

ERSTE STRUKTURANALOGA DES ANTIBIOTIKUMS MOENOMYCIN A

THOMAS SCHUBERT, KURT HOBERT und PETER WELZEL*

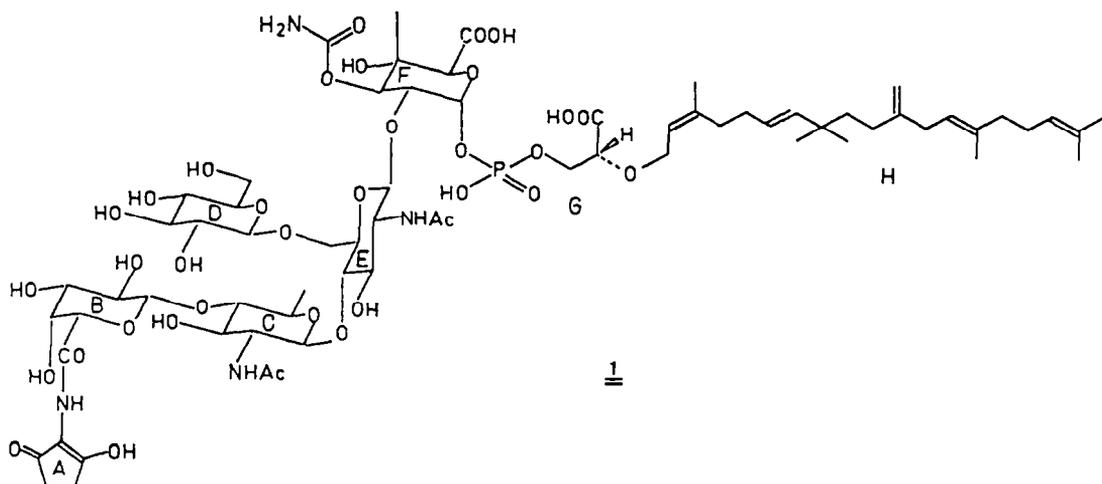
Abteilung für Chemie der Ruhr-Universität, Postfach 10 21 48, D-4630 Bochum, West Germany

(Received in Germany 26 July 1982)

Abstract—The synthesis of **8**, a structural analogue of the antibiotic Moenomycin A is reported.

Moenomycin A (**1**)¹ gehört zur Gruppe der Phosphoglycolipidantibiotika,² die in die Zellwandbiosynthese eingreifen, indem sie die Bildung der linearen Polysaccharidketten des Mureins aus einer Disaccharidzwischenstufe vom Typ **2** hemmen.^{3,4} Die sehr niedrigen ID-50-Werte wurden bei Versuchen *in vitro* von van Heijenoort *et al.* als Hinweis darauf angesehen, dass **1** wahrscheinlich nicht mit dem Substrat der Polymerisationsreaktion, sondern mit dem Enzym, einer Transglycosidase, in Wechselwirkung tritt.³

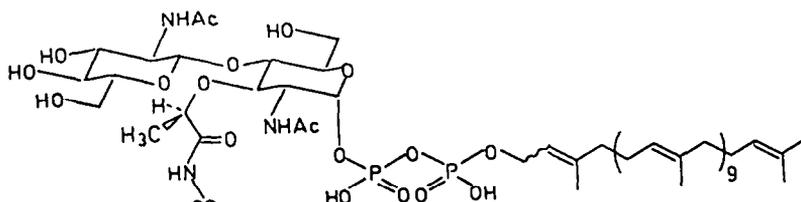
Beim Vergleich der Formeln von **1** und **2** fallen in der Tat Ähnlichkeiten im Bereich von Zuckerphosphat und Lipidteil auf, was besonders interessant im Hinblick darauf ist, dass Moenomycin A den Schritt hemmt, in dem an C-1 der Muraminsäureeinheit von **2** die Pyrophosphatgruppe abgespalten wird.³ Zur Überprüfung dieser Struktur-Wirkungs-Hypothese beschäftigen wir uns mit der Herstellung von Strukturanaloga des Moenomycin A. In dieser Arbeit berichten wir über die Synthese des einfachsten Vertreters, bestehend aus einer

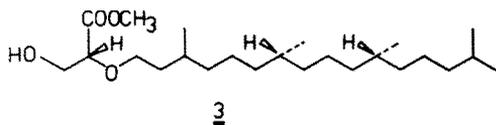


Noch vor der Veröffentlichung der Strukturformel von **1** wurde bereits vermutet, die antibiotische Wirksamkeit von **1** könne auf einer strukturellen Ähnlichkeit zwischen dem Antibiotikum und der Biosynthesezwischenstufe **2**, deren Verwendung zum Aufbau der Polysaccharidketten gehemmt wird, beruhen.⁵

Uronsäure, Phosphoglycerinsäure und einem Lipidteil. Die Synthese ging aus von dem 2-O-Alkylglycerinsäureester **3**, dessen Darstellung in der voranstehenden Arbeit beschrieben ist.⁶

Es war vorgesehen, aus **3** und Glucose einen Phosphorsäurediester vom Typ **7** herzustellen und daraus das



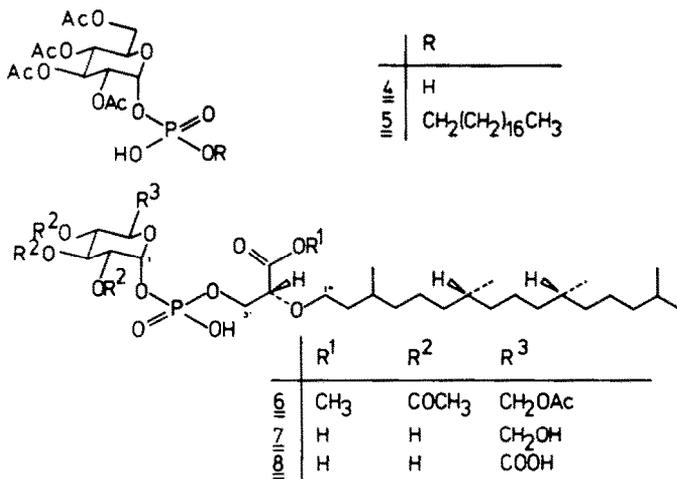
2,3,4,6 - Tetra - O - acetyl - α - D - glucopyranosyl - 1 - phosphat (4)

Herstellung nach Lit.¹⁴, Reinigung durch SC (CHCl_3 -Methanol- H_2O = 32:18:1):

1 - Octadecyl - 1 - [(2,3,4,6 - tetra - O - acetyl) - α - D - glucopyranosyl] phosphat (5)

250 mg (0.58 mmol) 4, 144 mg (0.53 mmol) 1-Octadecanol und 356 mg (1.17 mmol) 2,4,6-Triisopropylbenzolsulfonsäurechlorid (TPSCI), die 3 d über Phosphorpentoxid *i. Vak.* getrocknet waren, wurden unter Argon bei Raumtemp. in 5 ml wasserfreiem Pyridin gelöst und 24 h gerührt. Dann folgte unter Eiskühlung die Zugabe von 2 ml Wasser in 2 ml Pyridin, und es wurde nochmals

Glucuronsäurederivat 8 durch katalytische Oxidation zu erhalten. Versuche, 2,3,4,6 - Tetra - O - benzyl - D - glucopyranose und 3 mit Hilfe des Phosphorsäuretriesterverfahrens⁷ (Letsinger-Methode⁸ in der Variante von Ogilvie⁹) zu einem Phosphorsäuretriesterverfahren zu verknüpfen, führten nicht zum Erfolg.¹⁰



Die Darstellung von 6 gelang jedoch glatt nach der Phosphorsäurediester-Methode¹¹ aus 3 und dem Tetra-O-acetyl-Derivat 4 von α - D - Glucose - 1 - phosphat unter Verwendung von 2, 4, 6 - Triisopropylbenzolsulfonsäurechlorid. Die Ausbeute betrug 67%. Analog wurde in einer Modellreaktion 4 mit 1-Octadecanol zum Diester 5 verknüpft. Die Abspaltung aller Schutzgruppen aus 6 gelang durch Hydrolyse mit LiOH in THF/Wasser nach Corey¹² und lieferte die Verbindung 7 als Dilithiumsalz mit 82% Ausbeute.

Die Oxidation von Pyranosederivaten zu Uronsäuren durch katalytische Oxidation ist ein intensiv untersuchtes Verfahren.¹³ Für die Oxidation von 7 erwies es sich am günstigsten, einen grossen Überschuss an Adamskatalysator zu verwenden und die Reaktion in wässriger Lösung bei einem pH-Wert von 8.5–9.0 und bei 60° durchzuführen. Nach 3 Stunden Reaktionszeit wurde 8 (Trinatriumsalz) in einer Ausbeute von 52% erhalten.

Die Strukturen von 5–8 sind spektroskopisch gut belegt. Im FD-Massenspektrum von 6 trat das erwartete Molekülion auf. Charakteristisch ist bei 8 vor allem, dass das C-6-Signal der Glucose-Einheit (in 7 bei $\delta = 61.8$) fehlt. Die Glucose-Einheit in 7 und der Glucuronsäurebaustein in 8 wurden nach Totalhydrolyse gaschromatographisch identifiziert.

Im antibiotischen Test (Dünnschichtchromatographie und anschliessende Bioautographie) erwiesen sich 7–9 in Konzentrationen von 10 mg/ml gegenüber *Staphylococcus aureus* 209 P und *Alcaligenes faecalis* als inaktiv.

EXPERIMENTELLER TEIL

Geräte und Materialien vgl. Lit.⁶ Für die reversed phase Chromatographie wurden Lobar RP-8 Säulen (Merck) verwendet.

12 h bei Raumtemp. gerührt. *I. Vak.* wurde eingedampft, der Rückstand mehrmals mit je 3 ml Toluol versetzt und wieder zur Trockne eingedampft. SC des Rückstandes an 40 g Kieselgel (CH_2Cl_2 -Aceton-Methanol = 5:5:1) ergab 167 mg (46%) 5 weisses amorphes Pulver (nach Gefriertrocknung).—IR (CHCl_3): 3600–2800 (O–H, POH); 1740 (C=O); 1250–1200 (P=O). ¹H-NMR (250 MHz, D₂-Pyridin) δ 6.42 (br. Signal; 1-H); 6.05 (dd, $J_{3,4} = 10$ Hz, $J_{3,2} = 10$ Hz, 3-H); 5.61 (dd, $J_{4,5} = 10$ Hz, $J_{4,3} = 10$ Hz, 4-H); 5.40 (m, $J_{2,3} = 10$ Hz, 2-H); 5.22 (m, $W_{1/2} = 12.5$ Hz, CH₂-6); 4.71–4.53 (m, CH₂-1'); 4.23 (m, 5-H); 2.12, 2.11, 2.10, 2.07 (4s, Acetat-Signale); 1.75–1.00 (m, CH₂-Signale der Alkylkette); 0.90 (t, $J = 7$ Hz, CH₃-18°). FD-MS: m/z 703 (17, [M + Na]⁺); 682 (19), 681 (100, [M + H]⁺); 331 (48).

(R) - Methyl - 3 - [1 - (2,3,4,6 - tetra - O - acetyl) - α - D - glucopyranosyl] hydroxyphosphoryloxy - 2 (2,3 - dihydroxypropionat) (6)

321 mg (0.75 mmol) 4 und 303 mg (1.00 mmol) TPSCI wurden 4 d *i. Vak.* über Phosphorpentoxid getrocknet. 190 mg (0.48 mmol) 3 wurden durch mehrmaliges Eindampfen einer Pyridinlösung getrocknet und anschliessend ebenfalls 4 d über Phosphorpentoxid aufbewahrt. Die getrockneten Substanzen wurden unter Argon in 4 ml wasserfreiem Pyridin gelöst und 21 h bei Raumtemp. gerührt. Anschliessend wurde 1 ml Wasser-Pyridin 1:1 bei 0° zugespritzt und weitere 4 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 20 ml Wasser versetzt und lyophilisiert. SC des Rückstandes (CH_2Cl_2 -Aceton-Methanol = 6:5:1) und Nachtrennung einer 6 und 2,4,6-Triisopropylbenzolsulfonsäure (TPS) enthaltenden Mischfraktion im gleichen Laufmittelsystem lieferten (nach Gefriertrocknung) 248 mg (65%) 6.—IR (CHCl_3) 1745 (C=O), 1250–1200 cm^{-1} (P=O). ¹H-NMR (250 MHz, CD₃OD) δ 5.68 (dd, $J_{1,2} = 3.75$ Hz, $^3J_{1,P} = 7.5$ Hz, 1-H); 5.48 (dd, $J_{3,2} = 10$ Hz, $J_{3,4} = 10$ Hz, 3-H); 5.10 (dd, $J_{4,3} = 10$ Hz, $J_{4,5} = 10$ Hz, 4-H); ca 5.0 (2-H, verdeckt durch CD₃OD-Signal); 4.38–4.25 (m, CH₂-6); 4.22–4.08 (m, CH₂-3' und 2'-H); 3.75 (s, COOCH₃); 3.71–3.43 (m, 5-H und CH₂-1'); 2.08, 2.07, 2.01, 1.99 (4s, Acetat-Signale); 1.72–1.00 (m, CH- und CH₂-Signale der Alkylkette); 0.90–0.85 (m, CH₃-Signale). ¹³C-NMR (CD₃OD) δ 172.3–

171.0 (5 C=O-Signale); 93.4 (d, $^1J_{1,P} = ca\ 6\text{ Hz}$, C-1); 79.8 (d, $^3J_{2,P} = 9.5\text{ Hz}$, C-2); 71.7 (d, $^3J_{2,P} = 7.6\text{ Hz}$, C-2); 71.2, 70.5 (C-3 und C-5); 69.6 (C-4); 69.4 (C-1'); 67.0 (d, uncharf., $^3J_{1,P} = ca\ 5\text{ Hz}$, C-3'); 62.7 (C-6); 52.4 (CH₃, Methylester); 40.4, 38.4, 37.8, 33.8, 30.7, 29.0, 25.7, 25.3, 22.9, 20.6, 20.5, 20.1 (CH₃-Signale der Acetylgruppen und Kohlenstoffatome der Alkylkette). FD-MS m/z : 834 (3); 833 (5, [M + Na]⁺); 813 (4), 812 (54); 811 (100, [M + H]⁺); 481 (2).

(R) - 3 - (1 - α - D - Glucopyranosyl)hydroxyphosphoryloxy - 2 - (2,3 - dihydrophytyloxy)propionsäure (7)

200 mg (0.25 mmol) **6** in 4 ml THF wurden bei 0°C tropfenweise mit 70 mg (1.36 mmol) LiOH in 6 ml Wasser versetzt. Nach 15 min wurde auf Raumtemp. erwärmt und weitere 15 min gerührt. THF wurde i. Vak. abdestilliert und der wässrige Rückstand lyophilisiert. SC an 9 g Kieselgel (CHCl₃-Methanol-Wasser = 32:18:3) und Gefriertrocknung ergaben 131 mg (82%) **7**. Zur Charakterisierung wurde eine kleine Probe von **7** an einer Lobar RP-8-Säule (58 g, Methanol-Wasser = 8:2) nachgereinigt.—IR (Film, Paraffinöl) 3600–3000 (O-H); 1620 (C=O, Carboxylat-Ion); 1235 cm⁻¹ (P=O). ¹H-NMR (250 MHz, CD₃OD) δ 5.52 (dd, $J_{1,2} = 2.5\text{ Hz}$, $^1J_{1,P} = 5.5\text{ Hz}$, 1-H); 4.23–4.10 (m, 2'-H); 4.07 (m, wahrscheinliche Zuordnung: dd, $J_{3,2} = 3.5\text{ Hz}$, $^3J_{3,P} = 11\text{ Hz}$, CH₂-3'); 3.93 (dd, $J_{4,4} = 8\text{ Hz}$, $J_{5,6} = 3.5\text{ Hz}$, 5-H); 3.90–3.82 und 3.69–3.62 (m, CH₂-6); 3.70 (dd, $J_{3,4} = 9.5\text{ Hz}$, $J_{3,2} = 9.5\text{ Hz}$, 3-H); 3.50–3.30 (m, verdeckt durch CD₃OD, 2-H, 4-H und CH₂-1'); 1.73–1.00 (m, CH- und CH₂-Signale der Alkylkette); 1.00–0.83 (m, CH₃-Signale). ¹³C-NMR (CD₃OH) δ 177.9 (COOH, sehr schwach); 96.1 (C-1); 81.9 (C-2'); 73.8 (C-3 und C-5); 72.7 (C-2); 70.7 (C-4); 69.7 (C-1'); 67.6 (C-3'); 61.8 (C-6) 40.2, 38.4, 38.2, 38.0, 37.1, 33.5, 30.9, 30.7, 28.7, 25.5, 25.3, 25.2, 25.0, 23.2, 20.4, 20.2, 19.9 (C-Atome der Alkylkette).—C₂₉H₄₅O₁₁PLi₂ (658.6) Ber. C, 52.88; H, 8.72; P, 4.70; gef. C, 52.78; H, 8.45; P, 4.40% (Die Summenformel entspricht dem Dilithiumsalz mit 1 Mol Wasser.)

Nachweis von Glucose in **7**. 3.5 mg **7** wurden mit 2 ml 1.5proz. methanolischer HCl 20 h bei 70°C gerührt. Methanol wurde im Argonstrom abgeblasen, der Rückstand dreimal mit je 2 ml Methanol und 2 ml Pyridin versetzt und im Argonstrom jeweils wieder eingengt. Dann wurde 2 h über Phosphorpentoxid i. Vak. getrocknet. Anschliessend wurde das Rohprodukt mit 1 ml Pyridin/N, O-Bis(trimethylsilyl)acetamid/Trimethylchlorsilan (5:5:3) 1 h bei 50°C silyliert.—Durch vergleichende GC mit einer Probe von—nach dem gleichen Verfahren behandelte-D-Glucose konnte diese im Hydrolysat von **7** nachgewiesen werden. GC-Bedingungen: OV 17, 5 m Glaskapillare, 0.29 mm innerer Durchmesser. Temp.: Säule 3 min, 80°C, dann 80–210°C 5°/min, FID 280°. Einspritzblock 230°. Vordruck: 0.6 bar Wasserstoff.

(R) - 3 - (1 - α - D - Glucopyranosylurono)hydroxyphosphoryloxy - 2 - (2,3 - dihydrophytyloxy)propionsäure (**8**)

80 mg (0.13 mmol) **7**, 21 mg (0.26 mmol) NaHCO₃ und 199 mg (1.02 mmol) Adams-Katalysator (8-facher Überschuss) wurden in 6 ml Wasser bei 60°C unter O₂-Atmosphäre (Normaldruck) kräftig gerührt. Durch DC (CHCl₃-Methanol-Wasser = 16:9:2) konnte nach 105 min neben **7** ($R_f = 0.33$) und bereits gebildetem **8** ($R_f = 0.20$) ein weiteres Produkt ($R_f = 0.28$) nachgewiesen werden, das aus **8** entstand, wie sich bei längerer Reaktionszeit zeigte. Nach 3 h lagen **7** und das Nebenprodukt ungefähr im Verhältnis 1:1 vor und die Reaktion wurde abgebrochen. Der Katalysator wurde abzentrifugiert, die vereinigten wässrigen Phasen wurden lyophilisiert. SC des Rückstandes an einer Lobar RP 8-Säule (9 g, Methanol-Wasser = 6:4) lieferte 23 mg einer Mischfraktion von **7** und dem Nebenprodukt und 48 mg (52%) **8**

(als Trinatriumsalz) als amorphes Pulver (Gefriertrocknung).—IR (Film, Paraffinöl) 3600–3000 (O-H); 1615 (C=O, Carboxylat-Ion); 1240 cm⁻¹ (P=O). ¹H-NMR (250 MHz, CD₃OD) δ 5.60 (dd, $J_{1,2} = 3.5\text{ Hz}$, $^3J_{1,P} = 6.5\text{ Hz}$, 1-H); 4.30–4.15 (m, 2'-H); 4.14 (dd, $J_{3,2} = 6.3\text{ Hz}$, $^3J_{3,P} = 11.5\text{ Hz}$, CH₂-3'); $ca\ 4.14$ (teilweise verdeckt, 5-H); 3.75–3.45 (Multipllett komplex, 2-H, 3-H, 4-H und CH₂-1'); 1.74–1.00 (m, CH- und CH₂-Signale der Alkylkette); 0.99–0.82 (m, CH₃-Signale). ¹³C-NMR (D₂O) δ 176.6 (C=O, Uronsäure); 95.1 (C-1); 80.8 (C-2'); 72.8 (C-5, fehlte in CD₃OH/H₂O als Lösungsmittel; dafür trat bei 75.0 ein schwaches Signal auf); 72.7, 71.9, 71.1 (C-3, C-2 und C-4); 69.3 (C-1'); 66.9 (C-3'); 39.5, 37.7, 36.9, 37.1, 36.6, 36.4, 36.1, 32.9, 30.1, 28.0, 25.0, 24.7, 24.3, 24.1, 22.8, 19.9 (C-Atome der Alkylkette).—C₂₉H₄₅O₁₁Na₃P (780.8) Ber. C, 44.61; H, 7.74; P, 3.97; gef. C, 44.76; H, 7.72; P, 4.08%. (Die Summenformel entspricht dem Trinatriumsalz mit vier Mol Wasser.)

Nachweis von Glucuronsäure in **8**. 3.0 mg **8** wurden mit 2 ml 1.5proz. methanolischer HCl 20 h bei 70°C gerührt, Methanol wurde im Argonstrom abgeblasen und der Rückstand dreimal mit je 2 ml Methanol und Pyridin versetzt und jeweils wieder eingengt. Nach 3stdg. Trocknen über P₂O₅ i. Vak. wurde das Hydrolysat mit 1 ml Pyridin/N, O - Bis(trimethylsilyl) - acetamid/Trimethylchlorsilan (5:5:3) 1 h bei 50°C silyliert. Durch vergleichende GC mit einer Probe von—nach dem gleichen Verfahren behandelte - D - Glucuronsäure konnte diese im Hydrolysat von **8** nachgewiesen werden.—Glucose wurde nicht gefunden.

Danksagung—Herrn Prof. Dr. H. Budzikiewicz, Köln danken wir für die FD-Massenspektren, den Herren Prof. Dr. H. Lackner, Göttingen und Dr. H. Duddeck, Bochum für die NMR-Spektren, Herrn Dr. G. Huber, Hoechst AG für die Prüfung auf antibiotische Wirkung und dem Fonds der Chemischen Industrie und der Hoechst AG für die grosszügige finanzielle Forderung.

LITERATUR

- ¹P. Welzel, F.-J. Witteler, D. Müller und W. Riemer, *Angew. Chem.* **93**, 130 (1981); *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **20**, 130 (1981).
- ²G. Huber, In *Antibiotics* (Herausg. F. E. Hahn), Bd. V/1, S. 135. Springer, Berlin (1979).
- ³Y. van Heijenoort, M. Derrien und J. van Heijenoort, *FEBS Lett.* **89**, 141 (1978) und dort zit. Lit.
- ⁴H. Suzuki, Y. van Heijenoort, T. Tamura, J. Mizoguchi, Y. Hirota und J. van Heijenoort, *Ibid.* **110**, 245 (1980).
- ⁵P. E. Linnett und J. L. Strominger, *Antimicrob. Agents Chemother.* **4**, 231 (1973).
- ⁶Th. Schubert, F. Kunisch und P. Welzel, *Tetrahedron* **39**, 2211 (1983).
- ⁷H. Kössel und H. Seliger, *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* **32**, 297 (1975), vgl. auch M. Ikehara, E. Oktsuka und A. F. Markham, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **36**, 135 (1979).
- ⁸R. L. Letsinger und W. B. Lundsford, *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 3655 (1976).
- ⁹K. K. Ogilvie, S. L. Beaucage, A. L. Schiffman, N. Y. Theriault und K. L. Sadana, *Can. J. Chem.* **56**, 2768 (1978).
- ¹⁰Th. Schubert, Dissertation Universität Bochum (1981).
- ¹¹R. I. Zhdanov und S. M. Zhenodarova, *Synthesis* **1975**, 222; vgl. auch V. Amarnath und A. D. Broom, *Chem. Rev.* **77**, 183 (1977).
- ¹²E. J. Corey, K. Narasaka und M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 6417 (1976).
- ¹³Zusammenfassung: K. Heyns, H. Paulsen, G. Rüdiger und J. Weyer, *Fortschr. Chem. Forsch.* **11**, 285 (1969).
- ¹⁴C. D. Warren, Nasir-ud-Din und R. W. Jeanloz, *Carbohydr. Res.* **64**, 43 (1978).