

LIPOMYCINE, II ¹⁾

DIE KONSTITUTION VON α - UND β -LIPOMYCIN

Kurt Schabacher und Axel Zeeck

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

(Received in Germany 3 May 1973; received in UK for publication 5 June 1973)

Das gelbrote, polyenartige β -Glykosid α -Lipomycin (1a) besteht aus dem Aglykon β -Lipomycin (1b, $C_{26}H_{35}NO_6$) und D-Digitoxose, die als Zuckerbaustein eines Antibioticums erstmals nachgewiesen wurde ^{1,2)}. α - und β -Lipomycin sind nur gegen gram-positive Bakterien ¹ wirksam und unterscheiden sich damit deutlich von den antifungischen Polyen-Macroliden.

Salpetersäure-Oxidation (4 Min. /120°) von Decahydro- β -lipomycin (2) liefert Dicarbonsäuren, deren Dimethylester im Gaschromatogramm (6m-Saule/3mm ϕ , 3% BDA auf Chromosorb W. 185° isotherm) acht Hauptpeaks (A-H) geben. Die zu A-D gehörenden Ester wurden auch preparativ getrennt.

Peak	A	B	C	D	E	F	G	H
t_{dr} (M.n.)	102.5	96.5	74	49.5	36.5	27	20	15.2

A mit $[\alpha]_D^{20}$: -10° (c = 0.5, Methanol) und B mit $[\alpha]_D^{20}$: -7.8° sind diastereomere 2.4-Dimethyl-tridecan-1.13-disäure-dimethylester (3b) $C_{17}H_{32}O_4$, die identische Massenspektren (GC/MS-Kombination, 70 eV) liefern [M^+ fehlt, M-31 (m/e 269), M-59 und M-64 sichern die Molmasse; M-87 (28%) und m/e 88 (Basispeak) bzw. 101 beweisen α -CH₃ ³⁾; deutlich schwächer sind M-73 (8%) bzw. m/e 74 (25%)]. Im NMR-Spektrum (100 MHz, CDCl₃) liegt das α -CH₃-Dublett (J = 7 Hz) bei δ = 1.12 bzw. 1.14 ppm, das für γ -CH₃ übereinstimmend bei 0.85. Beide Ester lassen sich zu 2.4-Dimethyl-tridecan $C_{15}H_{32}$ (M^+ 212, bevorzugte Fragmentierung an den tertiären C-Atomen) reduzieren, das ein Chiralitätszentrum weniger enthält als 3b und daher im GC (4% Silicon OV-1) einheitlich ist.

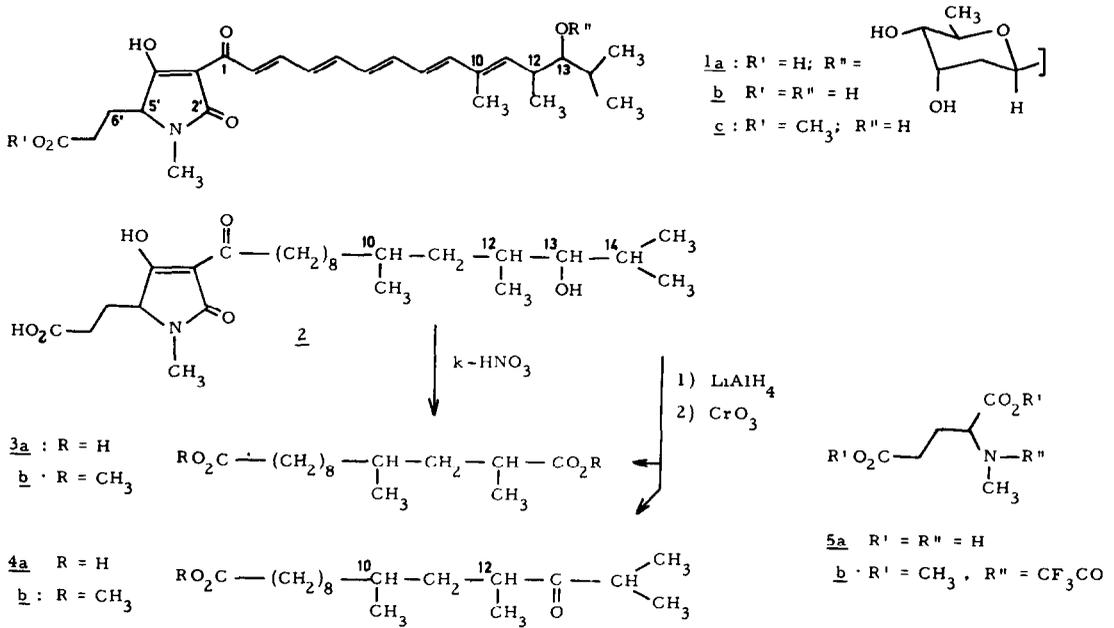
Alle niederen Dicarbonsäuren gehen aus 3a hervor, wobei die Oxidation an den tertiären C-Atomen bevorzugt ist. C : 3-Methyl-dodecan-1.12-disäure-dimethylester $C_{15}H_{28}O_4$ [MS : M-31 (m/e 241), M-73 und m/e 74; NMR : δ = 0.92 d (β -CH₃)]. D : 2-Methyl-undecan-1.11-disäure-dimethylester ⁴⁾ $C_{14}H_{26}O_4$ [MS : M-31 (227), m/e 88 als Basispeak; NMR : δ = 1.13 d (α -CH₃)]. Diese Ester enthalten nur ein Chiralitätszentrum und geben im GC erwartungsgemäß nur einen Peak. E-H liegen die Dimethylester gradkettiger Dicarbonsäuren C_{10} - C_7 zugrunde.

Da nur eines der zehn 1b-Pentaen-C-Atome eine Methylgruppe ($\delta = 1.83$) trägt, beweisen Decan-1 10-disaure und 3a, daß diese an C-10 (entspricht $\gamma\text{-CH}_3$ in 3a) steht, während C-12 der Seitenkette (entspricht $\alpha\text{-CH}_3$ in 3a) ein natives Chiralitätszentrum ist. Da die 3b-Diastereomeren optisch aktiv sind, muß C-12 in 1b einheitlich konfiguriert sein. Die katalytische Hydrierung von 1b zu 2 verläuft z. T. diastereoselektiv, denn das Mengenverhältnis der 3b-Diastereomeren (A:B) beträgt 4:1 und ist von den Oxidationsbedingungen unabhängig.

Reduktion von 2 mit LiAlH_4 (THF, 2 Stdn.) und nachfolgende Chromsaure-Oxidation (Eisessig/50^o/90 Min.) liefert Abbausäuren, deren Methylester im Gaschromatogramm (1 m-Säule/3 mm ϕ , 4% BDA auf Chromosorb W, 195^o isotherm) neben den Peaks der 3b-Diastereomeren (A: $t_{\text{dr}} = 38$, B: 35 Min.) zwei mit größerer Retentionszeit (I: $t_{\text{dr}} = 51$; II: 56 Min.) anzeigen, die diastereomeren 10,12,14-Trimethyl-13-oxo-pentadecansäuremethylestern (4b) zugeordnet wurden. Die Massenspektren (GC/MS-Kombination) der Diastereomeren $\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{O}_3$ waren identisch: $M^+ 312$; $M-43$ und $M-71$ (α -Spaltung an der Ketogruppe) sowie $m/e 100$ (Basispeak, β -Spaltung am Keton mit Umlagerung) sind strukturbeweisend³⁾; mit relativ großer Häufigkeit treten $m/e 281$ ($M-31$), 209 ($M-71-32$) und 191 ($M-71-32-18$) auf, während $M-73$ und $m/e 74$ wenig begünstigt sind. IR-(1736, 1710/cm) und NMR-Daten [CAT-Spektrum: $\delta = 1.10$ d ($3 \alpha\text{-CH}_3$), 0.86 d ($\gamma\text{-CH}_3$)] wurden mit dem I/II-Gemisch erhalten, das die Komponenten (II:I) im Verhältnis 4:1 enthält. Unter schärferen Oxidationsbedingungen verringert sich der Anteil von 4b zugunsten von 3b. Behandelt man 2 vor der Oxidation 36 Stdn. mit LiAlH_4 , dann enthält das Methylestergemisch der Abbausäuren neben 3b und 4b noch diastereomere 11,13,15-Trimethyl-14-oxo-hexadecansäuremethylester ($M^+ 326$, Fragmentierungsmuster wie bei 4b), d. h. die C-1-Ketogruppe in 2 wurde teilweise zur CH_2 -Gruppe reduziert.

4a enthält das vollständige C-Atomgerüst der 1b-Pentaen-Seitenkette, die C-13 Carboxylgruppe von 4a ist aus einer sekundären OH-Gruppe hervorgegangen. ¹H-Doppelresonanzversuche an 1b (CDCl_3 , 100 MHz) bestätigen die Struktur von C-10 bis C-15: 11-H ($\delta = 5.61$ d, $J = 9.5$ Hz) koppelt mit dem verbreiterten 1.83-Methylsingulett (Allyl-Kopplung) und mit 12-H (2.73 m), welches seinerseits mit CH_3 an C-12 (1.01 d) in Wechselwirkung steht. Während 13-H (3.75 m) sich nur schlecht entkoppeln läßt, vereinfacht sich das Dublett (0.94) der beiden Methylgruppen an C-14 zum Singulett, wenn 14-H (1.73 m) eingestrahlt wird.

Den Beweis für die Propionsäure-Seitenkette an C-5' des 1'-Methyl-4'-hydroxy- $\Delta^{3'}$ -pyrrolinon-(2')-Ringes liefert N-Methyl-glutaminsäure (5a)⁵⁾, die bei der Ozonolyse von 1b (CHCl_3 , -70^o, bis zur Entfärbung und Verschwinden des UV-Maximums bei 280 nm, Oxidation mit H_2O_2) und nachfolgende saure Hydrolyse (2 n HCl/100^o/8 Stdn.) in 15% d. Th. erhalten wurde. 5a ließ sich an saurem Ionenaustauscher (Aminex AG 50 W-X2, 0.1 n Ameisen-



saure/Pyridin, pH 2.75) abtrennen [$R_F = 0.27$, DC-Cellulose mit Butanol/Eisessig/Wasser = 4 : 1 : 1; R_F -Glutaminsäure = 0.18] und durch das NMR-Spektrum [60 MHz, D₂O : $\delta = 4.08$ (α -CH), 3.18 s (N-CH₃), 2.95 (γ -CH₂), 2.65 (β -CH₂), 2.65 (β -CH₂)] und im GC/MS-Kombinationsgerät als Dimethylester-trifluoacetat (5b) identifizieren. 5b hat im Vergleich zum entsprechenden Glutaminsäure-derivat eine längere Retentionszeit (3% Silicon GE SE-30) und gibt im Massenspektrum ⁶⁾ die Schlüsselbruchstücke jeweils 14 MZ höher als dieses [MS von 5b (C₁₀H₁₄F₃NO₅) : M⁺ 285, 254 (M-31), 253 (M-32), 226 (M-59), 194 (M-59-32), 166 (Basis peak, M-59-32-28). Dem Drehwert [α]_D²⁰ : +10.4° (c = 1.8, Wasser) nach haben 5a und damit C-5' in 1b L-Konfiguration. Im ¹H-NMR-Spektrum von 1b liegt 5'-H bei $\delta = 3.19$ t, 6'- und 7'-H bei 2,0-2.5 ppm.

Das Massenspektrum von β -Lipomycin-methylester ¹⁾ (M⁺ 471) steht mit 1c im Einklang. Im oberen Massenbereich treten die Ionen bei m/e 397 (M-74) und 399 (Spaltung zwischen C-12 und C-13 unter H-Verschiebung von OH nach C-10) mit großer Häufigkeit auf, im unteren Massenbereich die bei m/e 226 und 199 durch α -Spaltung an der C-1-Carbonylgruppe (die Spaltung zu C-3' hin ist begünstigt und verläuft unter H-Verschiebung von der Pentaenkette zum Heterocyclus) Das 199-Ion verliert Methoxyl, Methanol und CH₂=C(OH)OCH₃ aus der C₃-

Seitenkette. Das PFT- ^{13}C -NMR-Spektrum von 1b (22, 63 MHz, CHCl_3 , breitbandenkoppelt, δ -Werte gegen TMS feldabwärts) zeigt erwartungsgemäß Signalgruppen im Bereich aliphatischer und olefinischer C-Atome⁷⁾. Dazwischen lassen sich durch "off-resonance"-Teilentkopplung C-7' (58, 1 t), C-5' (65, 2 d) und C-13 (80, 7 d) zuordnen. Im Carbonylbereich liegt neben C-1 (193, 2), C-8' (175, 6) und C-2' (172, 4) auch C-4' (171, 7), das der stark polarisierten Doppelbindung im Heterocyclus angehört. Entsprechend ist C-3' nach höherem Feld (99, 2) verschoben

Für das Triketosystem der Lipomycine lassen sich 6 Tautomere formulieren. Bis zur Klärung der Frage, wie weit diese an einem Gleichgewicht beteiligt sind, legen wir den Lipomycinen die 3-Acyl-4-hydroxy- Δ^3 -pyrrolinon-(2)-Formel zugrunde. Bei der Pentaenkette geben wir der all-trans-Form den Vorzug, denn 1b zeigt eine intensive IR-Doppelbande bei 1008 und 986/cm⁸⁾, jedoch keine Absorption zwischen 750-800/cm. Die Verknüpfung von 1b mit D-Digitoxose zum α -Lipomycin kann nur über die OH-Gruppe an C-13 erfolgen, denn α -Lipomycin ist wie 1b eine zweiprotomige Säure (COOH wird leicht verestert, enolisches OH bestimmt die Indikator-Eigenschaften). Im α -Lipomycin (1a) stehen die polaren Gruppen überwiegend auf einer Molekülseite. Ein "Pentaen-Stab" verbindet diese Region mit einer ebenfalls voluminösen, jedoch weniger polaren. Das Molekül hat die Form einer Hantel. Bei pH = 7 sind 1a und 1b wasserlöslich. Fehlt der Zucker, geht die biologische Aktivität um den Faktor drei zurück.

Die Massenspektren verdanken wir Herrn Prof. Dr. G. Spiteller, das ^{13}C -NMR-Spektrum Herrn Prof. Dr. H. Wolf. Herrn Prof. Dr. Dr. e. h. H. Brockmann sind wir für die großzügige Förderung unserer Arbeit zu Dank verpflichtet. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat unsere Arbeit durch Sachbeihilfen unterstützt.

LITERATUR

- 1) I. Mitt. : B. Kunze, K. Schabacher, H. Zahner und A. Zeeck, Arch. Mikrobiol. 86, 147 (1972).
- 2) Aus der Dissertat., K. Schabacher, Univ. Göttingen 1973
- 3) G. Odham und E. Stenhagen, Biochemical Application of Mass Spectrometry (ed. by G. R. Waller), S. 211, Wiley-Interscience, New York 1972.
- 4) 2-Methyl-tridecan-1, 13-disäure vgl. R. Schlegel und H. Thrum, J. Antibiot. 24, 368 (1971)
- 5) F. Knopp und H. Oesterlin, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 170, 186 (1927).
- 6) W. Vetter, S. 387 in l. c.³⁾
- 7) G. C. Levy und G. L. Nelson, Carbon-13-Nuclear Magnetic Resonance, Wiley-Interscience, New York 1972.
- 8) B. C. L. Weedon, Carotenoids (ed. by O. Isler), S. 267, Birkhäuser-Verlag, Basel 1971.