (1961).
15. H. Brockmann und H. Brockmann jr., Chem. Ber. 94, 2681 (1961).
16. H. Brockmann, J. Niemeyer, H. Brockmann jr. und H. Budzikiewicz, Chem. Ber. 98, 3785 (1965).
17. Th. Waehnelde, Dissertat. Univ. Göttingen 1963.
18. H. Brockmann und Th. Waehnelde, Naturwissenschaften 48, 717 (1961).
19. H. Brockmann und Th. Waehnelde, Naturwissenschaften 50, 43 (1963).
20. C. L. Stevens, P. Blumbergs und D. L. Wood, J. Amer. chem. Soc. 86, 3592 (1964).
21. H. Brockmann, J. Niemeyer und W. Rode, Chem. Ber. 98, 3145 (1965).
22. K. Koschel und G. Hartmann sowie W. Kersten und H. Kersten, Biochem. Z. 344, 76 (1966).