

DIE KONSTITUTION DER FUNGISTATISCHEN ANSAMYCIN-ANTIBIOTICA ANSATRIENIN A UND B

Manfred Damberg, Peter Russ und Axel Zeeck*

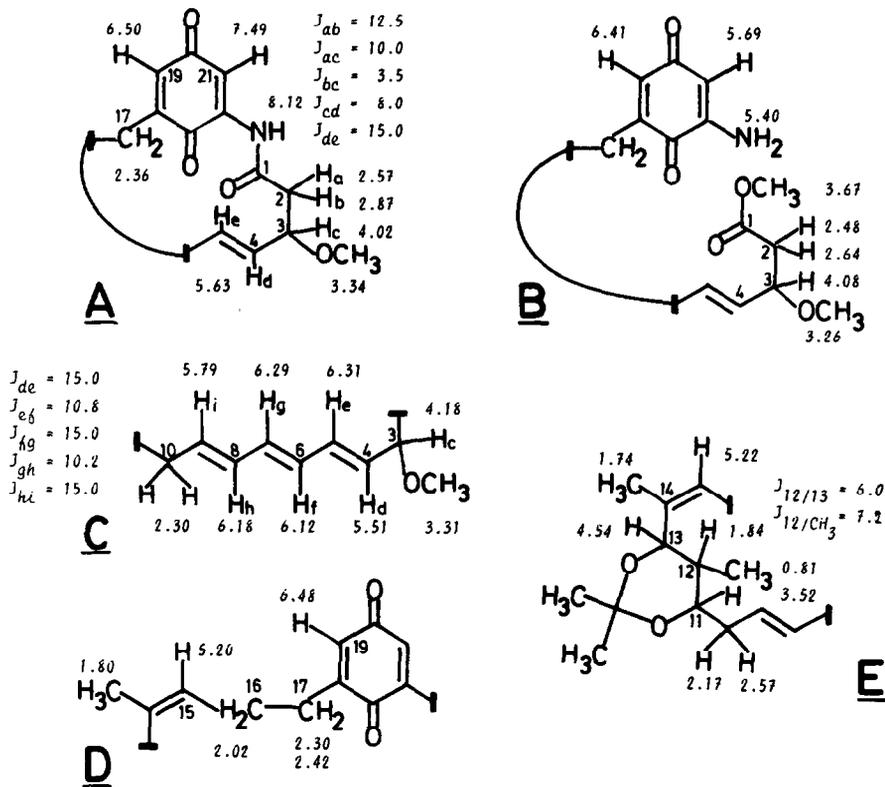
Organisch-Chemisches Institut der Universität, Tammannstr. 2, D-34 Göttingen, FRG

Summary: The structure of ansatrienin A (**1**) and B (**6**) is assigned by spin decoupling experiments and chemical reactions. The ansatrienins are unique members among the ansamycin-antibiotics because of their substituent pattern in the ansa bridge.

Die von *Streptomyces collinus* (Stamm Tü 1892) produzierten Ansatrienine sind fungistatisch wirksam und gehören zur Gruppe der Ansamycin-Antibiotica ¹⁾. Das farblose Ansatrienin B (**6**, C₃₆H₅₀N₂O₈), das vermutlich mit Mycotrienin ²⁾ identisch ist, wird als Hydrochinon leicht zum gelben Ansatrienin A (**1**, C₃₆H₄₈N₂O₈) mit einem 2-Acylamino-1,4-benzochinon-Chromophor oxidiert. Die Ansatrienine enthalten als besondere Strukturelemente ein isoliertes Trien (UV-Banden bei 281, 270, 261 nm) und eine als Ester gebundene N-Cyclohexylcarbonyl-alanyl-Seitenkette ¹⁾. Bei der Acetylierung mit Acetanhydrid/Pyridin (12 h, RT) bildet Ansatrienin A (**1**) das Monoacetat **2** [77%; C₃₈H₅₀N₂O₉; MS (70 eV): m/e 678 (M⁺, Hochoauflösung), 618 (M-60), 479 (M-199); IR (KBr): 1736, 1666 sh, 1652, 1630 sh, 1613 sh cm⁻¹] und Ansatrienin B (**6**) das Triacetat **7** [61%; C₄₂H₅₆N₂O₁₁; MS (70 eV): m/e 764 (M⁺, Hochoauflösung), 704 (M-60), 662 (M-60-42), 620 (M-60-42-42), 565 (M-199); IR (KBr): 1762, 1735 sh, 1731, 1680 sh, 1660, 1639 sh, 1618 cm⁻¹]. Die Acetate belegen die Existenz einer sekundären Hydroxygruppe in der Ansabrücke, erkennbar an der paramagnetischen Verschiebung von 13-H im ¹H-NMR-Spektrum (Tab. 1), die Acetoxy-Signale liegen bei δ = 2.02 bzw. δ = 2.00, 2.30 und 2.37. Die Konstitution der Ansatrienine folgt aus den Hochfeld ¹H-NMR-Spektren der Antibiotica und ihrer Derivate ³⁾.

Durch Einstrahlung bei δ = 4.02 (3-H) und 6.50 (19-H) von Ansatrienin A (**1**) ergibt sich die Partialstruktur **A**. Die Nachbarschaft der CH₂-Gruppe mit dem Acylamid-CO beweisen eine ²J_{CH}-Kopplung auf dem Carbonyl-C-Atom bei δ = 169.3 im ¹³C-NMR-Spektrum (Heteroentkopplung) und die Veränderung, die das Signal dieser CH₂-Gruppe im ¹H-NMR-Spektrum als Folge der Ringöffnung zum *sec*-Ansatrienin A-methylester (Partialformel **B**) ¹⁾ erfährt. Die Stellung der Methoxygruppe an C-3 ergibt sich aus den ¹H-NMR-Daten der Derivate **3** und **5** (Tab. 1) im Vergleich mit **1**.

Der Trienteil (Partialformel **C**) läßt sich im ¹H-NMR-Spektrum (Tab. 1) von Ansatrienin B (**6**) in δ₆-Aceton durch Einstrahlung bei 4-H und 9-H zuordnen, weil die Olefin-H-Signale besser getrennt sind als in den CDCl₃-Spektren. Aufgrund der 15 Hz-Kopplungen sind die Doppelbindungen des Triens



(E)-konfiguriert. An C-9 schließt sich eine CH_2 -Gruppe an. Um die restlichen Strukturelemente ¹) zu verknüpfen, sind die ¹H-NMR-Spektren der Antibiotica weniger geeignet, weil die CH_2 - und CH-Signale der Ansabrücke im Bereich $\delta = 1.2 - 2.1$ von Signalen des Cyclohexylrestes überlagert werden.

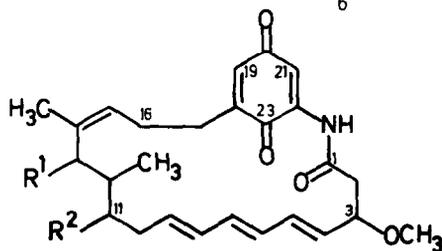
Durch selektive Reduktion [$\text{LiAlH}_4/\text{THF}$, -28°C , 1 h] der Estergruppe ⁴) von Ansatrienin A (**1**) entsteht gelbes Ansatrienol A (**3**) [72%; $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{NO}_6$; MS (70 eV): m/e 455 (M^+ , Hochoauflösung); IR (KBr): 1705, 1665 sh, 1650, 1629, 1609 cm^{-1}]. Ihm fehlen die ¹H-NMR-Signale der N-Cyclohexylcarbonyl-alanyl-Seitenkette ¹), das Signal der CH-Gruppe verschiebt sich durch die Entacylierung auf $\delta = 3.80$ (Tab. 1). Einstrahlversuche an **3** zeigen, daß die isolierte olefinische Doppelbindung der Ansatrienine über eine Ethylenbrücke mit dem Benzochinon verbunden ist (Partialformel **D**). In Übereinstimmung damit setzt **1** beim Ozonabbau [$\text{O}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, -78°C , 1 h, $\text{HCOOH}/\text{H}_2\text{O}_2$] Bernsteinsäure frei, die als Dimethylester (GC/MS-Kopplung) identifiziert wurde.

Die Strukturelemente zwischen der Doppelbindung und dem Trien lassen sich gut beim Ansatrienol-A-acetonid (**4**) erfassen, das mit 2,2'-Dimethoxypropan/p-Toluolsulfonsäure (50°C , 2 h) aus **3** entsteht [45%; $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{NO}_6$; MS (70 eV): m/e 495 (M^+ , Hochoauflösung), 437 (M-58), 405 (M-58-32); IR (KBr): 1697 sh, 1665, 1649, 1630 sh, 1600 cm^{-1}]. **4** ist sehr labil und spaltet leicht Aceton ab. Im ¹H-NMR-Spektrum (Tab. 1) liegen die Acetonid-Methylgruppen als Singulets bei $\delta = 1.31/1.34$. Aus Einstrahl-experimenten folgt die Partialformel **E**.

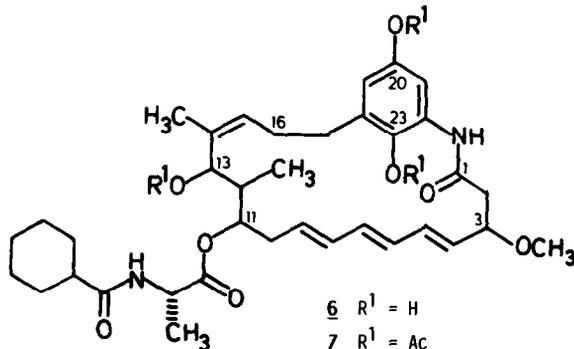
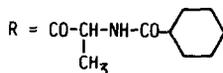
Tab. 1. $^1\text{H-NMR}$ -Daten der Ansabrücke von Ansatrienin A (1),
Ansatrienin B (6) und einigen Derivaten in CDCl_3
 δ -Werte in ppm, TMS als interner Standard

H-Atom	<u>1</u> ^{a)}	<u>2</u> ^{b)}	<u>3</u> ^{b)}	<u>4</u> ^{b)}	<u>5</u> ^{b)}	<u>6</u> ^{a,c)}	<u>7</u> ^{a)}
NH	8.12	8.21	8.12	7.98	8.37	9.48	7.97
2-H _a	2.57	2.65	2.55	2.57	2.76	2.59	2.62
2-H _b	2.87	2.83	2.83	2.83	2.76	2.89	2.74
3-H	4.02	4.05	4.03	3.97	4.09	4.18	4.07
3-OCH ₃	3.34	3.39	3.36	3.32	3.42	3.31	3.34
4-H	5.60	5.58	5.58	5.61	5.60	5.51	5.65
5-H					6.14	6.31	
6-H	6.04	6.08	6.06	6.0-		6.12	6.16
7-H				6.24	6.04	6.30	
8-H						6.18	
9-H	5.60	5.58	5.75	5.81	5.44	5.79	5.72
10-H _a	2.36	2.2-	2.50	2.17	2.2-	2.32	2.34
10-H _b	2.57	2.6	2.60	2.57	2.6	2.32	2.52
11-H	4.95	4.87	3.80	3.52	5.30	4.88	4.70
12-H	1.75	~2.0	1.66	1.84	3.16	1.89	2.17
12-CH ₃	0.88	0.95	0.93	0.81	1.09	0.77	0.99
13-H	4.70	5.61	4.87	4.54	---	4.86	5.61
14-CH ₃	1.80	1.68	1.80	1.74	1.97	1.72	1.66
15-H	5.18	5.31	5.20	5.22	5.76	5.20	5.39
16-H ₂	2.03	2.0-	2.02	2.17	2.34	2.1-	2.17
17-H ₂	2.36	2.6	2.30	2.2-	2.2-	3.0	2.42
			2.42	2.6	2.6		

a) 360 MHz b) 200 MHz c) in d_6 -Aceton



	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
R ¹	OH	OAc	OH	$\begin{matrix} \text{O} \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{O} \end{matrix}$	=O
R ²	OR	OR	OH	$\begin{matrix} \text{O} \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{O} \end{matrix}$	OR



6 R¹ = H
Z R¹ = Ac

Bei der Oxidation von Ansatrienin A (1) mit Mangan(IV)-oxid in Acetonitril (3 h, RT) entsteht Ansatrienin A (5) [20%; $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_3$; MS (70 eV): Kein Molekül-Ion, m/e 435 (M-199, Hochof-lösung), 403 (M-199-32), 199 ($\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_3$); IR (KBr): 1730, 1665 sh, 1649, 1630 sh, 1610 sh cm^{-1}]. Die Position der entstandenen CO-Gruppe ergibt sich aus dem Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ -Daten mit denen von 1 (Tab.1). Es fehlt das Signal bei $\delta = 4.70$ (13-H) und 12-H bzw. 15-H sind signifikant paramagnetisch verschoben. Aus der Tatsache, daß die Differenz für 15-H beim Übergang 1 \rightarrow 5 nur 0.58 ppm beträgt, schließen wir zugleich, daß die olefinische Doppelbindung (Z)-konfiguriert ist. Im Einklang damit steht die Lage ($\delta = 20.6$) der 14-CH₃-Gruppe von 1 im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum ⁵⁾.

Aus den Partialformeln A - E ergibt sich die Konstitution 1 und 6 der Ansatrienine, die durch den Benzochinon-

Chromophor dem Geldanamycin ⁶⁾, den Herbimycinen ⁷⁾ und den Macbecinen ⁸⁾ ähnlich sind. Durch die acylierte Aminosäure-Seitenkette, die L-Alanin enthält, besteht Verwandtschaft mit den Maytansinoiden ⁹⁾. Wie dort ist die Abspaltung der Seitenkette mit einem Wirkungsverlust verbunden. Biogenetisch gesehen nehmen die Ansatrienine eine Sonderstellung ein, als der Aufbau der Ansabrücke – vom vermutlichen Starter 3-Amino-5-hydroxy-benzoesäure ausgehend ^{10,11)} – mit Acetat beginnt und insgesamt nur zwei Propionatreste aufgenommen werden. Die Ansatrienine weisen unter den bislang bekannten Ansamycinen die geringste Anzahl von C-Methylgruppen auf. Das Sauerstoffmuster der Ansabrücke folgt der vermuteten Biogenese, ohne daß weitere Oxygenierungen erforderlich sind. Der Polyenteil der Ansatrienine steht nicht in Konjugation zur Amid-CO-Gruppe am Chinon.

Wir danken Prof. Dr. H. Zähler, Dr. W. Weber und Dr. G. Lazar für die Bereitstellung von Ansatrienin-Rohprodukt und die Ausführung biologischer Tests. Wir sind Herrn Dr. D. Wendisch (Bayer AG, Leverkusen) für die Aufnahme der 360 MHz- und Herrn Dipl.-Chem. R. Machinek (Göttingen) für die Aufnahme der 200 MHz-¹H-NMR-Spektren zu Dank verpflichtet. Frau B. Bittò danken wir für die tatkräftige Unterstützung bei den Experimenten. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat die Arbeiten dankenswerterweise finanziell gefördert.

L I T E R A T U R

- 1) W.Weber, H.Zähler, M.Damberg, P.Russ und A.Zeeck, Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. C 2, 122 (1981).
- 2) C.Coronelli, R.C.Pasqualucci, J.E.Thiemann und G.Tamoni, J. Antibiotics 20, 329 (1967).
- 3) R_F-Werte an Kieselgel (DC-Polygram SIL G/UV₂₅₄) in Chloroform/4% Methanol: 1 (0.47), 2 (0.61), 3 (0.19), 4 (0.63), 5 (0.53), 6 (0.07) und 7 (0.47).
- 4) M.Asai, E.Mizuta, M.Izawa, K.Haibara und T.Kishi, Tetrahedron 35, 1079 (1979).
- 5) G.Levy, R.Lichter und G.Nelson, Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, J. Wiley and Sons, New York 1981.
- 6) K.Sasaki, K.L.Rinehart jr., G.Slomp, M.F.Groscopic und E.C.Olson, J. Amer. Chem. Soc. 92, 7591 (1970).
- 7) S.Omura, H.Nakagawa und N.Sadakane, Tetrahedron Lett. 20, 4323 (1979); J. Antibiotics 33, 781 und 1114 (1980).
- 8) M.Muroi, K.Haibara, M.Asai und T.Kishi, Tetrahedron Lett. 21, 309 (1980); Tetrahedron 27, 1123 (1981).
- 9) Y.Komoda und T.Kishi, Maytansinoids, in Medicinal Chemistry (ed. by J.M.Cassady and J.D.Douros) Vol. 16, S. 353, Academic Press, New York 1980.
- 10) J.J.Kibby, J.A.McDonald und R.Rickards, J.C.S. Chem. Comm. 1980, 768; J. Antibiotics 34, 605 (1981).
- 11) O.Ghisalpa und J.Nüesch, J. Antibiotics 34, 64 (1981).

(Received in Germany 12 October 1981)