

Strukturaufklärung

Elansolid A, ein einzigartiges Antibiotikum aus *Chitinophaga sancti*: isoliert in Form von zwei stabilen Atropisomeren**

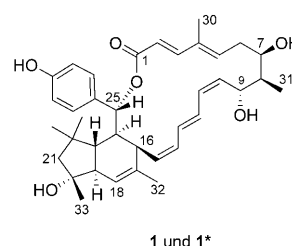
Heinrich Steinmetz, Klaus Gerth, Rolf Jansen, Nadin Schläger, Richard Dehn, Silke Reinecke, Andreas Kirschning* und Rolf Müller*

In memoriam Jürgen Wehland

Bakterien der Gattung *Flexibacter* und *Chitinophaga* sind als Produzenten biologisch aktiver Peptide bekannt. Ihre interessanten Wirkmechanismen machen sie sehr vielversprechend für die Suche nach neuen Antiinfektiva.^[1] Ein Beispiel sind die Formadine, monocyclische β -Lactamantibiotika aus *Flexibacter alginoliquefaciens*, die selektiv gegen Pseudomonaden wirken und sich als hydrolyseresistent gegen eine Vielzahl von β -Lactamasen herausgestellt haben.^[2] Die anti-MRSA-Dipeptide^[3] TAN-1057A–D, die aus *Flexibacter* sp.^[4] isoliert wurden, hemmen nachweislich die Peptidelongation der bakteriellen Translation.^[5]

Frühe Arbeiten von Steinmetz, Gerth und Höfle mit *Flexibacter*-Stämmen führten zur Isolierung neuartiger Metabolite, die als Elansolide benannt wurden. Die planare Struktur der Hauptkomponente Elansolid A1 (**1**) wurde über spektroskopische Methoden, Abbau per Kreuzmetathese in Gegenwart von Ethylengas und durch biosynthetische Überlegungen aufgeklärt.^[6] Während eines späteren biologischen Screenings der Extrakte von gleitenden Bakterien, die nicht

zu den Myxobakterien gerechnet werden, wurde die Familie der Elansolide erneut gefunden und nochmals gründlich untersucht. *Flexibacter sancti* wurde kürzlich als *Chitinophaga sancti* neu klassifiziert (comb. nov.).^[7] Damit sind die Elansolide die ersten polyketidischen Makrolactone, die von der Gattung *Chitinophaga* erhalten wurden.^[8]



Das Grundgerüst der Elansolide ist am Beispiel der Variante A1 (**1**) gezeigt. HR-ESI-MS des Molekularionenclusters $[M+H]^+$ in Kombination mit ^{13}C - und ^1H -NMR-Spektroskopiedaten in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ (Tabelle S1 in den Hintergrundinformationen) ließ auf die Summenformel $\text{C}_{37}\text{H}_{48}\text{O}_6$ schließen. Das ^{13}C -NMR-Spektrum offenbarte Signale für alle Kohlenstoffatome, und das HMQC-Spektrum ergab die Zuordnung zu den jeweiligen Protonen. Damit blieben vier austauschbare Protonen übrig.

Die aus den ^1H , ^1H -Kopplungen hergeleiteten strukturellen Untereinheiten wurden wie in Abbildung 1 gezeigt über ihre relevanten Korrelationen im HMBC-Spektrum miteinander verbunden. Aus diesen Untersuchungen folgte, dass die

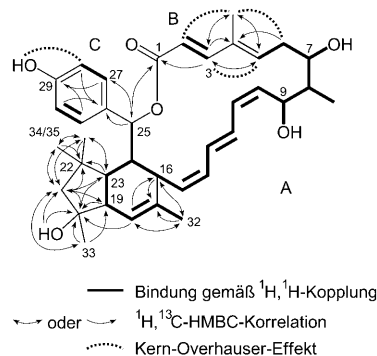


Abbildung 1. Elansolid A1/A2 (**1**/**1***) und ausgewählte Korrelationen in den 2D-NMR-Spektren von **1**.

[*] H. Steinmetz, Dr. K. Gerth, Dr. R. Jansen, S. Reinecke, Prof. Dr. R. Müller
Mikrobielle Wirkstoffe, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung
Inhoffenstraße 7, 38124 Braunschweig (Deutschland)
Fax: (+49) 531-61819499
E-Mail: rom@helmholtz-hzi.de

Prof. Dr. R. Müller
Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung des Saarlandes
Universität des Saarlandes
Postfach 151150, 66041 Saarbrücken (Deutschland)

N. Schläger, Dr. R. Dehn, Prof. Dr. A. Kirschning
Institut für Organische Chemie und Biomolekulares Wirkstoffzentrum (BMWZ), Leibniz Universität Hannover
Schneiderberg 1B, 30167 Hannover (Deutschland)
Fax: (+49) 511-762-3011
E-Mail: andreas.kirschning@oci.uni-hannover.de

[**] R.D. dankt dem Fonds der chemischen Industrie für ein Stipendium. Wir danken W. Kessler und seinen Kollegen für die Fermentation, F. Sasse für die Bestimmung der Cytotoxizität und außerdem C. Kakoschke, B. Jaschok-Kentner und E. Hofer für ihre professionelle Unterstützung bei den NMR-spektroskopischen Messungen.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (Tabellen mit den NMR-Spektroskopiedaten, ein Vergleich der biologischen Aktivitäten von Elansolid A1 (**1**) und A2 (**1***), Tabellen der beobachteten und berechneten ROESY-Spektroskopiedaten und der vicinalen Kopplungskonstanten sowie die vollständige Beschreibung der experimentellen Details und der chemisch-analytischen Daten aller Verbindungen) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201005226> zu finden.

größte Untereinheit, A, mit der Doppelbindung von B verbunden ist. Die HMBC-Korrelationen der C1-Carboxygruppe ($\delta_C = 165.7$ ppm) mit 3-H und 25-H wiesen darauf hin, dass sie an einem Makrolactonring beteiligt ist. Das Vorhandensein des Makrolactonrings wurde durch die typische Tieffeldverschiebung des 25-H-Oxymethinsignals bei $\delta_H = 5.93$ ppm unterstrichen, die durch den aromatischen Rest C an C25 verstärkt wird. Die Identität von C als *p*-Hydroxyphenylrest wurde anhand der doppelten Intensität der Methinsignale von 27-H und 28-H, der HMBC-Korrelationen und der chemischen Verschiebung der ^{13}C -NMR-Signale, vor allem von C29 ($\delta_C = 156.2$ ppm), aufgeklärt. Die Position des Phenolprotons, das ein Singulett bei $\delta_H = 9.33$ ppm ergab, konnte anhand des Kern-Overhauser-Effekts (NOE) mit 28-H in den ROESY- und NOESY-Spektren zugeordnet werden.

Das HMBC-Spektrum offenbarte weiterhin das quartäre Kohlenstoffatom C22 ($\delta_C = 37.2$ ppm), das mit den beiden geminalen C34/C35-Methylgruppen ($\delta_H = 1.21$ und 0.92 ppm) korrelierte. Ferner wurde die Verknüpfung von C20 ($\delta_C = 74.3$ ppm) mit der verbleibenden C33-Methylgruppe ($\delta_H = 1.03$ ppm) und der tertiären Hydroxygruppe 20-OH ($\delta_H = 4.48$ ppm) gefunden (Abbildung 1). Beide quartären Kohlenstoffatome und ihre Methylgruppen befinden sich in direkter Nachbarschaft zur C21-Methylengruppe ($\delta_C = 59.7$ ppm), was anhand ihrer HMBC-Korrelationen mit den geminalen Protonen 21-Ha und 21-Hb ($\delta_H = 1.69$ und 1.55 ppm) erkannt wurde. Zusätzliche HMBC-Korrelationen, die für C23 und C19 beobachtet wurden, ermöglichten die Zuordnung der restlichen Bindungen, woraus schließlich das Tetrahydroindangerüst von Elansolid A1 (**1**) hergeleitet werden konnte. Die Konfiguration der Doppelbindungen des *Z,E,Z*-Triens in **1** konnte mithilfe der vicinalen Kopplungskonstanten in Kombination mit geeigneten ROESY-Spektroskopiedaten aufgeschlüsselt werden, während die *E*-Konfiguration der $\Delta^{[4,5]}$ -Bindung durch die ROESY-Korrelationen von 3-H, 5-H und der C30-Methylgruppe bestimmt wurde.

Die *trans*-Konfigurationen von 19-H, 23-H und 24-H ($J = 11.3$ – 12 Hz) und die *gauche*-Orientierungen von 24-H und 16-H ($J = 3.8$ Hz) innerhalb der Tetrahydroindaneinheit wurden eindeutig durch die bei 60°C in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ gemessenen vicinalen Kopplungskonstanten belegt. Diese Befunde wurden durch NOE-Kontakte von 24-H mit 19-H und 16-H untermauert (Abbildung 2, links). Weitere ROESY-Korrelationen ermöglichten die Identifizierung der relativen Position der Substituenten im Cyclopentanring: a) 23-H zeigte NOEs mit den C35- und C33-Methylgruppen, und beide wiederum wiesen NOE-Kontakte mit 21-Hb auf; b) 19-H zeigte zwei NOE-Korrelationen mit 20-OH und der C34-Methylgruppe, während beide NOEs zu 21-Ha aufwiesen. Der stärkste NOE-Kontakt wurde zwischen 23-H und 15-H beobachtet.

Weiterhin konnte die Position des Lactonprotons 25-H über die Beobachtung der NOE-Signale aufgrund der engen Nachbarschaft zu den beiden C34- und C35-Methylgruppen festgelegt werden. Das nicht differenzierbare Paar aromatischer Protonen an 27-H zeigte sowohl NOEs mit 24-H, 16-H und 3-H als auch die erwarteten NOEs mit 25-H und 28-H. Daraus folgt, dass die Lactongruppe wie in Abbildung 2 gezeigt an C25 positioniert sein muss. Der Diederwinkel $\phi_{24\text{-H},25\text{-H}}$ von 87° passt sehr gut zur kleinen vicinalen Kopplungs-

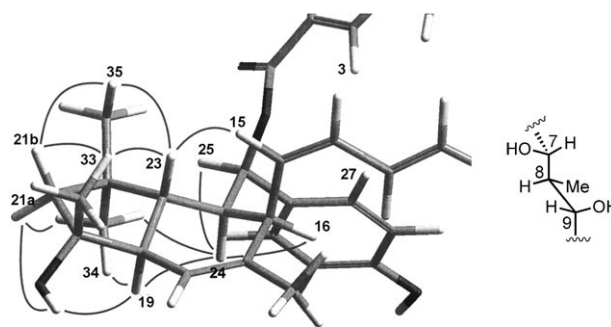
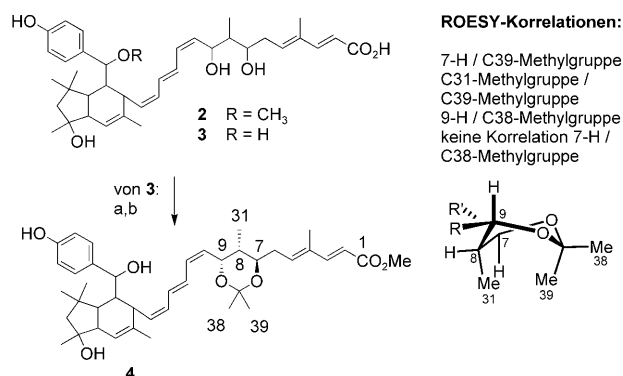


Abbildung 2. Teilsicht eines Modells von Elansolid A1 (**1**) mit ausgewählten Kern-Overhauser-Effekten (links) und vorgeschlagenen Stereozentren an C7–C9 im Lactonring von **1** (rechts) mit der relativen Konfiguration R^* ; grau C, weiß H, schwarz O.

konstanten $^3J_{24,25}$ von 2.7 Hz. Basierend auf den NMR-spektroskopischen Daten lässt sich die relative Konfiguration des Tetrahydroindangerüsts von Elansolid A1 (**1**) mit $16R^*,19R^*,20R^*,23R^*,24R^*,25R^*$ festlegen.^[9]

Da die Trieneinheit zwischen C9 und C16 eine nahezu planare Konformation einnehmen sollte, kann die relative Konfiguration des Tetrahydroindans von C16 zu C9 in die zweite Stereodomäne ausgedehnt werden: Die Kopplungskonstante $^3J_{9,10}$ von 8.8 Hz lässt auf eine *transoide* Orientierung der Protonen 9-H und 10-H schließen, was durch einen sehr starken NOE-Kontakt zwischen 9-H und 12-H untermauert wird. Da die Tetrahydroindan-Trien- und die Dien-Lacton-Einheit starre Abschnitte innerhalb des C-Gerüsts sind, ist der gesamte makrocyclische Lactonring sehr gespannt und bietet im Inneren keinen Platz für die 9-OH-Gruppe *exo*-orientiert sein sollte. Aus diesen Überlegungen folgt, dass die relative Konfiguration an C9 ebenfalls R^* sein muss. Eine kleine Kopplungskonstante von 4 Hz für $^3J_{8,9}$ und eine große Kopplungskonstante von 8 Hz für $^3J_{7,8}$ (Tabelle S1 in den Hintergrundinformationen) weisen auf eine *gauche*- und nahezu gestaffelte relative Orientierung hin (Abbildung 2, rechts). Damit lassen sich die Konfigurationen für die chiralen Zentren C7 und C8 ebenfalls mit R^* festlegen.

Die vollständige Aufklärung der relativen und absoluten Konfiguration von **1** erfolgte über die beiden Secosäurederivate **2** und **3**, die ebenfalls aus dem Fermentationsextrakt isoliert wurden (Schema 1). Bei Derivat **2** könnte es sich um ein Artefakt handeln, das aus der Reaktion mit Methanol während der Aufarbeitung entsteht. Die HPLC/HR-ESI-MS-Analyse von Elansolid B2 (**2**) ergab die gleiche elementare Zusammensetzung wie bei **1** plus CH_3OH , d.h. $\text{C}_{38}\text{H}_{52}\text{O}_7$. Gegenüber dem ^1H -NMR-Spektrum von **1** zeigte dasjenige von **2** in $[\text{D}_6]\text{Aceton}$ (Tabelle S2 in den Hintergrundinformationen) eine zusätzliche Methoxygruppe bei $\delta = 3.1$ ppm; weiterhin war das Dublett für 25-H um $\delta = 1.3$ ppm zu hohem Feld verschoben ($\delta = 4.64$ ppm). Allerdings zeigte das Dublett immer noch die kleine vicinale Kopplungskonstante $J_{24,25}$ von 2.6 Hz, die typisch für die $25R^*$ -Konfiguration von Elansolid A1 (**1**) ist (Tabelle S5 in den Hintergrundinformationen). Die Verknüpfung zwischen der Methoxygruppe und C25 wurde über die NOE-Korrelation mit 25-H angezeigt.

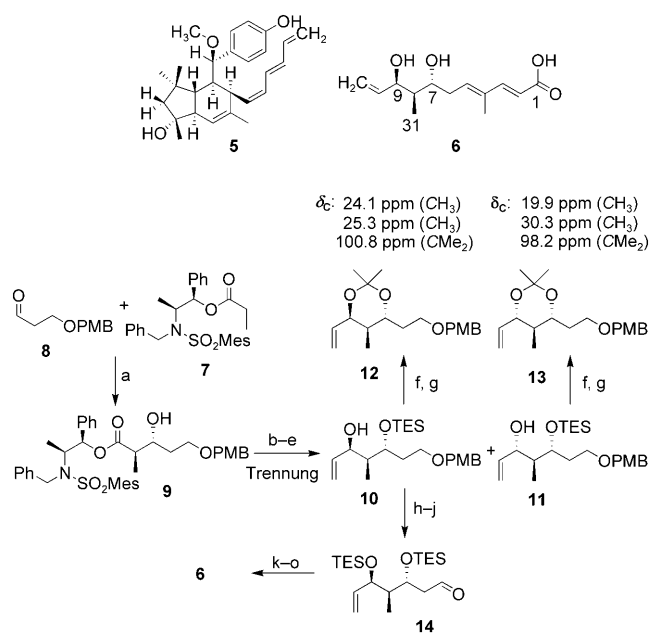


Schema 1. Synthese des Acetonids **4** und ausgewählte ROESY-Korrelationen. Reagentien und Bedingungen: a) CH_2N_2 , EtOAc, RT, 71 %; b) 2,2-Dimethoxypropan, PPTS, 18 %. PPTS = Pyridinium-*p*-toluolsulfonat.

Zusätzliche ROESY-Korrelationen stützten die Zuordnung der $25R^*$ -Konfiguration, da die Methoxygruppe Korrelationen mit 27-H und der C35-Methylgruppe zeigte. 25-H wies eine starke ROESY-Korrelation mit der C34-Methylgruppe auf, während die aromatischen Protonen 27-H eine Korrelation mit 16-H und 24-H zeigten.

Schließlich wurde die 25-Hydroxyvariante Elansolid B1 (**3**) derivatisiert (Schema 1), die ebenfalls im Rohextrakt des Stammes GBF13 gefunden und in ähnlicher Weise wie B2 (**2**) charakterisiert wurde. Die spektroskopisch hergeleiteten Beziehungen zwischen den Stereozentren an C7–C9 (siehe oben) wurden, wie in Schema 1 gezeigt, durch Anwendung der Acetonidmethode von Rychnovsky et al. untermauert.^[10] Das ^{13}C -NMR-Spektrum des Acetonids **4** zeigte die charakteristischen Verschiebungen für die C-Atome der Methylgruppen $\delta_{\text{C}} = 26.1$ und 25.0 ppm sowie für das quartäre Kohlenstoffatom des Acetonids bei $\delta_{\text{C}} = 101.0$ ppm. Diese Daten ließen auf eine 1,3-*trans*-Beziehung der Stereozentren an C7 und C9 schließen (Abbildung 2, rechts). Da der Dioxolanring in **4** eine flexible Twist-Konformation einnimmt, ist keine eindeutige Interpretation der ROESY-NMR-Experimente möglich. Allerdings stimmten die beobachteten Korrelationen, z. B. zwischen der C39-Methylgruppe und 7-H, der C39- und der C31-Methylgruppe oder der C38-Methylgruppe und 9-H, mit der R^* -Konfiguration von C7–C9 überein. Um die relative und absolute Konfiguration an C7–C9 von **1** zu belegen, wurde auf Basis dieser Analyse ein Syntheseplan entwickelt. Dazu wurde Elansolid B2 (**2**) mit dem Grubbs-Hoyveda-Katalysator der 2. Generation in einer Ethylenatmosphäre fragmentiert, um die beiden Metathesefragmente **5** und **6** zu erhalten.

Nun wurde die enantiomerenangereicherte Carbonsäure **6** gemäß Schema 2 hergestellt und mit dem Fragment **6** aus dem Naturstoff verglichen. Da die absolute Konfiguration zu diesem Zeitpunkt unbekannt war, wurde willkürlich entschieden, das *all-R*-Isomer zu synthetisieren. Die Synthese von **6** begann mit der *anti*-selektiven Masamune-Aldolreaktion des chiralen Esters **7** mit dem bekannten Aldehyd **8**,^[11] um das 2,3-*anti*-Produkt **9** zu erhalten.^[12] Nach Schützen der Hydroxygruppe und Abspaltung des Auxiliars wurde der primäre Alkohol zum Aldehyd oxidiert. Dieser wurde mit



Schema 2. Synthese des Fragments **6**. Reagentien und Bedingungen: a) Et_3N , $(\text{Cy})_2\text{BOTf}$, CH_2Cl_2 , $-78 \rightarrow 0^\circ\text{C}$, 18 h, 79 %; b) TESOTf, 2,6-Lutidin, -78°C , 70 min, 78 %; c) DIBAL-H, CH_2Cl_2 , $-78 \rightarrow -50^\circ\text{C}$, 6 h, 81 %; d) DMP, CH_2Cl_2 , NaHCO_3 , RT, 1.5 h; e) Vinylmagnesiumbromid, THF, -78°C , 1.5 h, (4,5-*anti*/4,5-*syn* = 2:1), 78 % über 2 Stufen; f) TBAF-3 H_2O , THF, 0°C , 1 h, 86 % für 4,5-*anti*, 84 % für 4,5-*syn*; g) 2,2-Dimethoxypropan, PPTS, CH_2Cl_2 , RT, 1 h, 83 % für 4,5-*anti*, 84 % für 4,5-*syn*; h) TESOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , -78°C , 40 min, 81 %; i) DDQ, CH_2Cl_2 /Puffer (pH 7), 0°C , 2.5 h, 74 %; j) DMP, CH_2Cl_2 , NaHCO_3 , RT, 18 h; k) (Carbethoxyethyliden)triphenylphosphoran, CHCl_3 , RT, 18 h, 74 % über 2 Stufen; l) DIBAL-H, CH_2Cl_2 , -78°C , 1 h, 83 %; m) DMP, CH_2Cl_2 , NaHCO_3 , RT, 18 h; n) (Carbethoxymethylen)triphenylphosphoran, Toluol, 60°C , 5 d, 57 % über 2 Stufen; o) 1 M LiOH, THF, MeOH, RT, 22 h, 54 %. Cy = Cyclohexyl, DDQ = 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon, DIBAL-H = Diisobutylaluminiumhydrid, DMP = Dess-Martin-Periodinan, Mes = 2,4,6-Trimethylphenyl, PMB = *para*-Methoxybenzyl, TBAF = Tetrabutylammoniumfluorid, TES = Triethylsilyl, Tf = Trifluormethansulfonyl.

Vinylmagnesiumbromid alkyliert, was die Allylalkohole **10** und **11** in einem Diastereomerenverhältnis von 2:1 ergab. Die Beziehung zwischen der neuen Hydroxygruppe an C5 und dem bekannten Stereozentrum an C3 wurde nach der Herstellung der Acetonide **12** und **13** und ihrer Analyse nach der Methode von Rychnovsky festgelegt. Manipulation der funktionellen Gruppen und zwei aufeinander folgende Wittig-Reaktionen vervollständigten den Aufbau des Kohlenstoffgerüsts. Die globale Entschützung und die Verseifung des Ethylesters lieferten in einem Schritt das C1–C11-Fragment **6** der Elansolide. Ein Vergleich der Drehwerte der authentischen Probe von Elansolid B2 (**2**) $\{[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +32.5$ ($c = 0.12$, MeOH) $\}$ und der synthetischen Probe **6** $\{[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +24.8$ ($c = 0.40$, MeOH) $\}$ wie auch ihre identischen NMR-Spektren legten die relative und absolute *all-R*-Konfiguration der drei Stereozentren C7–C9 fest. Da die relative Konfiguration von Elansolid A1 (**1**) vorher festgelegt worden war (siehe oben), konnten nunmehr auch die verbleibenden sechs Stereozentren in der Tetrahydroindaneinheit und an C25 bestimmt werden (Abbildung 3).

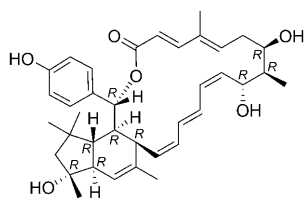


Abbildung 3. Absolute Konfiguration von Elansolid A1 (**1**).

Während der weiteren Produktion von **1** tauchte eine zusätzliche Verbindung **1*** in der analytischen HPLC des Kulturextraktes bei 7.6 min auf, die ähnliche UV- und MS-Daten wie Elansolid A1 (**1**) aufwies. Elansolid A2 (**1***) wurde durch präparative Umkehrphasen(RP-)HPLC isoliert. Die Analyse der NMR-Spektroskopiedaten in $[D_6]$ DMSO bei Raumtemperatur und bei 70 °C (Tabelle S4 in den Hintergrundinformationen) ergab unerwarteterweise die gleiche Strukturformel. Aus der HPLC-Analyse offenbarte sich eine langsame Umwandlung von **1*** in **1** ($[D_6]$ DMSO, RT, 55 %, 6 d), während die Ringöffnung zum gleichen Produkt Elansolid B (**2**) führte (MeOH/H₂O 8:2, 0.1 M NaOH 1 %, RT). Daraus wurde geschlossen, dass es sich bei den beiden Verbindungen sehr wahrscheinlich um Atropisomere handelt.

Zur Klärung der Details der Konformationen der Atropisomere wurden die NMR-Spektroskopiedaten genauer verglichen, und zur Unterstützung wurde Molecular Modeling hinzugezogen. Da einige der wichtigen Signale in $[D_6]$ DMSO sehr breit waren, wurden die NMR-Spektren von **1** und **1*** zusätzlich in $[D_6]$ Aceton (Tabelle S5 in den Hintergrundinformationen) bei Raumtemperatur und 250 K aufgenommen.

Das Molecular Modeling ging von der absoluten *all-R*-Konfiguration von Elansolid A1 (**1**) aus. Die Diederwinkel von 5-H bis 10-H wurden unter Verwendung des „Conformational Search“-Moduls ohne Einschränkungen variiert und schließlich mit der semiempirischen PM3-Methode mit HyperChem Version 8.5 optimiert.^[13] Lösungsmittelleffekte wurden nicht berücksichtigt, da die Konformation durch die Ringspannung und die Konfiguration der vier Stereozentren im Lactonring festgelegt war. Die beiden Strukturen mit den niedrigsten lokalen Minima (Abbildung 4)^[14] zeigten die erwartete, hohe Ähnlichkeit der Tetrahydroindan-, der Dien-Lacton- und der Trieneinheit sowie der Positionen der C8- und C9-Substituenten.

Die chemischen Verschiebungen (δ) im NMR-Spektrum innerhalb des bicyclischen Tetrahydroindankerns und der Dien-Lacton-Einheit von Elansolid **1** und **1*** waren nahezu identisch. In der Trieneinheit wurden unterschiedliche chemische Verschiebungen bei fast identischen Kopplungskonstanten beobachtet. Die signifikantesten Unterschiede zwischen den konformationsbezogenen NMR-Spektroskopiedaten von **1** und **1*** und zwischen beiden Modellen fanden sich im Bereich des makrocyclischen Lactons zwischen der C6-Methylengruppe und der C8-Methingruppe. Während das Modell in Abbildung 4a eine gestaffelte Orientierung von 7-H und 8-H ($\phi_{7-H,8-H} = 149^\circ$) zeigte, die gut mit der Kopplung $J_{7,8}$ von 9.4 Hz in Einklang war, wie sie für Elansolid A1 (**1**) beobachtet wurde (Tabelle S8a in den Hintergrundinforma-

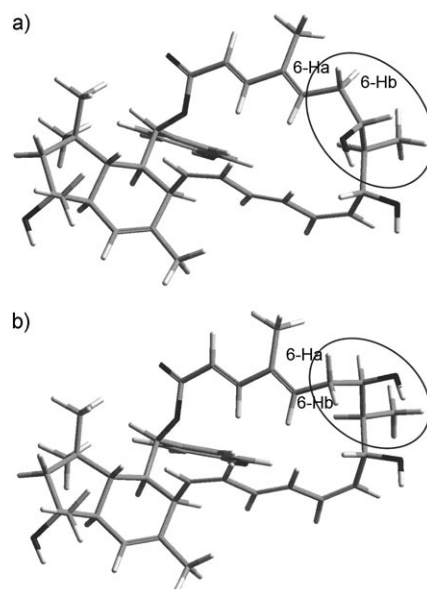


Abbildung 4. Modell von a) Elansolid A1 (**1**) und b) Elansolid A2 (**1***); grau C, weiß H, schwarz O.^[14]

tionen), war das Modell in Abbildung 4b, mit einem Torsionswinkel $\phi_{7-H,8-H}$ von 61° , nur mit der Kopplungskonstanten $J_{7,8}$ von 4.1 Hz für Elansolid A2 (**1***) kompatibel (Tabelle S8b in den Hintergrundinformationen). Die Kopplungskonstanten zwischen 5-H, 6-Ha/b und 7-H stützten diese Analyse.

In gleicher Weise wurden die berechneten vicinalen Kopplungskonstanten für die Diederwinkel der Modelle mit den beobachteten Werten verglichen (Tabellen S7a und S7b in den Hintergrundinformationen).^[15] Beide Modelle erklären die kleinen vicinalen Kopplungskonstanten von 2–4 Hz zwischen 8-H und 9-H in **1** und **1*** mit berechneten Diederwinkeln von 78° und 71° . Die relativen Positionen des Arens und des Lactonrings an der Tetrahydroindaneinheit sind in **1** und **1*** ebenfalls ähnlich, da eine auffällig kleine Kopplungskonstante von 1–3 Hz zwischen 24-H und 25-H gut zu Diederwinkeln von 87° und 77° passt.

Die wichtigsten konformativen Auswirkungen dieser Atropisomerie sind mit den Ellipsen in Abbildung 4 gekennzeichnet. In Elansolid A1 (**1**) zeigen die Methylenprotonen an C6 seitwärts aus dem Lactonring heraus, und die sekundäre OH-Gruppe an C7 ist in den Lactonring gefaltet. Diese Situation dreht sich in Elansolid A2 (**1***) um: Hier ist die C6-Methylengruppe nach innen gefaltet, während die Hydroxygruppe an C7 nach außen gerichtet ist. Folglich haben die 7-OH- und 9-OH-Gruppen eine *cisoidale* Relation in **1***, während eine nahezu orthogonale Beziehung für die Hydroxygruppen in **1** festgelegt ist, bei der die 7-OH-Gruppe aus der Abbildung heraus zeigt.

Weiterhin wurden die Intensitäten der ROESY-Korrelationen für ausgewählte Atomabstände der Atropisomere berechnet und mit den beobachteten Intensitäten verglichen (Tabellen S8a und S8b in den Hintergrundinformationen).^[16] Die drei intensivsten Kern-Overhauser-Effekte beider Elansolide entsprachen den geringen Atomabständen zwischen 1.8 und 1.9 Å für die Protonenpaare H-15/H-23, H-9/H-12

und H-13/H-16. Weitere Vergleiche der ausgewählten Abstände und NOEs zeigten eine gute Übereinstimmung zwischen den Modellen und den ROESY-NMR-Spektroskopiedaten. Die anfänglich angenommene Ringspannung zur Stabilisierung der beiden Isomere wurde aus der Abweichung der Diederwinkel $\phi_{1-O,2-H}$, $\phi_{11-H,12-H}$ und $\phi_{13-H,14-H}$ von der Planarität um 10.6° bis 16.8° im Dien und Trien in den Modellen für **1** und **1*** ersichtlich (Tabelle S9, Abbildung 4).

Die charakteristischen Unterschiede zwischen den Konformeren **1** und **1*** zeigten sich auch in den unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften, z.B. den Retentionszeiten, die von der Verteilung der Polarität auf der Oberfläche eines Moleküls abhängen. In ähnlicher Weise werden unterschiedliche biologische Eigenschaften für die beiden stabilen Konformere erwartet, da diese hauptsächlich von den Wasserstoffbrücken zwischen den Hydroxygruppen niedermolekularer Verbindungen und deren biologischen Zielen bestimmt werden. Tatsächlich unterschieden sich die beiden Elansolid-Atropisomere in ihrer biologischen Aktivität: Während Elansolid A2 (**1***) antibiotische Aktivität gegen Gram-positive Bakterien (Tabelle S6 in den Hintergrundinformationen) im Bereich von 0.2 bis 64 $\mu\text{g mL}^{-1}$ zeigte, war Elansolid A1 (**1**) nur schwach aktiv. In ähnlicher Weise wurde bis 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ keine Cytotoxizität mit L929-Mausfibroblastenzellen für **1** beobachtet, während **1*** einen IC_{50} -Wert von 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$ aufwies.

Lösungsmittelabhängige Gleichgewichte zwischen unterschiedlich gefalteten Konformationen wurden z.B. auch schon bei den 14-gliedrigen Makrolactonantibiotika Erythromycin und Oleandomycin sowie dem 16-gliedrigen Makrolid Tylosin beobachtet.^[17] Die Elansolide A1 (**1**) und A2 (**1***) unterscheiden sich von diesen Beispielen insofern, als die Spannung ihrer makrocyclischen Ringe die Atropisomerie deutlich stärker stabilisiert.^[18] Atropisomerie kleiner Ringe, in denen eine sterische Abstoßung fehlt, wurde in ähnlicher Weise wie bei **1** und **1*** z.B. auch bei Abyssomycin C und seinem synthetischen Gegenstück *atrop*-Abyssomicin C beobachtet.^[19] Unsere zukünftige Arbeit wird sich der Aufklärung der Biosynthese dieser strukturell einmaligen Klasse von Makrolactonen widmen.

Eingegangen am 20. August 2010,
veränderte Fassung am 7. Oktober 2010
Online veröffentlicht am 8. Dezember 2010

Stichwörter: Antibiotika · Atropisomere · Chitinophaga · Molecular Modeling · Strukturaufklärung

- [1] SQ 28332, 28502, 28503: a) R. Cooper, K. Bush, P. A. Principe, W. H. Trejo, J. S. Wels, R. B. Sykes, *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 1252–1257; b) R. Cooper, *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 1258–1262; c) P. D. Singh, J. H. Johnson, P. C. Ward, J. S. Wells, W. H. Trejo, R. B. Sykes, *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 1245–1251; FR901451: T. Fujita, H. Hatanaka, K. Hayashi, N. Shigematsu, S. Takase, M. Okamoto, M. Okuhara, K. Shimatani, A. Satoh, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 1359–1364; FR901451: T. Fujita, H. Hatanaka, K. Hayashi, N. Shigematsu, S. Takase, M. Okamoto, M. Okuhara, K. Shimatani, A. Satoh, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 1359–1364; d) K. Yasumuro, Y. Suzuki, M. Shibasaki, K. Teramura, K. Abe, M. Orita, *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 1425–1429; e) M. Orita, K. Yasumuro, K. Kokubo, M. Shimizu, K. Abe, T. Tokunaga, H. Kaniwa, *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 1430–1434; Topostin: f) K. Suzuki, H. Yamaguchi, S. Miyazaki, K. Nagai, S.-I. Watanabe, T. Saito, K. Ishii, M. Hanada, T. Sekine, Y. Ikegami, T. Andoh, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 154–157; g) Y. Ikegami, N. Takeuchi, M. Hanada, Y. Hasegawa, K. Ishii, T. Andoh, T. Sato, K. Suzuki, H. Yamaguchi, S. Miyazaki, K. Nagai, S.-J. Watanabe, T. Saito, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 158–162.
- [2] N. Katayama, Y. Nozaki, K. Okonogi, H. Ono, S. Harada, H. Okazaki, *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 1117–1125; T. Hida, S. Tsubotani, N. Katayama, H. Okazaki, S. Harada, *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 1128–1140.
- [3] MRSA = Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*.
- [4] N. Katayama, S. Fukusumi, Y. Funabashi, T. Iwahi, H. J. Ono, *J. Antibiot.* **1993**, *46*, 606–613.
- [5] N. Böttdeker, G. Bahador, C. Gibbs, E. Mabery, J. Wolf, L. Xu, J. Watson, *RNA* **2002**, *8*, 1120–1128.
- [6] G. Höfle, GBF-interner Jahresbericht, unveröffentlicht.
- [7] P. Kämpfer, C. C. Young, K. R. Sridhar, A. B. Arun, W. A. Lai, F. T. Shen, P. D. Rekha, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2006**, *56*, 2223–2228.
- [8] K. Gerth, H. Steinmetz, G. Höfle, EP 2 093 212A1, **2009**.
- [9] „R**“ kennzeichnet die relative R-Konfiguration.
- [10] a) S. D. Rychnovsky, D. J. Skaltzky, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 945–948; b) S. D. Rychnovsky, B. N. Rogers, T. I. Richardson, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 9–17; c) D. A. Evans, D. L. Rieger, J. R. Gage, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *49*, 7099–7100.
- [11] F. M. Cordero, F. Pisaneschi, M. Gensini, A. Goti, A. Brandi, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *12*, 1941–1951.
- [12] T. Inoue, J. Liu, D. C. Buske, A. Abiko, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 5250–5256; A. Abiko, J. Liu, S. Masamune, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2586–2587.
- [13] Das „Conformation Search“-Modul in HyperChem sucht die Konformationen, die lokale Energieminima aufweisen. Dabei werden Torsionswinkel zufällig variiert und anschließend MM + -Optimierungen zur Suche der neuen Konformationen mit lokalen Energieminima durchgeführt.
- [14] Berechnete Energien E [kcal mol⁻¹]: **1** – PM3: –9368.31, MM + : 44.456; **1*** – PM3: –9370.85, MM + : 44.410 (eine farbige Abbildung befindet sich in den Hintergrundinformationen).
- [15] C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. DeLeeuw, C. Altona, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 2783–2792 (<http://www.stenutz.eu/conf/haasnoot.php>).
- [16] D. A. Evans, M. J. Bodkin, S. R. Baker, G. J. Sharman, *Magn. Reson. Chem.* **2007**, *45*, 595–600 (Janocchio – eine Java-Anwendung zur Visualisierung von 3D-Strukturen und Berechnung von NMR-Kopplungskonstanten und NOEs: <http://janocchio.sourceforge.net/>).
- [17] a) W. E. Steinmetz, J. D. Sadowsky, J. S. Rice, J. J. Roberts, Y. K. Bui, *Magn. Reson. Chem.* **2001**, *39*, 163–172; b) P. Novak, Z. B. Tomisic, P. Tepes, G. Lazarevski, J. Plavec, G. Turkalj, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 39–47; c) P. M. Ivanov, *J. Mol. Struct.* **2002**, *606*, 217–229.
- [18] G. Bringmann, A. J. Price Mortimer, P. A. Keller, M. J. Gresser, J. Garner, M. Breuning, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 5518–5563; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5384–5427.
- [19] K. C. Nicolaou, S. T. Harrison, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 429–440, zit. Lit.