

ZUR KENNTNIS DER RUBROMYCINE

Hans Brockmann, Werner Lenk, Gerd Schwantje und Axel Zeeck
Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

(Received 12 May 1966)

Vor einiger Zeit wurden aus Mycel von Streptomyces collinus¹⁾ die kristallisierten, roten Antibiotica Rubromycin²⁾ und Collinomycin³⁾ isoliert. Ihre weitere Untersuchung^{4, 5, 6)} hat inzwischen folgendes ergeben. Rubromycin verwandelt sich beim Kochen mit Pyridin quantitativ in Collinomycin. In siedendem, 2% konz. Salzsäure enthaltenden Aceton entsteht aus Rubromycin zu 80% eine kristallisierte, rote Verbindung, die gegen St. aureus etwa zehnmal wirksamer ist als Rubromycin und in geringer Menge auch aus Mycel von Str. collinus isoliert werden konnte. Da die drei Antibiotica chemisch nahe verwandt sind, bezeichnen wir alle als Rubromycine und unterscheiden sie in der Reihenfolge ihrer R_F -Werte durch kleine griechische Buchstaben. Collinomycin heißt dementsprechend von jetzt ab α -Rubromycin, aus Rubromycin wird β -Rubromycin und das neue Antibioticum ist γ -Rubromycin.

Aus γ -Rubromycin entsteht in siedendem Pyridin ein kristallisiertes, rotes Isomeres mit kleinerem R_F -Wert, das γ -Iso-rubromycin. Die gleiche Verbindung erhält man aus α -Rubromycin und HCl gesättigtem Chloroform. Die Rubromycine sind optisch inaktiv; ihre Summenformeln und einige Daten finden sich in Tabelle 1.

Tabelle I

Verbindung	Zers.- Punkt	Mol.- Gew. a)	Summen- formel	ν _{co-l, b)} [cm ⁻¹]		CH ₃ c)	OH d)	H ^{e)}
β-Rubromycin	209-212°	536.5	C ₂₇ H ₂₀ O ₁₂	1625		3	2 (2)	3
α-Rubromycin	270-273°	536.5	C ₂₇ H ₂₀ O ₁₂	1640		3	3 (2)	4
γ-Rubromycin	ab 235°	522.5	C ₂₆ H ₁₈ O ₁₂	1605		2	3 (3)	3
γ-Iso-rubromycin	ab 295°	522.5	C ₂₆ H ₁₈ O ₁₂	1605		2	4 (3)	4

a) Aus dem Massenspektrum (Atlas CH 4), die Aufnahmen verdanken wir Herrn Prof. Dr. G. Spittler.

b) Außerdem zeigen die IR-Spektren (KBr-Presslinge) der Rubromycine im Carbonylbereich zwei weitere Absorptionen : 1. bei 1730/cm für eine Estergruppe [Carbomethoxygruppe, δ CCl₄ = 3.93 (3) mit Alkali verseifbar] ; 2. bei 1685/cm für eine Ketogruppe [diese Absorption fällt nach Acetylierung der Rubromycine mit der Estercarbonylbande zusammen.

c) Zahlen einschließlich der Methylestergruppe.

d) Alle acetylierbar ; chelierte in Klammern.

e) Arom./olef. Protonen im NMR-Spektrum (CDCl₃) zwischen δ = 6:0 - 7.4 als Singulett erkennbar.

Antibiotisch wirksame Grenzkonzentration

β-Rubromycin	St. aureus	Bac. subtilis
	1 : 2 · 10 ⁷	1 : 6 · 10 ⁶
γ-Rubromycin	1 : 2 · 10 ⁸	1 : 1 · 10 ⁸

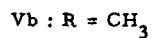
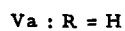
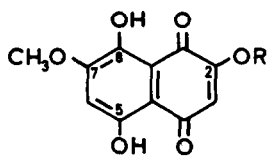
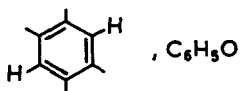
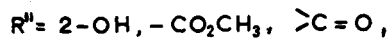
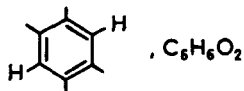
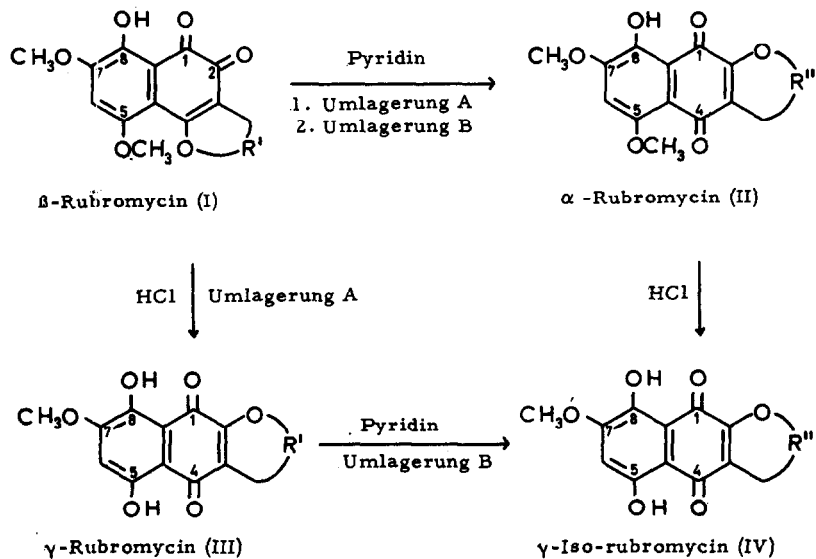
Die in konz. Schwefelsäure rot und in wäſſr. Alkalihydroxid violett löslichen Rubromycine enthalten eine Chinongruppierung [Hydrierung in n NaOH/Methanol (1 : 1), Pd/BaSO₄] und geben bei reduzierender Acetylierung farblose, in Lösung nicht fluoreszierende Leuko-rubromycinacetate, deren Spektrum dem des 1.4.5.8-Tetraacetoxy-naphthalins ähnlich ist.

Hochvakuum-Pyrolyse eines Rubromycingemisches lieferte in geringer Ausbeute kristallisiertes 2.5.8-Trihydroxy-7-methoxy-naphthochinon-(1.4) (Va), identifiziert durch Vergleich mit einem synthetischen Präparat^{4, 7)}. Damit sind die Rubromycine als Hydroxy-naphthochinon-Derivate charakterisiert. Die Absorptionsspektren (Chloroform) von 5.8-Dihydroxy-2.7-dimethoxy-naphthochinon-(1.4) (Vb)⁴⁾ [λ_{\max} : 551, 513, 480, 310 m μ (rot)] und γ -Rubromycin [λ_{\max} : 550, 513, 482, 364, 349, 316 m μ (rot)] stimmen im langwelligen Bereich gut überein; und auch in 2n NaOH sind sie ähnlich [Vb : 578, 543 m μ ; γ -Rubromycin : 585, 550 m μ]. Dementsprechend läſt sich der Chromophor des γ -Rubromycins nach III formulieren.

Während α -Rubromycin, γ -Rubromycin und γ -Iso-rubromycin Naphthochinon-(1.4)-Derivate sind, ist der Chromophor des β -Rubromycins 1.2-chinoid, wie folgende Befunde zeigen : 1. Das Redoxpotential von β -Rubromycin-diacetat [in Essigsäure/0.1n HCl (1 : 1) mit TiCl₃ titriert] liegt mit $E_o = 442$ mV um 100 mV höher als das der Acetate von α -Rubromycin und γ -Rubromycin.⁶⁾ 2. β -Rubromycin bildet mit o-Phenylendiamin ein blaues Kondensationsprodukt ohne Chinon-Carbonylbande. 3. Mit Diazomethan liefert β -Rubromycin einen blaſgelben Methylen-äther ohne Chinon-Carbonylbande [in CDCl₃ scharfes Signal bei $\delta = 5.24$ (2)].

Bei der säurekatalysierten Umwandlung von β -Rubromycin (I) in γ -Rubromycin (III) entsteht 1. aus einem 1.2-chinoiden Chromophor ein 1.4-chinoider (Umlagerung A)⁸⁾ und 2. wird die Methoxygruppe an C-5 verseift.

Die in siedendem Pyridin quantitative Isomerisierung von β -Rubromycin (I) zu α -Rubromycin (II) ist eine Umlagerung A, begleitet von einer Reaktion, bei der R' unter Entstehung einer Hydroxygruppe und eines



aromatischen Protons in R' übergeht (Umlagerung B). Beide sind irreversibel. γ -Iso-rubromycin (IV) entsteht aus γ -Rubromycin (II) durch eine Umlagerung B. Auffällig ist, dass sie sich durch eine hypsochrome Verschiebung der dabei schärfer werdenden Maxima bemerkbar macht [γ -Iso-rubromycin, λ_{\max} (Chloroform) : 534, 496, (467), (367), 320 m μ (gelbrot)].

Daß der Chromophor der Rubromycine den Formeln I - IV entsprechend keine β -Hydroxygruppe enthält, ergibt sich aus den Titrationskurven in Dimethylsulfoxid/Wasser [Gef. α -, β - und γ -Rubromycin je zwei schwach saure Gruppen ; γ -Iso-rubromycin wegen Schwerlöslichkeit nicht titrierbar].

Das NMR-Spektrum (CF₃COOH) des γ -Rubromycins zeigt ein Singulett bei $\delta = 6.55$ (1) [Proton am Chromophor (III)] sowie zwei Singuletts bei $\delta = 7.25$ (1) und $\delta = 7.75$ (1) [aromatische Protonen in p-Stellung]. Beim Übergang in das kristallisierte Mono-bromderivat [aus γ -Rubromycin in CHCl₃ bei 20°] bleibt das Signal des Chromophor-Protons ($\delta = 6.55$) unverändert, das bei $\delta = 7.25$ verschwindet und das bei $\delta = 7.74$ verschiebt sich nach $\delta = 8.15$. Beide Verbindungen stimmen in der Lage der langwelligeren Absorptionsmaxima (Chloroform) überein, die kürzerwelligeren dagegen sind beim Bromderivat [λ_{\max} : (549), 513, 485, 376, 361, 323 m μ (rot)] um 12-7 m μ bathochrom verschoben. Die IR-Spektren stimmen von 665 - 5000/cm überein. γ -Rubromycin wird somit in R' an einem aromatischen Ring leicht bromiert, der ein durch Brom in seiner Bindung beeinflusstes Proton besitzt. R' läßt sich, wie angegeben, auflösen. Rote Antibiotica (Griseorhodin A) mit einem Naphthopurpurin-Chromophor wurden von K.Eckardt⁹⁾ beschrieben.

REFERENCES

1. W. Lindenbein, Arch. Mikrobiol. 17, 361 (1952).
2. H. Brockmann und K. -H. Renneberg, Naturwissenschaften 40, 49 (1953).
3. H. Brockmann und K. -H. Renneberg, Naturwissenschaften 40, 166 (1953).
4. W. Leuk, Dissertat. Univ. Göttingen 1961.
5. G. Schwantje, Diplomarbeit Univ. Göttingen 1964 ; A. Zeeck, unveröffentlicht.
6. P. Hocks, unveröffentlicht.
7. I. Singh, R. E. Moore, C. W. J. Chang, P. J. Scheuer, J. Amer. chem. Soc. 87, 4023 (1965).
8. Diese Reaktion erinnert an die Umlagerung der Lapachone. S. C. Hooker, J. chem. Soc. [London] 61, 611 (1892) ; 69, 1355 (1896).
9. K. Eckardt, Chem. Ber. 98, 24 (1965).