

ANTIBIOTIKA AUS ACTINOMYCETEN. ZUR STEREOCHEMIE DER GRISEORHODINE

K. ECKARDT*,† D. TRESSSEL‡ und B. SCHÖNECKER§

Akademie der Wissenschaften der DDR, Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin, Zentralinstitut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie, DDR-69 Jena

(Received in Germany 25 October 1978)

Abstract—On the basis of chemical reactions, ¹H-NMR-studies, and model inspections the configurations of the antibiotics griseorhodin A and griseorhodin C have been determined as follows: griseorhodin A C-3'(R), C-2/2'(S), C-3(R), C-4(R) or its enantiomer, griseorhodin C C-3'(R), C-2/2'(S), C-3(R), C-4(S) or its enantiomer.

Kürzlich wurde über die chemische Konstitution der Antibiotika Griseorhodin A (I) und Griseorhodin C (2a) berichtet.¹⁻⁴ Strukturanaloge Antibiotika sind die Rubromycine aus *Streptomyces collinus*⁵ und Purpuromycin, das aus *Actinoplanes ianthinogenes* N. Sp. isoliert wurde.⁶ Diese Antibiotika bestehen jeweils aus einem Hydroxynaphthochinon- und einem Isocumarinteil, die über ein Spiroketalssystem miteinander verbunden sind. Über die Stereochemie dieser in Analogie zu den Isochromanchinonen^{7,10} als Isocumarinchinon-Antibiotika zu bezeichnenden Verbindungen ist bisher nichts bekannt. Im folgenden soll über die Konfiguration der Griseorhodine berichtet werden, die im Molekül vier asymmetrische C-Atome enthalten.

Griseorhodin A lässt sich leicht zu den Derivaten 2a, 2b und 2c umsetzen. Aus diesen drei Verbindungen sind die cyclischen Acetonide 3a, 3b und 3c (Abb. 1) darstellbar. Durch diese Acetonidbildung sind wesentliche Aussagen über die Stereochemie der Verbindungen 2a-c sowie des Griseorhodin A möglich.

Zur Konstitution der Acetonide

Die Konstitution des Acetonids 3b lässt sich durch folgende Daten belegen. Die Präzisionsmassenbestimmung des Moleküllions bei 584 im Massenspektrum ergab die Summenformel C₂₂H₂₁O₁₇Cl. Weitere intensive Peaks finden sich bei [M-Aceton]⁺ bzw. [M-Aceton-Cl]⁺. Das ¹H-NMR-Spektrum von 3b enthält im Vergleich zu 2b nur noch die Signale der drei chelierten Hydroxylgruppen, während die Signale der alkothischen Hydroxyle an C-3 und C-3' fehlen (Tabelle 1). Dafür zeigt das Spektrum von 3b zwei zusätzliche CH₂-Signale des Acetonids. Alle übrigen Signale entsprechen sich in beiden Spektren, abgesehen von der bei 3b fehlenden Kopplung der Protonen an C-3 und C-3' mit den jetzt nicht mehr vorhandenen 3- und 3'-OH-Protonen.

Für die beiden anderen Acetonide lassen sich aus den Massenspektren und NMR-Daten (vgl. Tabelle 1) die Konstitutionen analog belegen.

Konfiguration des Chlorhydrins 2b

Die Bildung von cyclischen Acetoniden wird häufig zum Nachweis der sterischen Anordnung von Hydroxylgruppen herangezogen. Betrachtungen am Dreidingsmodell zeigen eindeutig, dass die Bildung der

Acetonide 3a-c aus den Verbindungen 2a-c nur dann möglich ist, wenn die OH-Gruppe an C-3' zum Ketal-sauerstoff im Ring C an C-2/2' transständig ist. In 2b kann damit die Konfiguration von C-3' und C-2/2' entsprechend der R,S-Nomenklatur⁸ nur C-3'(R), C-2/2'(R) oder C-3'(S), C-2/2'(S) sein.

Im Gegensatz zur Hydroxylgruppe an C-3' kann die Hydroxylgruppe an C-3 in 2a-c unabhängig von ihrer sterischen Anordnung, d.h. unabhängig von der Konfiguration dieses C-Atoms, zu den entsprechenden cyclischen Acetoniden reagieren. Aus der beobachteten Acetonidbildung können daher nicht unmittelbar Aussagen über die Konfiguration des C-3 gemacht werden. Die Bestimmung der Konfiguration an C-3 und auch an C-4 wird jedoch möglich, wenn zusätzlich die ¹H-NMR-Daten in Verbindung mit Modellbetrachtungen herangezogen werden.

Für das Acetonid 3b des Chlorhydrins 2b, dessen konformative Beweglichkeit im Vergleich zu 2b durch den zusätzlichen Ring G stark eingeschränkt ist, wird eine Kopplungskonstante J_{H-3,H-4} von 2 Hz gefunden (Tabelle 1). Nach der Karplus-Beziehung muss damit der Torsionswinkel zwischen den Protonen H-3 und H-4 in der Nähe von 90° liegen.

Ein solcher Winkel existiert aber nur, wenn der Sauerstoff an C-3 zum Ringsauerstoff des Ringes D an C-2/2' und auch zum Chlor an C-4 transständig ist. Bei allen anderen Anordnungen dieser Atome weichen dagegen die Torsionswinkel zwischen H-3 und H-4 für alle möglichen Konformationen erheblich von 90° ab, und es müsste deshalb eine wesentlich grössere Kopplungskonstante gefunden werden. Da bei der Bildung der cyclischen Acetonide keine konfigurationsveränderungen stattfinden, müssen beide für das Acetonid abgeleitete *trans*-Anordnungen auch für das Chlorhydrin 2b zutreffen. Für 2b gilt damit: C-3'(R), C-2/2'(R), C-3(S), C-4(S) oder C-3'(S), C-2/2'(S), C-3(R), C-4(R).

Konfiguration der Antibiotika Griseorhodin A und C

Bei der Epoxidringöffnung des Griseorhodin A zu 2a-c finden an C-3' und C-2/2' keine Veränderungen statt. Deshalb muss in Griseorhodin A die sterische Anordnung an diesen beiden C-Atomen gleich der in 2b sein. Wegen der unterschiedlichen Substitution am Ring C ergibt sich jedoch aus der Sequenzregel für das Antibiotikum die Konfiguration: C-3'(R), C-2/2'(S) oder C-3'(S), C-2/2'(R).

Für die Bestimmung der sterischen Anordnung an C-3 und C-4 ist der Verlauf der Epoxidringöffnung wesent-

*Abteilung Antibiotika-Chemie.

†Abteilung Biophysikochemie.

§Abteilung Steroidsynthese.

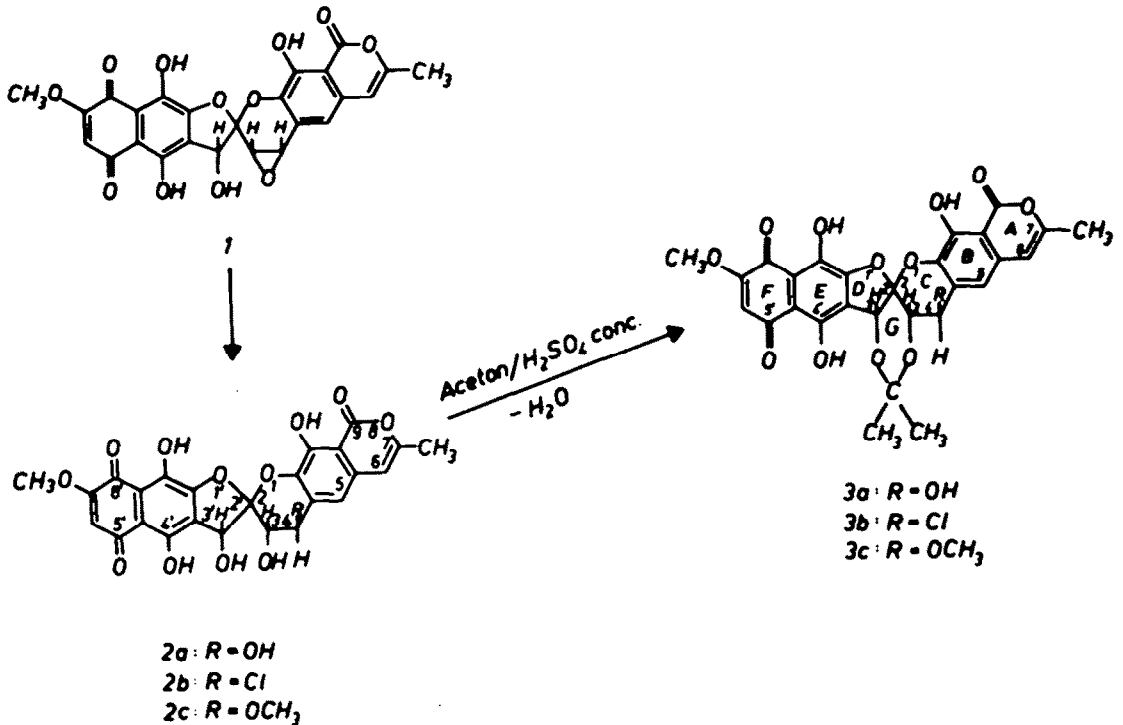


Abb. 1. Derivate des Griseorhodins A.

lich. Bei der Reaktion des Griseorhodin A zu 2b und 2c geht diese Ringöffnung eindeutig unter Eintritt des neuen Substituenten an C-4 vor sich. Würde der Eintritt von Cl^- oder OCH_3^- an C-3 erfolgen, wäre keine cyclische Acetonidbildung mit den beiden Hydroxylgruppen an Ring C und Ring D möglich. Hydroxylgruppe und neu eingetretener Substituent besitzen, wie oben erwähnt, *trans*-Anordnung. Dies bedeutet, dass die Epoxidöffnung erwartungsgemäss unter einfacher Inversion am Angriffsort C-4 verläuft. In Griseorhodin A muss der Epoxidsauerstoff daher die gleiche sterische Anordnung wie die C-3 Hydroxylgruppe in 2b und 2c haben. Für die Gesamtkonfiguration des Griseorhodin A folgt daraus C-3' (R), C-2/2' (S), C-3 (R), C-4 (R) (Abb. 2) oder die enantiomere Form C-3' (S), C-2/2' (R), C-3 (S), C-4 (S).

Über die Konstitution des Griseorhodin C (2a) wurde kürzlich berichtet.⁶ Dieses Antibiotikum lässt sich auch

durch Umsetzung von Griseorhodin A mit verdünnter Schwefelsäure in Aceton gewinnen.^{4,5} Aufgrund übereinstimmender CD-Spektren haben beide Verbindungen die gleiche absolute Konfiguration. Im Gegensatz zu 2b und 2c fehlt im Falle der Epoxidringöffnung zu 2a der eindeutige Beweis, dass die eingetretene Hydroxylgruppe an C-4 steht. 2a entsteht jedoch unter analogen Reaktionsbedingungen wie 2b und 2c. Daher ist zu erwarten, dass die Reaktion auch hier den gleichen Verlauf nimmt. Dies wird durch die auch für 2a gefundene Kopplungskonstante $J_{H-3, H-4} = 2$ Hz (Tabelle 1) unterstützt. Demnach entsteht die Hydroxylgruppe an C-3 in Analogie zur Chlorhydrinbildung aus dem Epoxidsauerstoff, und für die Gesamtkonfiguration des Griseorhodin C kann C-3'(R), C-2/2'(S), C-3 (R), C-4 (S) oder die enantiomere Form C-3' (S), C-2/2' (R), C-3 (S), C-4 (R) angegeben werden. Eine Entscheidung, welche

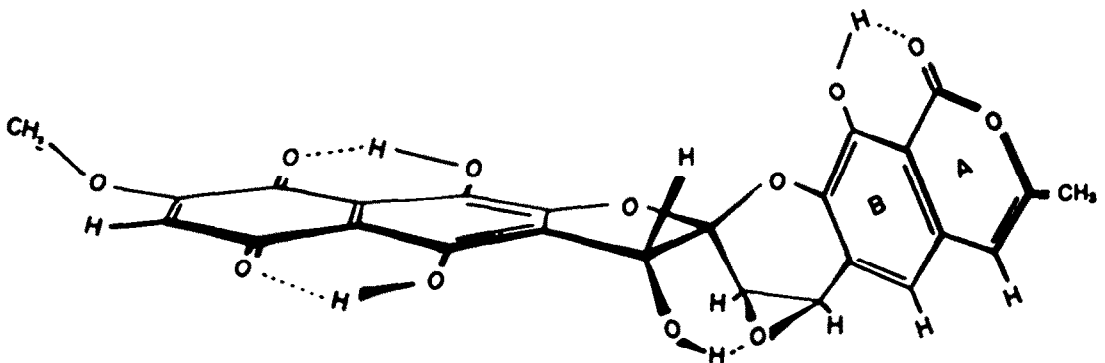


Abb. 2. Räumliche Darstellung von Griseorhodin A (von den beiden möglichen Konformationen des Moleküls, bedingt durch die konformative Beweglichkeit des Ringes C, ist diejenige abgebildet, bei der sich zwischen der Hydroxylgruppe an C-3' und dem Epoxidsauerstoff eine Wasserstoffbrücke ausbilden kann).

Tabelle 1. ¹H-NMR-Daten (δ -Werte in ppm; Lösungsmittel DMSO-d₆)

	δ_a	δ_b	δ_c	δ_d	δ_e	δ_f
Chemische Verschiebungen und Kopplungskonstanten						
4' - OH [†]	13,30 S	13,25 S	13,29 S	13,21 S	13,19 S	13,20 S
9' - OH [†]	11,77 S,V	11,81 S,V	11,83 S,V	11,75 S,V	11,77 S,V	11,73 S,V
10 - OH [†]	10,82 S	10,89 S	10,82 S	10,84 S	10,97 S	10,85 S
3' - OH [†]	6,32 (A)D	ca. 6,57 (A)D	6,42 (A)D	-	-	-
3' - H	5,23 (X)D ^{††}	5,26 (X)D ^{††}	5,26 (X)D ^{††}	5,49 S	5,52 S	5,51 S
	J _{AX} = 8 Hz	J _{AX} = 8 Hz	J _{AX} = 8 Hz			
3 - H	4,40 (A)D, D [†]	4,65 (A)D, D [†]	4,63 (A)D, D [†]	4,43 (A)D	4,79 (A)D	4,53 (A)D [§]
3 - OH [†]	5,76 (X)D	ca. 6,45 (M)D	5,91 (M)D	-	-	-
4 - OH [†]	5,76 (X ²)D	-	-	6,37 (M)D	-	-
4 - H	4,60 (M)D, D [†]	5,25 (X)	4,33 (X)D	4,71 (X)D, D [†]	5,61 (X)D	4,66 (X)D [§]
	J _{AM} = 2 Hz	J _{AX} = 2 Hz	J _{AX} = 2 Hz	J _{AX} = 2 Hz	J _{AX} = 2 Hz	J _{AX} = 2 Hz
	J _{AX1} = 5 Hz	J _{AM} = 5 Hz	J _{AM} = 5 Hz	J _{MX} = 5 Hz		
	J _{MX2} = 5 Hz					
Acetonid-OH ₃	-	-	-	1,46 S; 1,52 S	1,45 S (2xOH ₃)	1,49 S (2xOH ₃)
6 - H	6,58 (A)Q	6,57 (A)Q	6,61 (A)Q	6,62 (A)Q	6,59 (A)Q	6,64 (A)Q
7 - CH ₃	2,25 (X)D	2,25 (X)D	2,27 (X)D	2,27 (X)D	2,25 (X)D	2,25 (X)D
	J _{AX} ~ 1 Hz}	J _{AX} ~ 1 Hz}	J _{AX} ~ 1 Hz}	J _{AX} ~ 1 Hz}	J _{AX} ~ 1 Hz}	J _{AX} ~ 1 Hz}
6' - H	6,40 S	6,41 S	6,45 S	6,41 S	6,42 S	6,44 S
5 - H	7,10 S	7,17 S	7,16 S	7,14 S	7,15 S	7,17 S
7' - OCH ₃	3,90 S	3,91 S	3,94 S	3,92 S	3,92 S	3,92 S
4 - OCH ₃	-	-	3,61 S	-	-	3,54 S

†) Alle OH-Signale verschoben nach H-D-Austausch; ††) Singulett nach H-D-Austausch; †) Dublett nach H-D-Austausch;
 §) In 3₀ ist auch eine umgekehrte Signalausordnung von 3-H und 4-H möglich; S = Singulett; D = Dublett; M = doppeltes Dublett;
 Q = Quartett; V = Signal verbreitert

von den beiden enantiomeren Formen bei den Griseorhodinen vorliegt, ist nur durch Röntgenkristallstrukturanalyse oder durch chemischen Abbau möglich.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die ¹H-NMR-Spektren wurden mit einem 100 MHz-Kernresonanzspektrometer des Zentralinstituts für wissenschaftlichen Gerätebau der Akademie der Wissenschaften der DDR aufgenommen. Als Lösungsmittel wurde DMSO-d₆ benutzt (Tetramethylsilan als innerer Standard).

Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte an einem doppelfocussierenden JEOL-Gerät Typ JMS-D 100 (Beschleunigungsspannung 3 kV, Direktinlass, Probestemp. 150–250°, Ionenquellentemp. 170–270°) bei einer Elektronenstoßenergie von 75 eV. Die genauen Massebestimmungen der Molekül- und Fragmentationen wurden bei einer Auflösung von ca. 10.000 nach der "peakmatching"-Methode mit PFK als Referenzverbindung durchgeführt.

Herstellung von 2b und 2c

Die Herstellung von 2b wurde schon beschrieben.¹ Bei der säulenchromatographischen Reinigung an KH₂PO₄-behandeltem Kieselgel (Elution mit Essigsäureäthylester) folgte der schnelleren Zone von 2b eine langsam wandernde zweite Hauptzone. Die roten Eluate dieser Zone aus mehreren Säulen wurden vereinigt und zu einem kleinen Volumen eingengt. 2c kristallisierte beim Kühlen als rote Nadelchen. Umkristallisation aus Essigester. Schmp.: 280–281° (Zers.). C₂₀H₂₀O₁₁ Gef.: C, 58.09; H, 3.97. Ber. C, 57.78; H, 3.70, *m/e* [M]⁺ Gef.: 540.0928; Ber.: 540.0903.

Herstellung des Acetonids von 2b

Zur Darstellung des Acetonids wurden 100 mg 2b in 25 ml trockenem Aceton gelöst und mit 5 Tropfen konz. H₂SO₄ versetzt. Nach 24 h Stehen bei Zimmertemp. wurde die Reaktionsmischung i. Vak. auf 10 ml eingengt und danach das Reaktionsprodukt mit Eiswasser ausgefällt. Der rote Niederschlag wurde abgesaugt, zweimal mit Eiswasser und anschließend mit wenig kaltem Methanol gewaschen. Zur Reinigung wurde der gesamte Niederschlag in wenig Essigsäureäthylester gelöst und auf eine Säule (KH₂PO₄ behandeltes Kieselgel,² eingeschlümmelt mit Essigester) gegeben. Bei Elution mit dem gleichen Lösungsmittel trennte sich eine schnell wandernde rote Zone mit dem Acetonid 3b von einer langsamer wandernden Zone, die aus nicht umgesetztem Ausgangsprodukt bestand, ab. Die vorklaufende Zone wurde i. Vak. zur Trockne eingengt, der Rück-

stand in wenig Chloroform aufgenommen und 3b mit Cyclohexan ausgefällt. Ausbeute 25%. Rotes Pulver, Schmp.: 208–212°. C₂₀H₂₀O₁₁Cl; *m/e* [M]⁺ Gef.: 584.1962. Ber. 584.1893; [M-CH₂COCH₃]⁺ Gef.: 526.1536. Ber.: 526.1474; [M-CH₂COCH₂-Cl]⁺ Gef.: 491.0500. Ber.: 491.0614.

Herstellung von 3a

100 mg 2a wurden in 20 ml trockenem Aceton gelöst und mit 5 Tropfen konz. H₂SO₄ 1 h bei Zimmertemp. belassen. Das rohe Acetonid wurde wie bei der Herstellung von 2b beschrieben ausgefällt. Die Rohsubstanz wurde in wenig Chloroform gelöst und auf eine Säule gegeben (3.6 × 26 cm, KH₂PO₄-behandeltes Kieselgel, eingeschlümmelt CHCl₃-CH₂OH, 95:5). Bei Elution mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch erfolgte eine Auftrennung in mehrere rote Zonen. Die rote Hauptzone ergab nach Einengen zur Trockne 60 mg 3a, das aus Essigsäureäthylester in Form eines roten Pulvers gewonnen wurde. Schmp. 242–244°. C₂₀H₂₂O₁₁; *m/e* [M]⁺ Gef.: 566.1116. Ber.: 566.1138.

Herstellung von 3c

Die Umsetzung (120 mg 2c in ca. 70 ml Aceton) und Aufarbeitung erfolgte wie für die Herstellung von 3b beschrieben. Bei der Säulenchromatographie (Elution mit Essigsäureäthylester) bildeten sich zwei Zonen, wobei 3c aus der schneller wandernden Zone isoliert wurde. Ausbeute 40%. Hellrotes Pulver (Essigsäureäthylester), Schmp. 177–182°. C₂₀H₂₀O₁₁; Ber.: C, 60.00; H, 4.14. Gef.: C, 60.13; H, 4.29. *m/e* [M]⁺ Gef.: 580.1245. Ber.: 580.1216; [M-CH₂COCH₃]⁺ Gef.: 522.0889. Ber.: 522.0798.

Denkagung—Für die Aufnahme und Interpretation der Massenspektren danken wir Herrn Dr. W. Iha, Jena.

LITERATUR

- ¹K. Eckardt, D. Tresselt und W. Iha, *Z. Chem.* 16, 486 (1976).
- ²K. Eckardt, D. Tresselt und W. Iha, *Tetrahedron* 34, 399 (1978).
- ³D. Tresselt, K. Eckardt und W. Iha, *Ibid.* 34, 2693 (1978).
- ⁴K. Eckardt, D. Tresselt und W. Iha, *J. Antibiotics* 31, 970 (1978).
- ⁵H. Brockmann und A. Zecek, *Chem. Ber.* 103, 1709 (1970).
- ⁶M. R. Bardone, E. Martincelli, L. F. Zerilli und C. Coronelli, *Tetrahedron* 30, 2747 (1974).
- ⁷A. Zecek, H. Zühner und M. Mardin, *Liebigs Ann. Chem.* 1100 (1974).
- ⁸R. S. Cahn, Ch. Ingold und V. Prelog, *Angew. Chem.* 78, 413 (1966).
- ⁹K. Eckardt, G. Bradler und D. Tresselt, *DDR-Pat.* WP C 12D/200950 (1977).
- ¹⁰N. Tsuji, M. Kobayashi, Y. Terui und K. Tori, *Tetrahedron* 32, 2207 (1976).