

ZUR STRUKTUR EINES 2-AMINO-CYCLOPENTANDION-1.3, GALAKTURONSÄURE UND CHINOVOS-AMIN ENTHALTENDEN HYDROLYSEBRUCHSTÜCKS DES ANTIBIOTIKUMS MOENOMYCIN A

P.Welzel, H.Buhlke, P.Michalke, J.Simons, L.Winterfeld und R.Tschesche

Institut für Organische und Biochemie

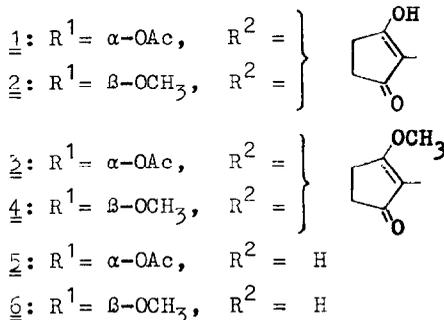
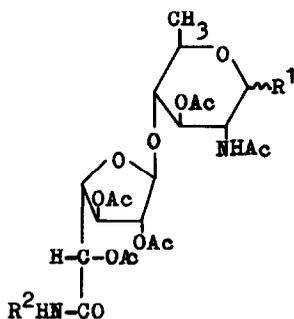
D-53 Bonn, Meckenheimer Allee 168

H.-W.Fehlhaber und G.Huber

Farbwerke Hoechst AG, D-6230 Frankfurt M - 80

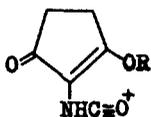
(Received in Germany 15 November 1972; received in UK for publication 14 December 1972)

Moenomycin aus Streptomyces bambergensis gehört zu einer in jüngster Zeit aufgefundenen Gruppe phosphornhaltiger Antibiotika¹⁾. Unsere bisherigen Untersuchungen²⁾ haben gezeigt, daß es D-Glucose, D-Glucosamin, D-Chinovosamin, 2-Amino-cyclopentandion-1.3, den C₂₅-Alkohol Moenocinol und Phosphoglycerinsäure³⁾ enthält. - Bei weiteren Versuchen zur Strukturauflklärung wurde Moenomycin A in Trifluoressigsäure hydrolysiert. Die Säure wurde anschließend abdestilliert, letzte Spuren nach Zusatz von Methanol. Acetylierung und sorgfältige chromatographische Trennungen ergaben die nahe miteinander verwandten Verbindungen 1 (Schmp. 262-265⁰) und 2 (Schmp. 223-225⁰). Hochauflösende Massenspektrometrie ergab für 1 die Summenformel C₂₉H₃₈N₂O₁₇ und für 2 C₂₈H₃₈N₂O₁₆. Nach salzsaurer Hydrolyse von 1 und 2 konnte Chinovosamin papierchromatographisch nachgewiesen werden. - Aus den UV-Spektren ging hervor, daß 1 und 2 als weiteren Baustein den "Chromophor" 2-Amino-3-hydroxy- Δ^2 -cyclopentenon enthalten. Die UV-Absorptionen ($\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 258 nm, $\epsilon=16.000$; $\lambda_{\max}^{\text{MeOH/NaOH}}$

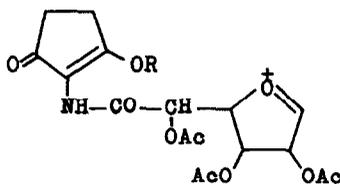


258 nm, $\epsilon=25.000$; $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH/HCl}}$ 243 nm, $\epsilon=13.000$) sind typisch für 3-Hydroxy- Δ^2 -cyclo-alkenone, deren UV-Spektren vom Dissoziationsgleichgewicht zwischen Enol- und Enolatform bestimmt werden⁴). - 1 und 2 reagieren an der enolischen OH-Gruppe mit Diazomethan zu den beiden Methyläthern 3 und 4 (Schmp. 166-168°), deren UV-Spektren ein pH-unabhängiges Maximum bei 248 nm zeigen. -

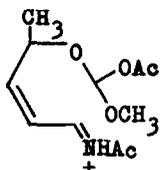
Die für die Strukturaufklärung wichtigsten Peaks in den mittels Hocheauflösung analysierten Massenspektren von 2 und 4 entsprechen dem durch α -Spaltung zum Amid-CO der Galakturonsäure entstandenen Ion a, dem durch Glykosidspaltung erzeugten Ion b⁵), sowie dem durch Abspaltung des Substituenten an C-4 des Chinovosamins gebildeten Ion c⁵).



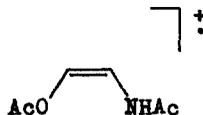
a: m/e 140 (30.6%) bei 2
m/e 154 (67.0%) bei 4



b: m/e 398 (30.4%) bei 2
m/e 412 (17.3%) bei 4



c: m/e 244 (12.5%) bei 2
m/e 244 (29.7%) bei 4



d

Sehr charakteristisch ist auch der Peak m/e 143 (Fragment d) in den Massenspektren von 2 und 4, der zeigt, daß an C-3 des Chinovosamins eine Acetoxygruppe (und nicht der Galakturonsäure-Rest) sitzt⁵).

Die einander sehr ähnlichen NMR-Spektren von 1, 2, 3 und 4 sind z.T. durch Überlagerung von Signalgruppen schwer zu deuten. In Tab. 1 ist das Spektrum von 2 beschrieben. Die Absorptionen der "Chromophor"-Protonen wurden durch Vergleich mit bekannten Modell-Substanzen identifiziert⁴). Die Lage der Signale des NH, von H-1, H-2, H-5 und H-6 des Chinovosamin-Teils wurde durch

Tab. 1: Zuordnung der Protonen-Signale im NMR-Spektrum von 2

δ (ppm)	Chinivosamin	Galakturonsäure	"Chromophor"
12.30			OH (s)
8.37			NH (s)
5.90	NH (d, J=10 Hz)		
5.75		H-2' (m, $W_{1/2}$ ca. 5-6 Hz)	
5.50-5.00	H-3 (m)	H-5' (m), H-3' (8)	
4.80		H-4' (m, $W_{1/2}$ ca. 9 Hz)	
4.42	H-1 (d, J=10 Hz)		
4.37	H-2 (m, $J_{2,NH}$ =10 Hz, J_{12} =10 Hz, J_{23} =8 Hz)		
3.80-3.40	H-4 (m), H-5 (m)		
3.51	OCH ₃ (s)		
2.59			-CH ₂ -CH ₂ - (s) ⁹⁾
2.40-1.70	N-Acetyl (s) O-Acetyl (s)	3 O-Acetyl (3 s)	
1.32	CH ₃ -6 (d, J=5.5 Hz)		

Doppelresonanzexperimente eindeutig festgelegt, während die Signale von H-3 und H-4 in den unaufgelösten Multiplett-Komplexen zwischen $\delta=5.5$ und 5.0 bzw. 3.8 und 3.4 ppm verborgen waren. Ihre Zuordnung war nach Zugabe von steigenden Mengen Eu(DPM)₃ durch Spin-Spin-Entkopplung möglich. Die Differenz $\delta_{H-3} - \delta_{H-4} = 1.6$ ppm zeigt, daß der Sauerstoff an C-4 ätherartig und der an C-3 in einer Estergruppierung gebunden vorliegt⁶⁾. - Aus den relativ schmalen, nicht aufgelösten Multipletts von H-1' und H-2' ergibt sich⁷⁾, daß die Galakturonsäure in der Furanose-Form vorliegt und daß H-1' und H-2' trans-ständig sind. Dies bedeutet, daß die Galakturonsäure mit dem Chinivosamin β -glykosidisch 1-4-verknüpft ist. - Im NMR-Spektrum von 1 liefert H-1 ein schmales Dublett bei 6.18 ppm ($J_{12}=3.6$ Hz), woraus auf die α -Stellung der 1-Acetoxygruppe in 1 geschlossen werden kann⁷⁾.

Die aus den Spektren für 1 und 2 abgeleiteten Strukturen wurden durch chemischen Abbau bestätigt. Ozonolyse von 3 und 4, Zerstörung der Ozonide mit Triphenylphosphin und Hydrolyse der intermediär gebildeten N,N-Diacyl-Verbindungen lieferten in guten Ausbeuten 5 (Schmp. $245-247^{\circ}$) und 6 (Schmp. $157-159^{\circ}$), deren MS-, IR- und NMR-Spektren den angegebenen Strukturen entsprachen. Nach salzsaurer Hydrolyse von 5 und 6 konnte mittels Papierchromatographie und Hoch-

spannungselektrophorese Galakturonsäure nachgewiesen werden.

Außerdem wurden 5 und 6 mit N_2O_3 behandelt und die durch Desaminierung des primären Amids entstandene Carboxylgruppe mit Diazomethan verestert. Anschließend wurde mit $LiAlH_4$ umgesetzt, und die jeweiligen Reduktionsprodukte wurden mit verdünnter HCl gespalten. In beiden Hydrolysaten konnte Galaktose papierchromatographisch (n-Butanol/Pyridin/Wasser= 6:4:3) eindeutig¹⁰⁾ identifiziert werden.

Das 1 und 2 zugrundeliegende Bruchstück (Des-O-acetyl-1) entspricht ca. 25% des gesamten Moenomycin-Moleküls. Aus dem gleichen UV-spektroskopischen Verhalten von 1 bzw. 2 und dem Moenomycin selbst geht hervor, daß der "Chromophor" im Moenomycin endständig ist. - Wir nehmen an, daß die OCH_3 -Gruppe in 2 bei der Aufarbeitung des Trifluoressigsäure-Hydrolysats eingeführt worden ist.

Herrn Dr.D.Lenoir danken wir für wertvolle Anregungen, der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Stiftung Volkswagenwerk für die zur Verfügung gestellten Spektrometer.

Literatur und Anmerkungen

- 1) Zusammenfassung: W.A.Slusarchyk, Biotechnology and Bioengineering 13, 399 (1971)
- 2) Zusammenfassung: D.Lenoir, R.Tschesche, W.Wucherpfennig, G.Huber und H.L.Weidenmüller, Antimicrobial Agents Chemotherapy 1969, 144
- 3) G.Huber, J.Antibiotics (Japan) 25, 226 (1972)
- 4) R.Tschesche, J.Blumbach und P.Welzel, Liebigs Ann.Chem., im Druck; dort weitere Lit.
- 5) K.Heys, G.Klessling und D.Müller, Carbohydrate Research 4, 452 (1967); dort weitere Lit.
- 6) Bei Pentaacetyl- α - und β -D-Glucosamin besitzen H-3 und H-4 nahezu gleiche chemische Verschiebung⁷⁾
- 7) Zusammenfassung: T.D.Inch in E.F.Mooney (Herausg.), Annual Review of NMR Spectroscopy, Vol. 2, S.35, Academic Press, London 1969
- 8) H-3' liefert vermutlich ein schmales Multiplett bei 4.37, das den breiten Multipletts von H-3 und H-5' aufgesetzt ist.
- 9) vgl. hierzu Lit.⁵⁾
- 10) D.A.L.Davies, Biochem.J. 67, 253 (1957)