

ÜBER DIE VERKNÜPFUNG DER GLUCOSE MIT DEM GLUCOSAMIN IM MOENOMYCIN A

Rudolf Tschesche und Josef E. Moch

Institut für Organische Chemie und Biochemie, Gerhard-Domagk-Str. 1, D-5300 Bonn

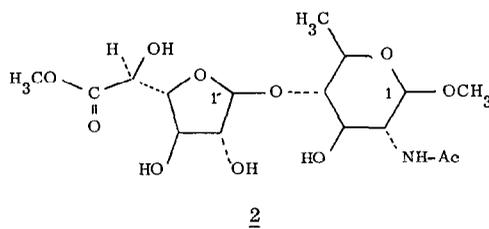
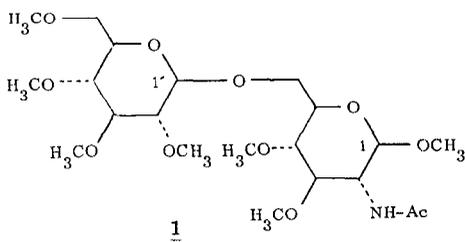
Abstract : Acid hydrolysis of Moenomycin A gave β -D-Glucopyranosyl-(1-6)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucose, a new partial structure of the antibiotic.

Das seit 1969 bekannte Moenomycin A und ähnliche Antibiotika enthalten neben verschiedenen Zuckern einen Lipidteil und Phosphor ¹⁾. Die infolge der Vielzahl und Verschiedenheit der Bausteine schwierige Konstitutionsermittlung dieser Antibiotika ist bisher in keinem Fall abgeschlossen. Moenomycin A und seine größeren Spaltprodukte sind enzymatischen Angriffen gegenüber praktisch vollkommen indifferent, und der Abbau erfolgte daher bisher ausschließlich auf säurehydrolytischem Wege. Nach der Festlegung der Einzelbausteine ²⁾ wurden inzwischen zwei größere Bruchstücke ^{3,4)} und zuletzt die bisher noch nicht bekannt gewesene 4-C-Methyl-glucuronsäure ⁵⁾ als Strukturelemente geklärt.

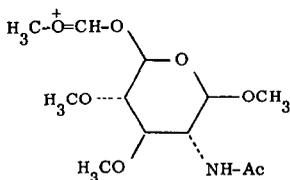
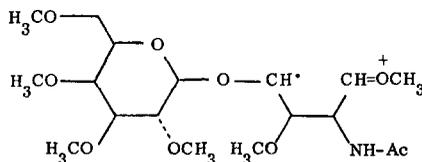
Wir berichten im folgenden über das Disaccharid 1 aus Glucose und Glucosamin als neu gefundener Partialstruktur von Moenomycin A und kommen damit in der Frage nach der Verknüpfung der bereits bekannten Bausteine untereinander weiter. Die angegebene Konstitution von 1 wurde durch Synthese bestätigt. Außerdem erhielten wir aus dem Antibiotikum das neue Spaltprodukt 2, bestehend aus N-Acetyl-chinovosamin und Galakturonsäure. 2 ist ein Teilstück einer um den 1-Amino-cyclopentadienon-1,3 erweiterten und bereits bekannten Partialstruktur ³⁾.

Durch mehrstündige Hydrolyse von Moenomycin-Komplex bzw. Moenomycin A mit verdünnter Schwefelsäure (0,36 N, 100 °C) und Auftrennung des Hydrolysegemisches abwechselnd über Kieselgel und Dextrangele erhielt man geringe Mengen eines Disaccharids, das nach Permethylierung mit BaO/CH₃J ⁶⁾ die Verbindung 1 ergab (Schmp. 249 °C).

Das durch Hochauflösung analysierte Massenspektrum von 1 zeigte einen schwachen Peak bei m/e 482 (M⁺ + 1), dann stärkere bei m/e 450 (M⁺ - OCH₃), m/e 436 (M⁺ - OC₂H₅), das Fragment m/e 306 mit

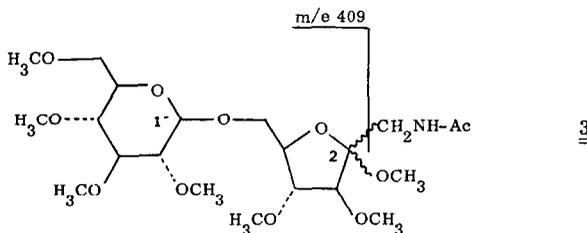


dessen Folgeprodukten und sonst im wesentlichen die für permethylierte Disaccharide und Glucosederivate bekannten Signale ⁷⁾. Ein dem Fragment m/e 306 entsprechendes Bruchstück ließe sich allerdings auch für ein 1-4 verknüpftes Disaccharid erklären. Bei einem zum Vergleich aufgenommenen Spektrum von permethyliertem N-Acetyl-lactosamin (Galaktosido-(1-4)-2-acetamido-2-deoxy-glucose) wurde jedoch das Fragment m/e 407 mit seinen Folgeprodukten sehr intensiv erhalten. Das gänzliche Fehlen aller dieser Signale im Spektrum von 1 schließt hier das Vorliegen einer 1-4 Verknüpfung aus.

 m/e 306 m/e 407

Im ¹³C-NMR-Spektrum von 1 entsprechen die Signale der Glucoseeinheit denen von Methyl-heptamethyl- β -gentiobiosid ⁸⁾. Die Signale des Glucosaminteils ergaben sich durch Vergleich mit den für das Gentiobiosid und den für Methyl-N-acetyl-glucosaminid ⁹⁾ angegebenen Werten. Bezeichnend für 1 ist die Resonanz von C-6 (68,9 ppm), die gegenüber dem C-6 von Methyl-heptamethyl- β -cellobiosid (70,7 ppm) bei höherem Feld liegt. Demgegenüber liegt das C-4 von 1 (79,1 ppm) im Vergleich zu dem analogen Cellobiosederivat (77,8 ppm) bei tieferem Feld. Eine solche durch den Glycosylrest gegenüber einer Methylgruppe bedingte Verschiebung nach höherem Feld ist für Permethylyucker typisch ⁸⁾ und setzt für 1 eine 1-6 Verknüpfung voraus. Die entsprechenden Werte für Methyl-heptamethyl- β -gentiobiosid sind : C-6, 68,8 ppm ; C-4, 79,5 ppm. Die Signale von 1 für C-1 (100,7 ppm) und C-1' (103,9 ppm) belegen jeweils das Vorliegen von β -Verknüpfungen. Dies wird im ¹H-NMR-Spektrum durch die hohen Kopplungskonstanten $J_{1,2} = 7,2$ Hz und $J_{1',2'} = 7,0$ Hz bestätigt ⁸⁾.

1 wurde halbsynthetisch durch katalytische Hydrierung von Gentiobiosazon ¹⁰⁾, selektive N-Acetylierung des Amingemisches mit Acetanhydrid in Wasser über einem Ionenaustauscher ¹¹⁾ und Permethylierung erhalten. Erwartungsgemäß entstand dabei jedoch als überwiegendes Hauptprodukt das entsprechende 1-Isomere 3. Das Massenspektrum von 3 ist gekennzeichnet durch die durch Abspaltung von OCH_3 und CH_2NHAc entstandenen Primärfragmente, insbesondere des sehr intensiven Bruchstücks m/e 409.



Das Vorliegen der D-Glucopyranosyl-(1-3)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucose in Moenomycin A wurde zu gleicher Zeit von einem anderen Arbeitskreis bestätigt ¹²⁾, der hiervon das Acetat des i-Propylglycosids untersuchte.

Aus dem Schwefelsäure-Hydrolysat konnte ein weiteres Spaltprodukt, bestehend aus Galakturonsäure und N-Acetyl-chinivosamin, isoliert werden. Dieses ergab nach Veresterung und Glycosidierung mit methanolischer Salzsäure die Verbindung 2 (Schmp. 273-274 °C). Im Massenspektrum des Acetates von 2 entsprechen die Fragmente denen einer um den 1-Amino-cyclopentadienon-1,3 erweiterten und als Partialstruktur von Moenomycin A bereits beschriebenen Verbindung ³⁾. Die Auffällige Tieffeldverschiebung von C-4' (88,1 ppm) im ¹³C-NMR-Spektrum von 2 bestätigt das Vorliegen der Galakturonsäure in der Furanoseform ¹³⁾. Die Resonanzen von C-2', C-3' und C-5' wurden durch Vergleich mit den für Arabinose angegebenen Werten ¹⁴⁾ bestimmt, und die Zuordnung der Resonanzen des Chinovosaminteils ergaben sich aus den für Rhamnose bestimmten Werten ¹⁵⁾. Nach Reduktion des Galakturonsäureesters mit Natriumborhydrid ¹⁶⁾, enzymatischer Hydrolyse mit β-Galaktosidase und Silylierung konnten durch gekoppelte Gaschromatographie/Massenspektroskopie Methyl-N-acetylchinovosaminid und Galaktose nachgewiesen werden.

¹³C-NMR-Spektren von 1, 2 und 3, 22,63 MHz

C-Atom	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>
1	100,7	103,4	41,6 t
2	56,8	52,8	103,3 s
3	81,9	71,2 *	88,1 *
4	79,9	71,9 *	85,9 *
5	74,7	72,0 *	80,2 *
6	68,9 t	17,9 q	71,4 t
1'	103,9	105,3	103,7
2'	83,7	74,2 *	83,8
3'	86,6	74,1 *	86,5
4'	79,5	88,1	79,4
5'	74,7	75,5	74,7
6'	71,5 t	173,6 s	71,4 t
C=O Amid	171,7 s	170,1 s	170,2 s
CH ₃ Amid	23,5 q	23,0 q	23,2 q
1-O-Methyl	56,5 q	56,9 * q	
2-O-Methyl			49,2 q
CH ₃ -O Ester		56,8 * q	

in CDCl₂, Werte in ppm (TMS), * gibt vertauschbare Werte an

Herrn Prof. Dr. H. Egge danken wir für zur Verfügung gestelltes Permethy1-N-acetyl-lactosamin ,
Herrn Dr. G. Huber und der Hoechst AG danken wir für die großzügige Überlassung von Moenomycin-
Komplex und der Konrad-Adenauer-Stiftung für die finanzielle Förderung der Arbeit.

Anmerkungen :

- 1) Zusammenfassung : W. A. Slusarchyk, *Biotechnology and Bioengineering* 13, 399 (1971)
- 2) R. Tschesche, D. Lenoir und H. L. Weidenmüller, *Tetrahedron Lett.* 1969, 141
hier weitere Literaturhinweise
- 3) P. Welzel, H. Buhlke, P. Michalke, J. Simons, L. Winterfeld, R. Tschesche, H. W. Felhaber und
G. Huber, *Tetrahedron Lett.* 1973, 227
- 4) P. Welzel, F. -J. Witteler und D. Müller, *Tetrahedron Lett.* 1976, 1665
- 5) N. Langenfeld und P. Welzel, *Tetrahedron Lett.* 1978, 1833
- 6) R. Kuhn, H. H. Baer und A. Seelinger, *Liebigs Ann. Chem.* 611, 236 (1958)
- 7) K. Heyns, H. F. Grützmacher, H. Scharmann und D. Müller, *Fortschr. Chem. Forsch.* 5, 448 (1966)
- 8) J. Haverkamp, M. J. A. de Bie und J. F. G. Vliegenthart, *Carbohydr. Res.* 37, 111 (1974)
Die hier aufgeführten ¹³C-NMR-Spektren von Methyl-heptamethyl-gentiobiosid und Cellobiosid
wurden in Acetontril gemessen und weichen von unseren in Deuteriochloroform gemessenen
geringfügig ab. Sämtliche in der vorliegenden Arbeit angeführten Werte beziehen sich auf
Deuteriochloroform.
- 9) D. R. Bundle, H. J. Jennings und J. C. P. Smith, *Canad. J. Chem.* 51, 3812 (1973)
- 10) R. Kuhn und W. Kirschenlohr, *Chem. Ber.* 87, 1547 (1954)
- 11) S. Roseman und J. Ludowieg, *J. Am. Chem. Soc.* 76, 301 (1954)
- 12) P. Welzel, persönl. Mitteilung
- 13) R. G. S. Ritchie, N. Cyr, B. Korsch, H. J. Koch und A. S. Perlin, *Canad. J. Chem.* 53, 1424 (1975)
- 14) E. Breitmeier und W. Voelter, *Tetrahedron* 29, 227 (1973)
- 15) R. Tschesche, S. Delhvi, S. Sepulveda und E. Breitmeier, *Phytochemistry*, im Druck
- 16) M. L. Wolfrom und K. Anno, *J. Am. Chem. Soc.* 74, 5583 (1952)

(Received in Germany 1 March 1979)