

Hans Brockmann und Axel Zeeck

Rubromycine, III<sup>1)</sup>

## Die Konstitution von $\alpha$ -Rubromycin, $\beta$ -Rubromycin, $\gamma$ -Rubromycin und $\gamma$ -iso-Rubromycin

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

(Eingegangen am 15. Januar 1970)

Alkalihydroxid isomerisiert die Antibiotica  $\beta$ -Rubromycin und  $\gamma$ -Rubromycin durch intramolekulare  $\beta$ -Eliminierung zu  $\alpha$ -Rubromycin bzw.  $\gamma$ -iso-Rubromycin und spaltet diese unter energischen Bedingungen in **5a**, **15a**, **16a** und **18a**. Damit wird aus der  $\gamma$ -iso-Rubromycin-Teilformel **4** die Konstitutionsformel **25a** und aus **3** die  $\alpha$ -Rubromycin-Formel **24**; in beiden Verbindungen ist ein Naphtho[2,3-*b*]furanochinon-(4,9)-Chromophor in 2-Stellung über eine Äthylengruppe mit C-6' eines 7,8-Dihydroxy-3-methoxycarbonyl-isocoumarin-Restes verbunden. Aus **24**, **25a** sowie dem Umlagerungsschema **1–4** ergibt sich **22** für  $\beta$ -Rubromycin und **23a** für  $\gamma$ -Rubromycin; in den antibiotisch wirksamen Rubromycinen verbindet ein Spiroketal-System den Naphthochinon-Chromophor mit dem Isocoumarin-Rest.

Rubromycins, III<sup>1)</sup>

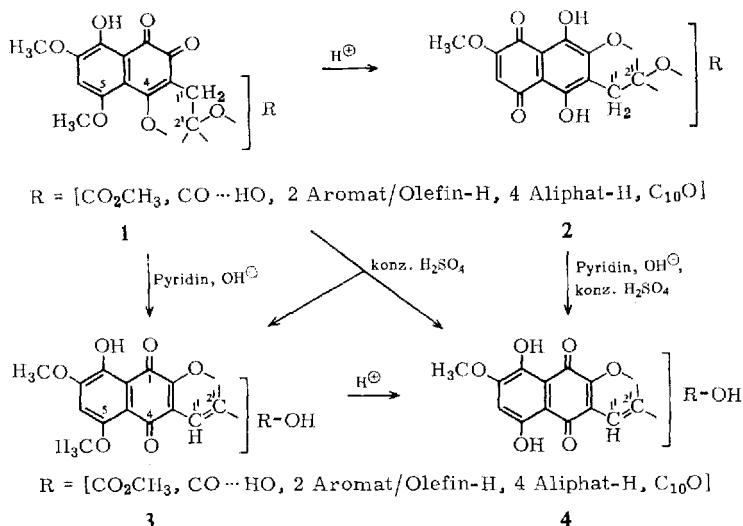
The Constitution of  $\alpha$ -Rubromycin,  $\beta$ -Rubromycin,  $\gamma$ -Rubromycin, and  $\gamma$ -iso-Rubromycin

Alkalihydroxide isomerizes the antibiotics  $\beta$ -rubromycin and  $\gamma$ -rubromycin by way of intramolecular  $\beta$ -elimination to  $\alpha$ -rubromycin and  $\gamma$ -iso-rubromycin, respectively, and cleaves these under forcing conditions to **5a**, **15a**, **16a** and **18a**. Thereby the partial  $\gamma$ -iso-rubromycin structure **4** leads to the total structure **25a**, similarly, **3** leads to **24**. In both compounds an ethylene group connects a naphtho[2,3-*b*]furanquinone-(4,9) chromophore at C-2 with that of a 7,8-dihydroxy-3-methoxycarbonylisocoumarin at C-6'. Compounds **24** and **25a** as well as the rearrangement scheme **1–4** give rise to  $\beta$ -rubromycin (**22**) and  $\gamma$ -rubromycin (**23a**); in antibiotically active rubromycins a spiroketal system connects the naphthoquinone chromophore with that of the isocoumarin residue.

Für das rote, das Wachstum von Staphylokokken, Streptokokken und *Diplococcus pneumoniae* bis zur Verdünnung  $1 : 3 \times 10^7$  hemmende Antibioticum  $\beta$ -Rubromycin und das in saurem Milieu aus ihm entstehende vier bis zehnmal wirksamere  $\gamma$ -Rubromycin hat man die Teilformeln **1** und **2** ermittelt; und für das aus **1** bzw. **2** in siedendem Pyridin hervorgehende  $\alpha$ -Rubromycin bzw.  $\gamma$ -iso-Rubromycin die Formeln **3** und **4**<sup>1)</sup>. Der unbekannt Molekülteil R ist über einen fünf- oder sechsgliedrigen Heteroring mit dem Chromophor verbunden. Sein Rest C<sub>10</sub>O enthält den spektro-

<sup>1)</sup> II. Mitteil.: H. Brockmann, W. Lenk, G. Schwantje und A. Zeeck, Chem. Ber. 102, 126 (1969).

skopischen Daten nach ein aromatisches System, das nicht mit dem Chromophor konjugiert ist. Im folgenden bringen wir die Entwicklung von 1–4 zu den Konstitutionsformeln.



### Alkalihydroxid-Abbau der Rubromycine

Konz. Säuren verwandeln α-Rubromycin (**1**), β-Rubromycin (**2**) und γ-Rubromycin (**3**) in γ-iso-Rubromycin (**4**). Um den unbekannteten Molekülteil von **4** aufzuklären, wurde zunächst versucht, ihn mit konz. Mineralsäuren oder unter Bedingungen der Ätherspaltung vom Chromophor abzulösen, doch kam es eher zu tiefgreifenden Veränderungen von Chromophor und R als zur Trennung beider.

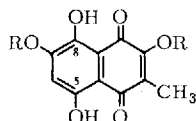
Ebenso vergeblich waren Bemühungen, den 1-Chromophor oxydativ zu zerstören und den Rest R oder einen Teil davon als definierte Verbindung zu fassen. Da Chromophor und R keine bevorzugt angreifbaren Doppelbindungen enthalten – wie Ozonisierung<sup>2)</sup> und Hydrierung der Rubromycine gezeigt haben –, wurden beide Molekülteile von allen Reagenzien ungefähr gleich schnell zerstört. Das einzige für die Konstitutionsermittlung wichtige Abbauprodukt war Bernsteinsäure, die bei Oxydation von β-Rubromycin (**1**) mit alkalischem Wasserstoffperoxid entstand<sup>2)</sup> und damit bestätigte, daß die im NMR-Spektrum der Rubromycine erkennbaren vier Aliphat-Wasserstoffatome zu einer CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>-Gruppe gehören.

Ein zur Konstitutionsaufklärung geeigneter Abbau gelang mit Alkalihydroxid. Da es **1** und **2** zunächst durch basenkatalysierte β-Eliminierung in **3** bzw. **4** überführt, die sich nur dadurch unterscheiden, daß das 5-Hydroxyl von **4** in **3** methyliert ist, war einerlei, welches Rubromycin man einsetzte. Reihenversuche zeigten, daß Alkalihydroxid den Chromophor von **4** erst unter drastischen Bedingungen von R löst; in befriedigender Ausbeute und so, daß die primären Spaltstücke weitmöglichst erhalten

<sup>2)</sup> G. Schwantje, Dissertat., Univ. Göttingen 1967.

bleiben, in einer 45 Min. auf 150° gehaltenen Schmelze aus gleichen Teilen Kaliumhydroxid und Natriumhydroxid. Ansäuern fällte aus der wäßr. Lösung der Schmelze eine rote „Chromophorfraktion“, erschöpfende Ätherextraktion entzog dem Filtrat eine „Säurefraktion“.

Aus dem ätherlöslichen Anteil einer beim Alkalihydroxid-Abbau von  $\beta$ -Rubromycin (**1**) angefallenen „Chromophorfraktion“ ließ sich durch Chromatographie an Oxalsäure-Kieselgel G in 33proz. Ausbeute<sup>3)</sup> eine kristallisierte, rote, i. Hochvak. sublimierende Verbindung  $C_{11}H_8O_6$  abtrennen. Sie zeigt in verschiedenen Lösungsmitteln ein ähnliches Elektronenspektrum wie 2.5.7.8-Tetrahydroxy-naphthochinon-(1.4) (**5b**)<sup>4,5)</sup>, ist um  $CH_2$  größer als dieses, enthält kein Methoxyl und war damit als C-Methylderivat **5a** von **5b** charakterisiert. In Analogie zu **5c**<sup>6)</sup> sollte **5a** im Tautomeriegleichgewicht **5a/6a** dominieren.



**5a:** R = H

**b:** R = H; II statt  $CH_3$

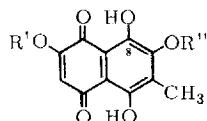
**c:** R = H;  $C_2H_5$  statt  $CH_3$

**d:** R =  $CH_3$ ; H statt  $CH_3$

**e:** R =  $CH_3$

**f:** R =  $CH_3$ ;  $CH_3O$  statt OH an C-8

**g:** R =  $CH_3$ ;  $CH_3O$  statt OH an C-5

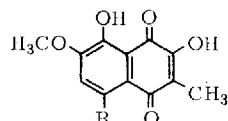


**6a:** R' = R'' = H

**b:** R' = R'' =  $CH_3$

**c:** R' =  $CH_3$ ; R'' = H;

$CH_3O$  statt OH an C-8



**7a:** R = OH

**b:** R =  $CH_3O$

**c:** R = H

Diazomethan verwandelte **5a** in einen Dimethyläther, der sich deutlich von 5.8-Dihydroxy-2.6-dimethoxy-7-methyl-naphthochinon-(1.4)<sup>7)</sup> unterscheidet. Er hat ein ähnliches Elektronenspektrum wie 5.8-Dihydroxy-2.7-dimethoxy-naphthochinon-(1.4) (**5d**), gibt NMR-Signale ( $CDCl_3$ ) für zwei chelierte Hydroxyle ( $\delta = 13.27, 12.76$  ppm), ein Aromat/Olefin-H ( $\delta = 6.25$  ppm), zwei Methoxyle ( $\delta = 4.05, 3.94$  ppm) sowie ein C-Methyl ( $\delta = 2.21$  ppm) und ist demnach ein C-Methylderivat von **5d**. Von seinen Tautomeren **5e** und **6b** dominiert in Lösung **6b**, erkennbar am relativ niedrigen  $\delta$ -Wert des Ringprotons.

Wie im C-Methylderivat von 5.8-Dihydroxy-naphthochinon-(1.4) steht auch im C-Methylderivat von **5b** das Methyl des in Lösung dominierenden Tautomeren **5a** am chinoiden Ring; in Einklang damit, daß das Redoxpotential von Naphthochinon-(1.4) durch ein  $CH_3$  an C-2 negativer wird. Umgekehrt dominiert beim C-Methylderivat von **5d** – wie der niedrige  $\delta$ -Wert (6.25 ppm) des Ringprotons zeigt – das Tautomere mit Methyl im benzoiden Ring (**6b**). Der Einfluß einzelner Substituenten auf die Lage des Tautomeriegleichgewichtes ist demnach bei Hydroxy-naphthochinonen nicht immer additiv.

<sup>3)</sup> Alle Ausbeuten sind auf die zum Alkaliabbau eingesetzte Rubromycinmenge bezogen.

<sup>4)</sup> Zuerst synthetisiert von W. Lenk, Dissertat., Univ. Göttingen 1961.

<sup>5)</sup> S. Natori, Y. Kumada und H. Nishikawa, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **13**, 633 (1965).

<sup>6)</sup> R. E. Moore, H. Singh, C. W. J. Chang und P. J. Scheuer, J. org. Chemistry **31**, 3638 (1966).

<sup>7)</sup> E. Widmer, J. W. Meyer, A. Walser und E. Hardegger, Helv. chim. Acta **48**, 538 (1965).

Aus anderen, vor **5a** wandernden Chromatogramm-Zonen des ätherlöslichen Anteils der „Chromophorfraktion“ wurden zu 1%<sup>3)</sup> 2.5.8-Trihydroxy-7-methoxy-3-methyl-naphthochinon-(1.4) (**7a**) und zu 6% 2.8-Dihydroxy-5.7-dimethoxy-3-methyl-naphthochinon-(1.4) (**7b**) isoliert<sup>8)</sup>. Ihre Entstehung bestätigt die in **1** und **3** angegebene Stellung der Chromophor-Methoxyle von  $\beta$ - bzw.  $\alpha$ -Rubromycin.

Da sich  $\beta$ -ständige Äthergruppen von Naphthochinonen-(1.4) durch Alkalihydroxid leicht verseifen lassen (vinyloge Alkylester), wird beim Abbau **3**  $\rightarrow$  **7b** offenbar zunächst die Ätherbrücke an C-2 gespalten und dann erst – unter Bildung des **7b**-Methyls – die Bindung zwischen C-1' und C-2'; während die Methoxyle am benzoiden Ring die drastischen Hydrolysebedingungen in merklichem Ausmaß überstehen.

Aus einer zwischen **7a** und **7b** wandernden Zone erhielt man zu 1.5% eine gelbrote, kristallisierte Verbindung  $C_{12}H_{10}O_5$ ; nach IR-Spektrum (CO-Chinon bei 1621/cm mit Schultern bei 1642, 1667/cm) und Elektronenspektrum (breites Maximum bei 472  $m\mu$  in Chloroform, bathochrome Bandenverschiebung in Acetanhydrid/Pyroboracetat) ein Naphthochinon-(1.4) mit nur einem *peri*-Hydroxyl. Die Löslichkeit in wäbr. Natriumhydrogencarbonat (gelbrot) bewies Anwesenheit eines  $\beta$ -ständigen Hydroxyls (IR-OH bei 3390/cm). Das 100 MHz-NMR-Spektrum in Aceton- $d_6$  zeigte an: Zwei Hydroxyle, davon eines cheliert ( $\delta = 11.85, 9.04$  ppm); zwei benachbarte Aromat-H ( $\delta = 7.57, 7.21$  ppm mit AB-Kopplung von 9.5 Hz); ein Methoxyl ( $\delta = 3.98$  ppm). In  $CDCl_3$  war ferner sichtbar ein C-Methyl-Signal bei  $\delta = 2.06$  ppm (wegen Schwerlöslichkeit der Substanz sind nur die Singulets der Intensität 3 auswertbar).

Aus den  $\delta$ -Werten ergab sich außerdem: 1. Cheliertes und  $\beta$ -ständiges Hydroxyl sind dem gleichen Chinoncarbonyl benachbart, denn nur bei dieser Stellung geben Hydroxynaphthochinone für OH-cheliert ein Signal, das wie in unserem Abbauprodukt etwa 1 ppm weiter feldaufwärts liegt als normal ( $\delta = 13.0$  ppm)<sup>8,9)</sup>. 2. Das Aromat-H mit  $\delta = 7.57$  ppm ist *peri*-ständig zu einem Chinoncarbonyl, denn sein Signal liegt bei relativ tiefem Feld<sup>9)</sup>. 3. Das C-Methyl steht am chinoiden Ring eines Naphthochinons-(1.4), denn sein  $\delta$ -Wert ist kleiner als 2.1 ppm<sup>8)</sup>. Danach lag 2.8-Dihydroxy-7-methoxy-3-methyl-naphthochinon-(1.4) (**7c**) vor und damit ein Abbauprodukt, dem dank reduzierender Wirkung der Alkalihydroxidschmelze<sup>10)</sup> das 5-Methoxyl des Chromophors von  $\beta$ -Rubromycin (**1**) bzw.  $\alpha$ -Rubromycin (**3**) fehlt.

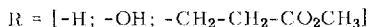
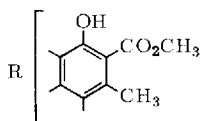
### Die Konstitution der Rubromycin-Abbausäure $C_{11}H_{12}O_6$ (**15a**)

Aus der kurz mit Diazomethan behandelten „Säurefraktion“ des Alkalihydroxid-Abbaus erhielten wir bei Chromatographie aus Benzol an saurem Kieselgel zu 29%<sup>3)</sup> eine farblose, kristallisierte, i. Hochvak. sublimierbare und in 2*n* Alkalihydroxid gelb lösliche Verbindung  $C_{13}H_{16}O_6$  mit zwei Methoxylen und  $\lambda_{max}$  (Cyclohexan) 327  $m\mu$  ( $\epsilon = 3660$ ), 258 (13700). Acetanhydrid/Perchlorsäure überführte sie in ein Diacetat, Eisen(III)-chlorid gab in Äthanol eine vergängliche Blaufärbung.

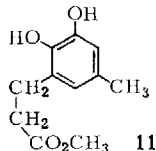
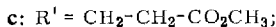
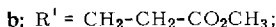
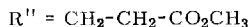
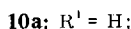
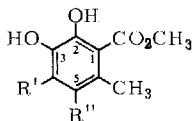
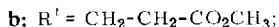
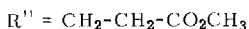
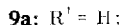
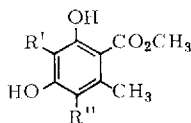
<sup>8)</sup> Beschreibung und Zuordnung verschiedener **5a**-Methyläther vgl. H. Brockmann und A. Zecek, Chem. Ber., in Vorbereitung.

<sup>9)</sup> R. E. Moore und P. J. Scheuer, J. org. Chemistry **31**, 3272 (1966).

<sup>10)</sup> G. Lock, Ber. dtsch. chem. Ges. **63**, 551 (1930).



8



11

Das 60 MHz-NMR-Spektrum ( $CDCl_3$ ) zeigt an: Zwei Hydroxyle, davon eines cheliert [Singulett bei  $\delta = 11.55$  und  $5.80$  ppm, bei Zugabe von  $D_2O$  verschwindend]; zwei Methoxyle [Singulett bei  $\delta = 3.96$  und  $3.68$  ppm]; ein Aromat-Methyl [Singulett bei  $\delta = 2.44$  ppm]; eine von protonenfreien C-Atomen flankierte  $CH_2-CH_2$ -Gruppe [symm. Multiplett,  $\delta = 2.95, 2.67$  ppm]; ein Aromat-H [Singulett bei  $6.53$  ppm]. Laut IR-Banden bei  $1710$  und  $1653/cm$  sind außerdem vorhanden: CO (Ester) und CO (cheliert).

Da die Summe aus Aromat-H und den Bruttoformeln der funktionellen Gruppen  $C_7H_{16}O_6$  ist, mußte der Rest von  $C_{13}H_{16}O_6$  ein Benzolkern sein, von dessen C-Atomen eines mit H verbunden ist. Als Träger der acht funktionellen Gruppen stehen somit nur fünf C-Atome zur Verfügung, d. h. die beiden Methoxyle und Carbonyl gehören zu zwei Methoxycarbonylgruppen, von denen eine über die  $CH_2-CH_2$ -Gruppe mit dem Kern verknüpft ist. Das andere Methoxycarbonyl ist — erkennbar an der niedrigen Wellenzahl seiner IR-Bande — dem OH mit Singulett bei  $\delta = 11.55$  ppm benachbart; desgleichen der Methylgruppe. Denn deren Signal liegt wie das anderer *o*-Methyl-benzoesäure-Derivate bei relativ tiefem Feld ( $\delta = 2.44$  ppm), im Decarboxylierungsprodukt **11** der Abbausäure (s. unten) dagegen bei  $\delta = 2.24$  ppm (wie in 2,5-Dihydroxy-4-methyl-benzoesäure-methylester). Damit ergab sich für den Abbausäure-dimethylester die Teilformel **8**. Ihr entsprechend zeigt das Massenspektrum des Esters Bruchstücke großer Häufigkeit mit Masse  $M-32$  und  $M-60$ ; charakteristisch für *o*-Stellung von OH bzw.  $CH_3$  und  $CO_2CH_3$ .

Für die in **8** ausgeklammerten Substituenten kamen sechs Stellungen in Betracht; je zwei für *ortho*-, *para*- oder *meta*-Stellung der beiden OH-Gruppen. *p*-Stellung der Hydroxyle wurde ausgeschlossen durch die Indifferenz des Abbausäure-dimethylesters gegen Chloranil oder Fremy-Salz, die Hydrochinone zu Chinonen dehydrieren.

Für *meta*-Stellung der Hydroxyle und damit für **9a** oder **9b** sprach, daß der  $\delta$ -Wert des Aromat-H-Signals von Dimethylester und Dimethylester-diacetat ( $\delta = 6.53$  bzw.  $7.03$  ppm) besser mit dem für **9a** und **9b** bzw. **9a**- und **9b**-Diacetat berechneten<sup>11)</sup> ( $\delta = 6.45$  bzw.  $6.59$  ppm,  $\Delta\delta = 0.08$  ppm) übereinstimmt, als mit dem berechneten  $\delta$  der anderen vier Isomeren ( $\Delta\delta = 0.12 - 0.27$  ppm). Dennoch zeigte die Synthese der noch nicht beschriebenen Ester **9a** und **9b**<sup>12)</sup>, daß keiner mit dem Abbausäure-dimethylester identisch war und dieser demnach **10a** oder **10b** sein mußte. Die Bestätigung und Entscheidung zugunsten von **10b** (Diacetat **10c**) brachte die Decarboxylierung der Abbausäure und der durch NMR-Spektrum (*meta*-Kopplung der beiden Aromatprotonen) sowie durch Synthese geführte Beweis, daß der kristallisierte Methylester des Decarboxylierungsproduktes die Konstitution **11** hat<sup>12)</sup>. Die Abbausäure ist demnach die 2,3-Dihydroxy-6-methyl-4-[2-carboxy-äthyl]-benzoesäure (**15a**).

Da von den siebenundzwanzig C-Atomen des  $\alpha$ -Rubromycins (**3**) bzw.  $\beta$ -Rubromycins (**1**) insgesamt fünfundzwanzig in **14**, **15a** und das Methanol aus der  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ -Gruppe von **1** bzw. **3** übergehen, war so gut wie ausgeschlossen, daß eines der beiden restlichen C-Atome von **3** zwischen C-2' und dem O-Atom des chinoiden Ringes steht. Damit wurde aus **3** die  $\alpha$ -Rubromycin-Teilformel **12a** und aus **4** die  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin-Teilformel **12b**.

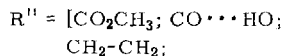
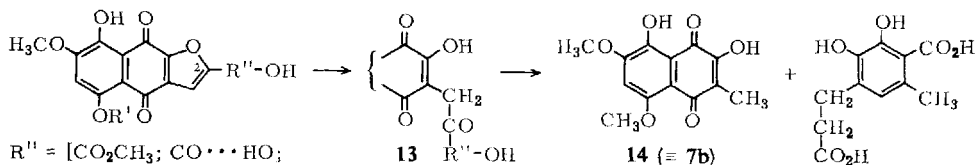
Nach **12a** verläuft der Abbau von  $\alpha$ -Rubromycin zu **14** und **15a** in drei Phasen: 1. Verseifung der  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ -Gruppe und Abspaltung von zwei C-Atomen aus R''. 2. Hydrolytische Öffnung des Furanringes, erleichtert durch den benachbarten Chinonring. 3. „Säurespaltung“ des entstandenen **13** zu **14** und **15a**. Demnach geht C-2 des **12a**-Furanringes in eine der beiden Carboxygruppen von **15a** über; in die der Seitenkette, wenn Chromophor und R'' von **12a** wie in **16a** verbunden sind, in das Aromat-Carboxyl von **15a** dagegen, wenn dessen Ring wie in **17** am Furanring von **12a** steht. Da Chromophor und R der Rubromycine nicht miteinander konjugiert sind<sup>1)</sup>, kam nur Verknüpfung nach **16a** in Betracht. Bewiesen wurde sie durch Isolierung von zwei Abbauprodukten, die noch die Chromophor-R''-Bindung von **12a** enthalten.

## Die Abbauprodukte **16a** und **18a**

Ein Abbauprodukt, in dem der Chromophor von  $\alpha$ - bzw.  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin noch mit dem Rest **15b** der Abbausäure **15a** verbunden ist (z. B. **16a**), wäre bei der oben beschriebenen Chromatographie der ätherlöslichen Chromophorfraction zusammen mit braunen Zersetzungsprodukten in der obersten Zone verblieben; nicht dagegen, wenn man die adsorptionsaktive Carboxygruppe vorher verestert hätte. Bei der Suche nach Abbauprodukten wie **16a** haben wir daher die ätherlösliche Chromophorfraction vor der Chromatographie kurz mit Diazomethan behandelt. Dabei entstehen aus **5a**, **7a** und **7b** = **14** verschieden weit methylierte Derivate, die durch Vergleich mit authentischen Präparaten identifiziert wurden. Diese erhielten wir durch Diazomethan-Methylierung von **5a** sowie **7b** und chromatographische Trennung der verschiedenen Methyläther, deren Konstitution man durch Elektronen-, IR-, NMR- und Massen-Spektrometrie ermittelte<sup>8)</sup>.

<sup>11)</sup> J. A. Ballantine und C. T. Pillinger, Tetrahedron [London] **23**, 1691 (1967).

<sup>12)</sup> H. Brockmann und H. Greve, Chem. Ber., in Vorbereitung.



2 Aromat/Olefin-II;  $\text{C}_8\text{O}$ ]

**12a:**  $\text{R}^1 = \text{CH}_3$

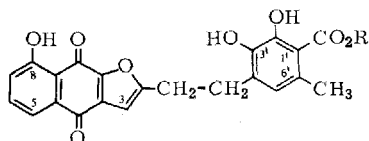
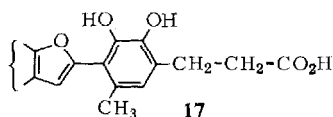
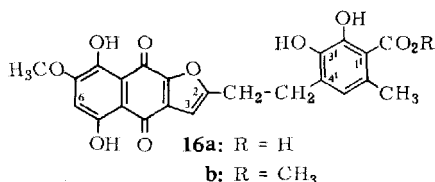
**b:**  $\text{R}^1 = \text{H}$

**c:**  $\text{R}^1, \text{R}''\text{-OH} = \text{H}$

**d:**  $\text{R}^1 = \text{H};$   
 $\text{CO}_2\text{H}$  statt  $\text{CO}_2\text{CH}_3$

**15a**

**15b:** **15a** ohne  $\text{CO}_2\text{H}$   
 an  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$



Chromatographie des mit Diazomethan methylierten, ätherlöslichen Anteils der „Chromophorfraktion“ (aus Alkalihydroxid-Abbau von  $\beta$ -Rubromycin) an saurem Kieselgel, zunächst aus Benzol und dann mit dem Inhaltstoff der langsamsten Zonen aus Chloroform/Aceton (97:3) lieferte: 1. Kristallisierten Abbausäure-dimethylester **10b**. 2. Die mit Diazomethan aus **5a**, **7a** und **7b = 14** entstandenen Methyläther **6b** (Hauptprodukt, 32%), **5f** und **5g**<sup>8</sup>). 3. Zu 1.5% eine amorphe, gelbrote, i. Hochvak. nicht sublimierbare Verbindung mit der massenspektrometrisch ermittelten Summenformel  $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ . 4. Zu 3% eine gelbe, kristallisierte, i. Hochvak. sublimierbare Verbindung  $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{O}_8$ , die in der gleichen Chromatogrammzone wanderte wie **5f** und von diesem durch Hochvak.-Sublimation befreit wurde.

Die gelbrote Verbindung ist im langwelligen Bereich ihres in verschiedenen Lösungsmitteln gemessenen Elektronenspektrums mit dem von  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin (**12b**) identisch und enthält somit dessen Chromophor **12c**. Dementsprechend findet man: 1. Im IR-Spektrum eine Bande bei  $1613/\text{cm}$  ( $\text{CO}$ , cheliert), 2. Im NMR-Spektrum zwei Singulets bei  $\delta = 6.65$  und  $6.52$  ppm (Aromat-H und Furan-H) sowie zwei bei  $\delta = 13.32, 13.22$  ppm (OH, cheliert). 3. Im Massenspektrum wie bei **12b**<sup>1)</sup> eine Doppelspitze bei  $m/e$  273/274 (Verlust eines Molekülteils der Masse 195/194).

Tab. 1. NMR-Signale ( $\delta$ -Werte) in Deuteriochloroform<sup>a)</sup>

	OH	Aromat/Olefin-H	CH <sub>3</sub> O	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	O-Acetyl
2,3-Dihydroxy-6-methyl-4-[2-methoxycarbonyl-äthyl]-benzoesäure-methylester (10b) <sup>b)</sup>	11.55 (2), 5.80 (3)	6.53 (5)	3.96 (1) 3.68	2.95 (4) <sup>d)</sup> 2.67	2.44 (6)	—
2,3-Diacetoxy-6-methyl-4-[2-methoxycarbonyl-äthyl]-benzoesäure-methylester (10c) <sup>b)</sup>	—	7.03 (5)	3.87 (1) 3.68	2.85 (4) <sup>d)</sup> 2.60	2.39 (6)	2.31 (2) 2.25 (3)
Gelbrotes Abbauprodukt C <sub>24</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub> (16b) <sup>b)</sup>	13.32, 13.22 (5, 8) 11.64 (2'), 5.77 (3')	6.65 (6) 6.52 (5'), 6.49 (3)	4.00 (7, 1')	3.15	2.44 (6')	—
Gelbes Abbauprodukt C <sub>23</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub> (18b) <sup>b)</sup>	12.10 (8) 11.63 (2'), 5.75 (3')	7.65 (5, 6, 7) <sup>e)</sup> 6.60 (5'), 6.48 (3)	3.98 (1')	3.12	2.46 (6')	—
Gelbes Abbauprodukt-triacetat (18d) <sup>c)</sup>	—	8.14, 7.73, 7.36 (5, 6, 7) <sup>f)</sup> , 7.00 (5'), 6.55 (3)	3.86 (1')	3.00 <sup>g)</sup>	2.39 (6')	2.47 (8) 2.32 (2) 2.24 (3')
$\gamma$ - <i>iso</i> -Rubromycin-tetraacetat <sup>1)</sup> (25e) <sup>b)</sup>	—	7.38, 7.35 (4', 5') 6.88 (6), 6.50 (3)	3.95 (7, 3')	3.09	—	2.47 } für 2.43 } 12 H 2.40 }
Brom- $\gamma$ - <i>iso</i> -rubromycin-tetraacetat (25d) <sup>c)</sup>	—	7.85 (4') 6.84 (6), 6.48 (3)	3.95 (3') 3.92 (7)	3.07 (2) <sup>d)</sup> 3.24 (6') <sup>d)</sup>	—	2.45 } für 2.43 } 12 H 2.38 } 2.36 }

a) Ziffern in Klammern kennzeichnen das C-Atom, an dem das signalauslösende Proton unmittelbar bzw. in einer funktionellen Gruppe steht.

b) 60 MHz-Spektrum.

c) 100 MHz-Spektrum.

d) Multiplett.

e) Multiplett. ABC-Kopplung nicht zu erkennen.

f) ABC-Kopplung ( $J_{ortho} = 7.8$  Hz,  $J_{meta} = 1.8$  Hz).

g) Stark verbreitertes Singulett.



Das NMR-Spektrum zeigt ferner die gleichen Signale wie die Substituenten am Phenylrest des Abbausäure-dimethylesters (**10b**) sowie ein verbreitertes Singulett für vier H bei  $\delta = 3.15$  ppm, durch das sich wie bei  $\alpha$ -Rubromycin (**12a**) und  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin (**12b**) eine von zwei protonenfreien C-Atomen flankierte  $\text{CH}_2 - \text{CH}_2$ -Gruppe zu erkennen gibt. Die mit OH chelierte Methoxycarbonylgruppe hat eine IR-Bande bei 1653/cm. Dem Massenspektrum nach wird aus dem Molekül-Ion Methanol und Methoxycarbonyl abgespalten. Die gelbrote Verbindung enthält demnach außer **12c** den Rest **15b** und war damit als Methylester **16b** von **16a** charakterisiert.

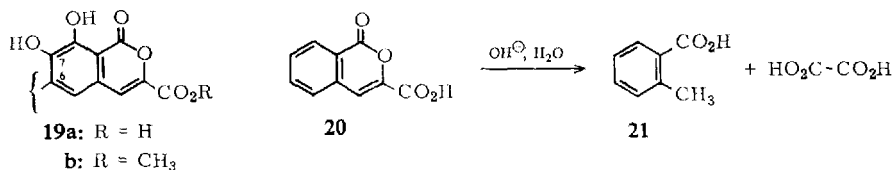
Die gelbe Verbindung  $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{O}_8$  bildet mit Acetanhydrid/Perchlorsäure ein blaßgelbes, kristallisiertes Triacetat und ist laut Analyse und NMR-Spektrum um ein Methoxyl und ein cheliertes Hydroxyl ärmer als das gelbrote **16b**. Im 60 MHz-NMR-Spektrum findet man die gleichen Signale wie für den am Chromophor-C-2 hängenden Rest von **16b**; und in Einklang damit im Massenspektrum neben  $M - 32$  und  $M - 60$  ein dem Chromophor entstammendes Schlüsselbruchstück großer Häufigkeit bei  $m/e = 228$  (Verlust eines Molekülteils der Masse 194), dessen Summenformel um  $\text{CH}_2\text{O}_2$  kleiner ist als die des entsprechenden Chromophorfragmentes von **16b**. Das 100 MHz-Spektrum des Triacetates zeigt die Signale von drei Aromatprotonen, die in Lage und Kopplungskonstanten denen der Aromatprotonen von 5-Acetoxy-naphthochinon-(1.4) ähnlich sind. Die gelbe Verbindung unterscheidet sich demnach vom gelbroten **16b** dadurch, daß ihr Chromophor kein Methoxyl und nur ein cheliertes Hydroxyl enthält.

Im IR-Spektrum der gelben Verbindung liegt die Bande des chelierten Chinoncarbonyls bei 1642/cm und die des nicht chelierten, überlagert von der des chelierten Estercarbonyls, bei 1664/cm. Im Triacetat fallen erwartungsgemäß beide Chinon-CO-Banden zusammen (1667/cm) und CO (Ester) verschiebt sich auf 1725/cm.

Nach diesen Befunden ist die gelbe Verbindung entweder **18b** oder **18c**. Läßt man die Entstehung von **7c** aus **12a** bzw. **12b** als Hinweis dafür gelten, daß in der Alkalischmelze der Sauerstoff an C-5 von **12a** bzw. **12b** leichter reaktiv abgespalten wird als der an C-8, so ist die gelbe Verbindung der Methylester **18b** des Abbauproduktes **18a** und **18d** das Triacetat von **18b**.

### Die Konstitution der Rubromycine

Beim Alkalihydroxid-Abbau von  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin (**12b**) zu **16a** wird nach Verseifung des Methoxycarbonyls das Anion von **12d** unter Verlust von  $\text{C}_2\text{O}_2$  und Aufnahme von zwei Wasserstoffatomen zum Anion von **16a**, das um eine Methingruppe ärmer ist als **12d** und im Gegensatz zu diesem ein Aromat-Methyl besitzt. Das aber ist nur möglich, wenn die **12d**-Carboxygruppe samt benachbartem C-Atom abgespalten wird und das Methyl von **16a** aus der Methingruppe und das **16a**-Carboxyl aus dem chelierten Carbonyl in  $R''$  von **12d** entsteht. Daraus folgt:  $R''$  von **12d** enthält einen Lactonring, in dem das Carboxyl tragende C-Atom auf einer Seite mit einer Methingruppe verbunden ist und auf der anderen am O-Atom einer Lactongruppe hängt, aus der das Carboxyl von **16a** hervorgeht; d. h. der Phenylrest von **16a** gehört in **12d** zu einer 7.8-Dihydroxy-isocumarin-3-carbonsäure-Gruppe **19a**, und der Abbau **12d**  $\rightarrow$  **16a** ist demnach dem Alkaliabbau von Isocumarin-3-carbonsäure (**20**) zu



*o*-Methyl-benzoesäure (**21**) und Oxalsäure<sup>13)</sup> analog. Damit wurde **12d** zu **25b**, **12b** zur  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin-Formel **25a** und **12a** zur  $\alpha$ -Rubromycin-Formel **24**.

Isocoumarinderivate hat man aus verschiedenen Mikroorganismen isoliert, z. B. Reticulol<sup>14)</sup> aus *Streptomyces rubrireticulae*, Canescin<sup>15)</sup> aus *Penicillium canescens* bzw. *Aspergillus malignus*, Diaporthin<sup>16)</sup> aus *Endothia parasitica*, einen Antifungi-Metaboliten<sup>17)</sup> aus *Aspergillus viridinutans*.

Nach Umlagerungsschema **1**–**4** ist die in siedendem Pyridin quantitative Isomerisierung von  $\gamma$ -Rubromycin (**2**) zu  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin (**25a**) eine intramolekulare  $\beta$ -Eliminierung, die laut NMR-Spektrum die Chromophor-Methylengruppe von **2** zur Methingruppe eines Furanringes macht und in R von **2** ein nicht cheliertes Hydroxyl freisetzt; nach **25a** das 7-Hydroxyl des Isocoumarins **19b**. Damit ergab sich für  $\gamma$ -Rubromycin die Spiroketal-Formel **23a** und aus dieser gemäß **1**  $\rightarrow$  **2** für  $\beta$ -Rubromycin die Konstitution **22**.

Bis jetzt hat man nur wenige Naturstoffe mit Spiroketal-Struktur gefunden, z. B. die Sapogenine<sup>18)</sup> und Monensine<sup>19)</sup>. In keinem ist das Spiroketal-System wie in **22** und **23a** einem Naphthochinon-Chromophor anelliert.

Da  $\beta$ -Rubromycin (**22**) in organischen Solvenzien wenig löslich ist und über weite Wellenbereiche hohe Extinktion zeigt, ließ sich anhand seiner Lösungen nicht entscheiden, ob es optisch aktiv ist. Messungen am gelben, besser löslichen  $\beta$ -Rubromycondiacetat gaben  $\alpha$ -Werte, die innerhalb der Fehlergrenze um 0° lagen. Da der Spiroketal-Struktur nach zwei  $\beta$ -Rubromycin-Enantiomere möglich sind, haben wir das ORD-Spektrum (Cary 60) von kristallisiertem Diacetat<sup>11)</sup> in Chloroform aufgenommen. Von 720 m $\mu$  abwärts ergab sich ein schwacher positiver Drehwert, bei 600 m $\mu$  schnitt die ORD-Kurve die Null-Linie und es trat ein negativer Cotton-Effekt auf (Minimum bei 489 m $\mu$  mit  $[\alpha]^{20}$ :  $-488^\circ$ , Maximum bei 358 m $\mu$  mit  $[\alpha]^{20}$ :  $+2800^\circ$ ). Danach ist das native  $\beta$ -Rubromycin eines der beiden Enantiomeren, was zu erwarten ist, wenn an der Biosynthese des Spiroketal-Systems Enzyme beteiligt sind.

<sup>13)</sup> E. Bamberger, Liebigs Ann. Chem. **288**, 134 (1895).

<sup>14)</sup> L. A. Mitscher, W. W. Andres und W. McCrae, Experientia [Basel] **20**, 258 (1964).

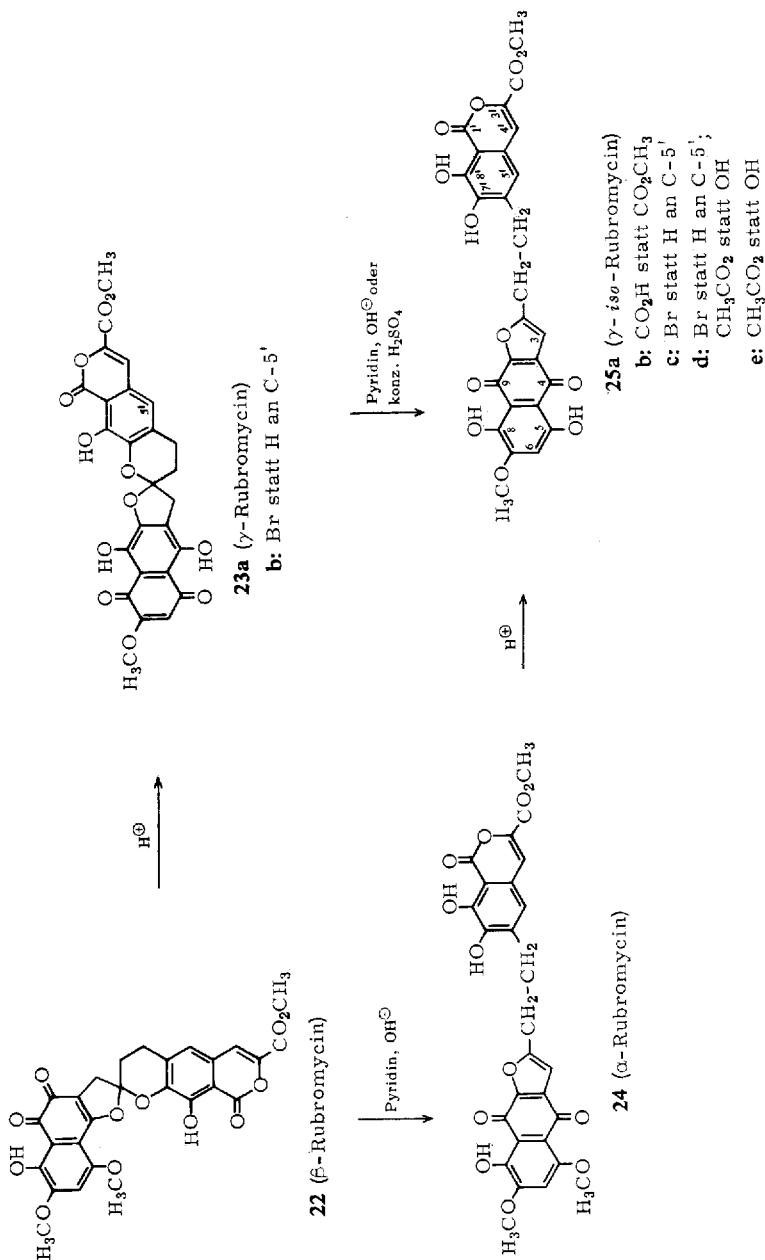
<sup>15)</sup> A. J. Birch, J. H. Birkinshaw, P. Chaplen, L. Mo, A. H. Manchanda, A. Pelter und M. Riano-Martin, Austral. J. Chem. **22**, 1933 (1969).

<sup>16)</sup> E. Hardegger, W. Rieder, A. Walser und F. Kugler, Helv. chim. Acta **49**, 1283 (1966).

<sup>17)</sup> D. C. Aldrige, F. J. Grove und W. B. Turner, J. chem. Soc. [London] C **1966**, 126.

<sup>18)</sup> R. E. Marker und E. Rohrmann, J. Amer. chem. Soc. **61**, 846 (1939).

<sup>19)</sup> A. Agtarap, J. W. Chamberlin, M. Pinkerton und L. Steirauf, J. Amer. chem. Soc. **89**, 5737 (1967).



Der Chromophor des  $\gamma$ -Rubromycins (**23a**) ist ein 5.8-Dihydroxy-naphthochinon-(1.4)-Derivat, die Stammverbindung des  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin (**25a**)-Chromophors dagegen das noch nicht beschriebene 5.8-Dihydroxy-naphtho[2.3-*b*]furanochinon-(4.9). Bei diesem Unterschied überrascht nicht, daß: 1. Verglichen mit **23a** die langwellige

Absorption von **25a** in Chloroform um 19  $\mu$ . hypsochrom verschoben ist und ausgeprägtere, höhere Maxima zeigt. 2. Dihydro- $\gamma$ -*iso*-rubromycin-hexaacetat längerwellig absorbiert als Dihydro- $\gamma$ -rubromycin-pentaacetat<sup>1)</sup>. 3. Das Redoxpotential von  $\gamma$ -Rubromycin-triacetat um 24 mV positiver ist als das von  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin-tetraacetat.

Die benachbarten Methylengruppen von **22** und **23a** geben im 100 MHz-NMR-Spektrum ( $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ) zwei Multipletts der Intensität 2 bei  $\delta = 3.34, 2.68$  bzw.  $3.20, 2.59$  ppm, die beim Übergang **22**  $\rightarrow$  **24** bzw. **23a**  $\rightarrow$  **25a** zu einem breiten Singulett bei  $\delta = 3.39$  ppm (4) zusammenrücken; d. h. die beiden benachbarten  $\text{CH}_2$ -Gruppen sind in **24** und **25a** magnetisch sehr ähnlich, obgleich sie verschiedene chemische Umgebung haben. Das gleiche gilt für **16b** und **18b**.

Substitution des  $\gamma$ -*iso*-Rubromycins an C-5' sollte die Umgebung der benachbarten Methylengruppen soweit verändern, daß ihre magnetische Ähnlichkeit verschwindet. Zur experimentellen Bestätigung bot sich Brom- $\gamma$ -*iso*-rubromycin (**25c**) an, das in siedendem Pyridin aus Brom- $\gamma$ -rubromycin (**23b**)<sup>1)</sup> entsteht, und, weil schwer löslich, als Tetraacetat (**25d**) in  $\text{CDCl}_3$  vermessen wurde. Im 100 MHz-Spektrum geben seine benachbarten Methylengruppen bei  $\delta = 3.24$  und  $3.07$  ppm zwei zu einer Mittelachse ( $\delta = 3.15$ ) symmetrische Signalgruppen für 4 H-Atome, während man für die Methylengruppen des  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin-tetraacetates (**25e**) ein Singulett bei  $\delta = 3.09$  ppm (4) findet.

#### Nuclear Overhauser Effect (NOE) bei Brom- $\gamma$ -*iso*-rubromycin-tetraacetat (**25d**)

Doppelresonanzversuche mit **25d** in Deuteriochloroform unter Ausschluß von Sauerstoff zeigten: 1. Die Signale der beiden Methoxyle ( $\delta = 3.95, 3.92$  ppm), die verschieden hoch sind, erreichen gleiche Höhe, wenn man die Frequenz (3177) des 6.84 ppm-Aromatprotons einstrahlt. Methoxyl ( $\delta = 3.92$  ppm) und Aromatproton ( $\delta = 6.84$  ppm) zeigen demnach geringe „long-range“-Kopplung ( $< 1$  Hz); eine Bestätigung ihrer *o*-Stellung. 2. Umgekehrt wird durch Einstrahlen der Frequenz (3886) des 3.92 ppm-Methoxyls das 6.84 ppm-Signal schärfer und seine Intensität um 37% größer; d. h. Methoxylprotonen und Aromatproton zeigen einen Overhauser Effect<sup>20,21)</sup>. 3. Die Intensität des bei 6.48 ppm liegenden 3-H-Signals steigt um 21%, wenn man die Frequenz (2800) der  $\text{CH}_2$ -Gruppe mit Multiplett bei  $\delta = 3.07$  ppm einstrahlt. Das Multiplett gehört demnach zur  $\text{CH}_2$ -Gruppe, die mit dem Furanring des Chromophors verbunden ist. 4. Die andere  $\text{CH}_2$ -Gruppe ( $\delta = 3.24$  ppm) gibt mit dem 7.85 ppm-Proton keinen Effekt. Damit ist das 7.85 ppm-Signal dem Olefin-H des Isocumarin-Heteroringes zugeordnet und bewiesen, daß das Brom an C-5' steht<sup>22)</sup>. Das 7.21 ppm-Signal ( $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ) des  $\gamma$ -Rubromycins (**23a**), das beim Bromieren verschwindet, ist demnach dem Proton des Isocumarin-benzoringes zuzuordnen. Entsprechendes gilt für  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin; das Aromat-H-Signal mit dem größten  $\delta$ -Wert gehört zu 4'-H des Isocumarinrestes und das mit dem nächst kleineren zu 5'-H.

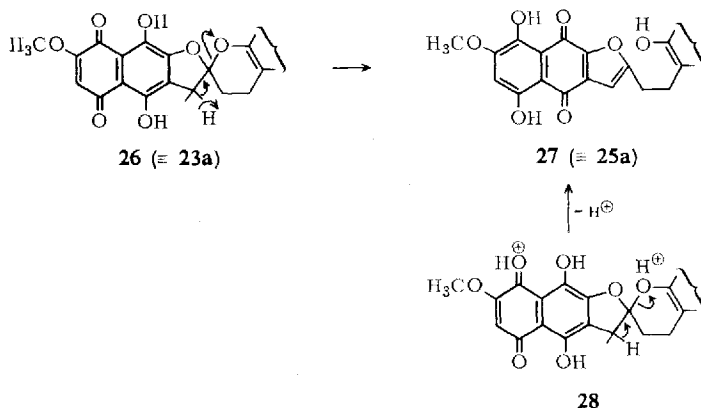
<sup>20)</sup> J. D. Baldeschwieler und E. W. Randall, Chem. Reviews **63**, 81 (1963).

<sup>21)</sup> F. L. Anet und A. J. R. Bourn, J. Amer. chem. Soc. **87**, 5250 (1965).

<sup>22)</sup> In Übereinstimmung damit entsteht aus Chlor- $\gamma$ -rubromycin beim Alkalihydroxid-Abbau eine „Abbausäure“, in der das Aromat-H von **15a** durch Chlor ersetzt ist (H. Brockmann, A. Zeeck und G. Schwantje, in Vorbereitung).

## Zur Umlagerung der Rubromycine

Am Spiroketal-System des  $\gamma$ -Rubromycins ist außer  $23a \rightarrow 25a$  formal noch eine zweite intramolekulare  $\beta$ -Eliminierung möglich, die unter Öffnung des furanoiden Ringes zu einem dem Isocumarin-Rest anellierten Pyranring mit isolierter Doppelbindung führen würde. Ihr gegenüber ist  $23a \rightarrow 25a$  energetisch bevorzugt, weil die dabei gebildete Doppelbindung in Konjugation zum Naphthochinon-Chromophor steht.



Dem Elektronenspektrum nach bleibt die Chelierung der Chromophor-Hydroxyle von  $23a$  in Pyridin weitgehend erhalten. Dagegen reicht die Basizität des Pyridins aus, um die  $\beta$ -Eliminierung  $23a \equiv 26 \rightarrow 25a \equiv 27$  durch Ablösen eines Protons aus der dem Chromophor benachbarten Methylengruppe zu erleichtern. Daß basenkatalysiert eliminiert wird und nicht dank erhöhter Temperatur (Sdp. von Pyridin  $115^\circ$ ), wie bei trockenem Erhitzen von  $\gamma$ -Rubromycin<sup>1)</sup>, beweist die Beständigkeit von  $23a$  in siedendem Eisessig (Sdp.  $118^\circ$ ).

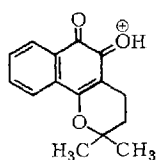
Für die säurekatalysierte  $\beta$ -Eliminierung  $23a \equiv 26 \rightarrow 25a \equiv 27$  in konz. Schwefelsäure muß das Dihydropyranring-O-Atom von  $23a \equiv 26$  protoniert werden. Da der Chromophor in konz. Schwefelsäure als Kation vorliegt, ist die Protonierung des Dihydrofuranring-O-Atoms zugunsten von  $28$  erschwert und die Ablösung eines Protons aus der dem Chromophor benachbarten Methylengruppe erleichtert.

Die durch verd. Mineralsäuren katalysierte Umätherung des 1.2-chinoiden  $\beta$ -Rubromycins ( $22$ ) in das 1.4-chinoide  $\gamma$ -Rubromycin ( $23a$ ) ist der  $\beta$ -Lapachon ( $29b$ )/ $\alpha$ -Lapachon ( $31b$ )-Umlagerung<sup>23)</sup> analog und läuft  $29a \rightarrow 30 \rightarrow 31a$  entsprechend über die Kationen  $32$ ,  $33$  und  $34$ . Annähernd gleich schnell wird dabei das *peri*-ständige 5-Methoxyl verseift.

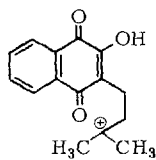
$29b$  ist um zwei  $pK_a$ -Einheiten basischer als  $31b$  und daher in konz. Schwefelsäure stabiler als  $31b$ <sup>24)</sup>. Deshalb verwandelt sich  $31b$  in konz. Schwefelsäure wieder in  $29b$ , das sich mit Wasser ausfällen läßt. Eine entsprechende Reaktion ist beim  $\beta$ -

<sup>23)</sup> R. H. Thomson, Naturally Occuring Quinones, S. 65, Butterworths Scientific Publications, London 1957.

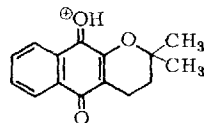
<sup>24)</sup> M. G. Ertlanger, J. Amer. chem. Soc. **72**, 3090 (1950).



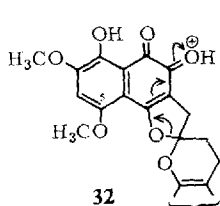
29a

b: 29a ohne H<sup>+</sup>

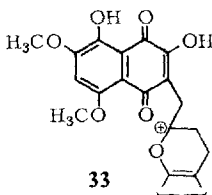
30



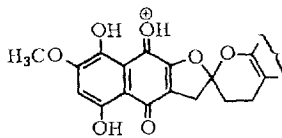
31a

b: 31a ohne H<sup>+</sup>

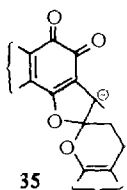
32



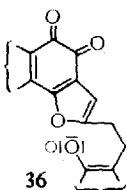
33



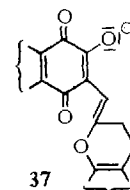
34



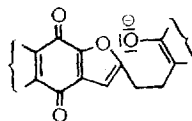
35



36



37



38

Rubromycin (**22**  $\equiv$  **32**) unmöglich, weil dessen 5-Methoxyl bei **32**  $\rightarrow$  **34** verseift wird und  $\gamma$ -Rubromycin (**23a**) dank der großen Stabilität seines 5.8-Dihydroxy-naphthoquinon-(1.4)-Systems auch in konz. Schwefelsäure als **34** vorliegt, sofern es nicht schon zu **25a** geworden ist.

Beginnt die Umlagerung  $\beta$ -Rubromycin (**22**)  $\rightarrow$   $\alpha$ -Rubromycin (**24**) in siedendem Pyridin wie bei **26**  $\rightarrow$  **27** mit der Ablösung eines Methylenprotons, so würde bei **26**  $\rightarrow$  **27** analogem Verlauf **36** entstehen, dessen basenkatalysierte Umätherung zu **38** nicht plausibel wäre. Wahrscheinlicher ist daher, daß **38**, erleichtert durch den Elektronenzug der beiden *ortho*-Chinoncarbonyle, aus **35** über **37** entsteht.

Die Massenspektren verdanken wir Herrn Prof. Dr. G. Spittler. Frau Ch. Kranzusch und Herrn S. Uhl sind wir für unermüdliche und geschickte Mitarbeit verpflichtet. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft und die Farbenfabriken Bayer, Werk Elberfeld, haben unsere Arbeit finanziell gefördert.

## Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte sind im Berl-Block bestimmt und korrigiert. IR-Spektren (KBr-Preßlinge): Perkin-Elmer Modell 21; Elektronenspektrum (mit Extinktion): Zeiss PMQ II; NMR-Spektren: Varian A 60 und HA 100 (mit Tetramethylsilan als innerem Standard); Massenspektren: Atlas CH-4 (direkter Einlaß, TO4-Ionenquelle).

*Alkalihydroxid-Abbau der Rubromycine:* Ein fein verriebenes Gemisch aus 2.5 g NaOH, 2.5 g KOH und 475 mg  $\beta$ -Rubromycin (bzw.  $\alpha$ -,  $\gamma$ -,  $\gamma$ -*iso*-Rubromycin) hielt man unter Luftabschluß in einem Nickel-Gefäß 45 Min. bei 150°, brachte die violette Lösung der Schmelze in 70 ccm Wasser mit 5*n* HCl auf pH 2, sättigte mit NaCl und filtrierte den roten Niederschlag ab („Chromophorfraktion“, getrocknet 223 mg). 24stdg. Perforieren mit Äther entzog dem blaßroten Filtrat 130 mg „Säurefraktion“.

### Naphthochinon-(1.4)-Derivate aus der „Chromophorfraktion“

Ätherextraktion von 223 mg „Chromophorfraktion“ (aus **22**) im Kreisprozeß lieferte 164 mg „ätherlösliche Chromophorfraktion“, bei deren Chromatographie an einer 70 × 4.4 cm-Oxalsäure-Kieselgel G-Säule (Chloroform/Aceton, 97:3) sich fünf Zonen (von unten nach oben beziffert) bildeten und dunkelrote Produkte am oberen Rand der Säule zurückblieben.

*2.5.8-Trihydroxy-7-methoxy-3-methyl-naphthochinon-(1.4) (7a):* Den Inhaltstoff von Zone 1 chromatographierte man aus Chloroform/Benzol (1:1) an einer 50 × 2.8 cm-Säule aus saurem Kieselgel und erhielt aus dem Eluat 3 mg **7a**, das im  $R_F$ -Wert und IR-Spektrum mit einem authentischen Präparat<sup>8)</sup> übereinstimmte.

*2.8-Dihydroxy-7-methoxy-3-methyl-naphthochinon-(1.4) (7c):* Der Inhaltstoff der gelben Zone 2 — wie vorstehend nochmals chromatographiert — kristallisierte aus Chloroform in gelbroten Nadeln (4 mg), schmolz nach Hochvak.-Sublimation (80°) bei 168–170°, löste sich gut in Benzol oder Chloroform und wurde von wäßr. NaHCO<sub>3</sub> mit gelbroter Farbe aufgenommen.

C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub> (234.2) Gef. Mol.-Gew. 234 (Massenspektrum)

UV (Chloroform):  $\lambda_{\max}$  472, 287 m $\mu$ ; Acetanhydrid/Pyroboracetat (erhitzt):  $\lambda_{\max}$  601, 560, 527 m $\mu$  (violett).

*2.8-Dihydroxy-5.7-dimethoxy-3-methyl-naphthochinon-(1.4) (7b = 14):* Das **7b** der gelbroten Zone 3 (14 mg) sublimierte bei 130°/0.01 Torr (Sublimat Schmp. 195°, Zers.), löste sich gut in Chloroform, mäßig in Äthanol und wurde von wäßr. NaHCO<sub>3</sub> mit roter Farbe aufgenommen. Zur Analyse kam ein sublimiertes Präparat.

C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (264.2) Ber. C 59.09 H 4.58 Gef. C 59.33 H 4.66

IR: 3415 (OH); 1616 mit Schultern bei 1658, 1639, 1631/cm (CO).

Aus **7b** entstand in siedendem Chloroform/Aceton/konz. Salzsäure (3:2:1) **7a** und in Chloroform mit ätherischer Diazomethan-Lösung **5g**; beide mit spektrometrischen Methoden zugeordnet<sup>8)</sup>.

*2.5.7.8-Tetrahydroxy-3-methyl-naphthochinon-(1.4) (5a):* Das **5a** (70 mg) aus Zone 4 kristallisierte aus Chloroform in roten Nadeln, gab bei 125°/0.01 Torr ein rotes Sublimat mit Schmp. 244–246° und wurde von wäßr. NaHCO<sub>3</sub> mit roter Farbe aufgenommen. Es löst sich gut in Äthanol und mäßig in Chloroform oder Benzol. Analysiert wurde sublimiertes **5a**.

C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> (236.2) Ber. C 55.94 H 3.41

Gef. C 55.70 H 3.54 Mol.-Gew. 236 (Massenspektrum)

UV (Chloroform):  $\lambda_{\max}$  548, 512, (486), (448), 320 m $\mu$ .

Zone 5 (dunkelrot) wurde aus der Säule herausgeschnitten und mit Äthylacetat eluiert. Der gelbrote Verdampfungsrückstand des Eluates (20 mg), schwerlöslich in Äthanol und Chloroform, verwandelte sich beim Erwärmen in Chloroform/Aceton/konz. HCl (3 : 2 : 1) in **5a**.

*5,8-Dihydroxy-2,7-dimethoxy-6-methyl-naphthochinon-(1,4)* (**6b**): Eine Suspension von 100 mg **5a** in 100 ccm Chloroform (1% Äthanol enthaltend) versetzte man bei 5° mit 2,1-fachem Überschuß an äther. Diazomethan-Lösung, brachte nach 40 Min. i. Vak. zur Trockene und chromatographierte aus Benzol an einer 50 × 3 cm-Säule aus saurem Kieselgel. Von einer gelben Zone trennte sich die rasch wandernde rote **6b**-Zone ab. **6b** kristallisierte aus Äthanol in roten Nadeln (87 mg) und gab bei 130°/0.01 Torr ein Sublimat mit Schmp. 193–194°. Es löste sich gut in Chloroform oder Benzol und mäßig in Äthanol oder Cyclohexan. Analysiert wurde sublimiertes **6b**.

$C_{13}H_{12}O_6$  (264.2) Ber. C 59.09 H 4.58 2 CH<sub>3</sub>O 23.5 Gef. C 59.17 H 4.58 CH<sub>3</sub>O 23.5  
IR: 1603/cm (CO).

UV (Chloroform):  $\lambda_{max}$  547 ( $\epsilon = 5560$ ), 509 (8040), 480 (6750), 311  $m\mu$  (9030).

NMR (CDCl<sub>3</sub>, 60 MHz):  $\delta = 13.27, 12.76$  (cheliertes OH an C-5 und C-8); 6.25 (3-H); 4.05, 3.94 (Methoxyle an C-7 und C-2); 2.21 ppm (Methyl an C-6).

#### „Abbausäurefraktion“

*2,3-Dihydroxy-6-methyl-4-[2-methoxycarbonyl-äthyl]-benzoesäure-methylester* (**10b**) (*Abbausäure-dimethylester*): Zur Suspension von 130 mg „Abbausäurefraktion“ (aus **22**) in 5 ccm Chloroform gab man bei 0° überschüssiges Diazomethan in Äther, brachte die nach 5 Min. klare Lösung i. Vak. zur Trockene und chromatographierte den Rückstand aus Benzol an einer 40 × 2.3 cm-Säule aus saurem Kieselgel. Einer schnellen roten Zone (5 mg **6b** enthaltend) folgte eine blaßgelbe, im UV-Licht blau fluoreszierende, substanzarme und dieser die farblose, im UV-Licht als Schatten sichtbare **10b**-Zone.

**10b** kristallisierte aus einer mit Aktivkohle behandelten Cyclohexanlösung in farblosen Nadeln (70 mg, 29%) und schmolz nach Hochvak.-Sublimation (80°) bei 107°. Es löst sich gut in Benzol oder Chloroform, mäßig in Cyclohexan und nicht in wäbr. NaHCO<sub>3</sub>. Analysiert wurde sublimiertes **10b**.

$C_{13}H_{16}O_6$  (268.3) Ber. C 58.20 H 6.01 2 CH<sub>3</sub>O 23.2 Gef. C 58.19 H 5.96 CH<sub>3</sub>O 23.0  
IR: 3390 (OH); 1710, 1653/cm (CO).

*2,3-Diacetoxy-6-methyl-4-[2-methoxycarbonyl-äthyl]-benzoesäure-methylester* (**10c**): Eine Lösung von 20 mg **10b** in 5 ccm Acetanhydrid (einen Tropfen Perchlorsäure enthaltend) hielt man 30 Min. auf 60°, goß in Eiswasser und extrahierte mit Chloroform. Den beim Verreiben mit Methanol fest gewordenen Verdampfungsrückstand nahm man in Benzol auf und fällte **10c** durch anteilweise Zugabe von Cyclohexan aus. Ausb. 24 mg.

IR: 1764, 1730/cm (CO).

#### Abbauprodukte aus der methylierten, ätherlöslichen „Chromophorfraktion“

Zum Ätherextrakt von 241 mg „Chromophorfraktion“ (aus  $\beta$ -Rubromycin) gab man bei –10° überschüssige äther. Diazomethan-Lösung, verdampfte nach 30 Min. und chromatographierte den Rückstand aus Benzol an einer 70 × 4 cm-Säule aus saurem Kieselgel. Hinter blaßgelben und roten Vorzonen (Inhalstoffe wegen zu geringer Menge nicht untersucht) bildeten sich von unten nach oben beziffert: Zone 1 (rot), Zone 2 (gelb), Zone 3 (farblos, mit

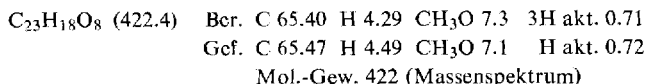


Benzol ins Filtrat gewaschen). Die Inhaltstoffe langsamer wandernder, gelber und gelb-roter Zonen sowie die am Kopf der Säule fest haftenden Farbstoffanteile wurden mit Aceton eluiert (im folgenden Fraktion 4).

Zone 1 enthielt 75 mg (32%) **6b**, identifiziert durch Vergleich (UV-, IR-Spektrum,  $R_F$ -Wert) mit einem authentischen Präparat<sup>8)</sup>.

Aus dem gelben Inhaltstoff der Zone 2 (19 mg) sublimierten bei 110°/0.01 Torr 6 mg 5-Hydroxy-2.7.8-trimethoxy-3-methyl-naphthochinon-(1.4) (**5f**) ab, das durch  $R_F$ -Wert, IR- und NMR-Spektrum identifiziert wurde<sup>8)</sup>.

*Methylester 18b des gelben Abbauproduktes 18a*: Den Sublimationsrückstand des Inhaltstoffes von Zone 2 chromatographierte man aus Methylenchlorid an einer 35 × 2.5 cm-Säule aus saurem Kieselgel. Das aus der gelben Hauptzone eluierte, amorphe **18b** (12 mg, 3%) sublimierte bei 205°/0.01 Torr. Schmp. 233–235°. **18b** ist in Chloroform oder Benzol mäßig, in Cyclohexan schwer und in wäbr. NaHCO<sub>3</sub> nicht löslich. Analysiert wurde sublimiertes **18b**.



IR: 3415 (OH); 1664, 1642/cm (CO).

UV (Chloroform):  $\lambda_{\text{max}}$  431 ( $\epsilon = 6700$ ), (330), 310 (6850), 300 m $\mu$  (6750); 2*n* NaOH (rot):  $\lambda_{\text{max}}$  524 (breit), 437 m $\mu$ ; Acetanhydrid/Pyroboracetat (erhitzt, rot):  $\lambda_{\text{max}}$  443, 511 m $\mu$ .

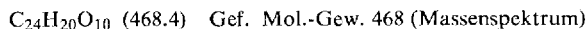
*Acetylierung*: Eine 15 Min. bei 60° gehaltene Lösung von 15 mg **18b** in 3 ccm Acetanhydrid (einen Tropfen konz. Schwefelsäure enthaltend) goß man in 50 ccm Eiswasser. Das ausgefallene **18d** (18 mg) kristallisierte aus Chloroform nach Zugabe des 20fachen Vol. heißen Äthanol in gelben Nadeln vom Schmp. 188–189°. Es ist in Chloroform gut und in Äthanol mäßig löslich.

IR: 1767, 1725, 1667/cm (CO).

Zone 3 lieferte 56 mg (24%) farbloses **10b**.

Chromatographie von Fraktion 4 (s. oben) aus Chloroform/Aceton (97:3) an einer 60 × 3.2 cm-Säule aus saurem Kieselgel gab vier Hauptzonen (von unten nach oben beziffert).

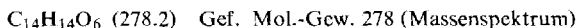
*Methylester 16b des gelbroten Abbauproduktes 16a*: Das amorphe **16b** aus Zone 1 (7 mg, 1.5%), Schmp. 227–229°, zersetzte sich bei Hochvak.-Sublimation (210°). Es löst sich mäßig in Chloroform und schwer in Benzol oder Cyclohexan.



IR: 1653, 1613/cm (CO).

UV (Chloroform):  $\lambda_{\text{max}}$  531, 494, (467), (438), 327 m $\mu$ ; 2*n* NaOH (violett): 569, 533 m $\mu$ ; konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (rot):  $\lambda_{\text{max}}$  511, (480), 415, 392 m $\mu$ ; Acetanhydrid/Pyroboracetat (erhitzt, karmesinrot):  $\lambda_{\text{max}}$  552, 512, (477) m $\mu$ .

8-Hydroxy-2.5.7-trimethoxy-3-methyl-naphthochinon-(1.4) (**5g**): Das aus Zone 2 eluierte **5g** (7 mg), aus Chloroform in gelbroten Nadeln, gab bei 135°/0.01 Torr ein Sublimat mit Schmp. 182–184°. Es löste sich gut in Chloroform und mäßig in Äthanol.



IR: 1626, 1610/cm (CO).

5.7-Dihydroxy-2.8-dimethoxy-6-methyl-naphthochinon-(1.4) (**6c**): Das **6c** aus Zone 3 (13 mg) kristallisierte aus Chloroform in gelbroten Nadeln und gab bei 130°/0.01 Torr ein Sublimat mit Schmp. 251° (Zers.). Es ist in Chloroform mäßig und in Cyclohexan sehr schwer löslich.

Beim Schütteln seiner Chloroformlösung mit wäßr.  $\text{NaHCO}_3$  geht **6c** teilweise mit violetter Farbe in die wäßr. Phase. Analysiert wurde sublimiertes **6c**.

$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_6$  (264.2) Ber. C 59.09 H 4.58 2  $\text{CH}_3\text{O}$  23.5

Gef. C 58.85 H 4.68  $\text{CH}_3\text{O}$  22.4 Mol.-Gew. 264 (Massenspektrum)

IR: 3226 (OH); 1678, 1634/cm (CO).

UV (Chloroform):  $\lambda_{\text{max}}$  461 ( $\epsilon = 4600$ ), 305 (10300), 263  $\mu\text{m}$ .

*Brom- $\gamma$ -iso-rubromycin-tetraacetat (25d)*: 165 mg *Brom- $\gamma$ -rubromycin (23b)*<sup>1)</sup> kochte man in 15 ccm *Pyridin* 15 Min. unter Rückfluß und versetzte die gelbrot gewordene Lösung bei 75° mit 15 ccm *Acetanhydrid*. Überschüssiges *Acetanhydrid* der nach 5 Stdn. gelben Lösung wurde in Eiswasser zersetzt und der Niederschlag aus Chloroform (1% Aceton enthaltend) an einer 50 × 2.8 cm-Säule aus Oxalsäure-Kieselgel G chromatographiert. Das aus der hellgelben Hauptzone eluierte **25d** kristallisierte aus 5 ccm Chloroform nach Zugabe von 20 ccm heißem Äthanol in blaßgelben Nadeln vom Schmp. 250–251° (Rotfärbung). Ausb. 150 mg (71%). **25d** löst sich gut in Chloroform und mäßig in Benzol oder Cyclohexan. Zur Analyse trocknete man 12 Stdn. bei 40° i. Hochvak. Bei der Acetylbestimmung wurde sauer verseift.

$\text{C}_{34}\text{H}_{25}\text{BrO}_{16}$  Ber. C 53.07 H 3.27 Br 10.4 2  $\text{CH}_3\text{O}$  8.07 4  $\text{CH}_3\text{CO}$  22.4

Gef. C 52.89 H 3.41 Br 10.8  $\text{CH}_3\text{O}$  8.27  $\text{CH}_3\text{CO}$  22.4

IR: 1773, 1739, 1669/cm (CO).

*2.5.7.8-Tetrahydroxy-3-methyl-naphthochinon-(1.4) (5a) und 2.3-Dihydroxy-6-methyl-4-[2-methoxycarbonyl-äthyl]-benzoesäure-methylester (10b) aus  $\gamma$ -Rubromycin (23a) und  $\alpha$ -Rubromycin (24)*: 228 mg „Chromophiorfraktion“ aus 475 mg **23a** extrahierte man im Kreisprozeß mit 500 ccm Chloroform (80 mg dunkelroter Rückstand), gab die auf 150 ccm eingeeengte, rote Lösung auf eine 65 × 4.3 cm-Säule aus saurem Kieselgel, wusch mit Chloroform/Aceton (95 : 5) nach und erhielt aus dem Eluat der roten Hauptzone ein aus Chloroform in roten Nadeln kristallisierendes Präparat (65 mg, 29%), das mit dem aus  $\beta$ -Rubromycin gewonnenen **5a** identisch war.

Die „Säurefraktion“ des gleichen Ansatzes lieferte, wie oben aufgearbeitet, 59 mg (24%) kristallisiertes **10b**.

Unter den gleichen Bedingungen erhielten wir aus 475 mg **24** 45 mg (22%) **5a** und 43 mg (18%) **10b**.

[13/70]