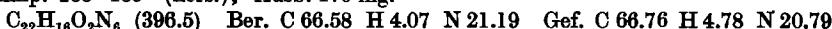


2 Stdn. wird filtriert und mit Eisessig angesäuert. Auf Zusatz von Wasser fällt die Formazylverbindung I aus. Aus Alkohol umkristallisiert, dunkelrote Kristalle vom Schmp. 188–189° (Zers.); Ausb. 170 mg.



Auf Zusatz von 20-proz. Überchlorsäure zur roten Eisessiglösung scheidet sich das Perchlorat ab; dunkelrote Kristalle vom Schmp. 172–173° (Zers.).



**Nickelkomplex (II):** Eine alkohol. Lösung von 40 mg der Verbindung I wird mit einer konz. wäßr. Lösung von je 70 mg Nickelsulfat und Natriumacetat versetzt und einige Min. auf dem Wasserbad gekocht. Die abgeschiedenen Kristalle werden abgesaugt und mit Wasser nachgewaschen. Schwarzgrüne Mikrokristalle, die bei 320° noch nicht schmelzen.



**207. Hans Brockmann und Peter Patt: Iso-rhodomycin A, ein neues Antibioticum aus *Streptomyces purpurascens*, Rhodomycine, III. Mitteil.<sup>1)</sup>; Antibiotica aus Actinomyceten, XXXII. Mitteil.<sup>2)</sup>**

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]  
(Eingegangen am 18. Juni 1955)

In der A-Faktion des Rhodomycins wurde neben Rhodomycin A ein neues, rotes, stickstoffhaltiges, wasserlösliches Antibioticum, das Iso-rhodomycin A, aufgefunden und als kristallisiertes Hydrochlorid und Perchlorat isoliert. Durch Ring-Papierchromatographie mit Pufferlösung oder verd. Essigsäure als stationärer Phase können Rhodomycin A und Iso-rhodomycin A analytisch und präparativ voneinander getrennt werden.

Beide Antibiotica zerfallen bei milder Säurehydrolyse in den wasserunlöslichen, stickstofffreien Chromophor und eine wasserlösliche, stickstoffhaltige Fraktion. Der Chromophor des Rhodomycins A ist das Rhodomycinon, der des Iso-rhodomycins A das Iso-rhodomyconin.

Aus der B-Faktion des Rhodomycins wurde ein rotes, Rhodomycin B genanntes Antibioticum als kristallisiertes Hydrochlorid abgetrennt.

Das rote, wasserlösliche, von *Streptomyces purpurascens*<sup>3)</sup> gebildete und als kristallisiertes Hydrochlorid isolierte Antibioticum Rhodomycin A<sup>1,4)</sup> spaltet sich bei milder Säurehydrolyse in eine wasserunlösliche, stickstofffreie Chromophor-Faktion und einen stickstoffhaltigen, wasserlöslichen Anteil, aus dem kürzlich Rhodosamin<sup>5)</sup>, eine Dimethyl-amino-desoxyaldose, isoliert wurde. Die Chromophor-Faktion unserer bisherigen Rhodomycin A-Präparate enthält, wie ihre chromatographische Untersuchung gezeigt hat, als Haupt-

<sup>5)</sup> Die Analysen wurden in unserem Mikrolaboratorium (Leitung: Doz. Dr. L. Loewe) ausgeführt.

<sup>1)</sup> II. Mitteil.: H. Brockmann u. I. Borchers, Chem. Ber. 86, 261 [1953].

<sup>2)</sup> XXXI. Mitteil.: H. Brockmann u. R. Oster, Naturwissenschaften 42, 155 [1955].

<sup>3)</sup> W. Lindenbein, Arch. Mikrobiol. 17, 361 [1952].

<sup>4)</sup> H. Brockmann, K. Bauer u. I. Borchers, Chem. Ber. 84, 700 [1951].

<sup>5)</sup> H. Brockmann u. E. Spohler, Naturwissenschaften 42, 154 [1955].

bestandteil das gelbrot lösliche, kristallisierte Rhodomycinon<sup>1</sup>), dem in geringer Menge eine zweite, Iso-rhodomycinon genannte Verbindung<sup>1</sup>) beigemengt ist. Iso-rhodomycinon löst sich in organischen Solvenzien karmoisinrot und wurde bisher nur amorph erhalten.

Da sich Rhodomycinon und Iso-rhodomycinon unter den Bedingungen der Rhodomycin-Hydrolyse nicht ineinander umwandeln und demnach nicht zwei verschiedenen Abbaustufen entsprechen, wurde bereits in der vorhergehenden Mitteilung die Vermutung geäußert, daß das Iso-rhodomycinon einer noch unbekannten Beimengung des Rhodomycins A entstammt<sup>1</sup>). Eine erste Bestätigung dieser Annahme brachte der spektroskopische Vergleich von Rhodomycin A-Präparaten verschiedener Herkunft, bei dem wir gewisse Unterschiede im Absorptionsspektrum feststellten. Insbesondere war die Extinktion einer in Methanol bei 565 m $\mu$  liegenden Bande bei verschiedenen Präparaten verschieden groß. Ferner stellte sich heraus, daß auch die Absorptionskurven der beim Umkristallisieren von Rhodomycin A-hydrochlorid anfallenden Fraktionen voneinander abwichen; die am höchsten schmelzende Spitzenfraktion absorbierte im langwelligen Gebiet stärker als die aus den Mutterlaugen gewonnenen Anteile. Und schließlich gaben Präparate mit starker 565-m $\mu$ -Bande beim Säureabbau stets mehr Iso-rhodomycinon als solche, bei denen diese Bande nur schwach war. Nach alledem war nicht mehr zu bezweifeln, daß unsere bisherigen Rhodomycin A-Präparate in wechselnder Menge eine Verbindung enthalten haben, die in Methanol ein Absorptionsmaximum bei 565 m $\mu$  zeigt und beim Säureabbau Iso-rhodomycinon liefert.

#### Trennung von Rhodomycin A und Iso-rhodomycin A

Die Frage, ob die langwellig absorbierende Beimengung des Rhodomycins A ein neues Antibioticum ist, hat sich verhältnismäßig schnell entscheiden lassen, weil durch einen glücklichen Zufall bei einem Submersansatz von *Str. purpurascens* die Antibiotica-Produktion anders verlief als bisher. Das Mycel dieses Ansatzes lieferte nämlich eine Rhodomycin A-Fraktion, die im Gegensatz zu unseren bisherigen, gelbrot löslichen A-Fraktionen von Wasser und Methanol mit karmoisinroter Farbe aufgenommen wurde. Auch das aus dieser Fraktion gewonnene, rote, kristallisierte Hydrochlorid vom Schmp. 193° unterschied sich charakteristisch von unserem bis dahin erhaltenen Rhodomycin A-hydrochlorid, und zwar 1. durch sein Absorptionsspektrum, 2. durch seine blaue Farbe in wäßrigem Alkali (Rhodomycin A löst sich violett) und 3. durch die Zusammensetzung der beim Säureabbau entstehenden Chromophor-Fraktion, die umgekehrt wie beim Rhodomycin A mehr Iso-rhodomycinon als Rhodomycinon enthielt. In der antibiotischen Wirksamkeit dagegen (Hemmung von *St. aureus* bis zur Verdünnung 1:3 × 10<sup>7</sup>) fanden sich keine auffälligen Unterschiede gegenüber Rhodomycin A. Damit konnte als gesichert gelten, daß in unserem karmoisinroten Hydrochlorid ein neues Antibioticum vorliegt, dessen Chromophor Iso-rhodomycinon ist. Es ist im folgenden als Iso-rhodomycin A bezeichnet. Daß beim Säureabbau unseres

Präparates neben Iso-rhodomycinon auch Rhodomycinon auftrat, ließ auf beigemengtes Rhodomycin A schließen, eine Vermutung, die sich später bestätigt hat.

Da unser neues Präparat in Methanol eine starke Bande bei  $565 \text{ m}\mu$  hat, lag der Verdacht nahe, daß die durch die gleiche Bande charakterisierte Begleitsubstanz unserer bisherigen Rhodomycin A-Präparate nichts anderes ist, als Iso-rhodomycinon. Wie unten gezeigt, ist das tatsächlich der Fall.

*Str. purpurascens* kann demnach Rhodomycin A und Iso-rhodomycin A in wechselseitigem Mengenverhältnis erzeugen. Während von allen bisher untersuchten Kulturen bevorzugt Rhodomycin A gebildet wurde, war im eben beschriebenen Fall das Verhältnis Rhodomycin A: Iso-rhodomycin A zum erstenmal umgekehrt wie bisher und so zugunsten des Iso-rhodomycins A verschoben, daß dieses, wenn auch noch mit etwas Rhodomycin A vermischt, als kristallisiertes Hydrochlorid isoliert werden konnte.

Die nächste Aufgabe mußte sein, ein Verfahren zur Trennung und Reindarstellung der beiden Antibiotica ausfindig zu machen. Versuche, eine Trennung durch Adsorptionschromatographie zu erzielen, verliefen erfolglos. In den zur Chromatographie besonders geeigneten Lösungsmitteln sind die Rhodomycine wenig oder gar nicht löslich und die, in denen sie sich lösen, sind stark eluotrop und erfordern daher hochaktive Adsorbenzien, an denen keine Trennung zu erreichen war.

Nach diesem Mißerfolg haben wir uns der fraktionierten Gegenstromverteilung zugewandt und zunächst unser Rhodomycin A enthaltendes Iso-rhodomycin-hydrochlorid vom Schmp.  $193^\circ$  in einer vollautomatischen Apparatur<sup>6)</sup> über 200 Stufen zwischen Butanol und Phosphatpuffer ( $p_H$  6.0) verteilt. Die dabei erhaltenen Kurve (Abbild. 1) zeigt, daß unser Präparat noch Beimengungen enthielt, die sich durch die Maxima II, III und IV zu erkennen geben. Da auch die Iso-rhodomycin A-Fraktion I noch nicht einheitlich war (Kurve rechts vom Maximum flacher als berechnet), wurde die Verteilung über 350 Stufen weitergeführt, wobei die Fraktionen II, III und IV die Apparatur verließen. Nach insgesamt 550 Überführungen hatte sich der rechte Teil der Iso-rhodomycin A-Kurve weiter verflacht (Abbild. 2), eine Abtrennung der

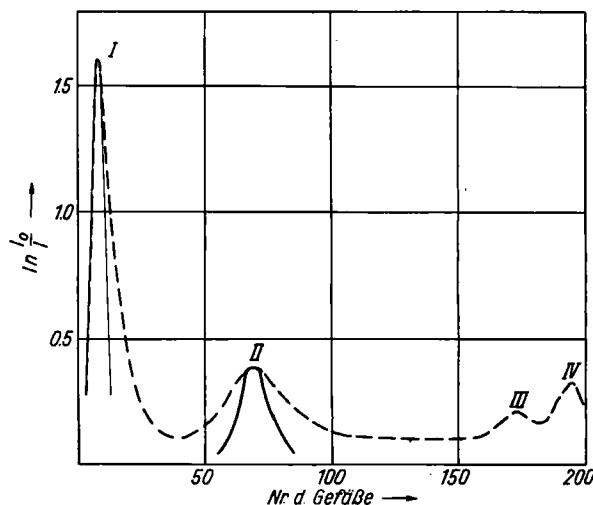


Abbildung 1. Gegenstromverteilung von Iso-rhodomycin A-hydrochlorid, Schmp.  $193^\circ$ , über 200 Stufen in Butanol-Phosphatpuffer  $p_H$  6.0; —— exper. Kurvenverlauf, — ber. Kurvenverlauf

<sup>6)</sup> F. A. v. Metzsch, Chemie-Ing.-Techn. 25, 66 [1953].

sich durch diese Verflachung andeutenden Beimengung war jedoch nicht erreicht. Lediglich eine gewisse Fraktionierung war eingetreten, erkenntlich daran, daß in den Gefäßen 40–60 die 565-m $\mu$ -Bande (im Vergleich zu den anderen Banden) schwächer war als in den davor liegenden Stufen.

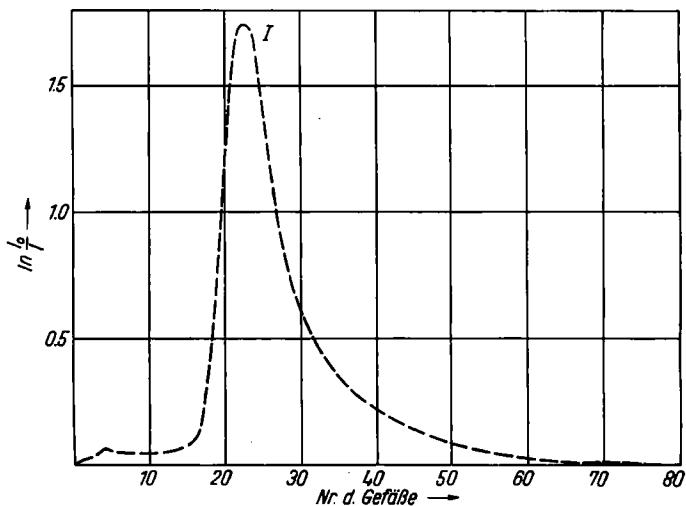


Abbildung. 2. Gegenstromverteilung von Iso-rhodomycin A-hydrochlorid über 550 Stufen

Um möglichst reines Iso-rhodomycin A zu erhalten, wurde zunächst nur der Inhalt der zum Kurvengipfel gehörigen Gefäße 21–25 (Abbildung. 2) aufgearbeitet. Dabei erhielten wir ein kristallisiertes, dunkelrotes Hydrochlorid, das zum Unterschied vom Ausgangsmaterial (Schmp. 193°) bei 205° schmolz. Es gab bei hydrolytischer Spaltung mit Säure eine Farbstoff-Fraktion, die prozentual zwar mehr Iso-rhodomycinon enthielt als das Ausgangsmaterial der Gegenstromverteilung, jedoch nicht frei von Rhodomycinon war; ein Zeichen, daß selbst die nach 550-stufiger Verteilung anfallende Iso-rhodomycin A-Spitzenfraktion noch Rhodomycin A enthält. Damit schied die apparative Verteilung als Trennungsverfahren aus.

Als nächstes haben wir versucht, die Gegenstromverteilung an mit Pufferlösung ( $p_H$  5.8) befeuchteten Cellulose-Säulen durchzuführen. Eingesetzt wurden zunächst rohe, noch nicht durch Gegenstromverteilung vorgereinigte Rhodomycin-Präparate. Bei Entwicklung mit Butanol bildeten sich schnell zwei gut voneinander getrennte Zonen, von denen die obere die Rhodomycin A-, die untere die Rhodomycin B-Fraktion enthielt. Für die Zerlegung roher Rhodomycin-Präparate in Fraktion A und B ist die Chromatographie an der Cellulose-Säule mindestens ebenso gut geeignet, wie die bislang angewandte Verteilung<sup>1)</sup> in der Apparatur.

Bei längerer Entwicklung des Rhodomycin-Chromatogrammes mit Butanol entstand allmählich am oberen Rand der A- und B-Zone ein schmaler, karmoisinroter Saum, in dem wir Iso-rhodomycin A bzw. eine dem Iso-rhodomycin A entsprechende, rote Komponente der B-Fraktion vermuteten. Leider war die Abgrenzung dieses Saumes gegen

die gelbrote A- bzw. B-Zone zu unscharf, um eine befriedigende Abtrennung der roten Komponenten zu gestatten. Vielleicht lassen sich Lösungsmittelsysteme finden, in denen die roten Randzonen schärfer abgesetzt sind. Wir haben diese Frage noch nicht weiterverfolgt, weil uns auf Grund von Vorversuchen die Anwendung der Papierchromatographie aussichtsreicher erschien.

Bei den ersten Versuchen zur papierchromatographischen Trennung der Rhodomycine arbeiteten wir nach R. R. Goodall und A. A. Levy<sup>7)</sup> auf Papierstreifen, die mit Pufferlösung ( $p_H$  6.0–7.0) befeuchtet waren. Als absteigende, mobile Phase diente Butanol. Rohes Rhodomycin trennte sich dabei in zwei breite, verwaschene Zonen der A- und B-Fraktion, die bei längerer Entwicklung ineinander liefen. Im Gegensatz zu diesem wenig ermutigenden Ergebnis erzielten wir gute Trenneffekte, als wir das Verfahren von Goodall und Levy mit der von L. Rutter<sup>8)</sup> angegebenen, von G. Zimmermann und K. Nehringer<sup>9)</sup> modifizierten Ringchromatographie kombinierten und auf waagerechten, mit  $m/_{15}$  Phosphatpuffer ( $p_H$  5.8–3.5) getränkten Papierbögen chromatographierten<sup>10)</sup>. Rohes Rhodomycin gab mit Butanol als mobiler Phase zwei weit auseinanderliegende Ringzonen, von denen die innere die Rhodomycin A-Fraktion, die äußere die B-Fraktion enthielt. Beide waren gelbrot und zeigten bei längerer Entwicklung einen schmalen, karmoisinroten Innensaum, der in Abbild. 3 als  $A_1$  bzw.  $B_1$  bezeichnet ist. Statt Pufferlösung kann als stationäre Phase auch 10-proz. Essigsäure verwendet werden.

Das Methanol-Eluat der  $A_1$ -Zone hatte die gleichen Absorptionsbanden wie die Iso-rhodomycin A-Fraktion der 550-stufigen Gegenstromverteilung. Die Annahme, daß der Inhaltsstoff der  $A_1$ -Zone Iso-rhodomycin A ist, war daher nicht von der Hand zu weisen. Dafür sprach auch das Mischchromatogramm. Als wir nämlich dem zur Chromatographie verwendeten Rhodomycin-Präparat eine kleine Menge Iso-rhodomycin A aus der Spitzenfraktion der Gegenstromverteilung zusetzten, war im Ringchromatogramm dieser Mischung die  $A_1$ -Zone erheblich breiter. Eine endgültige Bestätigung unserer Annahme brachte die weiter unten beschriebene, präparative Abtrennung des Iso-rhodomycins A aus der  $A_1$ -Zone des Papierchromatogrammes.

Das in manchen ungereinigten Rhodomycin-Präparaten enthaltene Rhodomycinon und Iso-rhodomycinon sammelte sich bei der Ringchromatographie in einer dritten, weit außen liegenden Zone an. Eine Trennung der beiden Chromophore trat im System Bu-

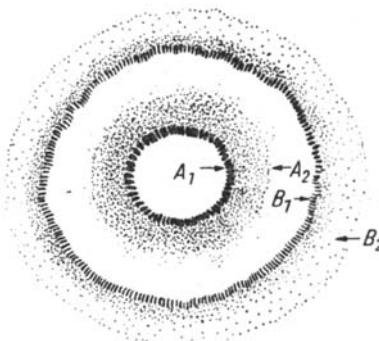


Abbildung 3. Ringchromatogramm von Roh-Rhodomycin (System Butanol- $m/_{15}$  Phosphatpuffer vom  $p_H$  5.8).  $A_1$  = Iso-rhodomycin A;  $A_2$  = Rhodomycin A;  $B_1$  = Iso-rhodomycin B;  $B_2$  = Rhodomycin B

<sup>7)</sup> Analyst 72, 277 [1947]; Nature [London] 168, 31 [1949].

<sup>8)</sup> Nature [London] 161, 435 [1948]. <sup>9)</sup> Angew. Chem. 63, 556 [1952].

<sup>10)</sup> H. Brockmann u. P. Patt, Naturwissenschaften 40, 221 [1953].

tanol-Phosphatpuffer nicht ein, weil ihre  $R_F$ -Werte hier zu groß sind. Sie gelang jedoch in Formamid-Benzol. Hier bildeten die beiden Verbindungen gut voneinander getrennte Zonen, von denen die karmoisinrote des Iso-rhodomycinons den kleineren  $R_F$ -Wert hatte.

Mit dieser Ausführungsform der Ringchromatographie war nunmehr die Möglichkeit gegeben, Rhodomycin-Präparate schnell und unter Einsatz kleiner Mengen auf Einheitlichkeit zu prüfen. Als erstes Beispiel untersuchten wir ein nach dem früher beschriebenen Verfahren hergestelltes Rhodomycin A-hydrochlorid vom Schmp. 183°. Neben einer breiten, gelbroten Hauptzone entwickelte sich eine schwächere, gelbrote B-Zone, ein Zeichen, daß bei der Darstellung des Präparates die Rhodomycin B-Fraktion nicht restlos entfernt worden war. Bei längerer Entwicklung entstand am inneren Rand beider Zonen ein karmoisinroter Saum, der auf die Anwesenheit kleiner Mengen Iso-rhodomycin A bzw. einer roten Komponente der B-Fraktion hindeutete.

In gleicher Weise wurde das für die oben geschilderte 550-stufige Gegenstromverteilung verwendete Iso-rhodomycin A-hydrochlorid vom Schmp. 193° geprüft. Es bildete einen breiten inneren und einen schmalen äußeren Ring, die beide weit voneinander getrennt und karmoisinrot waren. Erst bei längerer Entwicklung (24 Stdn.) trat am äußeren Rand der beiden Zonen ein schmaler, gelbrote Saum auf, der offenbar von Rhodomycin A bzw. Rhodomycin B herrührte.

Der gute Trenneffekt im Ringchromatogramm hat uns veranlaßt, das Verfahren im präparativen Maßstab anzuwenden. Da sich je Bogen höchstens 10 mg Substanz einsetzen lassen und die Entwicklung 24–30 Stdn. dauert, wenn eine gute Trennung von Iso-rhodomycin A und Rhodomycin A erreicht werden soll, war die bisherige Arbeitsweise, bei der ein Bogen zwischen Rand und tubulierte Deckel eines Exsiccators eingespannt wird<sup>9)</sup>, für präparative Zwecke zu umständlich. Wie bereits mitgeteilt<sup>10)</sup>, wurde daher ein Verfahren ausgearbeitet, mit dem man 30–60 Ringchromatogramme gleichzeitig entwickeln kann. Dabei werden die einzelnen Bögen aufeinander geschichtet, in der Mitte mit einem Korkbohrer durchbohrt und von dem so entstandenen Bohrkanal aus durch die früher beschriebene Tränkvorrichtung<sup>10)</sup> zuerst mit stationärer und dann mit mobiler Phase versorgt. Der Papierpack liegt dabei in einem Exsiccator, durch dessen tubulierte Deckel die Vorratspipette<sup>10)</sup> für die stationäre bzw. mobile Phase eingesetzt wird. In einem Ansatz können so 300–600 mg Substanz verarbeitet werden.

Mit diesem Verfahren wurde zunächst die Darstellung von reinem Iso-rhodomycin A in Angriff genommen. Ausgangsmaterial war Antibioticum aus den Gefäßen 1–79 der 550-stufigen Gegenstromverteilung, von dem 300 mg auf 32 Bögen im System Butanol-10-proz. Essigsäure chromatographiert wurden. Die Trennung der A-Zone in einen breiten roten Ring und eine nach außen daran anschließende, schmale gelbrote Zone war erst nach etwa 30 Stdn. deutlich genug. Während dieser Zeit wanderte die B-Zone an den Rand des Papierpackes. Aus den getrockneten Bögen wurde die rote und gelbrote Zone herausgeschnitten und eluiert.

Der Inhalt der karmoisinroten A-Zone kristallisierte aus salzsäurehaltigem Methanol in dunkelroten Prismen vom Schmp. 220°. Weiteres Umkristallisieren erhöhte den Schmelzpunkt nicht mehr. Hydrolyse mit Säure lieferte

als einziges farbiges Abbauprodukt Iso-rhodomycinon. Das Präparat vom Schmp. 220° ist demnach reines Iso-rhodomycin A-hydrochlorid. Wie sich später herausstellte, kann reines Iso-rhodomycin A-hydrochlorid auch durch fraktioniertes Umkristallisieren der aus der 550-stufigen Gegenstromverteilung erhaltenen Spitzenfraktion vom Schmp. 205° gewonnen werden. Ein Teil des aus der karmoisinroten Zone eluierten Iso-rhodomycins A wurde in ein kristallisiertes rotes Perchlorat vom Schmp. 177° übergeführt. Aus dem äußeren, gelbroten Rand der A-Zone konnten wir in geringer Menge Rhodomycin A isolieren.

Bei der Fraktionierung der Rhodomycine ist die präparative Ringchromatographie der fraktionierten Gegenstromverteilung nicht nur hinsichtlich des Trenneffektes überlegen. Auch der Lösungsmittelverbrauch ist bedeutend geringer. So ließen sich mit einem Pack aus 60 Bögen (29 × 29 cm) 600 mg Roh-Rhodomycin in die A- und B-Fraktion zerlegen, wobei als mobile Phase 400 ccm Butanol verbraucht wurden. Für eine über 550 Stufen durchgeführte Gegenstromverteilung von 680 mg Roh-Rhodomycin waren dagegen 13.7 l Butanol erforderlich.

Das reine Iso-rhodomycin A-hydrochlorid vom Schmp. 220° hemmte unseren *St.-aureus*-Stamm bis zur Verdünnung 1:4 · 10<sup>7</sup>. Seine Absorptionskurve ist der des Iso-rhodomycinons sehr ähnlich. Dagegen unterscheidet sie sich charakteristisch von der des Rhodomycins A (Abbildung 4).

Bei der Bewertung der Analysenergebnisse ist zu berücksichtigen, daß Iso-rhodomycin A-hydrochlorid hartnäckig Lösungsmittel festschlägt und bei längerem Trocknen Chlorwasserstoff abspalten kann. Die kleinste, mit den Analysenzahlen in Einklang zu bringende Formel ist C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>8</sub>NCl. Auch C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>8</sub>NCl, obgleich weniger gut passend, muß noch in Betracht gezogen werden. Für die C<sub>20</sub>-Formel liegen die Kohlenstoffwerte des Perchlorates etwas zu niedrig und die Cl-Werte etwas zu hoch, was durch Reste überschüssiger Perchlorsäure bedingt sein kann. Versuche, über die in der nächsten Mitteilung berichtet wird, haben gezeigt, daß das Mol.-Gew. des Iso-rhodomycin A-hydrochlorides mindestens doppelt so groß ist wie das der C<sub>20</sub>-Formel. Angaben über die Bruttoformel des Antibioticums sind daher noch nicht möglich.

Auch zur Gewinnung von reinem Rhodomycin A-hydrochlorid hat sich die präparative Ringchromatographie gut bewährt. Eingesetzt wurden 250 mg einer Rhodomycin A-Fraktion, aus der das oben erwähnte Hydrochlorid vom Schmp. 183° bereitet war. Nach 24stdg. Entwicklung mit Butanol (stationäre Phase: 10-proz. Essigsäure) war der karmoisinrote, innere Rand der A-Zone deutlich von der gelbroten Hauptzone abgesetzt. Aus der Hauptzone erhielten wir ein gut kristallisiertes, rotes Hydrochlorid vom Schmp. 205°. Ein Teil des Eluates der Hauptzone wurde in ein kristallisiertes, dunkelrotes Rhodomycin A-perchlorat vom Schmp. 188° übergeführt. Beim Säureabbau des Rhodomycin A-hydrochlorides entstand als farbiges Abbauprodukt ausschließlich Rhodomycinon, das sich im Papierchromatogramm als einheitlich erwies. Das Rhodomycin A-hydrochlorid vom Schmp. 205° war demnach frei von Iso-rhodomycin A. Aus dem karmoisinroten Innenrand der A-Zone ließ sich eine geringe Menge Iso-rhodomycin A isolieren.

Die kleinste, auf die Analysenzahlen des Rhodomycin A-perchlorates passende Summenformel des Antibioticums ist  $C_{20}H_{29}O_7N$ . Zur gleichen Formel hatten die Analysen unserer früheren, etwa 10 % Iso-rhodomycin A enthaltenden Rhodomycin A-hydrochlorid-Präparate geführt. Die Kohlenstoffwerte unseres Rhodomycin A-hydrochlorides vom Schmp. 205° lagen etwa 1 % niedriger als für die  $C_{20}$ -Formel berechnet. Da aber andererseits die Chlorwerte etwa 1 % zu hoch waren, scheint uns die Abweichung in den Kohlenstoffwerten nicht unbedingt gegen die  $C_{20}$ -Formel zu sprechen. Im übrigen gilt hinsichtlich des Mol.-Gew. das gleiche wie für Iso-rhodomycin A, so daß sich noch keine Aussagen über die Bruttoformel des Rhodomycins A machen lassen.

Tafel 1. Vergleich der Rhodomycine

	Iso-rhodomycinA- hydrochlorid	RhodomycinA- hydrochlorid	RhodomycinB- hydrochlorid
Schmp. ....	220°	205°	180°
$[\alpha]_{806-760}^{18}$ ....	+268° ± 30°	+178° ± 10°	+174° ± 10°
wirksame Grenzkonzentration	1:4 × 10 <sup>7</sup>	1:2 × 10 <sup>7</sup>	1:4 × 10 <sup>6</sup>
Absorptionsmaxima (Methanol)	610, 563, 551	532, 494	530, 496

Tafel 1 zeigt Daten, durch die sich die Rhodomycine unterscheiden.

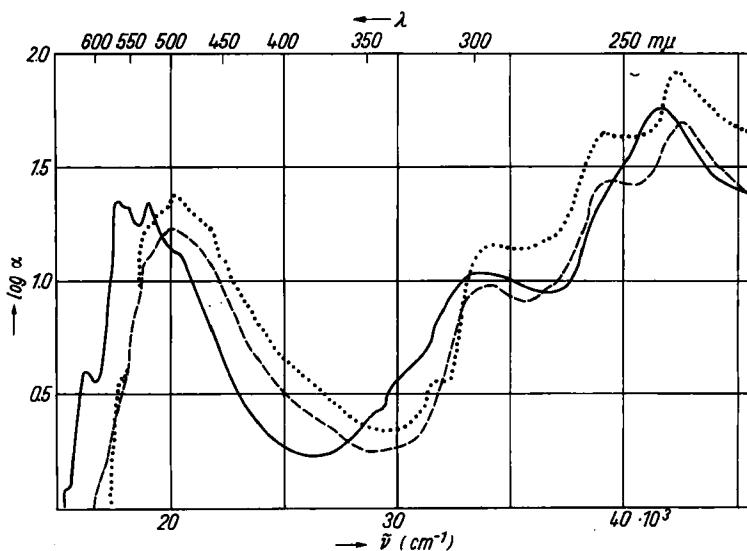
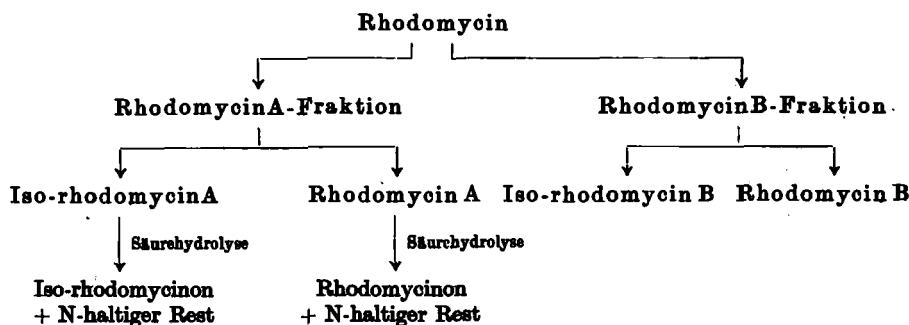


Abbildung 4. Absorptionskurven von Iso-rhodomycin A-hydrochlorid —, Rhodomycin A-hydrochlorid --- und Rhodomycin B-hydrochlorid ····· in Methanol

Das folgende Schema gibt einen Überblick über die bisher aufgefundenen Komponenten des Rhodomycin-Komplexes.



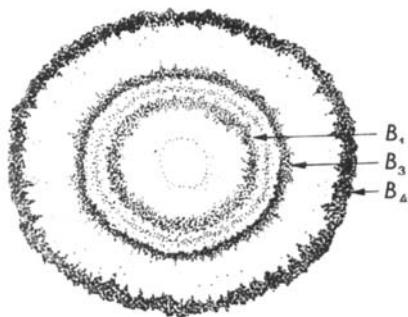
### Rhodomycin B

Die B-Fraktion des Rhodomycins, die bisher nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte, ist beim isoelektrischen Punkt in Wasser viel weniger löslich als die A-Fraktion. Ihre  $R_F$ -Werte sind daher in den zur Trennung der A-Rhodomycine bewährten Lösungsmittelsystemen zu groß, um eine wirkungsvolle Fraktionierung zu gestatten. Immerhin bildete sich auch in diesen Systemen ein karmoisinroter Innenrand der B-Zone, eine gewisse Auftrennung war demnach erfolgt.

Um die B-Fraktion im Papierchromatogramm in ihre Komponenten zu zerlegen, mußte ein Phasenpaar ausfindig gemacht werden, in dem ihre  $R_F$ -Werte kleiner sind als in Butanol-Pufferlösung bzw. Butanol-10-proz. Essigsäure. Ein solches Paar erhält man, wenn man ein Gemisch aus gleichen Volumina Butanol und Formamid mit Wasser versetzt, bis zwei Schichten entstehen, und die untere als stationäre, die obere als mobile Phase verwendet. In diesem System trennte sich die B-Fraktion, wie Abbild. 5 zeigt, in vier Zonen, eine innere karmoisinrote ( $B_1$ ), eine schwache Zwischenzone ( $B_2$ ), eine gelbrote ( $B_3$ ) und eine äußere ( $B_4$ ), in der sich die in der B-Fraktion enthaltenen Rhodomycinone ansammelten.

Der Inhalt der roten  $B_1$ -Zone hatte die gleichen Absorptionsbanden wie Iso-rhodomycin A und lieferte beim Säureabbau wasserunlösliches, rotes Abbauprodukt, dessen Absorptionsspektrum mit dem des Iso-rhodomycinons übereinstimmte. Wir haben die Substanz der  $B_1$ -Zone daher als Iso-rhodomycin B bezeichnet. Sie lag in allen bisher untersuchten B-Fraktionen nur in geringer Menge vor, so daß eine eingehendere Untersuchung nicht möglich war.

Der Inhalt der  $B_3$ -Zone hatte die gleichen Absorptionsbanden wie Rhodomycin A und wird im folgenden Rhodomycin B genannt. Um diese Komponente in etwas größerer Menge zu gewinnen, haben wir die papierchromato-



Abbild. 5. Ringchromatogramm der Rhodomycin B-Fraktion (System Butanol-Formamid/Formamid-Wasser).  $B_1$  = Iso-rhodomycin B;  $B_3$  = Rhodomycin B;  $B_4$  = Rhodomycinon + Iso-rhodomycinon

graphische Fraktionierung der B-Fraktion im präparativen Maßstab durchgeführt. Ausgangsmaterial war die Kulturlösung eines Submersansatzes, die fast ausschließlich B-Fraktion enthielt. Das daraus gewonnene Roh-Rhodomycin (430 mg) wurde, ohne die geringen Rhodomycin A-Mengen vorher abzutrennen, auf 44 Bögen im System Formamid-Butanol-Wasser chromatographiert. Das aus dem Eluat der gelbroten  $B_3$ -Zone erhaltene Rhodomycin B-hydrochlorid kristallisierte aus Isopropanol in roten Nadeln vom Schmp.  $180^\circ$ ,  $[\alpha]^{18}_{600-780} : +174^\circ \pm 10^\circ$ , und hemmte das Wachstum unseres *St.-aureus*-Stammes bis zur Verdünnung  $1:5 \times 10^8$ .

Die kleinste mit den Analysenzahlen dieses Hydrochlorides noch in Einklang zu bringende Formel ist  $C_{17}H_{23}O_6N \cdot HCl$ . Über die Bruttoformel, die mindestens doppelt so groß ist, lassen sich noch keine Aussagen machen. Das aus dem Hydrochlorid freigesetzte amphotere Rhodomycin B ist in Wasser wenig, in verd. Säure gut löslich.

Die Absorptionsmaxima des RhodomycinB-hydrochlorides haben fast die gleiche Lage wie die des Rhodomycin A-hydrochlorides. Ihre Extinktionswerte dagegen sind höher (Abbildung 4). Der am Chromophor hängende stickstoffhaltige Rest ist beim Rhodomycin B demnach kleiner als beim Rhodomycin A.

Aus der Übereinstimmung der Absorptionsspektren ergibt sich, daß Rhodomycin A und B entweder gleiche oder sehr ähnliche Chromophore haben und dasselbe gilt für Iso-rhodomycin A und B. Eine Entscheidung war noch nicht möglich, da wir wegen Materialmangels die Chromophore der beiden B-Rhodomycine noch nicht näher untersuchen konnten.

Um zu klären, ob die B-Rhodomycine in der lebenden Zelle neben den A-Rhodomycinen gebildet werden, oder Sekundärprodukte sind, die bei der Autolyse abgestorbener Zellen bzw. bei der Aufarbeitung entstehen, haben wir frisch geerntetes, nicht getrocknetes Mycel aus Submersansätzen unter besonders milden Bedingungen auf Rhodomycin verarbeitet und dieses im Ringchromatogramm untersucht. Alle Proben enthielten kleine Mengen Iso-rhodomycin A, jedoch keine B-Fraktion. Im Gegensatz dazu fanden wir in der Kulturlösung aller Submersansätze sowie im Mycel von Submerskulturen, die länger als zehn Tage bebrütet waren, wechselnde Mengen B-Fraktion neben den Chromophoren Rhodomycinon und Iso-rhodomycinon.

Diese Beobachtungen zeigen, daß im Mycel zunächst offenbar nur die A-Rhodomycine gebildet werden und aus ihnen erst nachträglich, vielleicht während der Autolyse abgestorbener Zellen, die B-Rhodomycine bzw. die Chromophore entstehen. Eine Umwandlung von A-Rhodomycinen in B-Rhodomycine während der Trocknung des Mycels konnten wir nicht einwandfrei nachweisen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der Chemie und vor allem den Farbenfabriken Bayer, Werk Elberfeld, danken wir für großzügige Unterstützung unserer Arbeiten.

#### Beschreibung der Versuche

**Trennung der Rhodomycine im Ring-Papierchromatogramm:** Ein quadratischer Bogen Filtrerpapier (Schleicher & Schüll 2043b, Mittelpunkt des Bogens schwach markiert) wird mit butanolgesättigter  $m/15$  Phosphatpufferlösung,  $p_H$  5.8, mattfeucht besprüht und straff zwischen Ränd und tubuliertem Deckel eines Exsiccators (20 cm

Durchmeaser, Boden mit butanolgesättigtem Wasser bedeckt) so eingelegt, daß der Mittelpunkt des Bogens unter der Mitte der Tubusöffnung liegt. Der überstehende Rand des Bogens wird abgetrennt.

Durch die Tubusöffnung gibt man nun mit einer Kapillarpipette eine Lösung von 5 bis 10 mg Rhodomycin in 0.5 ccm Butanol auf den Mittelpunkt des Bogens (oder die Peripherie eines kleinen, den Mittelpunkt umgebenden Kreises). Zur Entwicklung des Chromatogrammes füllt man 50 ccm Butanol (mit Phosphatpuffer vom  $p_H$  5.8 gesättigt) in die Vorratspipette<sup>10</sup>), schließt deren Hahn und setzt sie mit einem durchbohrten Korken so in den Tubus des Exsiccatordeckels ein, daß ihr schräg angeschliffener Auslauf den Mittelpunkt des Bogens leicht berührt. Der am Auslauf hängende Tropfen wird von der Papierscheibe aufgenommen und gibt dabei einen Teil der schrägen Auslauföffnung frei, so daß einige Luftblasen eintreten können und eine entsprechende Menge Lösungsmittel ausfließt. Der sich beim Nachfließen am Berührungs punkt mit dem Papier ausbildende Tropfen verschließt die Öffnung solange, bis er vom Papier aufgenommen ist und verhindert inzwischen das Eintreten weiterer Luft. Auf diese Weise wird eine selbstdämmende, von der Verteilung im Papier abhängige Zufuhr des Lösungsmittels erreicht.

Nach 2–3 Std. ist bereits eine deutliche Trennung von Rhodomycin A und B erreicht. Um konzentrische Zonen zu erhalten, empfiehlt es sich, den Exsiccator vor der Entwicklung des Chromatogrammes mit einer Dosen-Libelle horizontal einzurichten.

#### Isolierung von Iso-rhodomycin A

**Gewinnung der A-Fraktion:** 2.1 kg feingepulvertes Mycel eines Submersansatzes von *Str. purpurascens* wurde mit 0.5 n salzaurem Aceton im Perkolator erschöpfend ausgezogen. Den mit konz. Ammoniak neutralisierten Auszug engte man bei 30° i. Vak. auf 2 l ein und schüttelte ihn mit Äther aus, bis dieser farblos blieb.

Die mit Ammoniak auf  $p_H$  8.5 eingestellte wäßrig-acetonische Phase versetzte man mit einer konz. methanol. Bleiacetatlösung, bis nichts mehr ausfiel, zentrifugierte den Niederschlag ab und entzog der auf  $p_H$  8.0 eingestellten Lösung das Rhodomycin mit Chloroform-Äthanol (3:1). Den Chloroformauszug verdampfte man i. Vak. und verteilte den Rückstand, wie früher beschrieben<sup>11</sup>), in Butanol-Phosphatpuffer vom  $p_H$  5.8. Die dabei erhaltene A-Fraktion kristallisierte aus Isopropanol-Äthanol (1:1) auf Zugabe von einem Tropfen konz. Salzsäure in roten Nadeln. Nach zweimaligem Umkristallisieren lag der Schmp. bei 198°<sup>11</sup>). Ein aus der gleichen A-Fraktion gewonnenes kristallisiertes, rotes Perchlorat schmolz bei 188°.

**550-stufige Gegenstromverteilung der Fraktion A:** Eine Lösung von 680 mg Fraktion A in 75 ccm Butanol schüttelte man mit 75 ccm  $m_{15}$  Phosphatpuffer vom  $p_H$  6.0 durch und füllte je 25 ccm jeder Phase in die ersten drei Gefäße einer 200-stufigen, vollautomatischen Verteilungsapparatur<sup>6</sup>), deren Gefäße mit  $m_{15}$  Phosphatpuffer ( $p_H$  6.0) beschichtet waren. Nachdem mit Butanol über 200 Stufen verteilt war, wurde die Verteilungskurve ermittelt und über 350 Stufen weiter verteilt. Die dabei aus der Apparatur abwandenden, den Maxima II, III und IV der Kurve (Abbildung 1) entsprechenden Fraktionen wurden nach dem Verfahren von L. C. Craig<sup>12</sup>) aufgefangen. Fraktion II kristallisierte aus Äthanol-Isopropanol (1:1) nach Zugabe eines Tropfens konz. Salzsäure in feinen Nadeln vom Schmp. 189°.

Ihrem Absorptionsspektrum nach (566, 592, (496)  $\mu$  in Methanol) enthielt Fraktion II vorwiegend Rhodomycin A. Die Fraktionen III und IV konnten nicht zur Kristallisation gebracht werden.

Den Inhalt der Gefäße 21–25 verdampfte man im Vakuum. Der Rückstand kristallisierte aus Äthanol, dem ein Tropfen konz. Salzsäure zugesetzt war, in feinen Nadeln vom Schmp. 200°. Nach Umkristallisieren aus Äthanol-Isopropanol (1:1) lag der Schmp. bei 203°.

**Präparative Ring-Papierchromatographie:** 8 Bögen Filterpapier (29 × 29 cm, Schleicher & Schüll 2043b) wurden zweimal quadratisch gefaltet und so aufeinander

<sup>11)</sup> Alle Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler-Block bestimmt.

<sup>12)</sup> Fortschr. chem. Forsch. 1, 292 [1949].

gelegt, daß in allen 32 Schichten die Laufrichtung der Papierfaser gleich war. Die Mitte des Packes durchbohrte man mit einem Korkbohrer und versah den so entstandenen Bohrkanal mit der Einfüllvorrichtung<sup>10)</sup>. Nach Einlegen in eine Kristallisierschale wurde der Papierpack aus der automatischen Vorratspipette<sup>10)</sup> solange mit butanolgesättigter 10-proz. Essigsäure (stationäre Phase) versorgt, bis die Flüssigkeitsfront den äußeren Rand der Bögen erreicht hatte. Um eine bevorzugte Durchtränkung der unteren Papierlagen beim Trockenlauf des Bohrkanals zu vermeiden, mußte die überschüssige Flüssigkeit durch schnelles Umdrehen des gesamten Packes entfernt werden.

Inzwischen waren 300 mg des amorphen Verdampfungsrückstandes aus den Gefäßen 1 bis 79 der 550-stufigen Gegenstromverteilung in 10 ccm Butanol gelöst und in die Vorratspipette<sup>10)</sup> aufgezogen worden. Diese Iso-rhodomycinlösung brachte man anschließend in gleicher Weise wie die stationäre Phase durch den Bohrkanal auf das Papier.

Noch vor Leerlaufen der Rhodomycinlösung wurde die Vorratspipette mit Butanol (mit 10-proz. Essigsäure gesättigt) gefüllt und in dem Moment eingesetzt, in dem der Meniskus der Rhodomycinlösung bis auf den unteren Rand des trichterförmigen Aufsatzringes<sup>10)</sup> abgesunken war.

Während der nun folgenden Entwicklung der Chromatogramme durfte der Bohrkanal nicht trockenlaufen. Da die Entwicklung 24–48 Stdn. dauerte, wurde eine 100 ccm fassende Vorratspipette verwendet und die Rändelkopfmutter der Einfüllvorrichtung<sup>10)</sup> so eingereguliert, daß eine Pipettenfüllung über Nacht ausreichte. Der Gesamtverbrauch an Butanol betrug etwa 200 ccm.

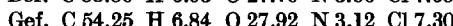
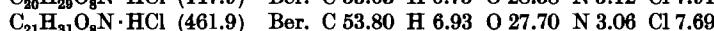
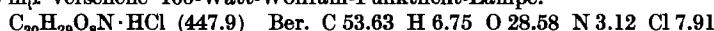
Nach 5 Stdn. war die Trennung in die Fraktionen A und B bereits deutlich. Fraktion B erreichte nach insgesamt 20 Stdn. den Rand des Packes, wo sie sich beim weiteren Entwickeln ansammelte.

Die Trennung der Fraktion A in eine breite, innere, rote und eine schmale, äußere, gelbrote Zone ging nur langsam vor sich; das Farbminimum zwischen beiden war nach 30 Stdn. etwa 2 mm breit. Zur Aufarbeitung wurden die Bögen auseinandergefaltet und in horizontaler Lage (Anklammern an zwei parallel ausgespannten Bindfäden) getrocknet. Die letzten Lösungsmittelreste ließen sich bei 30° im Trockenschrank entfernen, in den die Bögen aufgerollt hineingelegt wurden.

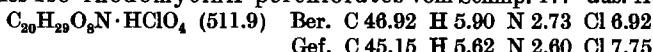
Dann faltete man die Bögen wieder zusammen und schnitt die Zonen aus den jeweils vier Chromatogrammen auf einmal heraus. Die Faltung der Bögen verhinderte ein Verschieben der vier Chromatogramme gegeneinander. Man erhielt so drei Zonen: 1. Breite, innere, karmoisinrote (Iso-rhodomycin A); 2. Dicht daran anschließende, schmale gelbrote (Rhodomycin A); 3. Am äußersten Rand befindliche Zone (Rhodomycin B, Iso-rhodomycin B und die Rhodomycinone enthaltend).

Die ausgeschnittenen Papierstreifen der drei Zonen verrührte man mit wenig Wasser zu einem Brei, schlammte diesen in ein mit Wattefilter versehenes, auf einer Saugflasche angebrachtes kleines Chromatogrammrohr und eluierte unter verminderter Druck mit Methanol-Wasser. Die Eluate engte man i. Vak. auf 5 ccm ein, schüttelte sie mit Chloroform-Methanol (4:1) aus und verdampfte die Chloroformlösung im Vakuum. Ausbeute: 90 mg Iso-rhodomycin A, 16 mg Rhodomycin A, 150 mg Rhodomycin B und Rhodomycinone.

Die Iso-rhodomycin A-Fraktion löste man bei 40° in möglichst wenig Äthanol, gab einen Tropfen konz. Salzsäure hinzu und kühlte ab. Dabei kristallisierte Iso-rhodomycin A-hydrochlorid in dunkelroten Prismen vom Schmp. 220°; Ausb. 55 mg. Nochmaliges Umkristallisieren erhöhte den Schmp. nicht. Leicht löslich in Wasser und niedrigmolekularen Alkoholen, sehr schwer löslich in Benzol und Chloroform, unlöslich in Äther und Petroläther. Die karmoisinroten Lösungen des Iso-rhodomycin A-hydrochlorides zeigten unter der UV-Lampe intensive, rote Fluorescenz.  $[\alpha]_{610\text{--}760}^{18}: +268^\circ \pm 30^\circ$  ( $c = 0.1$  in Methanol). Als Lichtquelle diente eine mit Prismenmonochromator und Filter 606–760 m $\mu$  versehene 100-Watt-Wolfram-Punktlicht-Lampe.



**Jso-rhodomycin A-perchlorat:** Eine Lösung von 50 mg Iso-rhodomycin A aus Zone A der präparativen Papierchromatographie in 1 ccm 50-proz. Äthanol wurde mit 2 Tropfen Perchlorsäure ( $d = 1.66$ ) versetzt. Nach kurzer Zeit kristallisierten dünne, rote Nadeln des Iso-rhodomycin A-perchlorates vom Schmp. 177° aus. Ausb. 30 mg.

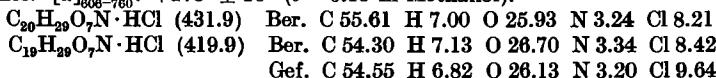


**Faktionierte Kristallisation von Iso-rhodomycin A-hydrochlorid:** Eine Lösung von 200 mg A-Faktion in 5 ccm Äthanol wurde auf 40° erwärmt und mit 0.1 ccm konz. Salzsäure versetzt. Die auskristallisierte Fraktion, rote Nadeln (54 mg) vom Schmp. 206°, wurde in gleicher Weise umkristallisiert. Ausb. 21 mg, Schmp. 220°. Das Präparat bildete im Ringchromatogramm eine einheitliche karmoisinrote Zone.

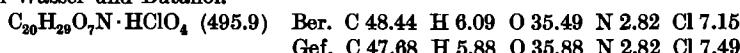
### Rhodomycin A und Rhodomycin B

**Rhodomycin A-hydrochlorid:** 250 mg Rhodomycin A-Faktion wurden in gleicher Weise, wie beim Iso-rhodomycin A beschrieben, auf 7 zweimal gefalteten Bögen Filterpapier (28 Papierschichten) chromatographiert. Nach 24 stdg. Entwicklung war eine genügende Trennung der Iso-rhodomycin A- und Rhodomycin A-Zone erreicht. Ausb. 4 mg Iso-rhodomycin A; 120 mg Rhodomycin A; 90 mg einer aus den B-Rhodomycinen und den Rhodomycinonen bestehenden Fraktion.

Die Lösung der Rhodomycin A-Faktion in 8 ccm Äthanol-Isopropanol (1:1) versetzte man mit 0.2 ccm konz. Salzsäure. Beim Erkalten kristallisierte Rhodomycin A-hydrochlorid in roten Prismen vom Schmp. 205°; Ausb. 46 mg. Nach nochmaligem Umkristallisieren, Schmp. 205°. Leicht löslich in Wasser und niedrigmolekularen Alkoholen mit gelbroter Farbe. Sehr schwer löslich in Benzol und Chloroform, unlöslich in Äther und Petroläther.  $[\alpha]_{D}^{18} -760: +178^\circ \pm 10^\circ (c = 0.13 \text{ in Methanol})$ .



**Rhodomycin A-perchlorat:** 580 mg Rhodomycin eines Submersansatzes wurden ohne vorherige Gegenstromverteilung auf 15 zweimal gefalteten und mit  $m/16$  Phosphatpuffer vom  $p_H$  5.8 getränkten Bögen mit Butanol chromatographiert. 60 mg des aus der Rhodomycin A-Zone eluierten Antibioticums löste man unter gelindem Erwärmen in 3 ccm 50-proz. Methanol und versetzte mit 0.05 ccm konz. Perchlorsäure. Beim Erkalten schied sich das Perchlorat in feinen, roten Nadeln vom Schmp. 188° ab, die mit Alkohol von -30° nachgewaschen wurden. Löslich in Methanol und Aceton, schwerer löslich in Wasser und Butanol.



**Rhodomycin B-hydrochlorid:** 100 l auf  $p_H$  8.5 eingestellte Kulturlösung eines Submersansatzes von *Str. purpurascens* wurden in Anteilen von 10 l mit 7 l Chloroform-Methanol (5:2) ausgerührt, wobei der Hauptanteil des Farbstoffes ins Chloroform ging. Die i. Vak. auf 2 l eingeengte Chloroformlösung extrahierte man nun mit 3.4 l 10-proz. Essigsäure, schüttelte den Essigsäureauszug mit Äther durch, brachte ihn auf  $p_H$  8.5 und versetzte mit konz. Bleiacetatlösung, bis kein Niederschlag mehr ausfiel. Nach Abzentrifugieren der Fällung und Entfernung des überschüssigen Bleisalzes mit Natriumhydrogencarbonat, wurde bei  $p_H$  8.5 mit Chloroform-Äthanol (4:1) ausgeschüttet und der mehrmals mit Wasser gewaschene Chloroformextrakt i. Vak. verdampft. Ausb. etwa 1 g.

430 mg dieses Rohproduktes löste man in wenig Butanol und chromatographierte, wie oben beschrieben, auf 11 zweimal gefalteten Bögen im System Formamid-Wasser-Butanol (Formamid-Butanol-Mischung 1:1 mit soviel Wasser versetzt, bis sich zwei Schichten bildeten; untere Phase diente zur Befeuchtung des Papiers, obere zum Entwickeln der Chromatogramme). Es bildeten sich 5 Zonen, die, wie oben beschrieben, eluiert und aufgearbeitet wurden. 1. Zone (Iso-rhodomycin A) enthielt nur sehr wenig

Substanz. 2. Zone 22 mg Rhodomycin A; 3. Zone (sehr schwach, Isorhodomycin B); 4. Zone 200 mg Rhodomycin B. Die 5. Zone, die Rhodomycinone enthaltend, sammelte sich am Rand des Papierpackes an.

Eine filtrierte Lösung von 200 mg der Rhodomycin B-Fraktion in möglichst wenig Chloroform wurde im Exsiccator neben ein Gefäß mit konz. Salzsäure gestellt. Der nach kurzer Zeit ausfallende Niederschlag (103 mg) wurde unter Erwärmung in möglichst wenig Isopropanol gelöst. Rhodomycin B-hydrochlorid kristallisierte in roten Prismen (37 mg) vom Schmp. 180°.  $[\alpha]_{606-700}^{18}$ :  $+174^\circ \pm 10^\circ$  ( $c = 0.05$  in Methanol). Gut löslich in niedrigmolekularen Alkoholen, mäßig löslich in Wasser und Aceton, sehr schwer löslich in Chloroform und Benzol.

$C_{19}H_{27}O_7N \cdot HCl$  (417.9) Ber. C 54.61 H 6.75 O 26.80 N 3.35 Cl 8.48  
Gef. C 54.88 H 6.70 O 26.02 N 3.41 Cl 8.94

---

Verantwortlich für den Inhalt: Prof. Dr. Rudolf Criegee, Karlsruhe. Redaktion: Dr. Wilhelm Merz, Tübingen.  
Verantwortlich für den Anzeigenteil: W. Thiel, Verlag Chemie, GmbH. (Geschäftsführer Eduard Kreuzhage),  
Weinheim/Bergstr.; Druck: Druckerei Winter, Heidelberg.

Copyright 1955 by Verlag Chemie, GmbH., Weinheim/Bergstr. Printed in Germany. Alle Rechte vorbehalten,  
insbesondere die der Übersetzung. Kein Teil dieser Zeitschrift darf in irgendeiner Form — durch Photokopie, Mikro-  
film oder irgendein anderes Verfahren — ohne schriftliche Genehmigung des Verlages reproduziert werden. — All  
rights reserved (including those of translations into foreign languages). No part of this issue may be reproduced in  
any form, by photostat, microfilm, or any other means, without written permission from the publishers. — Preis  
jährlich DM 100.—; Einzelheft DM 8.50. Abbestellungen nur bis spätestens 6 Wochen vor Ablauf eines Halbjahres.  
Gerichtsstand und Erfüllungsort Weinheim/Bergstr. Lieferung erfolgt auf Rechnung und Gefahr des Empfängers.