

# 7-Hydroxytropolon aus *Pseudomonas* sp. [1]

7-Hydroxy Tropolone from *Pseudomonas* sp. [1]

H. Korth und G. Pulverer

Hygiene-Institut der Universität, Goldenfelsstr. 21, D-5000 Köln 41

A. Römer und H. Budzikiewicz

Institut für Organische Chemie der Universität, Greinstr. 4, D-5000 Köln 41

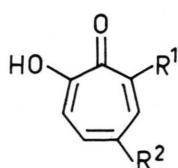
Z. Naturforsch. 36 c, 728–729 (1981); received May 25, 1981

7-Hydroxy Tropolone, Bacterial Constituents, *Pseudomonas* sp.

Structure elucidation and antibiotic activity of 7-hydroxy tropolone – a metabolite from *Pseudomonas* sp. – is reported.

Aus dem Rheinwasser konnte der *Pseudomonas*-Stamm vV isoliert werden. Es handelt sich um streng aerobe, gramnegative, lophotrich begeißelte Stäbchen, welche Glucose und Gluconat als einzige C-Quellen, Ammoniumsalze und Nitrat als einzige N-Quellen verwerten können. Arabinose (d- und L-), Xylose, Mannit, Inositol, Saccharose, Stärke, Maltose und Cellobiose werden nicht fermentiert. Alle Untersuchungsergebnisse weisen darauf hin, daß der fragliche Stamm zur *Pseudomonas*-Gruppe gehört, eine sichere Spezies-Zuordnung war dagegen nicht möglich.

Der *Pseudomonas*-Stamm vV fällt durch seine starke Hemmwirkung auf das Wachstum anderer Bakterien auf. Aus dem Kulturmedium läßt sich eine antibiotisch wirksame Substanz als weiße kristalline Verbindung der Elementarzusammensetzung  $C_7H_6O_3$  isolieren. Das Massenspektrum zeigte von  $M^+$  ( $m/z$  138) ausgehend nur Fragmentierungssequenzen durch sukzessiven Verlust von CO, CHO und  $H_2O$  in unterschiedlicher Reihenfolge, das  $^1H$ -NMR-Spektrum ein AA'BB'-Muster (4H), Zentrum bei 7,38 ppm, sowie ein breites Singulett bei 8,37



1:  $R^1 = OH$ ,  $R^2 = H$

2:  $R^1 = H$ ,  $R^2 = OH$

3:  $R^1 = R^2 = H$

4:  $R^1 = OCH_3$ ,  $R^2 = H$

Sonderdruckanforderungen an Prof. H. Budzikiewicz.

0341-0382/81/0900-0728 \$ 01.00/0

ppm (2H), das bei Zusatz von  $D_2O$  verschwindet. Im IR-Spektrum finden sich  $CO^-$  ( $1610\text{ cm}^{-1}$ ) und  $OH^-$  ( $3230\text{ cm}^{-1}$ ) Banden in dem für Tropolone typischen Bereich, so daß für die isolierte Verbindung die Struktur eines 7-Hydroxy-(1) oder evtl. 5-Hydroxytropolons (2) naheliegt. Vergleich der physikalischen Eigenschaften mit Literaturdaten (Schmp., IR, UV [2] und  $^1H$ -NMR [3]; bzgl. 2, Schmp. und NMR s. [4]) ergibt eindeutig, daß es sich bei unserer Verbindung um 1 handelt.

7-Hydroxytropolon (1) wurde an folgenden 183 frisch aus Klinikmaterial angezüchteten Bakterienstämmen auf seine antibiotische Wirksamkeit getestet:

## 1) Gram-positive Erreger:

|  |           |
|--|-----------|
| <i>Staphylococcus aureus</i>                   | 10 Stämme |
| Koagulase-negative Staphylokokken              | 10 Stämme |
| Mikrokokken                                    | 9 Stämme  |
| <i>Streptococcus faecalis</i> (Enterokokken)   | 10 Stämme |
| <i>Streptococcus pyogenes</i>                  | 8 Stämme  |
| <i>Streptococcus agalactiae</i>                | 10 Stämme |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> (Pneumokokken) | 1 Stamm   |

## 2) Gram-negativer Erreger:

|                                |           |
|--------------------------------|-----------|
| <i>Escherichia coli</i>        | 20 Stämme |
| <i>Citrobacter intermedius</i> | 2 Stämme  |
| <i>Citrobacter freundii</i>    | 6 Stämme  |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>   | 13 Stämme |
| <i>Klebsiella oxytoca</i>      | 9 Stämme  |
| <i>Enterobacter cloacae</i>    | 11 Stämme |
| <i>Enterobacter aerogenes</i>  | 3 Stämme  |
| <i>Serratia marcescens</i>     | 13 Stämme |
| <i>Proteus mirabilis</i>       | 15 Stämme |



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

|                                    |           |
|------------------------------------|-----------|
| <i>Proteus morganii</i>            | 4 Stämme  |
| <i>Proteus vulgaris</i>            | 5 Stämme  |
| <i>Proteus rettgeri</i>            | 1 Stamm   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>      | 20 Stämme |
| <i>Pseudomonas</i> -Gruppe         | 1 Stamm   |
| <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> | 2 Stämme  |

Die Differenzierung der Stämme erfolgte nach dem Bergey's Manual (8. Ausgabe). Als Kontrolle wurden folgende Stämme mitgetestet: *Staph. aureus* SG 511-Jena, *Staph. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 und *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Zur Empfindlichkeitstestung wurde der Blättchentest auf Müller-Hinton-Agar (Oxoid Nr. 4) herangezogen. Die Vorkultur der Stämme erfolgte in Müller-Hinton Bouillon (Oxoid). Bei den Streptokokken und Pneumokokken wurde dem Agarmedium 5% defibriniertes Hammelblut zugegeben. Die Agarplatten wurden auf ihrer Oberfläche mit je 1 ml der Übernachtkulturen (Keimkonzentrationen rd. 10<sup>5</sup> bis 10<sup>6</sup>/ml) beimpft, nach Trocknen die Testblättchen beschickt mit jeweils 100 µg 7-Hydroxytropolon (**1**) aufgelegt und Ergebnisse nach 18ständiger Bebrütung bei 37 °C abgelesen. Alle Test- und Kontrollstämme zeigten um die Testblättchen sehr deutliche Hemmhöfe mit einem Radius vom Blättchenrand aus von 10–30 mm (Durchschnitt 20 mm).

Tropolon (**3**) selbst ist kürzlich aus einem *Pseudomonas*-Stamm (ATCC 31099) [5], Methoxyderivate von **3** (u. a. **4**, ein Methylether von **1**) aus Streptovorticillium hadanonense isoliert worden [6]. Alle diese Verbindungen zeigen antibiotische Aktivität. Es scheint, daß Troponderivate in Mikroorganismen durchaus verbreitet, aber bisher übersehen worden sind.

### Dank

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft möchten wir für finanzielle Unterstützung bestens danken.

### Experimenteller Teil

Mit dem *Pseudomonas*-Stamm vV wurde 1 l eines Kulturmediums bestehend aus 4 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 g MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O, 5 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und 10 g Glucose pro Liter, eingestellt mit KOH auf pH 7,4, beimpft. Die Bebrütung erfolgte bei Zimmertemperatur unter starker Belüftung mittels Magnetrührer. Nach einem 3tägigen Wachstum wurde die Kultur auf pH 3 angesäuert und dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Aus dem nach Abdampfen des Lösungsmittels gewonnenen Rückstand konnte durch Sublimation bei 100 °C reines **1** gewonnen werden.

**7-Hydroxytropolon (1).** Schmp. (im abgeschmolzenen Röhrchen) 134–135 ° (Lit. [2] 136 °, Schmp. [5] von **2**: 246 °). Massenspektrum (Finnigan 3200, 70 eV, direkt) 138 (M<sup>+</sup>) 49%, 110 (M-CO) 100%, 92 (M-CO-H<sub>2</sub>O) 15%, 82 (M-2 CO) 14%, 81 (M-CO-CHO) 21%, 64 (M-2 CO-H<sub>2</sub>O) 46%, 63 (M-CO-CHO-H<sub>2</sub>O) 37%, 53 (M-2 CO-CHO) 38%, 52 17%, 51 30%, 50 28%. IR (Film auf NaCl) 3230, 1610, 1530, 1520, 1435, 1405, 1290, 1270, 1250, 1230, 1180, 1000, 910, 855, 730 cm<sup>-1</sup>. UV (CH<sub>3</sub>OH) 245 (4,56), 324 (3,78), 355 (Schulter), 365 (3,85), 375 (3,88) nm (log ε). NMR (90 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS): AA'BB'-System zentriert bei 7,38 ppm (4 H); breites Singulett 8,73 ppm (2 H, verschwindet bei D<sub>2</sub>O-Zusatz). Elementanalyse: gef. C 61,01%, H 4,55%, O 34,55%, Mol.-Gew. (Rast) 145; ber. für C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>, C 60,85%, H 4,38%, O 34,77%, Mol.-Gew. (massenspektroskopisch) 138.

- [1] Bakterieninhaltstoffe XIV. Teil XIII s. N. Mohr und H. Budzikiewicz, Tetrahedron, im Druck.
- [2] M. Tišler, Univ. Ljubljana, Tekniška Fak. Acta Tech., Ser. Chim. **2**, 40 (1956) (C. A. **53**, 18.929 a, 1959); R. B. Johns, A. W. Johnson und M. Tišler, J. Chem. Soc. **1954**, 4604.
- [3] M. Hirama und Shô Itô, Tetrahedron Lett. **1975**, 1071.
- [4] G. A. Russel, C. M. Tanger u. Y. Kosugi, J. Org. Chem. **43**, 3278 (1978).
- [5] T. Nara et al. (Kyowa Hakko Kogyo), Japan Kokai 78-136588 (19. Nov. 1978) and 78-135954 (28. Nov. 1978) (zitiert in J. Antibiot. 1980 im Index of Antibiotics unter 80-104 und 80-105).