

ANTIBIOTIKA AUS ACTINOMYCETEN

ZUR KONFIGURATION UND KONFORMATION VON AKLAVINON-I UND AKLAVINON-II, ZWEI NEUEN ANTHRACYCLINONEN AUS KULTURANSÄTZEN VON STREPTOMYCES GALILAEUS

D. TRESSELT,* K. ECKARDT† und J. TAX‡

Akademie der Wissenschaften der DDR, Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin, Zentralinstitut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie, Jena, Abteilung Biophysikochemie* und Abteilung Antibiotika-Chemie† Institut für Mikrobiologie der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag‡

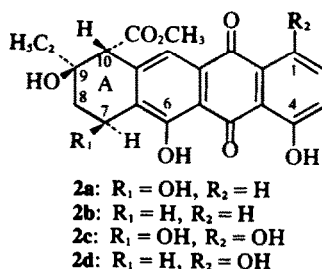
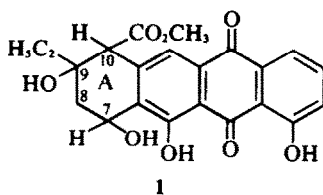
(Received in Germany 26 June 1974; Received in the UK for publication October 1974)

Zusammenfassung—Die Konfiguration und Konformation von Aklavinon-I und Aklavinon-II, zwei neuen Anthracyclinonen aus *Streptomyces galilaeus*, werden aus NMR- und ZD-Messungen abgeleitet. Danach ist Aklavinon-II das 7-Epimere des Aklavinons mit der absoluten Konfiguration 7R, 9R, 10R. Für Aklavinon-I wird die absolute Konfiguration 7R, 9S, 10R oder dessen Enantiomer (10-epi-Aklavinon) vorgeschlagen.

Abstract—By means of NMR and CD measurements the configuration and conformation of aklavinone-I and aklavinone-II, two new anthracyclines from *Streptomyces galilaeus*, have been derived. Aklavinone-II is the 7-epimer of aklavinone with the absolute configuration 7R, 9R, 10R. For aklavinone-I the absolute configuration 7R, 9S, 10R or its enantiomer (10-epi-aklavinone) is proposed.

In einer vorangegangenen Mitteilung haben wir über die Isolierung und Konstitutionsermittlung von zwei bisher unbekanntenen Anthracyclinonen aus Fermentationsansätzen von *Streptomyces galilaeus* berichtet.¹ Die neuen Verbindungen wurden mit Aklavinon-I und Aklavinon-II bezeichnet. In beiden Fällen konnte die Konstitutionsformel (1) abgeleitet werden, die von Gordon und Mitarbeitern² auch für Aklavinon, dem Aglykon des Antibiotikums Aklavin, gefunden wurde. Die drei Verbindungen sind demnach Stereoisomere, wobei Unterschiede in der Konfiguration an den drei Chiralitätszentren C-7, C-9 und C-10 sowie in der Konformation möglich sind.

rhodomycinon und möglicherweise dem von Bowie und Johnson⁵ beschriebenen θ -Rhodomycinon haben alle bisher untersuchten Anthracyclinone die gleiche sterische Anordnung der Substituenten am Ring A. Wesentliche Aussagen über die Konfiguration der Anthracyclinone wurden durch Vergleich ihrer Zirkulardichroismus-Spektren erhalten. Nach Brockmann jr. und Legrand sind die Cotton-Effekt-Kurven der Anthracyclinone zwischen 270 und 390 nm im wesentlichen nur vom Substituentenmuster des gesättigten Ringes A abhängig und nicht von Anzahl und Stellung der phenolischen Hydroxyle im Anthrachinonteil des Moleküls.⁶ Durch Vergleiche der



Im folgenden wird über Untersuchungen zur Bestimmung der Konfiguration und der Konformation von Aklavinon-I und Aklavinon-II im Vergleich zu Aklavinon berichtet.

Die absolute Konfiguration der meisten Anthracyclinone ist durch Untersuchungen von Brockmann und Mitarbeitern³ sowie Arcamone und Mitarbeitern⁴ bekannt. Mit Ausnahme von α -Rhodomycinon, α -Iso-

ZD-Kurven verschiedener Anthracyclinone lassen sich demnach Analogieschlüsse ziehen. Daunomycinon und 7-Desoxy-daunomycinon, deren absolute Konfiguration bereits bewiesen wurde,⁴ können z. B. als Bezugssubstanzen dienen.

Das erstmals von Gordon *et al.* beschriebene Aklavinon wurde auch von uns als Aglykon des Galirubins B aus Fermentationsansätzen von *Streptomyces galilaeus* JA

3043 isoliert und auf Grund seiner charakteristischen Daten sowie der Überführung in Bisanhydro-aklavinon identifiziert.⁷ Dass tatsächlich diese Substanz und nicht eines der in den Eigenschaften sehr ähnlichen Stereoisomeren Aklavinon-I bzw. Aklavinon-II mit der von Gordon *et al.* beschriebenen Verbindung identisch ist, geht eindeutig aus den ZD- und NMR-Spektren hervor.

Brockmann und Mitarbeiter haben für 7-Desoxy-aklavinon die Konfiguration **2b** und entsprechend für Aklavinon **2a** angegeben,³ wobei sie voraussetzen, dass **2a** und **2b** an C-9 und C-10 gleich konfiguriert sind. Danach muss für Aklavinon ein ZD-Spektrum erwartet werden, welches dem des ϵ -Pyrromycinons (**2c**) entspricht, da die zusätzliche Hydroxylgruppe in ϵ -Pyrromycinon an C-1, wie oben bereits erwähnt, keinen Einfluss auf das ZD-Spektrum zwischen 270 und 390 nm hat. Die Untersuchung beider Verbindungen ergab tatsächlich nahezu identische Spektren, während die beiden neuen Substanzen Aklavinon-I und Aklavinon-II sich in ihren ZD-Spektren von Aklavinon und ϵ -Pyrromycinon wesentlich unterscheiden und deshalb anders konfiguriert sein müssen (Abb. 1). Neben den ZD-Spektren sind die NMR-Spektren für weitere Aussagen geeignet.

Konfiguration und Konformation von Aklavinon-II

Nach Brockmann *et al.*³ hat Aklavinon, dessen NMR-Spektrum zum Vergleich in Abb. 2 dargestellt ist, die

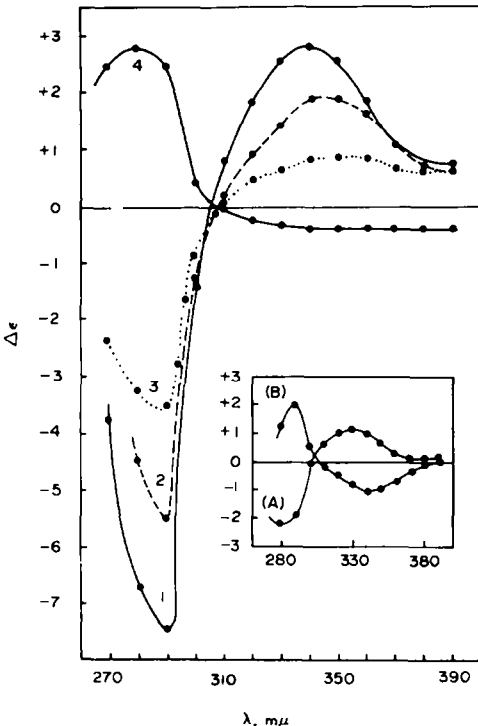


Abb 1. Zirkulardichroismus-Kurven von Anthracycloninen in Dioxan. 1 = Aklavinon, 2 = 7-Desoxy-aklavinon, 3 = Aklavinon-II, 4 = Aklavinon-I. Eingeschobene Darstellung: Inkrement-ZD-Spektren. A = $\Delta\epsilon_{\text{Aklavinon}} - \Delta\epsilon_{7\text{-Desoxy-aklavinon}}$ B =

$$\Delta\epsilon_{\text{Aklavinon-II}} - \Delta\epsilon_{7\text{-Desoxy-aklavinon}}$$

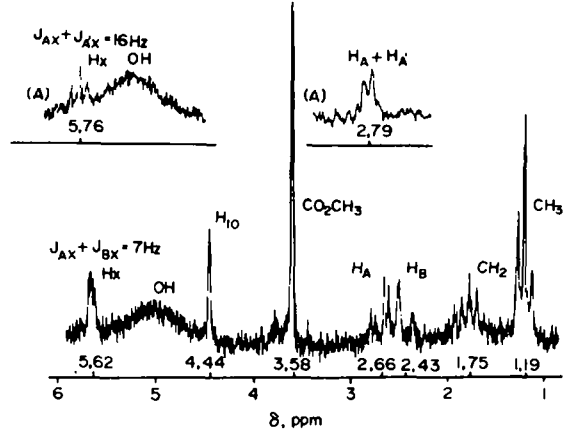


Abb 2. 100-MHz-NMR-Spektrum von Aklavinon in Pyridin-D₃ und Ausschnitte A) des entsprechenden Spektrums von Aklavinon-II. Die chemischen Verschiebungen sind auf Tetramethylsilan bezogen.

absolute Konfiguration **7S**, **9R**, **10R**. Der Ring A liegt in einer Halbsesselkonformation vor mit einem quasi-äquatorialen Proton an C-7. Die beiden Protonen an C-8 und das an C-7 bilden zusammen ein ABX-Spinsystem, für das die Gesamtaufspaltung des H-7-Signals nach der Karplus-Beziehung abschätzbar ist. Sie setzt sich aus einer axial-äquatorial- und einer äquatorial-äquatorial-Kopplung zusammen und steht im Einklang mit dem gemessenen Wert von 7 Hz.

Das NMR-Spektrum von Aklavinon-II (Tabelle 1) weicht im wesentlichen nur bezüglich dieses ABX-Spinsystems ab, dessen Signale als Ausschnitte in Abb. 2 dargestellt sind. Augenfällig ist die vergrößerte Gesamtaufspaltung des Signals von H-7, dessen Verschiebung nach tieferem Feld und das zufällige Zusammenfallen der chemischen Verschiebungen der beiden Protonen an C-8. Dadurch entsteht ein AA'X-Spinsystem, dessen X-Teil (H-7-Signal) unabhängig von der Größe der Einzelaufspaltungen (d. h. auch für $J_{AX} \neq J_{A'X}$) immer als Tripletts erscheint. In der Gesamtaufspaltung von 16 Hz muss aber eine axial-axial-Kopplung enthalten sein, da dieser hohe Wert sonst nicht erreicht werden kann (Karplus-Gleichung).

Alle für Aklavinon und Aklavinon-II angeführten Veränderungen der chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten finden sich in nahezu gleicher Weise an den analogen ABX-Spinsystemen von β -Rhodomycinon und dessen 7-Epimeren α -Rhodomycinon.⁹ (Die Konstitution von β -Rhodomycinon bzw. α -Rhodomycinon unterscheidet sich von der des Aklavins bzw. Aklavinon-II nur durch eine zusätzliche OH-Gruppe an C-11 sowie eine OH-Gruppe an C-10 anstelle der Carbomethoxygruppe in Aklavinon bzw. Aklavinon-II). Es liegt deshalb der Schluss nahe, dass das Aklavinon-II in Analogie zu dem angeführten Beispiel das 7-Epimere des Aklavins ist, wofür besonders die Verschiebung des H-7-Signals nach tieferem Feld spricht.³ Dass sich Aklavinon-II von Aklavinon tatsächlich nur durch umgekehrte Konfiguration an C-7 unterscheidet,

lässt sich durch die weiter unten durchgeführte Analyse der ZD-Spektren eindeutig belegen.

Die Gesamtaufspaltung des H-7-Signals gibt gleichzeitig die Konformation von Aklavinon-II zu erkennen. Die dadurch erwiesene quasi-axiale Stellung dieses Protons fordert, dass, wie bei α -Rhodomycinon, von den beiden möglichen Halbsessel-Konformationen nur die bisher allen bekannten Anthracyclononen gemeinsame Konformation 4 für Aklavinon-II in Frage kommt. (In der zweiten möglichen Halbsessel-Konformation hätte das Proton an C-7 eine quasi-äquatoriale Stellung. Dass der Ring A der Anthracyclonone die um ca. 2.7 kcal energieärmere Halbsessel-Konformation bevorzugt und nicht in der Halbwannen-Form vorliegt, ist nach zahlreichen vergleichenden Untersuchungen nicht zu bezweifeln⁹).

Konfiguration 7S, 10R.³ Das zusätzlich noch vorhandene Asymmetriezentrum an C-9 hat in allen Anthracyclononen, mit Ausnahme von Daunomycinon, die absolute Konfiguration 9R. Da es relativ weit vom Chromophor entfernt ist, beeinflusst es die ZD-Kurve nur gering, führt aber ebenfalls zu einer schwachen Erhöhung ihrer Amplitude.⁶ Von den wenigen Anthracyclononen mit anderer Konfiguration (α -Rhodomycinon, α -Iso-rhodomycinon und eventuell θ -Rhodomycinon) wurden bisher keine ZD- oder ORD-Spektren publiziert.

Eine nach diesen Gesichtspunkten durchgeführte Abschätzung des ZD-Spektrums von Aklavinon-II (Abb. 1) steht mit der Konfiguration des 7-epi-Aklavins im Einklang. Eindeutiger geht die gegenüber Aklavinon abweichende Konfiguration an C-7 aus den Inkrement-ZD-Spektren hervor.

Tabelle 1. 100 Mhz-NMR-Spektren von Aklavinon, Aklavinon-I, Aklavinon-II und 7-Desoxy-aklavinon in Pyridin-D₂; chemische Verschiebungen (bezogen auf TMS) und Kopplungskonstanten.

Zuordnung der Signale	Aklavinon δ (ppm)	Aklavinon-I δ (ppm)	Aklavinon-II δ (ppm)	7-Desoxy-aklavinon δ (ppm)
CH ₃ von C ₂ H ₅	1.19 t J = 7.1 Hz	1.04 t J = 7.3 Hz	1.19 t J = 7.2 Hz	1.20 t J = 7.3 Hz
CH ₂ von C ₂ H ₅	1.75 m	1.84 m	1.86 m	1.80 m
Ring-CH ₂ (C-8)	2.66 q (A) 2.43 q (B) J _{AX} = 5.5 Hz J _{BX} = 1.5 Hz	2.81 q (A) 2.17 q (M) J _{AX} = 5.5 Hz J _{MX} = 5.0 Hz	2.79 d (A) 2.79 d (A') $\frac{1}{2}(J_{AX} + J_{A'X}) = 8$ Hz	ca. 1.95 m ca. 2.35 m
CO ₂ CH ₃	3.58 s	3.61 s	3.59 s	3.59 s
H-10	4.44 s	4.24 s	4.31 s	4.29 s
H-7	5.62 q (X) J _{AX} + J _{BX} = 7 Hz	5.52 t (X) J _{AX} + J _{MX} = 10.5 Hz	5.76 t (X) J _{AX} + J _{A'X} = 16 Hz	3.15 m 3.15 m

s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quadruplett, m = Multiplett

Die aus den NMR-Spektren für Aklavinon-II geschlossene Struktur des 7-epi-Aklavins wird durch die folgenden ZD-Befunde erhärtet:

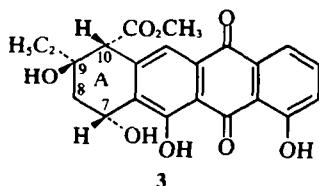
Brockmann jr. und Legrand haben gezeigt, dass schon allein das Asymmetriezentrum an C-10 der Anthracyclonone den charakteristischen s-förmigen Verlauf der ZD-Spektren bedingt.⁶ Eine Konfigurationsumkehr an diesem Kohlenstoffatom lässt eine Inversion des Zirkulardichroismus erwarten. Das gleiche gilt für C-7. Marsh und Mitarbeiter⁸ synthetisierten zwei diastereoisomere Analoga des Daunomycins, die im Anthracyclononenteil des Moleküls jeweils nur ein asymmetrisches C-Atom in 7-Stellung enthalten. Die ZD-Kurven haben ebenfalls einen s-förmigen Verlauf im Bereich von 270–390 nm. Auch hier zeigen die enantiomeren Verbindungen umgekehrte ZD-Kurven. In allen bisher untersuchten Anthracyclononen liegt der Ring A in der gleichen Konformation 4 vor.³ Die Effekte der chiralen Zentren an C-7 und C-10 sind gleichgerichtet, und es resultieren daher s-förmige ZD-Kurven mit entsprechend vergrößerten Amplituden. Bei diesen Verbindungen sind die Substituenten an C-7 und C-10 in Bezug auf den Chromophor analog angeordnet,⁶ sie sind *trans*-ständig mit der absoluten

Brockmann und Mitarbeiter haben solche "Inkrement-ZD-Spektren" zur Bestimmung der absoluten Konfiguration an C-7 benutzt.³ Diese Inkrementspektren erhält man durch Subtraktion der $\Delta\epsilon$ -Werte der 7-Desoxy-Verbindungen von denen der 7-Hydroxy-Verbindungen. Sie geben somit nur den Einfluss des Asymmetriezentrums an C-7 an. Unter anderem wurde die Übereinstimmung dieser Inkrementspektren mit dem des Daunomycins benutzt, um die für Daunomycinon durch chemischen Abbau nachgewiesene 7 S-Konfiguration für eine Reihe von Anthracyclononen nachzuweisen.

7-Desoxy-aklavinon (2b) haben wir aus Fermentationsansätzen unseres Stammes isoliert.⁷ Sein ZD-Spektrum (Abb. 1) stimmt mit dem des ζ -Pyromycinons (2d)⁶ überein, ist also wie dieses (und wie Aklavinon) 9R, 10R-konfiguriert. Zieht man nun die $\Delta\epsilon$ -Werte des 7-Desoxy-aklavinons von denen des Aklavins und des Aklavinon-II ab (dies ist zulässig, da nach den NMR-Spektren der Ring A in Aklavinon und Aklavinon-II die gleiche Konformation hat und diese nach Brockmann³ auch für 7-Desoxy-aklavinon vorausgesetzt werden kann), so sollten gemäss der umgekehrten Konfiguration an C-7 Inkrement-ZD-Spektren mit gegensätzlichem

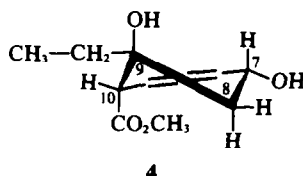
Verlauf resultieren. In 7-*epi*-Aklavinon liegt die OH-Gruppe an C-7 wegen ihrer quasi-äquatorialen Stellung hinreichend weit ausserhalb der Molekülebene, so dass ein entsprechender Cotton-Effekt zu erwarten ist.

Wie die in Abb. 1 eingeschobene Darstellung zeigt, verläuft die Inkrement-ZD-Kurve von Aklavinon-II (Kurve B) tatsächlich umgekehrt zu der des Aklavinons (Kurve A). Sie bestätigt somit für Aklavinon-II die absolute Konfiguration 7R, 9R, 10R (Formel 3).



chen Kernresonanzspektren hervorrufen würden. Für Aklavinon-I sind deshalb nur noch die folgenden 4 Konfigurationen möglich:

A (7S, 9R, 10S) und B (7S, 9S, 10R) sowie die dazu spiegelbildlichen Formen C (7R, 9S, 10R) und D (7R, 9R, 10S). Da wegen der geforderten quasi-äquatorialen Stellung des Protons an C-7 (NMR-Spektrum von Aklavinon-I) für jede dieser 4 Konfigurationen eine entsprechende Konformation festliegt, bleiben für Ring A

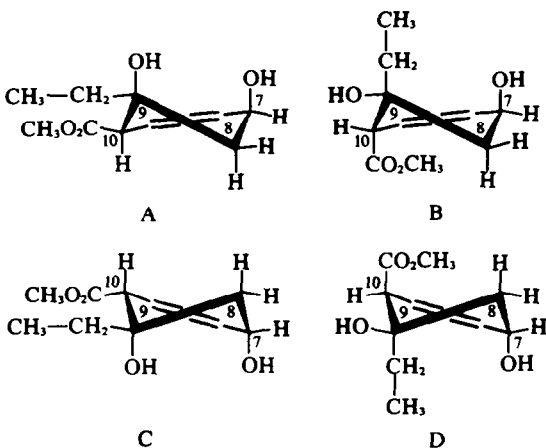


Zur Konfiguration und Konformation von Aklavinon-I

Das Kernresonanzspektrum von Aklavinon-I unterscheidet sich deutlich von dem des Aklavinons bzw. Aklavinon-II (Abb. 3). Die chemischen Verschiebungen der beiden Protonen an C-8 liegen wesentlich weiter auseinander. Diese bilden zusammen mit dem Proton an C-7 ein AMX-Spinsystem, das praktisch nach erster Ordnung ausgewertet werden kann. Da beide vicinale Kopplungskonstanten ($J_{AX} = 5.5$ Hz, $J_{MX} = 5.0$ Hz) für eine axial-axial-Kopplung zu klein sind, muss das Proton an C-7 quasi-äquatorial stehen. Damit steht für alle in Betracht kommenden Konfigurationen bereits eine entsprechende Halbsessel-Konformation fest.

Von den auf Grund der 3 Asymmetriezentren möglichen 8 Konfigurationen scheiden 4 für Aklavinon-I aus, nämlich 7S, 9R, 10R (Aklavinon) und 7R, 9R, 10R (Aklavinon-II), deren NMR-Spektren bereits vorliegen, sowie die beiden spiegelbildlichen Strukturen dieser Verbindungen 7R, 9S, 10S und 7S, 9S, 10S, da sie in achiralen Lösungsmitteln (wie z. B. Pyridin) die glei-

des Aklavinon-I nur die folgenden Möglichkeiten zu diskutieren:



Davon lassen sich B und D ausschliessen: So unterscheidet sich B von Aklavinon nur durch eine umgekehrte Konfiguration an C-9 und lässt deshalb eine ZD-Kurve mit gleichem Verlauf wie für Aklavinon erwarten, wobei die Amplitude wegen des geringen Einflusses des Asymmetriezentrums an C-9 nur wenig herabgesetzt sein sollte. Tatsächlich verläuft die ZD-Kurve von Aklavinon-I jedoch umgekehrt zu der des Aklavinons, wobei die Amplitude stark herabgesetzt ist (Abb. 1). B scheidet deshalb aus.

Entsprechende Überlegungen sind für D möglich. Sollte Ring A von Aklavinon-I diese Konfiguration haben, wäre ein zu B spiegelbildliches ZD-Spektrum zu erwarten, da es sich um Enantiomere handelt. Das gefundene ZD-Spektrum von Aklavinon-I zeigt zwar den entsprechenden Verlauf (Abb. 1), die geringe Amplitude ist aber nicht mit der *trans*-Stellung der beiden dominierenden Asymmetriezentren C-7 und C-10 in Einklang zu bringen. In beiden diskutierten Strukturen B und D hätten zudem die Äthyl- und die Carbomethoxygruppe als grösste Substituenten eine energetisch ungünstige axiale Lage.

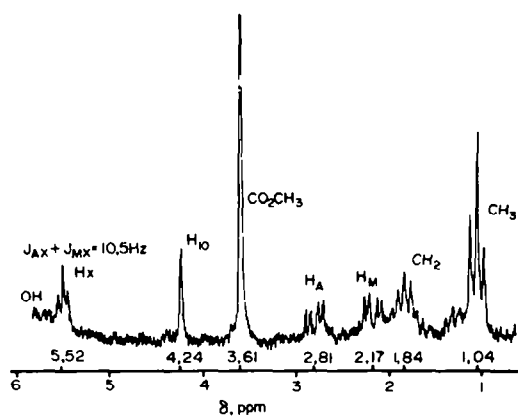
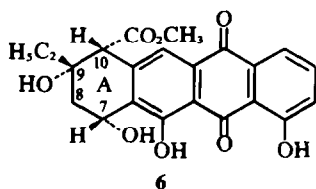
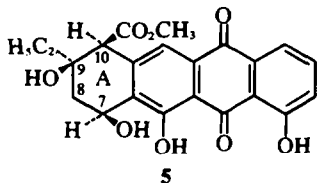


Abb 3. 100-MHz-NMR-Spektrum von Aklavinon-I in Pyridin-D₅. Die chemischen Verschiebungen sind auf Tetramethylsilan bezogen.

Als Strukturformel für Aklavinon-I kommt daher nur 10-*epi*-Aklavinon (5) mit der Konformation A oder dessen Enantiomer (6) mit der Konformation C in Frage.



A und C befinden sich auch mit rein energetischen Betrachtungen im Einklang. Sie werden durch eine Wasserstoffbrücke stabilisiert, die alle *cis*-1,3-Diole bei diaxialer Anordnung der OH-Gruppen bilden können. Ausserdem nimmt die Äthylgruppe als grösster Substituent eine äquatoriale Lage ein. Darüber hinaus spricht das IR-Spektrum von Aklavinon-I für eine weitere Wasserstoffbrücke zwischen der OH-Gruppe in 9-Stellung und der Carboxymethoxygruppe, da die Carbonylbande dieser Gruppe gegenüber Aklavinon und 7-Desoxy-aklavinon (1730 cm^{-1}) um 8 cm^{-1} nach niedrigeren Wellenzahlen verschoben ist. Diese Verschiebung ist mit einer Verbreiterung der Absorptionsbande verbunden und ist unabhängig von der Konzentration.

Aklavinon-I ist die erste Verbindung aus der Reihe der Anthracyclonone, für die im Bereich von 270–390 nm ein ZD-Spektrum mit umgekehrtem Verlauf gefunden wurde.

Dieses Spektrum spricht mehr für die Struktur 6, doch ist eine endgültige Entscheidung zwischen 10-*epi*-Aklavinon (5) und dessen Enantiomeren (6) vorerst nicht möglich, da entsprechende Vergleichsspektren sowie Substanzmengen für weitere Untersuchungen fehlen.

EXPERIMENTELLER TEIL

NMR-Spektren. Die Spektren wurden mit einem 100 MHz-NMR-Spektrometer JNM-PS-100 der Firma JEOL aufgenommen. Als Lösungsmittel wurde Pyridin-D₃ benutzt (Hexamethyldisiloxan als innerer Standard). Die chemischen Verschiebungen wurden dann auf Tetramethylsilan (TMS) umgerechnet.

ZD-Spektren. Für die ZD-Messungen (Lösungsmittel Dioxan) wurde ein Spektropolarimeter Cary 6001 mit ZD-Zusatz verwendet.

Danksagung—Wir danken Herrn Dr. H. Jancke (Berlin) für die NMR-Spektren und für die Simulation einiger ABX-Spinsysteme sowie Herrn Dr. Luck (Jena) für die ZD-Messungen.

LITERATUR

- ¹K. Eckardt, D. Tresselt und J. Tax, *Tetrahedron* **30**, 3787 (1974).
- ²J. J. Gordon, L. M. Jackman, W. D. Ollis and I. O. Sutherland, *Tetrahedron Letters*, 28 (1960)
- ³H. Brockmann, H. Brockmann jr. und J. Niemeyer, *Ibid.* 4719 (1968)
- ⁴F. Arcamone, G. Cassinelli, G. Franceschi, P. Orezzi und R. Mondelli, *Ibid.* 3353 (1968)
- ⁵J. H. Bowie and A. W. Johnson, *Chem. Soc.* 3927 (1964)
- ⁶H. Brockmann jr. und M. Legrand, *Tetrahedron* **19**, 395 (1963)
- ⁷K. Eckardt, *Chem. Ber.* **100**, 2561 (1967)
- ⁸J. P. Marsh jr., R. H. Iwamoto and L. Goodman, *Chem. Commun.* (London), 589 (1968)
- ⁹H. Brockmann und J. Niemeyer, *Chem. Ber.* **100**, 3578 (1967)
- ¹⁰H. Brockmann und J. Niemeyer, *Ibid.* **101**, 1341 (1968)