

ZUR KENNTNIS DER β -RHODOMYCINE

Hans Brockmann* und Hartwig Greve

* Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

D-3400 Göttingen, Windausweg 2

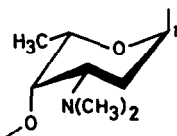
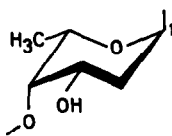
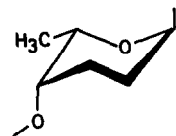
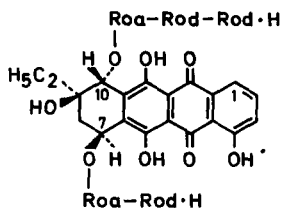
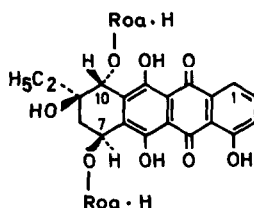
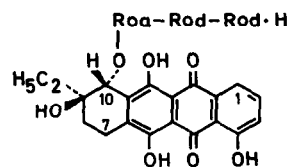
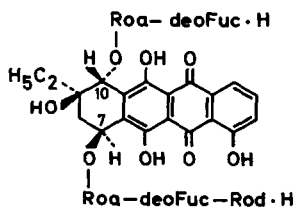
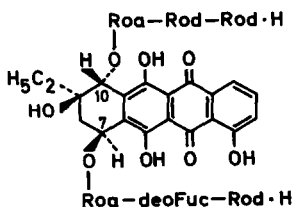
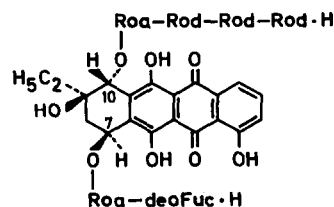
(Received in Germany 20 December 1974; received in UK for publication 3 February 1975)

Durch kombinierte Schichtchromatographie an Phosphat- und NaHCO_3 -Kieselgel haben wir aus dem durch Gegenstromverteilung erhaltenen lipophileren Anteil ¹⁾ eines von Streptomyces purpurascens produzierten Rhodomycingemisches vier neue β -Rhodomycine und ein β -Iso-rhodomycin isoliert und sie durch Total- und Partial-hydrolyse, Hydrogenolyse sowie spektrometrisch ermittelte Molmasse (Mol.-M.) charakterisiert.

Isolierung. Das Ausgangsmaterial (MHK : 0.15 μ /ml, hier wie bei den neuen Rhodomycinen gegen B. subtilis getestet) - bei Totalhydrolyse ¹⁾ L-Rhodosamin (1c), Desoxy-L-fucose (2c), L-Rhodinose (3c) und als Aglykon β -Rhodomycinon (5b) sowie in geringerer Menge α_2 -Rhodomycinon (5c) und β -Iso-rhodomycinon (5e) liefernd - bildete auf Phosphat-Kieselgelplatten neben zahlreichen schmalen Zonen vier stärkere (Inhaltsstoffe S-1 - S-4, beziffert nach steigenden R_F -Werten). S-2, S-3, S-4 gaben auf NaHCO_3 -Kieselgelplatten jeweils eine Hauptfraktion, die bei nochmaliger Chromatographie im gleichen System einheitlich war. Die drei so gewonnenen Rhodomycine lieferten bei Totalhydrolyse β -Rhodomycinon (5b), 1c, 2c, 3c und sind im folgenden als β -Rhodomycin S-2 (S-3, S-4) bezeichnet.

S-1 trennte sich auf NaHCO_3 -Kieselgelplatten in β -Iso-rhodomycin S-1a (Totalhydrolyse gab 5e, 1c, 3c) und β -Rhodomycin-S-1b (Totalhydrolyse : 5b, 1c, 3c).

Partialhydrolyse. Die Reaktionslösung (~ 30 mg Rhodomycin in 20 ml 1 proz. H_2SO_4 , 15 min/32^o C) wurde mit Ammoniak auf pH 8.0 gebracht und mit Chloroform extrahiert. Der Verdampfungsrückstand der Chloroformphase gab auf NaHCO_3 -Kieselgel (Chloroform/Aceton/Methanol, 40 : 10 : 3) eine rote Hauptzone, deren Inhalt bei allen vier β -Rhodomycinen durch Vergleich mit einem authentischen Präparat (DC wie vorstehend; Ringpapierchromatogramm, Butanol/0.1 M-Phosphatpuffer, pH 6.4) als β -Rhodomycin II (5a) ²⁾ identifiziert wurde [bei β -Rhodomycin S-1b auch durch NMR (CDCl_3)]. Im NMR-Spektrum der Rhodomycine geben sich die Dimethylaminogruppen der beiden Rhodosaminreste durch

1a (Roa)b : OH statt O-
(Roa · H)c : OH an C-1 von 1b
(H · Roa · OH)2a (deoFuc)b : OH statt O-
(deoFuc · H)c : OH an C-1 von 2b
(H · deoFuc · OH)3a (Rod)b : OH statt O-
(Rod · H)c : OH an C-1 von 3b
(H · Rod · OH)4ab : Rod statt
(10) Rod-Rod · H
und (7) Rod · Hc : OH statt H an C-1
von 4b5ab : H statt Roa · Hc : H statt Roa · H ;
OH statt H an C-1
H statt OH an C-6d : OH statt H an C-1e : OH statt H an C-1
von 5b6ab : H statt Rod-Rod · Hc : H statt Roa-Rod-Rod · Hd : H statt
O-Roa-Rod-Rod · He : OH statt H an
C-1 von 6c7ab : deoFuc statt
deoFuc · H ;
Rod statt Rod · H8ab : Rod statt
(10) Rod-Rod · H
und (7) Rod · Hc : H statt
O-Roa-deoFuc-Rod · H9ab : H statt Rod-Rod · H ;
deoFuc statt
deoFuc · Hc : H statt
O-Roa-deoFuc · H

ein bzw. zwei Singulettts um $\delta = 2.20$ ppm (12) zu erkennen.

Der Abbau der vier β -Rhodomycine zu 5a und der Nachweis, daß die 9-OH-Gruppe ihres Chromophors frei ist (s.unten), zeigt, daß sie 5a-Derivate sind, in denen die im Totalhydrolysat gefundenen N-freien Zucker (2c, 3c) über die Rhodosaminreste (Ro_a) von 5a mit dessen Chromophor verbunden sind; eine Struktur, die – unter der plausiblen Voraussetzung, daß die β -Rhodomycine praktisch die gleichen ϵ_{\max} -Werte haben wie 5a – eine spektrometrische Ermittlung ihrer Mol.-M. ermöglicht [im folgenden aus α_{500} (Chloroform) ($\alpha = E$ für 1g/l) der Rhodomycine (8 h i. Hochvak. bei 90° C getrocknet) und $\epsilon_{500} = 15\ 600$ für 5a].

Hydrogenolyse. In Analogie zur Hydrogenolyse von 5a ²⁾ war bei katalytischer Hydrierung der vier β -Rhodomycine zu erwarten: 1. der an C-7 stehende Molekülteil als ein 1c enthaltendes Di- oder Oligosaccharid; oder als 1c, falls nur dieses mit dem 7-OH veräthert. 2. ein Glykosid des γ -Rhodomycinons (6c) mit gleicher Zuckergarnitur an C-10 wie im eingesetzten β -Rhodomycin. 3. in geringer Ausbeute 6d, wenn das 9-OH nicht glykosidisch veräthert ist.

Man hydrierte ~ 40 mg Rhodomycin mit gleicher Menge A-Kohle (10% Pt) in 30 ml Methanol 80 min bei 20° C, verteilte den Verdampfungsrückstand (im folgenden "Hydrogenolysat") der vom Katalysator befreiten Reaktionslösung zwischen Benzol und Wasser, chromatographierte den Rückstand der Benzolphase (DC, Phosphat-Kieselgel, Chloroform/Aceton/Methanol, 4 : 1 : 1) und erhielt aus der roten Hauptzone das jeweilige γ -Rhodomycinonglykosid (im folgenden γ -R-glykosid). Der Inhaltstoff einer bei allen vier Hydrogenolysaten auftretenden, schnell laufenden, schwachen Zone wurde durch Vergleich mit einem authentischen Präparat als 6d identifiziert.

Die sich aus Partialhydrolyse und Hydrogenolyse ergebenden Teilstrukturen der vier β -Rhodomycine sind im folgenden unter Berücksichtigung der spektrometrisch ermittelten Mol.-M. zu Formelvorschlägen erweitert, die als nächstes durch quantitative Bestimmung der im Totalhydrolysat vorliegenden Zucker (1c, 2c, 3c) überprüft werden müssen.

β -Rhodomycin S-1b. MHK : 0.18 γ /ml. Hydrogenolysat : In dessen Wasserphase (frei von 1a) fand man nach saurer Hydrolyse 1c, 3c und im Totalhydrolysat des γ -R-glykosides der Benzolphase 6c, 1c, 3c; ein Beweis für Teilstruktur 4b. Aus $\epsilon_{497} = 16\ 000$ von γ -Rhodomycin I (6b) ²⁾ und $\alpha_{497} = 20.9$ für das γ -R-glykosid ergaben sich für dessen Mol.-M 766 ± 20 ; in Einklang mit Formel 6a (ber. Mol.-M. 755.8). Befunde, die zusammen mit den Mol.-M.-Werten (1080 ± 30 , spektrometrisch; 1070 ± 30

osmometrisch in Chloroform) von β -Rhodomycin S-1b für dieses zum Formelvorschlag 4a (1043.3) führen.

β -Rhodomycin S-4. MHK : 0.09 γ /ml. Die Wasserphase des Hydrogenolysates enthielt nach saurer Hydrolyse 1c, 2c, 3c, das Totalhydrolysat des γ -R-glykosides 6c, 1c, 2c. Daraus ergab sich, wenn auch der an C-7 stehende Rhodosaminrest mit deoFuc verbunden ist, Teilstruktur 7b, die sich anhand der für β -Rhodomycin S-4 ermittelten Mol.-M. 1110 ± 30 ($\alpha_{500} = 14.0$) zu Formel 7a (1075.2) erweitern läßt.

β -Rhodomycin S-2. MHK : 0.16 γ /ml. In der Wasserphase (frei von 1c) des Hydrogenolysates wurden nach saurer Hydrolyse 1c, 2c, 3c nachgewiesen und im Totalhydrolysat des γ -R-glykosides 6c, 1c, 3c. Demnach lag, wenn (7) Roa mit deoFuc verbunden, Teilstruktur 8b vor. Das γ -R-glykosid ist laut R_F -Wert (Neutral-, Phosphat-, NaHCO_3 -Kieselgel) identisch mit dem aus β -Rhodomycin S-1b stammenden γ -R-glykosid (6a). Ergebnisse, die zusammen mit der für β -Rhodomycin S-2 gefundenen Mol.-M. 1160 ± 30 ($\alpha_{500} = 13.4$) zum Formelvorschlag 8a (1173.4) führen.

β -Rhodomycin S-3. MHK : 0.17 γ /ml. In der Wasserphase (frei von 1c) des Hydrogenolysates fand man nach saurer Hydrolyse 1c und 2c und im Totalhydrolysat des γ -R-glykosides 6c, 1c, 3c. Das im Totalhydrolysat von β -Rhodomycin S-3 neben 1c und 3c nachgewiesene 2c gehört demnach zum an C-7 hängenden Molekülteil. Danach gilt, wenn das an C-7 stehende Roa mit deoFuc verbunden, die Teilstruktur 9b. Da für das γ -R-glykosid ($\alpha_{497} = 17.8$) in Einklang mit Formel 9c (869.9) die Mol.-M. 898 ± 20 gefunden wurde und für β -Rhodomycin S-3 ($\alpha_{500} = 12.9$) die Mol.-M. 1210 ± 30 , läßt sich 9b zum Formelvorschlag 9a (1173.4) erweitern.

β -Iso-rhodomycin S-1a. MHK : 0.08 γ /ml. Totalhydrolyse gab 5e, 1c, 3c, Partialhydrolyse β -Iso-rhodomycin II (5d)²⁾; identifiziert durch Vergleich mit authentischem Präparat wie bei den β -Rhodomycinen. Hydrogenolysat : Die Wasserphase war frei von 1c, das Totalhydrolysat des R-glykosides der Benzolphase enthielt 6c³⁾, 6e³⁾, 1c, 3c. Als Teilstruktur ergab sich damit 4c. Spektrometrische Mol.-M-Bestimmung entfiel, weil ϵ_{max} -Werte von hochgereinigten β -Iso-rhodomycin II fehlten.

REFERENCES

1. H. Brockmann, B. Scheffer und C. Stein, Tetrahedron Lett. 1973, 3699.
2. H. Brockmann, Th. Waehnelde und J. Niemeyer, Tetrahedron Lett. 1969, 415.
3. J. Niemeyer, Dissertation Univ. Göttingen, 1966.