

NACHWEIS DER HEMIKETALSTRUKTUR IN POLYENANTIBIOTIKA

CD- UND  $^{13}\text{C}$ -NMR-UNTERSUCHUNGEN AN TETRAENEN

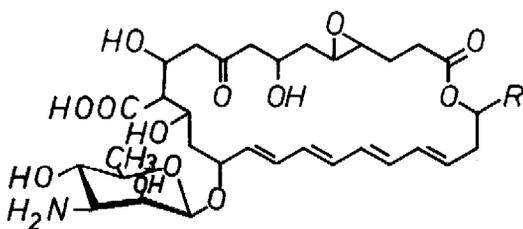
K. Dornberger, H. Thrum und G. Engelhardt \*

Zentralinstitut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie, Jena, und

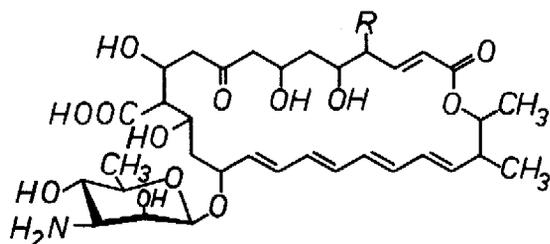
\* Zentralinstitut für physikalische Chemie, Berlin-Adlershof der Akademie der Wissenschaften der DDR

(Received in Germany 27 September 1976; received in UK for publication 18 October 1976)

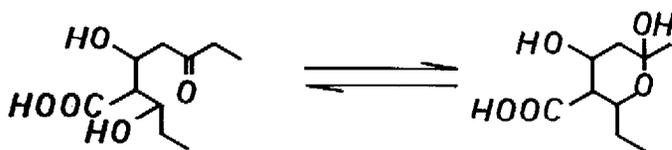
Vertreter der Polyenantibiotika<sup>1</sup> werden chemotherapeutisch zur Behandlung von Mykosen angewandt. Die strukturellen Unterschiede zwischen den einzelnen Polyenantibiotika sind oftmals sehr gering aber bedeutsam für die Differenzen in der chemotherapeutischen und hämolytischen Aktivität sowie der Toxizität, Stabilität und Sterinbindung. Die Kenntnis der natürlichen in Lösung vorliegenden Strukturformen ist deshalb eine wesentliche Voraussetzung für die Gewinnung detaillierter Vorstellungen über die biologische Wirkungsweise dieser Antibiotika. Hierbei spielt neben der Größe des Makrolidringes seine Konformation eine entscheidende Rolle. Die konformative Flexibilität des Makrolidringes wird durch den Polyenchromophor und eine mögliche cyclische Hemiketalbildung eingeschränkt.



*Pimaricin*  $R = \text{CH}_3$   
*Lucensomycin*  $R = (\text{CH}_2)_3 \text{CH}_3$



*Tetrin A*  $R = \text{H}$   
*Tetrin B*  $R = \text{OH}$



Auf das Vorliegen einer Ketogruppe in den Tetraenen Pimaricin, Lucensomycin, Tetramycin, Tetrin A und B weisen folgende Reaktionen hin: Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$ , Retroaldolspaltung und leichte Decarboxylierung. Durch die Anordnung der Keto-Gruppe in Nachbarschaft mehrerer Hydroxygruppen ist eine Hemiketalbildung bei den hier betrachteten Tetraenen ebenso zu erwarten wie bei dem Heptaen Amphotericin B, wo der Nachweis durch chemischen Abbau<sup>2</sup> und Röntgenstrukturanalyse<sup>3</sup> geführt wurde.

Mit Hilfe von CD- und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Messungen haben wir nunmehr versucht, Aussagen über das Keto-Hemiketalgleichgewicht verschiedener Tetraene in Lösung zu treffen.

Die CD-Kurven der Tetraene Pimaricin, Lucensomycin und Tetrin A<sup>4</sup> stimmen in Gestalt und relativen Intensitäten mit der in Abb. 1 dargestellten CD-Kurve des Tetramycins<sup>5</sup> überein, d. h. es besteht Konformationshomogenität. Die Keto-Gruppen liefern offensichtlich keinen Beitrag zum CD der Tetraene, denn nach Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$  zeigen die entsprechenden Dihydro-Derivate den unveränderten CD-Kurvenverlauf. Auch in den CD-Kurven der Perhydro-Verbindungen ist sowohl bei Raum- als auch bei tiefen Temperaturen kein Cottoneneffekt einer Keto-Gruppe nachweisbar. Diese Ergebnisse deuten zwar auf das Vorliegen einer Hemiketalstruktur hin, können aber auf Grund der konformativen Freiheit der makrocyclischen Lactone nicht als ausreichender Beweis angesehen werden. Betrachtungen am Dreiding-Stereomodell lassen erkennen, daß die der Ketogruppe benachbarten asymmetrischen Zentren in verschiedenen Oktanten liegen können, so daß kein Cottoneneffekt existieren muß. Weiterhin zeigen auch die acetylierten Perhydro-Verbindungen des Tetramycins, Pimaricins und Lucensomycins, in denen keine Hemiketalstruktur möglich ist<sup>6</sup>, bei Raumtemperatur keinen Cottoneneffekt im Bereich von 280 - 290 nm. Erst bei ca.  $-100^\circ\text{C}$  läßt sich der Cottoneneffekt der Ketogruppe nachweisen (Abb. 1), d. h. es gelingt, die entsprechende Konformation "einzufrieren".

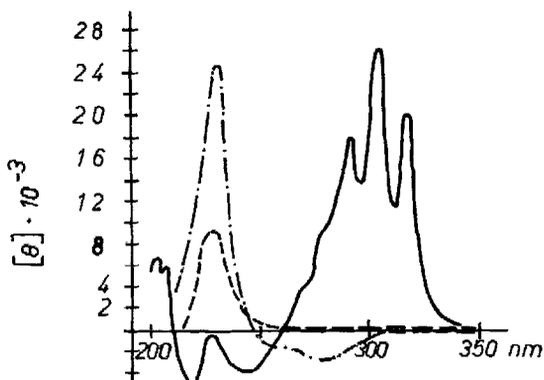
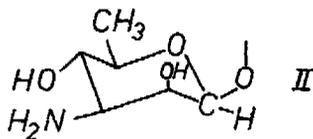
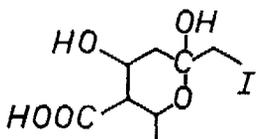


Abb. 1. CD-Kurven des Tetramycins (—), Perhydro-Tetramycins (---) und Perhydro-Tetramycin-Acetats bei  $-100^{\circ}\text{C}$  (-·-) in Methanol

Die Tatsache, daß die CD-Kurven der Perhydro-Verbindungen auch bei tiefer Temperatur im Gegensatz zu den entsprechenden Acetaten keinen Cottoneneffekt der Ketogruppe aufweisen, kann als indirekter Beweis für das Vorliegen einer Hemiketalstruktur in Lösung angesehen werden.

Den entscheidenden Hinweis für die Bildung eines Hemiketals in Lösung liefert aber erst die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie, da doppelt sauerstoffs substituierte C-Atome, wie sie beim Übergang von der Keto- zur Hemiketalstruktur auftreten, charakteristische Signale im  $\delta$ -Bereich um ca. 100 ppm ergeben. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum des Tetramycins werden in diesem Bereich zwei Signale beobachtet ( $\delta = 97,4$  und  $95,7$  ppm in  $\text{DMSO-D}_6$  bzw.  $\delta = 98,2$  und  $96,6$  ppm in  $\text{Pyridin-D}_5$ ), von denen das eine dem quartären Hemiketalkohlenstoff (I), das andere dem tertiären Kohlenstoff des Mycosamins (II) zugeschrieben werden muß:



Die endgültige Zuordnung der beiden Signale wird durch das off-resonance-Spektrum ermöglicht: Das Signal bei  $\delta = 95,7$  ppm spaltet hier in ein Dublett auf, gehört also zum tertiären C-Atom des Mycosamins, während das bei  $\delta = 97,4$  ppm als Singulett erhalten bleibt und damit dem Hemiketalkohlenstoff zuzuordnen ist. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum des Lucensomycins wird ein entsprechendes Signal

ebenfalls beobachtet ( $\delta = 98,2$  ppm in Pyridin-D<sub>5</sub>, keine Aufspaltung im off-resonance-Spektrum).

Das Keto-Hemiketalgleichgewicht liegt in den angewandten Lösungsmitteln offensichtlich weitgehend auf der Seite des Hemiketals, denn in den <sup>13</sup>C-NMR-Spektren des Tetramycins und Lucensomycins ist das C-Atom der Ketogruppe nicht nachweisbar. Die erhaltenen Resultate bestätigen somit die Annahme von Chong und Rickards<sup>7</sup>, die anhand von ORD-Messungen bei Raumtemperatur das Vorliegen einer cyclischen Hemiketalstruktur in Lösung bei Polyenantibiotika mit Keto-Hydroxyfunktionen postulierten.

Die CD-Spektren bei Raumtemperatur wurden mit dem Spektralpolarimeter Cary Model 60 mit CD-Zusatz aufgenommen. Die Messungen bei -100 °C wurden mit dem Roussel-Jouan Dichrograph CD 185 mit Tieftemperaturzusatzteil ausgeführt. Herrn Dr. I. Frič, Institut für Organische Chemie und Biochemie der ČSAV, Prag, sowie Herrn Dr. G. Luck, Zentralinstitut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie der AdW der DDR, Jena, sind wir für die Aufnahmen der CD-Spektren zu Dank verpflichtet.

Die <sup>13</sup>C-NMR-Spektren der ca. 0,3 molaren Lösungen wurden mit einem JNM-PFT-100-Spektrometersystem der Firma JEOL aufgenommen. Standardsignal: TMS (extern).

#### Literatur:

1. J. M. T. Hamilton-Miller, Bacteriol. Rev. **37**, 166 (1973)
2. E. Borowski, J. Zieliński, T. Ziminski, L. Falkowski, P. Kołodziejczyk, J. Golik u. E. Jereczek, Tetrahedron Lett., 3909 (1970)
3. P. Ganis, G. Avitabile, W. Mechlinshi u. C. P. Schaffner, J. Amer. Chem. Soc. **93**, 4560 (1971)
4. R. C. Pandey, V. F. German, Y. Nishikawa u. K. L. Rinehart, jr., J. Amer. Chem. Soc. **93**, 3738 (1971)
5. K. Dornberger, G. Bradler, R. Fügner u. H. Thrum, J. Antibiot. **24**, 172 (1971)
6. C. Djerassi, Optical Rotatory Dispersion, S. 110, 143, McGraw-Hill, New York, 1960
7. C. N. Chong u. R. W. Rickards, Tetrahedron Lett., 5053 (1972)