

der Extrakt eingeengt, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. destilliert. Bei 102 bis 105°/1 Torr destillierte eine hellgelbe Flüssigkeit, die das angestrebte Dien VIII darstellte (47 g). Bei nochmaliger Destillation über sehr wenig Natrium ging die Substanz bei 103–105°/1 Torr als farblose Flüssigkeit über, die schließlich im Eisschrank kristallisierte und nach Umkristallisieren aus Methanol bei 37.5–38.0° schmolz. n_D^{20} 1.5090. Die Substanz ist sehr sauerstoffempfindlich.

$C_{14}H_{22}$ (190.3) Ber. C 88.35 H 11.65 Gef. C 88.41 H 11.61

2.7-Dimethyl-[hydrindeno-1'.2':9.10-dekahydrophenanthren]: 25 g des Diens VIII und 12.5 g frisch dest. Inden wurden über 20 Stdn. unter Stickstoff auf 215–225° erhitzt, das Reaktionsgemisch anschließend fraktioniert destilliert, wobei nach Abtrennung von nichtumgesetztem Inden und Dien eine Fraktion bei 160–190°/0.11 Torr erhalten wurde, die als gelbliches, viscoses Öl überging und größtenteils das Kondensationsprodukt darstellte (13 g).

2.7-Dimethyl-[inden-1'.2':9.10-phenanthren] (VII): 10 g des Kondensationsproduktes und 30 g Selen wurden im Metallbad 20 Stdn. auf 340–350° erhitzt; das Reaktionsprodukt wurde samt überschüssigem Selen pulverisiert und mit Cyclohexan heiß extrahiert. Der gelblichbraune, in Cyclohexan stark fluoreszierende Extrakt wurde an Aluminiumoxyd (Brockmann) chromatographiert, wobei VII als gelbliche Zone vor einer langsam wandernden braunen Zone mittels Cyclohexans eluiert werden konnte. Nach Einengen schieden sich gelbe, kompakte Kristalle aus, die abgenutscht und zweimal aus *n*-Butanol umkristallisiert wurden, woraus die Substanz in kleinen, citronengelben, länglichen Plättchen kristallisierte (2 g). Schmp. 183–184°. λ_{max} 350, 338, 321, 307, 301, 285, 268, 250 μm (\AA thanol).

$C_{23}H_{18}$ (294.4) Ber. C 93.84 H 6.16 Gef. C 94.09 H 6.09

Absorptionsspektren: Die Farbkurven im Sichtbaren wurden mit einem Zeiß-Ikon-Spektraldensographen ausgemessen. Zur Aufnahme der UV-Absorptionsspektren kam ein Zeiß-Universal-Spektrograph, Modell für Chemiker, unter Benutzung einer Wasserstofflampe zur Verwendung.

Die Siede- und Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

257. Hans Brockmann und Burchard Franck: Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone, Rhodomycine, IV. Mitteil.¹⁾: Antibiotica aus Actinomyceten XXXIII. Mitteil.¹⁾

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]
(Eingegangen am 15. August 1955)

Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone, die Chromophore der Rhodomycine bzw. Iso-rhodomycine, kommen neben diesen in der Kulturflüssigkeit und im Mycel von *Streptomyces purpurascens* vor. β - und ϵ -Rhodomycinon sowie ϵ -Iso-rhodomycinon wurden aus Kulturmateriale kristallisiert abgetrennt.

β -Rhodomycinon $C_{18}H_{16}O_7$, dessen Konstitution weitgehend aufgeklärt werden konnte, und ϵ -Rhodomycinon $C_{21}H_{22}O_8$ sind Derivate des 1.4.5-Trioxo-anthrachinons, ϵ -Iso-rhodomycinon $C_{20}H_{20}O_9$ ist ein Abkömmling des 1.4.5.8-Tetraoxo-anthrachinons.

Der von *Streptomyces purpurascens*²⁾ gebildete rote, wasserlösliche, stickstoffhaltige Antibiotica-Komplex³⁾ Rhodomycin lässt sich durch Gegenstromverteilung leicht in die Rhodomycin-Fraktionen A und B zerlegen⁴⁾. Aus

¹⁾ III. bzw. XXXII. Mitteil.: H. Brockmann u. P. Patt, Chem. Ber. 88, 1455 [1955].

²⁾ W. Lindenbein, Arch. Mikrobiol. 17, 361 [1952].

³⁾ H. Brockmann, K. Bauer u. I. Borchers, Chem. Ber. 84, 700 [1951].

⁴⁾ H. Brockmann u. I. Borchers, Chem. Ber. 86, 261 [1953].

der A-Fraktion wurde kürzlich das gelbrot lösliche Rhodomycin A¹⁾ und das karmoisinrote Iso-rhodomycin A¹⁾ als kristallisiertes Hydrochlorid und Perchlorat isoliert. Aus der B-Fraktion ließ sich kristallisiertes Rhodomycin B-hydrochlorid abtrennen¹⁾. Neben Rhodomycin B enthält die B-Fraktion wechselnde Mengen eines karmoisinroten, Iso-rhodomycin B genannten Antibiotiums, das noch nicht näher untersucht wurde.

Alle Rhodomycine werden durch verd. Säure leicht gespalten. Dabei fällt der für die Farbe verantwortliche, stickstofffreie Teil des Moleküls, im folgenden kurz Chromophor genannt, als roter Niederschlag aus. Der Chromophor des Rhodomycins A, das gelbrot lösliche Rhodomycinon, konnte zur Kristallisation gebracht werden, während Iso-rhodomycinon, der karmoisinrot lösliche Chromophor des Iso-rhodomycins A, nur amorph anfiel.

Die Untersuchung der Rhodomycine ist bisher durch die geringe Antibiotica-Produktion unserer Stämme erschwert worden. Die Ausbeuten waren mit etwa 20 mg/l mindestens zehnmal kleiner als bei anderen Antibiotica und sanken bei länger kultivierten Stämmen sogar noch weiter ab. Deshalb bedeutete es einen wesentlichen Fortschritt, als wir fanden, daß Rhodomycinon, der Chromophor des Rhodomycins A, sowie ein dem Iso-rhodomycinon sehr ähnlicher Farbstoff neben den Rhodomycinen im Mycel und Kulturfiltrat von *Str.-purpurascens*-Stämmen vorkommen, und zwar in erheblich größeren Mengen als die Antibiotica. Auf Grund dieser Befunde schien es für die Konstitutionsermittlung aller Rhodomycine am zweckmäßigsten, zunächst die Struktur der im Kulturmateriel vorliegenden Farbstoffe aufzuklären und dabei mit dem Chromophor des Rhodomycins A zu beginnen.

Bei Versuchen, die beiden eben genannten Farbstoffe aus Kulturmateriel zu isolieren, fanden wir noch einen dritten, dem Rhodomycinon sehr ähnlichen Farbstoff, und als später die *Str.-purpurascens*-Stämme unserer Sammlung mit verfeinerten Trennungsmethoden durchmustert wurden, stellte sich heraus, daß im Mycel und in der Kulturlösung in kleiner Menge noch weitere rhodomycinon- bzw. iso-rhodomycinon-ähnliche Farbstoffe vorkommen. Bei dieser Sachlage halten wir es für das beste, die Namen der beiden zuerst aufgefundenen Chromophore künftig als Gruppenbezeichnung zu verwenden und dementsprechend die Farbstoffe von *Str. purpurascens* in die Gruppe der gelbrot löslichen Rhodomycinone und die der karmoisinrot löslichen Iso-rhodomycinone einzuteilen. Die einzelnen Vertreter jeder Gruppe, die sich spektroskopisch kaum unterscheiden, kennzeichnen wir durch griechische Buchstaben, deren alphabetische Folge der Reihenfolge der R_F -Werte entspricht (Ringchromatogramm, Benzol-Formamid). α -Rhodomycinon ist demnach das Rhodomycinon mit dem kleinsten R_F -Wert. Bemerkenswert ist, daß die R_F -Werte der Rhodomycinone denen der Iso-rhodomycinone praktisch parallel laufen, d.h. Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone mit gleichen Kennbuchstaben lassen sich papierchromatographisch nicht trennen. An der Kieselgel-Säule dagegen ist eine teilweise Trennung möglich.

Zu welcher Gruppe ein Farbstoff gehört, läßt sich an Hand seines Spektrums leicht entscheiden, denn zwischen Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen bestehen spektroskopisch erhebliche Unterschiede (Abbildung 3).

Ob zu jedem Rhodomycinon bzw. Iso-rhodomycinon ein besonderes Rhodomycin bzw. Iso-rhodomycin gehört, d. h. ob alle im Kulturmateriale vorkommenden Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone Chromophore von Antibiotica sind, bleibt zunächst dahingestellt.

Isolierung von Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen aus Kulturlösung und Mycel

Der erste Schritt zur Reindarstellung von Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen aus Kulturmateriale besteht darin, sie in ihrer Gesamtheit von den Rhodomycinen des Mycels und der Kulturlösung abzutrennen. Bei der Kulturlösung gelingt das in einfacher Weise durch Extraktion mit Äther, der die Farbstoffe leicht, die Rhodomycine dagegen nicht aufnimmt.

Die in der Kulturlösung verbleibenden Rhodomycine wurden bisher mit Ammoniumsulfat ausgefällt und dann weiter verarbeitet. Viel einfacher ist es, sie der Lösung durch Ionenaustauscher zu entziehen. Dafür kommen, da die Rhodomycine amphoteric sind, prinzipiell Kationen- wie Anionen-Austauscher in Frage. Wegen der relativ großen Alkaliempfindlichkeit der Antibiotica wählten wir Kationen-Austauscher, bei deren Anwendung allerdings der Säureempfindlichkeit der Rhodomycine Rechnung zu tragen war. Wie zu erwarten, erwiesen sie sich in der sauren H-Form als ungeeignet, denn sowohl an HO_3S^- wie an HO_2C^- -Austauschern ließ sich, einerlei, ob sie gepuffert oder un gepuffert verwendet wurden, eine hydrolytische Spaltung der Rhodomycine nicht vermeiden. Außerdem war bei dieser „neutralisierenden Adsorption“ die Kapazität gering und die Bindung der Rhodomycine z. Tl. irreversibel, Nachteile prinzipieller Art⁵⁾, die dadurch bedingt sind, daß im Mikrobereich der Adsorptionsstelle p_{H} -Änderungen auftreten, die das Sorptionsgleichgewicht in der jeweils unerwünschten Richtung verschieben. Alle diese Nachteile entfallen, wenn man die Na-Form stark saurer Austauscher verwendet. Für unseren Zweck eignete sich am besten Lewatit KSN.

Zur Elution der Antibiotica diente methanolisches Ammoniak. Es hat den Vorteil, von den an der Austauscher-Säule gebundenen Kationen der Kulturlösung nur die der leichter eluierbaren schwachen Basen zu verdrängen und von diesen, wegen ihrer guten Methanolöslichkeit, wiederum bevorzugt die Rhodomycine. Der nach Verdünnen mit wenig Wasser gemessene p_{H} -Wert des zur Elution verwendeten 0.1 n methanolischen Ammoniaks lag bei 8.0, d. h. in einem p_{H} -Bereich, in dem die alkaliempfindlichen Rhodomycine noch beständig sind. Regeneriert wurde die Austauscher-Säule durch 25-proz. Kochsalzlösung.

Etwas umständlicher als bei der Kulturlösung ist die Gewinnung der Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone aus dem Mycel. Ein kleiner Teil von ihnen wird bei der Extraktion der Rhodomycine mitgelöst und kann von diesen wie bei der Kulturlösung mit Äther abgetrennt werden. Die Hauptmenge jedoch ist so fest in den Zellen verankert, daß sie erst bei anschließender Behandlung des Mycels mit einer kochenden Mischung aus 9 Vol.-Tln. Aceton und 1 Vol.-Tl. konz. Salzsäure in Lösung geht.

Eine ähnliche Beobachtung machten auch B. H. Howard und H. Raistrick⁶⁾ bei der Isolierung des Asperthecins. Dieser Oxyanthrachinon-Farbstoff ließ sich erst dann mit Äthanol aus dem Mycel des *Aspergillus quadrilineatus* Thom u. Pape extrahieren, als dieses in frischem Zustand mit 1 n HCl behandelt worden war.

Wird der salzaure Acetonauszug eingeeengt, bis alles Aceton entfernt ist, und dann mit Äther ausgeschüttelt, so erhält man eine Ätherlösung der Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone, die ohne weiteres für die unten beschrie-

⁵⁾ Ch. S. Cleaver, R. A. Hardy jr. u. H. G. Cassidy, J. Amer. chem. Soc. 67, 1343 [1945]. ⁶⁾ Biochem. J. 59, 475 [1955].

bene Gegenstromverteilung verwendet werden kann. Das folgende Schema zeigt, an welcher Stelle der Mycel-Aufarbeitung die Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone anfallen.

**Abtrennung der Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone aus
dem Mycel von *Str. purpurascens***

Extraktion des Mycels mit kaltem, 2% Schwefelsäure enthaltendem 80-proz. Aceton.

	Acetonauszug	Mycel
	i. Vak. eingeengt, wäßriger Rückstand auf p_H 3.0 gebracht und mit Äther geschüttelt.	Mit Aceton-konz. Salzsäure (9:1) heiß extrahiert.
Ätherphase	Wasserphase	Auszug
Mit n NaOH ausgeschüttelt, Lauge angesäuert: Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone.	Enthält die Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone.	Mit Ammoniak neutralisiert, i. Vak. eingeengt, wäßriger Rückstand auf p_H 3.0 eingestellt und mit Äther extrahiert.
		Ätherauszug
		enthält Hauptteil der Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone.

Bei unseren ersten Versuchen fanden wir im Mycel und in der Kulturlösung eines größeren Submersansatzes, wie oben erwähnt, als Hauptfarbstoffe den Chromophor des Rhodomycins A sowie einen Farbstoff, der dem Chromophor des Iso-rhodomycins A sehr ähnlich ist. Sie werden der neuen Nomenklatur entsprechend von nun ab β -Rhodomycinon bzw. ϵ -Iso-rhodomycinon genannt.

Um diese beiden Farbstoffe rein zu gewinnen, galt es, ein Verfahren zu finden, mit dem sie sich in präparativem Maßstab trennen lassen. Die ersten einheitlichen Präparate von β -Rhodomycinon und ϵ -Iso-rhodomycinon wurden durch chromatographische Adsorption des Farbstoffgemisches an Calciumsulfat erhalten³⁾. Dabei überlappten jedoch die beiden Zonen selbst nach längerer Entwicklung noch so weitgehend, daß die Ausbeute an reinen Verbindungen nur mäßig war. Versuche, den chromatographischen Trenneffekt durch vorherige Acetylierung des Chromophorgemisches zu erhöhen, verliefen unbefriedigend.

Eine glatte Trennung der beiden Chromophore gelang dagegen, wie bereits mitgeteilt¹⁾, im Ringchromatogramm mit wäßrigem Formamid als stationärer und Benzol als mobiler Phase. Danach müßte mit dem gleichen Phasenpaar an Cellulose-Säulen auch eine präparative Trennung gelingen. Näher untersucht haben wir diese Möglichkeit noch nicht, weil uns eine überraschend einfache Trennung der beiden Verbindungen durch Verteilung zwischen Äther und n Na₂CO₃ gelang. Schüttelt man nämlich die bei der Aufarbeitung von Kulturlösung oder Mycel erhaltene Ätherlösung der Chromophore mit n Na₂CO₃, so geht das ϵ -Iso-rhodomycinon quantitativ, das β -Rhodomycinon dagegen nur zu einem geringen Teil in die wäßrige Phase. Aus der Ätherlösung läßt sich demnach schon nach einmaliger Verteilung ein von ϵ -Iso-rhodomycinon freies β -Rhodomycinon gewinnen. Das in der wäßrigen Phase enthaltene

ε -Iso-rhodomycinon kann durch eine über wenige Stufen geführte Gegenstromverteilung zwischen Äther und $n\text{Na}_2\text{CO}_3$ völlig von beigemengtem β -Rhodomycinon befreit werden (Abbildung 1).

Ein anderer Ansatz von *Str. purpurascens* enthielt in der Hauptsache den oben erwähnten β -rhodomycinon-ähnlichen Farbstoff, der nach seiner Lage im Papierchromatogramm ε -Rhodomycinon heißen muß.

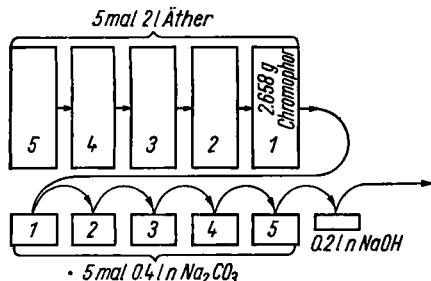


Abbildung 1. Schema der präparativen Trennung eines Rhodomycinon-Iso-rhodomycinon-Gemisches durch fraktionierte Verteilung

drogencarbonat-Puffer (p_{H} 10.5) + Methanol (2:1) verwendet wird. Eine in diesem System durchgeführte Verteilung von β -Rhodomycinon, ε -Rhodomycinon und ε -Iso-rhodomycinon (Abbildung 2) zeigt, daß auch hier β -Rhodomycinon von ε -Iso-rhodomycinon getrennt wird. Viel besser jedoch ist der Trenneffekt beim ε -Rhodomycinon und ε -Iso-rhodomycinon, was insofern von Bedeutung ist, als die beiden Farbstoffe, wie erwähnt, weder im Papierchromatogramm noch durch chromatographische Adsorption zu trennen sind.

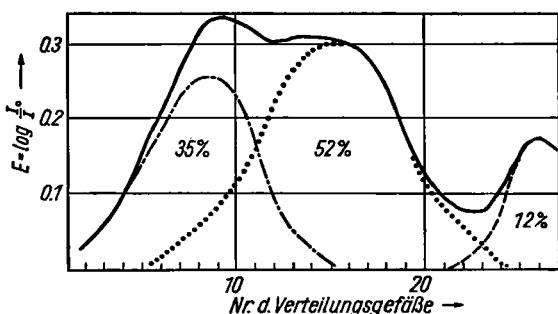
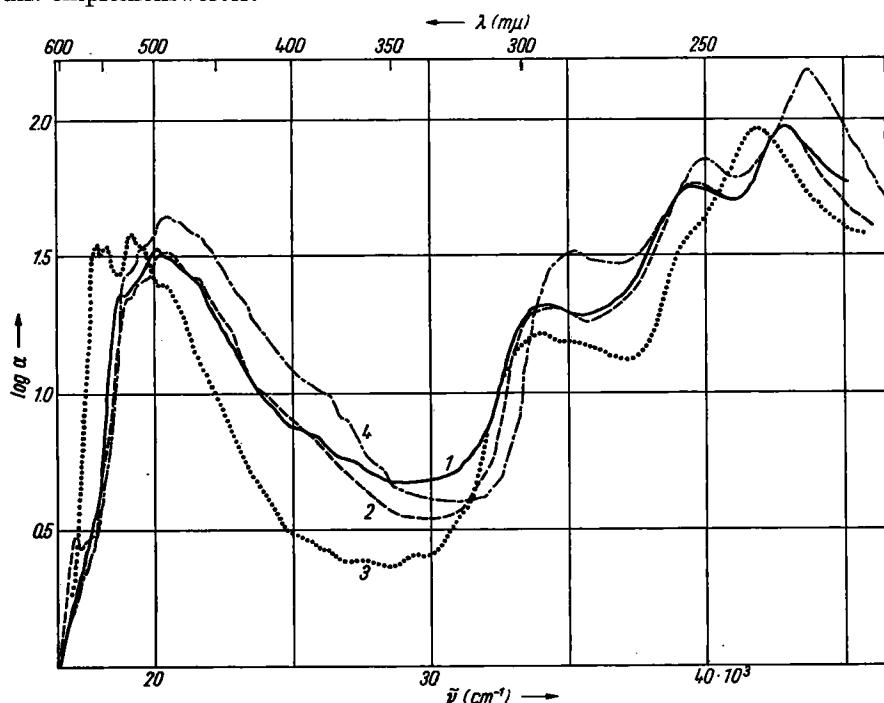


Abbildung 2. 27stufige Verteilung eines Chromophor gemischs in Äther/Natriumcarbonat-Natriumhydrogen-carbonat-Puffer (p_{H} 10.5) + Methanol (2:1). —— Gefundene Kurve; - - - ε -Iso-rhodomycinon; β -Rhodomycinon; - - - ε -Rhodomycinon

eben angeführten Fällen hinaus allgemein verwenden läßt, um ein Farbstoffgemisch in die Gruppe der Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone zu trennen. Diese Frage kann auf Grund unserer bisherigen Erfahrungen bejaht werden. Für die Anwendung der Verteilung im Rahmen eines alle *Str. purpurascens*-Farbstoffe erfassenden Trennungsganges gibt es zwei Möglichkeiten. Die erste wäre, sie zur Gruppentrennung in Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone zu benut-

Von Interesse war, ob sich die Verteilung zwischen Äther und wäßrigem Alkali (mit oder ohne Methanol-Zusatz) über die beiden,

zen, deren weitere Scheidung durch Papierchromatographie oder chromatographische Adsorption zu erfolgen hätte. Die zweite Möglichkeit würde sein, das Farbstoffgemisch zunächst chromatographisch in die Paare α -Rhodomycinon- α -Iso-rhodomycinon, β -Rhodomycinon- β -Iso-rhodomycinon usw. zu zerlegen und diese dann der Verteilung zu unterwerfen. Der zweite Weg scheint uns empfehlenswerter.



Abbild. 3. Absorptionskurven von β -Rhodomycinon —, ϵ -Rhodomycinon ---, ϵ -Iso-rhodomycinon ····· und 1.4.5-Trioxo-anthrachinon -·---; in Methanol

Im Absorptionsspektrum unterscheiden sich die Rhodomycinone nur wenig voneinander (Abbild. 3), und das gleiche gilt für die bisher aufgefundenen Iso-rhodomycinone. Dagegen bestehen zwischen den beiden Gruppen erhebliche Unterschiede, die bei $565\text{ m}\mu$ am größten sind (Abbild. 3). Die Iso-rhodomycinone zeigen hier eine charakteristische Bande, während die Absorption der Rhodomycinone sehr gering ist. Infolgedessen lässt sich aus der bei $565\text{ m}\mu$ gemessenen Extinktion eines Farbstoffgemisches recht genau dessen Gehalt an Iso-rhodomycinonen ermitteln. Da ferner die isosbestischen Punkte der verschiedenen Rhodomycinon- bzw. Iso-rhodomycinon-Kurven sehr nahe beieinander liegen (um $504\text{ m}\mu$), kann man den Gesamt-Rhodomycinon- und Iso-rhodomycinon-Gehalt einer Lösung hinreichend genau aus ihrer Extinktion bei $504\text{ m}\mu$ berechnen. Das gleiche Verfahren lässt sich auch auf Gemische von Rhodomycinen und Iso-rhodomycinen anwenden, bei denen die gleichen Unterschiede in den Absorptionskurven zu beobachten sind.

Die Konstitution des β -Rhodomycinons

Das aus Kulturlösung und Mycel isolierte β -Rhodomycinon, braunrote, i. Hochvak. sublimierbare Nadeln vom Schmp. 225° (Zers.), hemmt das Wachstum unseres *St. aureus*-Stammes bis zur Verdünnung 1:250000. Es stimmt in den Analysenzahlen, den R_F -Werten der Papierchromatogramme und den Spektren des sichtbaren sowie des UV- und IR-Bereiches völlig mit dem früher durch Abbau von Rhodomycin A erhaltenen Präparat überein. An ihrer Identität ist demnach nicht zu zweifeln. Daß unsere jetzige Spaltenfraktion etwa 8° höher schmilzt als das früher aus Rhodomycin A erhaltene β -Rhodomycinon ist nicht überraschend, da dieses aus Materialmangel nicht bis zur Schmp.-Konstanz umkristallisiert werden konnte.

β -Rhodomycinon ist, wie sich aus der spezifischen Drehung seines unten beschriebenen gelben Pentaacetates ergibt, optisch aktiv. Wegen seiner tiefen Farbe ließ sich die spezifische Drehung des β -Rhodomycinons selbst nicht bestimmen.

Aus den Analysenzahlen unserer früheren Präparate hatten wir als kleinste Summenformel $C_{18}H_{14}O_6$ (Mol.-Gew. 302) abgeleitet³⁾. Mit ihr stimmt das in Phenol gefundene Mol.-Gew. 320 leidlich überein. Trotzdem kann $C_{18}H_{14}O_6$ nicht die Bruttoformel sein, denn wie unten gezeigt, muß β -Rhodomycinon nach den Ergebnissen der Zinkstaubdestillation mindestens 18 C-Atome enthalten. Die kleinste Formel, die dieser Forderung genügt und außerdem mit den Analysenzahlen des Farbstoffes und seines unten beschriebenen Acetates sowie mit dem gefundenen Mol.-Gew. übereinstimmt, ist $C_{18}H_{16}O_7$ (Mol.-Gew. 328). Die nächst größere, auf die Analysenzahlen des β -Rhodomycinons passende Formel $C_{20}H_{20}O_8$ (Mol.-Gew. 386) steht weder mit den Analysenzahlen des Acetates noch mit dem gefundenen Mol.-Gew. im Einklang, und das gleiche gilt für noch größere Formeln. Damit scheint uns $C_{18}H_{16}O_7$ als Bruttoformel gut gesichert. Auf sie bezogen, entstehen bei der Kuhn-Roth-Oxydation 1.1 Moll. flüchtiger Säure, während die Zahl der aktiven H-Atome fünf beträgt.

β -Rhodomycinon ist in wäßrigem Natriumhydrogencarbonat unlöslich und wird durch Methanol-Salzsäure nicht methyliert. Carboxygruppen oder stark saure, phenolische Oxygruppen sind demnach nicht vorhanden. Ebenso fehlen, wie das IR-Spektrum (Abbild. 4) zeigt, Ester-, Lacton- und aliphatische, unkonjugierte Ketogruppen.

Mit Acetanhydrid-Natriumacetat erhielten wir aus β -Rhodomycinon ein gelbes, kristallisiertes Acetat (Zers. gegen 165°, $[\alpha]_D^{20}$: -34.4°), das beim Verseifen wieder in β -Rhodomycinon übergeht. Den Analysenzahlen nach ist es ein Pentaacetat $C_{18}H_{11}O_7$ ($OCCH_3)_5$. Von den sieben O-Atomen der β -Rhodomycinon-Formel liegen demnach fünf als acetylierbare Oxygruppen vor, was mit dem Ergebnis der Zerewitinoff-Bestimmung in Einklang steht. Die beiden restlichen O-Atome gehören, wie früher gezeigt³⁾, einer Chinon-Gruppierung an. Die Bildung einer gelben Küpe mit Natriumdithionit schließt aus, daß der Farbstoff ein Naphthochinon-Derivat ist.

Bei der katalytischen Hydrierung des β -Rhodomycinons wurde die Reaktion nach Aufnahme eines Mol. merklich langsamer und kam nach Verbrauch von 2 Moll. praktisch zum Stillstand. Dabei hellte sich die orangefarbene Lösung nur wenig auf. Das erste

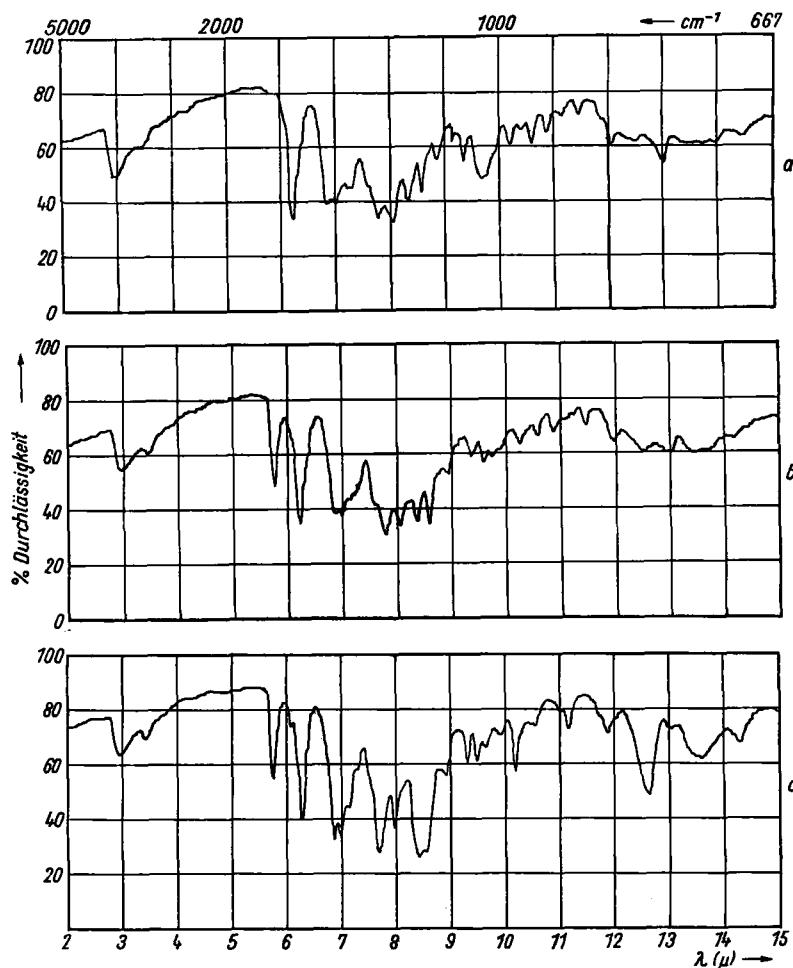


Abbildung 4. IR-Spektren. a) β -Rhodomycinon; b) ϵ -Rhodomycinon; c) ϵ -Iso-rhodomycinon; in Kaliumbromid

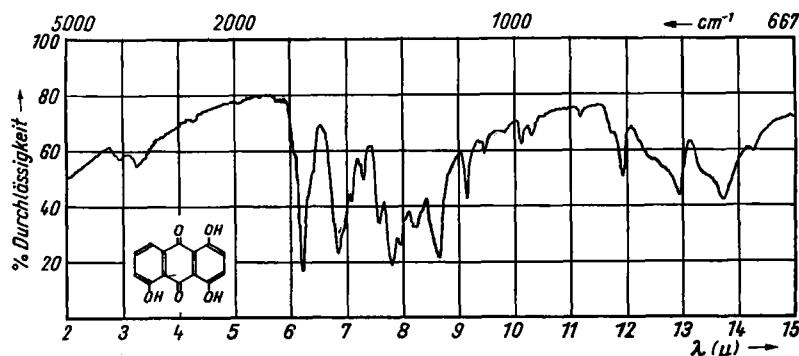


Abbildung 5. IR-Spektrum des 1,4,5-Trioxo-anthrachinons in Kaliumbromid.

Mol. dient zweifellos zur Hydrierung des Chinonsystems, das zweite, soweit wir sehen, zur reduktiven Entfernung einer in der Seitenkette des Farbstoffes stehenden Oxygruppe. Das Reduktionsprodukt hat die gleichen Absorptionsbanden wie das Ausgangsmaterial, wird aber an Gips weniger fest adsorbiert als dieses.

Einen weitgehenden Einblick in das Grundgerüst des β -Rhodomycinons gab die im Wasserstoffstrom durchgeführte Zinkstaubdestillation, bei der ein gelbes Sublimat entstand. Aus seiner hellgrün fluoreszierenden Toluollösung erhielten wir in geringer, zur Analyse nicht ausreichender Menge eine gelbe, kristallisierte Verbindung vom Schmp. 312°, deren Absorptionsspektrum (Abbild. 6) mit dem des Tetracens (I) übereinstimmt.

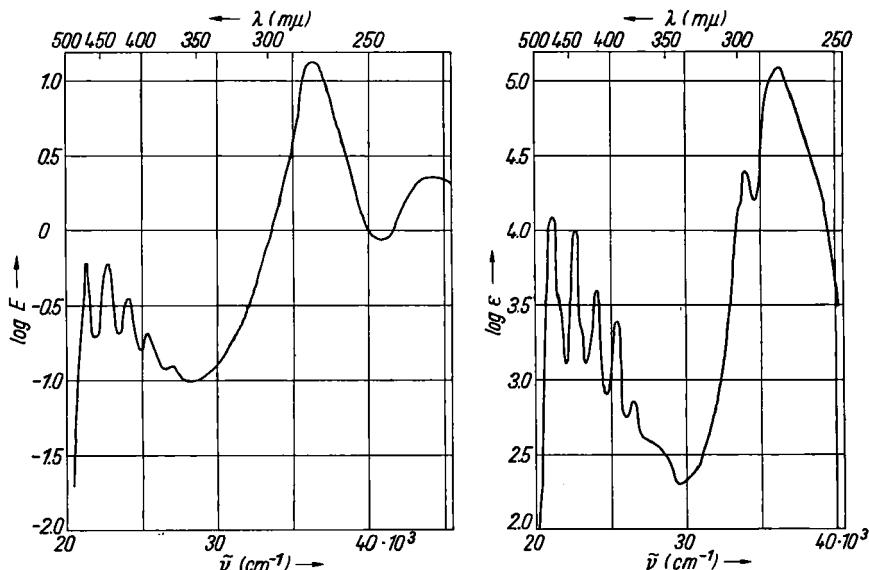


Abbildung 6. Absorptionsspektren; (links) des kristallisierten Zinkstaub-Destillationsproduktes aus β -Rhodomycinon, (rechts) des Tetracens; in Methanol

Der Mutterlaugen-Rückstand ließ sich durch fraktionierte Sublimation in eine gelbe Fraktion mit den Banden des Tetracens und einen größeren, hellgelben, in Benzol intensiv hellgrün fluoreszierenden Anteil vom Schmp. 212° auftrennen. Diese Hauptfraktion stimmt im Schmp., der grünen Farbe ihrer Schwefelsäurelösung sowie ihren sonstigen Eigenschaften mit 9,10-Dihydro-tetracen überein, das bekanntlich bei der Zinkstaubdestillation von Tetracen-chinon-(9,10) und dessen Oxyderivaten als Hauptprodukt entsteht. Obgleich noch keine Analysen vorliegen, scheint uns sicher, daß die beiden bei der Zinkstaubdestillation von β -Rhodomycinon entstandenen Verbindungen Tetracen (I) bzw. sein 9,10-Dihydro-Derivat sind. Daß die gelbe, kristallisierte, im Spektrum mit Tetracen übereinstimmende Sublimat-Fraktion niedriger schmilzt als reines Tetracen (Schmp. 357°⁷), führen wir auf beigemengtes 9,10-Dihydro-tetracen zurück, dessen völlige Abtrennung bei den kleinen, uns bisher zur Verfügung stehenden Mengen nicht möglich war.

⁷) E. Clar, Aromatische Kohlenwasserstoffe, SpringerVerlag, Berlin, 2. Aufl. 1952, S. 232.

Tetracen hat die Formel $C_{18}H_{12}$. Alle 18 C-Atome des β -Rhodomycinons finden sich demnach in Form von Tetracen bzw. 9.10-Dihydro-tetracen im Zinkstaub-Sublimat wieder, und damit erhebt sich die Frage, ob β -Rhodomycinon ein Pentaoxy-tetracencinon ist. Sie lässt sich aus folgenden Gründen verneinen. Wenn nämlich diese Annahme zuträfe, müßte die Bruttformel des Farbstoffes $C_{18}H_{10}O_7$ sein, wofür sein Wasserstoffgehalt viel zu hoch ist; und zum anderen dürfte bei der Kuhn-Roth-Oxydation nicht 1 Mol. flüchtiger Säure entstehen.

Ein weiteres Gegenargument ergibt sich aus folgendem: Mehrkernige Chinone und Oxy-chinone bilden bei der reduzierenden Acetylierung Leukacetate, deren Absorptionsspektrum im Typ dem des Stammkohlenwasserstoffes gleicht, während die Maxima abhängig von Zahl und Stellung der Acetoxygruppen längerwellig liegen als beim Stammkohlenwasserstoff⁸⁾. Diese Regel gilt auch für Tetracen-chinon-(9.10) (II) und seine Oxyderivate.

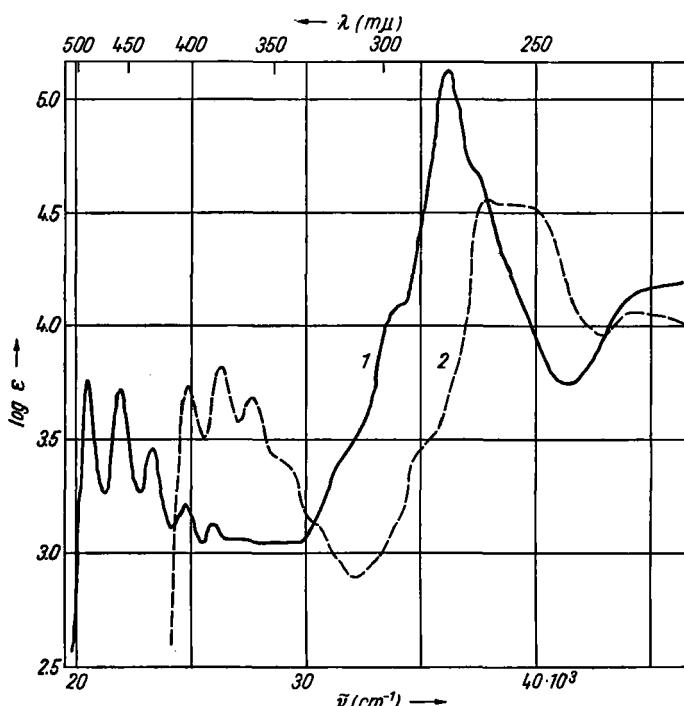


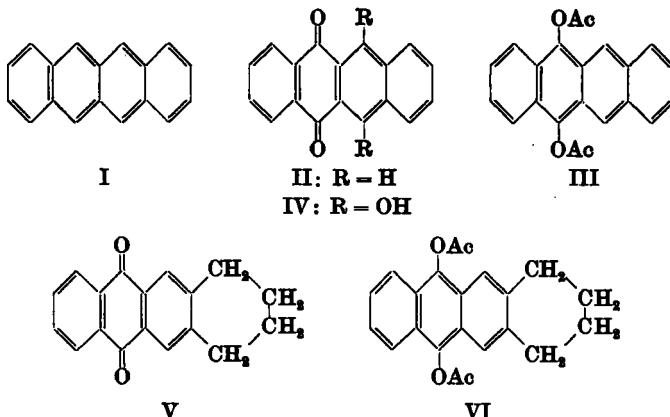
Abbildung 7. Absorptionskurve von 9.10-Diacetoxyl-tetracen — und 2,3-Tetramethylene-9.10-diacetoxyl-anthracen - - - in Methanol

So lieferte die reduzierende Acetylierung von Tetracen-chinon-(9.10) (II) das kristallisierte, orangefarbene 9.10-Diacetoxyl-tetracen (III), dessen Absorptionsspektrum (Abbildung 7) dem des Tetracens sehr ähnlich ist. Wie zu erwarten, liegen dank der beiden bathochromen Acetoxygruppen die Maxima etwas längerwellig als beim Stammkohlenwasserstoff (I). In gleicher Weise umgesetzt, gab 11.12-Dioxy-tetracen-chinon-(9.10) (IV)

⁸⁾ H. Brockmann u. G. Budde, Chem. Ber. 86, 432 [1953].

ein orangefarbenes Hydrochinon-acetat mit tetracen-ähnlichem Spektrum, dessen Maxima die gleiche Lage hatten wie die von III. Seine Lösungen fluorescierten ebenso wie die des Tetracens gelb.

Anders verhielt sich, wie zu erwarten, das 1.2.3.4-Tetrahydro-tetracen-chinon-(9.10) (V). Seine reduzierende Acetylierung führte zu einem noch nicht beschriebenen, hellgelben Hydrochinon-acetat $C_{18}H_{14}O_2$ ($OCCH_3)_2$ vom Schmp.

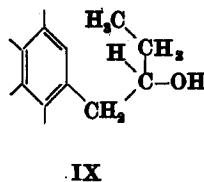
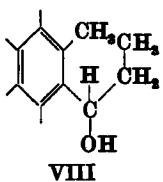
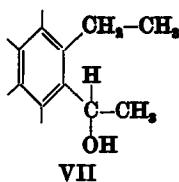


233° , das man als 2.3-Tetramethylen-9.10-diacetoxy-anthracen (VI) auffassen kann. Dementsprechend liegen seine Absorptionsmaxima (Abbild. 7) viel kürzerwellig als die des Tetracens. VI hat ein Spektrum vom Anthracentyp, dessen langwellige Maxima gegenüber denen des Anthracens um etwa $24 m\mu$ nach Rot verschoben sind. Wie früher gezeigt⁸⁾, werden die Maxima des Anthracens durch zwei *meso*-ständige Acetoxygruppen um $16 m\mu$ nach Rot verlagert. Wenn die Maxima von VI stattdessen um $24 m\mu$ längerwellig liegen als beim Anthracen, so sind dafür zweifellos die aliphatischen Substituenten an C² und C³ verantwortlich, denn Alkylsubstitution wirkt bei aromatischen Kohlenwasserstoffen bekanntlich bathochrom. Daß V ein Anthrachinon-Derivat und sein aromatischer Stammkohlenwasserstoff dement sprechend Anthracen ist, kommt somit im Spektrum seines Leuko-acetates eindeutig zum Ausdruck.

Um unser spektroskopisches Verfahren zur Ermittlung des Stammkohlenwasserstoffes⁸⁾ auf β -Rhodomycinon anzuwenden, haben wir dieses mit Acetanhydrid-Zinkstaub unter Zusatz von wenig Pyridin bei 70° reduzierend acetyliert. Das hellgelbe, amorphe Reduktionsprodukt, das sich durch Verseifung wieder ins Ausgangsmaterial zurückverwandeln ließ, zeigte im sichtbaren Gebiet keine Absorptionsbanden und kann demnach kein Tetracen-Derivat sein. Im UV fanden wir Banden bei (406), 382, (360), 262 $m\mu$, die etwa die gleiche Lage haben wie die von VI.

Danach könnte β -Rhodomycinon ein Derivat des 1.2.3.4-Tetrahydro-tetracen-chinons-(9.10) sein, doch wird diese Möglichkeit, wie schon oben erwähnt, dadurch ausgeschlossen, daß bei der Kuhn-Roth-Oxydation des Farbstoffes ein Mol. flüchtiger Säure entsteht. Um alle bisherigen Befunde befriedigend

zu deuten, bleibt nur die Annahme übrig, daß β -Rhodomycinon ein Oxy-anthrachinon-Derivat ist, in dem eine oder auch zwei seitenständige Gruppen



mit insgesamt 4 C- und 9 bzw. 10 H-Atomen so angeordnet sind, daß sich bei der Zinkstaubdestillation Tetracen bilden kann. Im folgenden sollen zunächst Beobachtungen erörtert werden, die Aussagen über die Struktur dieses Molekülteils erlauben.

Aus β -Rhodomycinon bildet sich beim Erhitzen auf 220°, beim Aufbewahren in konz. Schwefelsäure und auch bei längerem Erhitzen in salzsäurehaltigem Aceton eine Verbindung, deren Absorptionsbanden längerwellig sind als die des Ausgangsmaterials. Unter den gleichen Bedingungen bleibt das oben erwähnte, nach Aufnahme von 2 Moll. Wasserstoff entstandene Hydrierungsprodukt des β -Rhodomycinons unverändert. Diese Befunde werden verständlich, wenn in einer Seitenkette des Farbstoffes eine Oxygruppe steht, die sich 1. durch katalytische Hydrierung entfernen läßt und 2. durch Erhitzen oder Säureeinwirkung unter Ausbildung einer zum Ringsystem konjugierten Doppelbindung als Wasser abgespalten wird. Außer dieser Oxygruppe kann kein weiteres Sauerstoffatom in seitenständigen Gruppen vorhanden sein, denn, wie unten gezeigt, gehören die sechs übrigen O-Atome zum Ringsystem.

Während die Kuhn-Roth-Oxydation nur den Schluß erlaubt, daß von den vier seitenständigen C-Atomen nicht mehr als eins einer Methylgruppe angehört, hat die Oxydation des β -Rhodomycinons mit Permanganat Auskunft über die Stellung dieser Methylgruppe gegeben. Denn als Oxydationsprodukt faßten wir eine flüchtige Säure, die durch R_F -Wert und Analyse ihres Silbersalzes als Propionsäure identifiziert werden konnte. Die Methylgruppe bildet demnach das Ende einer Seitenkette.

Für vier an einem Anthrachinongerüst hängende C-Atome gibt es nur drei Gruppierungen (VII, VIII, IX), bei denen die Zinkstaubdestillation Tetracen liefern kann. Unter den Formeln, die durch Kombination dieser drei Gruppierungen mit einer Oxygruppe möglich sind, kann nur diejenige die richtige sein, die neben den vorstehend genannten Befunden auch der optischen Aktivität des β -Rhodomycinons Rechnung trägt. Betrachtet man die drei Seitenketten-Strukturen VII, VIII und IX unter diesem Gesichtspunkt, so ergibt sich folgendes.

Bei VII müßte die Oxygruppe mit einem dem Ringsystem benachbarten C-Atom verknüpft sein, um 1. die Bildung von Propionsäure, 2. die optische Aktivität und 3. die Ausbildung einer zum Ringsystem konjugierten Doppelbindung zu erklären. Dann aber sollte die Kuhn-Roth-Oxydation annähernd zwei Moll. flüchtiger Säure liefern, was nicht der Fall ist. Damit entfällt VII.

Wären die vier C-Atome so angeordnet wie in VIII, so dürfte sich Propionsäure nur bilden, wenn die Oxygruppe dem Ringsystem benachbart ist (VIII). Dann würde zwar die optische Aktivität und die Entstehung der konjugierten Doppelbindung verständlich, nicht aber das Ergebnis der Kuhn-Roth-Oxydation. Denn VIII müßte ebenso wie VII annähernd zwei Mol. flüchtiger Säure liefern. Damit scheidet auch VIII aus, und es bleibt nur noch die Möglichkeit, daß die vier C-Atome einer Butylgruppe angehören. Nimmt man an, daß die Oxygruppe wie in IX steht, so erklärt sich zwanglos sowohl die Bildung von Propionsäure als auch die Ausbildung der zum Ringsystem konjugierten Doppelbindung, die optische Aktivität und die Entwicklung von 1 Mol. flüchtiger Säure bei der Kuhn-Roth-Oxydation. Bei dieser Struktur müßte das durch katalytische Hydrierung entstehende Desoxy- β -rhodomycinon die Konstitution XVIII haben und demzufolge beim oxydativen Abbau Valeriansäure liefern. Tatsächlich erhielten wir bei der Oxydation von Desoxy- β -rhodomycinon mit acetonischer Permanganatlösung ein Gemisch flüchtiger Säuren, das im Papierchromatogramm (*n*-Butanol/*n* Ammoniak) Zonen mit den *R*_F-Werten der Valeriansäure, Buttersäure, Propionsäure und Essigsäure bildete⁹⁾. Damit scheint uns, obgleich die präparative Isolierung der Valeriansäure noch aussteht, die Struktur der Seitenkette im Sinne der Formel IX hinreichend gesichert. Hervorzuheben ist, daß sich nach allen bisher vorliegenden Erfahrungen die Einführung einer solchen Seitenkette in ein Oxy-anthrachinon spektroskopisch wenig auswirken wird. Für den im folgenden zu erörternden spektroskopischen Stellungsbeweis der ringständigen Oxygruppen ist diese spektroskopische Indifferenz der Seitenkette von erheblicher Bedeutung.

Wenn die Seitenkette des β -Rhodomycinons die Struktur IX hat, müssen vier von den fünf acetylierbaren Oxygruppen dem Anthrachinon-Ringsystem angehören, was sich unabhängig von der Strukturaufklärung der Seitenkette auch aus den folgenden Befunden ergibt.

Über die Stellung von zwei ringständigen Oxygruppen gibt das IR-Spektrum (Abbild. 4) Auskunft. Bekanntlich verschiebt sich die bei 6.0 μ liegende Carbonylbande des Anthrachinons um 0.2 μ nach längeren Wellen, wenn in α -Stellung eine Oxygruppe eingeführt wird¹⁰⁾. Da β -Rhodomycinon nur eine langwellige Carbonylbande bei 6.2 μ hat, muß diese beiden Chinoncarbonylen zugeordnet werden, d. h. beide müssen cheliert sein. Träfe dies nur für eins zu, so würde das Spektrum zwei Carbonylbanden, bei 6.0 bzw. 6.2 μ , zeigen.

Versetzt man die gelbe Acetanhydridlösung des β -Rhodomycinons mit Pyroboracetat, so wird sie blau-violett mit roter Fluorescenz und zeigt charakteristische Absorptionsbanden (Tafel 1), eine Reaktion, die in Übereinstimmung mit dem IR-Spektrum zeigt, daß mindestens zwei zu verschiedenen Chinon-Carbonylgruppen α -ständige Oxygruppen vorhanden sind. Erhitzt man anschließend, so schlägt die Farbe nach Rotviolett um und die Absorptionsbanden werden kürzerwellig.

⁹⁾ Durch Kaliumpermanganat werden Fettsäuren z. Tl. zu niedrigeren Homologen abgebaut (s. a. J. Hetper, Z. analyt. Chem. 50, 343 [1911]).

¹⁰⁾ M. St. C. Flett, J. chem. Soc. [London] 1948, 1441.

Tafel 1. Pyroboracetat-Reaktion des ϵ - und β -Rhodomycinons sowie des 1.4.5-Trioxo- und 1.4.5.6-Tetraoxo-anthrachinons

	Banden des ϵ -Rhodomycinons in μm *)	Banden des β -Rhodomycinons in μm *)
In Acetanhydrid	580 514 (494) (orange)	(531) (orange)
Pyroboracetat zugesetzt	592 545 (rotviol.)	601 550 (blauviol.)
3 Min. gekocht	(581) 553 513 (rotviol.)	584 548 (rotviol.)
In Acetanhydrid 1 Min. gekocht	530 513 497 (orange)	531 493 (orange)
Pyroboracetat zugesetzt	592 548 (508) (rotviol.)	592 548 (rotviol.)
3 Min. gekocht	(581) 558 513 (rotviol.)	581 584 (rotviol.)
	Banden des 1.4.5-Trioxo-anthrachinons in μm *)	Banden des 1.4.5.6-Tetraoxo-anthrachinons in μm *)
In Acetanhydrid	525 490 . (orange)	(527) (494) (orange)
Pyroboracetat zugesetzt	592 546 (rotviol.)	645 598 (blau)
3 Min. gekocht	581 536 (rotviol.)	588 587 (rotviol.)
In Acetanhydrid 1 Min. gekocht	526 509 (orange)	(525) (491) (orange)
Pyroboracetat zugesetzt	592 545 (rotviol.)	(570) (527) (rot)
3 Min. gekocht	588 536 (rotviol.)	577 588 (rot)

*) Gemessen mit Prismenspektroskop; sehr schwache Banden nicht angeführt.

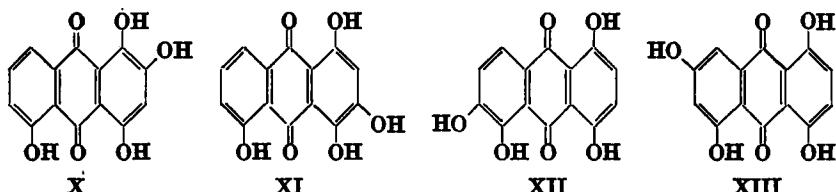
Die in der Kälte auftretende Farbreaktion mit Pyroboracetat ist darauf zurückzuführen, daß zunächst zwei zu verschiedenen Carbonylen α -ständige Oxygruppen mit Pyroboracetat verestert werden¹¹⁾. Die beim Erwärmen erfolgende Verschiebung der Absorptionsbanden nach kürzeren Wellenlängen (Tafel 1) kann durch Acetylierung weiterer α - oder β -ständiger Oxygruppen hervorgerufen werden¹¹⁾. Würde diese hypsochrome Verschiebung beim β -Rhodomycinon von einer oder zwei β -Oxygruppen herrühren, so müßte sie ausbleiben, wenn man diese Oxygruppen vorher durch Erhitzen des β -Rhodomycinons mit reinem Acetanhydrid acetyliert¹¹⁾. Das ist jedoch nicht der Fall. Denn erhitzt man eine Lösung von β -Rhodomycinon in Acetanhydrid kurze Zeit und versetzt sie nach Erkalten mit Pyroboracetat, so zeigt die violett gewordene Lösung zwar kürzerwellige Absorptionsbanden als die nicht erhitzte, beim Kochen tritt jedoch auch hier eine Bandenverschiebung nach Blau ein (Tafel 1). Diese Verschiebung ist, wie an einer größeren Zahl von Oxy-anthrachinonen gezeigt werden konnte¹¹⁾, ein Beweis, daß β -Rhodomycinon mehr als zwei α -ständige Oxygruppen enthält. Damit erhebt sich die Frage, ob alle vier Oxygruppen des Ringsystems α -ständig sind. Diese Möglichkeit entfällt allein schon aus spektroskopischen Gründen, denn, wenn β -Rhodomycinon vier α -Oxygruppen enthielte, wäre es ein Derivat des 1.4.5.8-Tetraoxo-anthrachinons, das sich in Alkali rein blau, in organischen Solventien karmoisinrot löst und ein ganz anderes Absorptionsspektrum hat als unser Farbstoff.

¹¹⁾ H. Brockmann u. R. Köhne, unveröffentlicht; R. Köhne, Diplomarb., Göttingen 1950.

Ein weiteres, gewichtiges Gegenargument ist folgendes: 1.4.5-Trioxo-anthrachinon kann in konz. Schwefelsäure mit Mangandioxyd glatt zu 1.4.5.8-Tetraoxo-anthrachinon oxydiert werden, das durch sein charakteristisches Absorptionsspektrum leicht erkennbar ist. In analoger Weise läßt sich das in organischen Lösungsmitteln gelbrot lösliche β -Rhodomycinon zu einer karmoisinrot löslichen Verbindung oxydieren, deren Absorptionsspektrum dem des 1.4.5.8-Tetraoxo-anthrachinons sehr ähnlich ist. Daraus folgt eindeutig, daß sich in das β -Rhodomycinon noch eine α -Oxygruppe einführen läßt, und dieses demnach nur drei α -ständige Oxygruppen enthält. Unser Farbstoff ist also ein 1.4.5-Trioxo-anthrachinon-Derivat. Darauf deutet auch sein Absorptionsspektrum hin, das dem des 1.4.5-Trioxo-anthrachinons sehr ähnlich ist (Abbildung 3).

Daß β -Rhodomycinon neben den drei α -Oxygruppen noch eine vierte β -ständige enthält, läßt sich ebenfalls mit Hilfe der Pyroboracetat-Reaktion beweisen. Wie schon erwähnt, entsteht bei Zugabe von Pyroboracetat zur Acetanhydridlösung des Farbstoffes eine blauviolette Färbung, deren Absorptionsbanden längerwellig liegen (Tafel 1), als wenn die Acetanhydridlösung vorher einige Zeit erwärmt worden ist (Acetylierung β -ständiger Oxygruppen). Dieser Unterschied ist, wie an einer größeren Zahl von Oxy-anthrachinonen gezeigt werden konnte¹¹⁾, ein Beweis für das Vorliegen einer β -Oxygruppe. Daß trotz dieser β -Oxygruppe das Spektrum des β -Rhodomycinons dem des 1.4.5-Trioxo-anthrachinons ähnlich ist (Abbildung 3), überrascht nicht, denn auch 1.4.5.6-, 1.4.5.7- und 1.3.4.5-Tetraoxo-anthrachinon zeigen in Methanol praktisch die gleichen Absorptionsbanden wie 1.4.5-Trioxo-anthrachinon (Tafel 2), und das gleiche gilt für Catenarin¹²⁾ (1.4.5.7-Tetraoxo-2-methyl-anthrachinon) und Helminthosporin¹³⁾ (1.4.5-Trioxo-7-methyl-anthrachinon).

Für die Stellung der β -Oxygruppe des β -Rhodomycinons kommen die vier in den Formeln X bis XIII angegebenen Möglichkeiten in Betracht. Um zwischen ihnen zu entscheiden, haben wir unseren Farbstoff in verschiedenen Lösungsmitteln und an Hand einiger Farbreaktionen (Tafel 2) mit den Tetraoxo-anthrachinonen XI–XIII verglichen¹⁴⁾.



1. Schwefelsäure-Reaktion¹⁵⁾: Die Lage der Banden bei der Schwefelsäure-Reaktion wird, wie aus einem Vergleich der in konz. Schwefelsäure gemessenen Banden des 1.4.5-Trioxo-anthrachinons und des 1.4.5.7-Tetraoxo-anthrachinons mit denen des 1.4.5-Trioxo-7-methyl-anthrachinons (Helminthosporin) und des 1.4.5.7-Tetraoxo-2-methyl-

¹²⁾ W. K. Anslow u. H. Raistrick, Biochem. J. 34, 1124 [1940].

¹³⁾ H. Raistrick, R. Robinson u. A. R. Todd, Biochem. J. 27, 1170 [1933].

¹⁴⁾ Für die Überlassung dieser Präparate danken wir Hrn. Dr. Merkel, Farbenfabriken Bayer, Werk Elberfeld. Das in einheitlicher Form schwer zugängliche 1.2.4.5-Tetraoxo-anthrachinon (X) (bei allen Synthesen entstehen 2 schwer trennbare Isomere) stand uns für diesen Vergleich leider nicht zur Verfügung. Mit seiner Darstellung sind wir beschäftigt.

Tafel 2. Farbreaktionen der Rhodomycinone und einiger Modellsubstanzen

Substanz	Methanol	konz. H ₂ SO ₄	Piperidin	Blei-salz	Calcium-salz	TiCl ₃ in Methanol	TiCl ₃ in Methanol/Pyridin
β-Rhodomycinon	gelb 529 496 (462)	blau * 584 539	violett 625 574 (531)	rotviolett 616	violett	blau	blau
ε-Rhodomycinon	gelb 530 492 (458)	violett (568) (536)	indigo 620 574 (531)	rotviolett 620	violett	blau	blau
1.4.5-Trioxo-anthrachinon	gelb 525 510 490 (457)	violett 592 545 (503)	violett 610 566 527	rot 610	violett	blaugrün → rotviolett	olivgrün → grün → blau
1.4.5.7-Tetraoxy-anthrachinon	gelb 523 508 498	indigo-blau 616 572 (525)	rot-violett End-absorption keine Banden 583	rot 583	rot	braun → rot (karmoisin)	blau
1.4.5.6-Tetraoxy-anthrachinon	gelb (527) (515) (487)	violett 581 536 (497)	blau-violett 666 599 553 515	indigo blau	blau	olivgrün → blauviolett → violett	olivgrün → blauviolett → blau
1.3.4.5-Tetraoxy-anthrachinon	gelb 528 491 (458)	rot 584 586 495	rot 572 525	violett 572	rot	olivgrün → rotviolett	olivgrün → violett

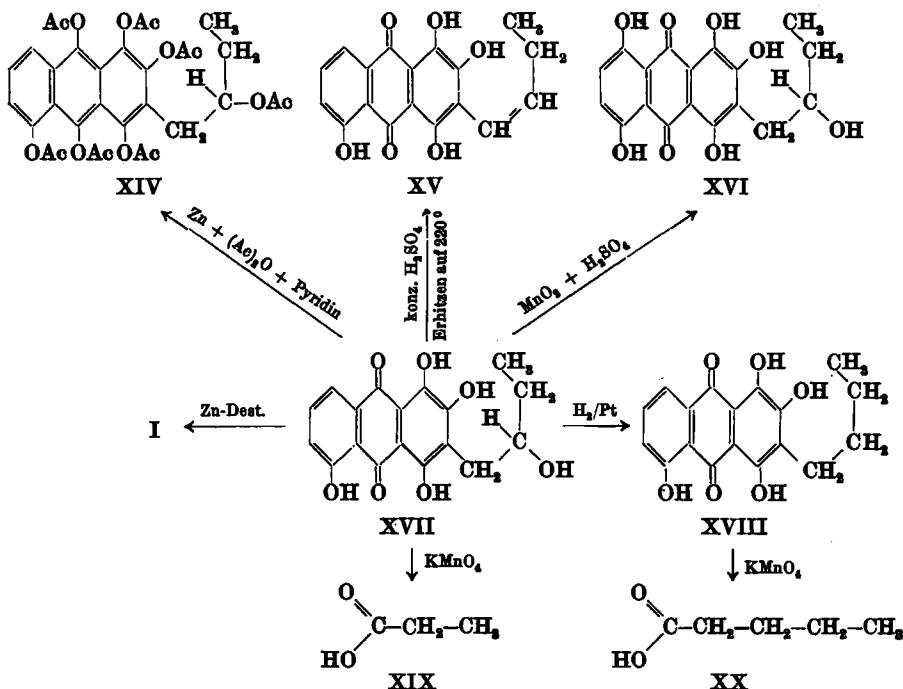
*) Schwefelsäure-Reaktion des Desoxy-β-rhodomycinons.

anthrachinons (Catenarin) hervorgeht, durch eine Methylgruppe praktisch nicht beeinflusst (Tafel 3).

Tafel 3. Absorptionsbanden einiger Oxy-anthrachinone in konz. Schwefelsäure in μ

1.4.5-Trioxo-anthrachinon	592	545	(503)	(violett)
1.4.5-Trioxo-7-methyl-anthrachinon	593	541		(violett)
1.4.5.7-Tetraoxy-anthrachinon	616	572	(525)	(indigoblau)
1.4.5.7-Tetraoxy-2-methyl-anthrachinon ..	619	575	(530)	(blau)

Da das β -Rhodomycinon in konz. Schwefelsäure, wie oben erwähnt, in eine längerwellig absorbierende Verbindung übergeht, haben wir an seiner Stelle das in konz. Schwefelsäure beständige Desoxy- β -rhodomycinon verwendet, durch dessen Seitenkette das Bandenspektrum in Schwefelsäure ebensowenig beeinflusst werden dürfte wie durch eine Methylgruppe. Es unterscheidet sich in seinem Schwefelsäure-Spektrum sowohl von 1.4.5-Trioxo-anthrachinon als auch von den Tetraoxy-anthrachinonen XI, XII und XIII.



2. Piperidin-Reaktion¹⁵⁾: Das Bandenspektrum der in Piperidin vorliegenden Salze wird durch die ionisierte β -Oxygruppe jeweils in charakteristischer Weise verändert. Das β -Rhodomycinon unterscheidet sich sowohl vom 1.4.5-Trioxo-anthrachinon, als auch von den drei Tetraoxy-anthrachinonen.

3. Titan(III)-chlorid-Reaktion¹⁶⁾: Die Färbung der Oxy-anthrachinone bei der Endiol-Reaktion mit Titan(III)-chlorid in Methanol hängt in charakteristischer Weise

¹⁵⁾ H. Brockmann, E. H. v. Falkenhausen, R. Neeff, A. Dorlars u. G. Budde, Chem. Ber. 84, 865 [1951]. Vergl. auch die Reaktion aromatischer Endiole mit Piperazin nach G. Schenck u. J. Härtel, Naturwissenschaften 41, 18 [1954].

¹⁶⁾ F. Weygand u. E. Csendes, Chem. Ber. 85, 45 [1952].

vom Vorhandensein und von der Stellung einer β -Oxygruppe ab. Bei Pyridin-Zusatz erhält man weniger spezifische blaue Endfarbtöne. Das β -Rhodomycinon verhielt sich auch hier anders als die angeführten Modellsubstanzen.

4. Farblackbildung mit Blei- und Calciumsalzen: Bei Zusatz eines Tropfens wässriger Bleiacetat- oder Calciumchlorid-Lösung zur methanolischen Lösung eines Oxyanthrachinons wurden Farblacke erhalten, deren Farbe und Löslichkeit von Vorhandensein und Stellung einer β -Oxygruppe abhängig ist. Das β -Rhodomycinon unterschied sich bei der Farblackbildung in charakteristischer Weise von den Tetraoxy-anthrachinonen XI, XII und XIII.

Nach diesen Reaktionen scheint uns ausgeschlossen, daß die β -Oxygruppe so angeordnet ist wie in XI, XII oder XIII. β -Rhodomycinon muß demnach ein Derivat des 1.2.4.5-Tetraoxy-anthrachinons (X) sein. Zum gleichen Ergebnis kommt man, wenn man beim β -Rhodomycinon und den Modellsubstanzen die Feinstruktur des langwelligen Absorptionsgebietes vergleicht.

Gewisse Cyclisierungsreaktionen unter relativ milden Bedingungen, die z. Zt. noch untersucht werden, lassen darauf schließen, daß die Seitenkette des β -Rhodomycinons an C⁹ steht. Dem Farbstoff käme dann die Konstitutionsformel XVII zu. Auf sie bezogen, lassen sich die in dieser Arbeit beschriebenen Reaktionen durch die Formeln XIV–XX wiedergeben.

ϵ -Rhodomycinon und ϵ -Iso-rhodomycinon

Das oben erwähnte ϵ -Rhodomycinon wurde, wie im Versuchsteil näher beschrieben, aus dem Mycel eines Submersansatzes isoliert, in dem es als Hauptfarbstoff vorhanden war. Es kristallisiert in braunroten Blättchen vom Schmp. 185° und zeigt im Gegensatz zum β -Rhodomycinon keine nennenswerte antibiotische Wirksamkeit. Sein Absorptionsspektrum in organischen Lösungsmitteln (Abbild. 3 und Zusammenstellung im Versuchsteil) und in konz. Schwefelsäure, sowie sein Verhalten bei der Pyroboracetat-Reaktion¹¹⁾ sind dem des β -Rhodomycinons sehr ähnlich. Mit Natriumdithionit bildet es ebenso wie β -Rhodomycinon eine gelbe Küpe.

Die bisherigen Analysenzahlen passen am besten auf C₂₁H₂₀₋₂₂O₈, schließen aber C₂₀H₁₈₋₂₀O₈ nicht ganz aus. Im Gegensatz zum β -Rhodomycinon enthält ϵ -Rhodomycinon eine Methoxygruppe. Im IR-Spektrum zeigt es eine Bande bei 5.75 μ , die einer Keto-, Ester- oder Lacton-Carbonylgruppe zugeordnet werden kann und dem β -Rhodomycinon fehlt.

Seine weitgehende spektroskopische Übereinstimmung mit β -Rhodomycinon spricht dafür, daß ϵ -Rhodomycinon ebenfalls ein Derivat des 1.4.5-Trioxy-anthrachinons ist. Der Methoxylgehalt und die IR-Bande bei 5.75 μ lassen auf Anwesenheit einer veresterten Carboxygruppe schließen.

ϵ -Rhodomycinon wird ebenso wie β -Rhodomycinon durch konz. Schwefelsäure in eine längerwellig absorbierende Verbindung umgewandelt und liefert bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat Propionsäure. Danach dürfte es die gleiche, eine Oxygruppe tragende Seitenkette enthalten wie β -Rhodomycinon. Wenn von den 8 Sauerstoffatomen der ϵ -Rhodomycinon-Formel zwei einem chinoiden System, zwei einer veresterten Carboxygruppe und eins einer Oxygruppe der Seitenkette angehören, bleiben für das Ringsystem nur noch drei Sauerstoffatome übrig. Da diese (nach der Pyroboracetat-Reaktion und

dem spektroskopischen Vergleich mit β -Rhodomycinon bzw. 1.4.5-Trioxo-anthrachinon) zweifellos als α -ständige Oxygruppen vorliegen, kann ϵ -Rhodomycinon im Gegensatz zum β -Rhodomycinon keine β -Oxygruppe enthalten. Diese Schlußfolgerung wird durch die Pyroboracetat-Reaktion bestätigt. Denn die dabei auftretenden Veränderungen im Bandenspektrum sind unabhängig davon, ob die Acetanhydridlösung des Farbstoffes vorher kurze Zeit gekocht worden ist, oder nicht (Tafel 1).

Das aus Kulturlösung und Mycel isolierte ϵ -Iso-rhodomycinon, dunkelrote Blättchen vom Schmp. 245°, ist der erste Vertreter der Iso-rhodomycione, der kristallisiert erhalten wurde. Gegen unseren *St.-aureus*-Stamm war es bis zur Verdünnung 1:300000 antibiotisch wirksam.

Von wäßrigem Alkali wird ϵ -Iso-rhodomycinon im Gegensatz zu den violett löslichen Rhodomycinonen mit rein blauer Farbe aufgenommen. Es zeigt in organischen Lösungsmitteln ein charakteristisches Absorptionsspektrum (Abbildung 3), das dem des 1.4.5.8-Tetraoxy-anthrachinons sehr ähnlich ist. Auch gegenüber Pyroboracetat verhält es sich wie diese Verbindung.

Die Analysenzahlen passen am besten auf die Formel $C_{20}H_{18-20}O_9$, die wir als vorläufige Bruttoformel unseren Berechnungen zugrunde gelegt haben. Auf sie bezogen, beträgt die Zahl der aktiven H-Atome 6 und die Menge der bei der Kuhn-Roth-Oxydation gebildeten flüchtigen Säure etwa 1 Molekül. Bei der Zinkstaubdestillation entstand ein Sublimat mit den Absorptionsbanden des Tetracens, bei der Permanganat-Oxydation fanden wir Propionsäure, und mit konz. Schwefelsäure bildete ϵ -Iso-rhodomycinon eine Verbindung, deren Absorptionsbanden längerwellig waren als die des Ausgangsmaterials.

Bei allen drei Umsetzungen verhält sich der Farbstoff demnach wie β -Rhodomycinon. Ebenso wie ϵ -Rhodomycinon hat ϵ -Iso-rhodomycinon eine Carbonylbande bei 5.75 μ und enthält wie dieses eine Methoxygruppe¹⁷⁾. Nach den bisher vorliegenden Befunden spricht nichts gegen die Annahme, daß ϵ -Iso-rhodomycinon ein 1.4.5.8-Tetraoxy-anthrachinon-Derivat ist, das neben einer Carbomethoxygruppe die gleiche Seitenkette besitzt wie β -Rhodomycinon. Vom ϵ -Rhodomycinon, von dem es sich im Papierchromatogramm nicht abtrennen läßt, unterscheidet sich ϵ -Iso-rhodomycinon, falls für ersteres die C_{20} -Formel gilt, offenbar nur durch das Vorhandensein einer vierten α -Oxygruppe, ein Unterschied, der dem zwischen Helminthosporin¹⁸⁾ und Cynodontin¹⁹⁾ entspricht.

Zur Konstitution des Rhodomycins A

Ihre Wasserlöslichkeit und Basizität verdanken die Rhodomycine dem am Chromophor hängenden stickstoffhaltigen Rest der Moleköl, der bereits bei milder Säurehydrolyse abgespalten wird und dabei als wasserlösliche Fraktion anfällt. Beim Abbau des Rhodomycins A wurde aus dieser Fraktion eine mit Pikrocin¹⁹⁾ isomere Dimethylamino-desoxy-aldoose, das Rhodosamin²⁰⁾, isoliert, dem die Konstitution XI zugeschrieben werden kann.

¹⁷⁾ P. Boldt, Diplomarb., Göttingen 1955.

¹⁸⁾ H. Raistrick, R. Robinson u. A. R. Todd, Biochem. J. 28, 559 [1934].

¹⁹⁾ H. Brockmann, H. B. König u. R. Oster, Chem. Ber. 87, 856 [1954].

²⁰⁾ H. Brockmann u. E. Spohler, Naturwissenschaften 42, 154 [1955].

Da die Absorptionsmaxima des Rhodomycins A praktisch die gleiche Lage haben wie die seines Chromophors, des β -Rhodomycinons, kann der stickstoffhaltige Rest des Rhodomycins A nicht über eine α -Oxygruppe des Chromophors mit diesem verbunden sein. Denn dann müßte sich das Absorptionsspektrum des Rhodomycins A deutlich von dem des β -Rhodomycinons unterscheiden. Auch die β -Oxygruppe kommt nicht in Frage, denn wäre sie mit dem Rest verknüpft, so müßte Rhodomycin A mit Bleiacetat in Methanol die gleiche rote Färbung geben wie 1.4.5-Trioxo-anthrachinon. Das ist jedoch nicht der Fall; vielmehr wird die methanolische Rhodomycin A-Lösung, ebenso wie die des β -Rhodomycinons, auf Zusatz von Bleiacetat rotviolett. Als Verknüpfungsstelle des stickstoffhaltigen Restes bleibt somit nur noch die Oxygruppe der Seitenkette übrig.

Die aus Rhodomycin A bei milder Säurehydrolyse entstehende β -Rhodomycinon-Menge beträgt rund 55 % des Ausgangsmaterials. Praktisch der gleiche Wert ergibt sich aus den beim Maximum 494 $m\mu$ gemessenen spezifischen Extinktionskoeffizienten des Rhodomycins A und seines Chromophors. Denn das Verhältnis $\alpha_{494} \beta\text{-Rhodomycinon} : \alpha_{494} \text{ Rhodomycin A}$ beträgt 33.7: 18.55, was einem Chromophorgehalt von 55 % entspricht.

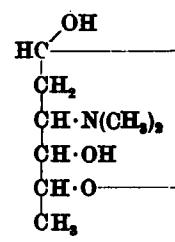
Aus den Analysenzahlen des kristallisierten Rhodomycin A-hydrochlorides¹⁾ errechnet sich als kleinste Summenformel $C_{19-20}H_{28}O_7N \cdot HCl$. Die genaue Festlegung der Formel wird dadurch erschwert, daß die Rhodomycin A-hydrochlorid-Präparate hartnäckig Lösungsmittel festhalten und bei schärferem Trocknen Chlorwasserstoff verlieren. Die Gewinnung zuverlässiger Analysenzahlen ist daher schwierig.

Nach der potentiometrischen „Differentialtitration“ von Rhodomycin A und seinem Hydrochlorid²¹⁾ muß die Bruttoformel des Rhodomycins A mindestens doppelt so groß sein wie die kleinste Summenformel. Nimmt man dementsprechend an, daß die Bruttoformel $C_{38-40}H_{58}O_{14}N_2 \cdot 2HCl$ ist und Rhodomycin A ein Mol. β -Rhodomycinon enthält, so würde der Chromophorgehalt 40 % betragen, während 55 % gefunden wurde.

Zu ähnlichen Unstimmigkeiten führt die Annahme, daß Rhodomycin A aus einem Mol. β -Rhodomycinon und zwei Moll. Rhodosamin aufgebaut ist. Denn dann wäre die Bruttoformel des Rhodomycin A-hydrochlorides $C_{34}H_{46}O_{11}N_2 \cdot 2HCl$, was weder mit den Analysenzahlen noch mit dem Chromophorgehalt (gef. 55, ber. 47) übereinstimmt.

Dagegen würden alle bisherigen Befunde miteinander in Einklang stehen, wenn man annimmt, daß die Bruttoformel dreimal so groß ist wie die kleinste Summenformel und das Antibioticum 2 Moll. Chromophor und 3 Moll. Rhodosamin enthält, die unter Austritt von 4 Moll. Wasser miteinander verknüpft sind. Ob diese Annahme zutrifft, wird z. Z. geprüft.

Für großzügige Förderung unserer Arbeiten sind wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft, den Farbenfabriken Bayer, Werk Elberfeld, und dem Fonds der Chemie zu Dank verpflichtet. Fr. S. Scheibe danken wir für verständnisvolle, experimentelle Mitarbeit.



XXI

²¹⁾ H. Brockmann u. E. Meyer, Chem. Ber. 86, 1514 [1953].

Beschreibung der Versuche *)

Rhodomycin-pikrat aus Kulturlösung: 38 l vom Mycel abfiltrierte Kulturlösung²¹⁾ von *Streptomyces purpurascens* wurden i. Vak. auf 7.5 l eingedampft, auf p_H 3 eingestellt und ausgeäthert. Dann filtrierte man die wäßrige Phase im Verlauf von 4 Stdn. durch eine Säule von Lewatit KSN (Na-Form) und wusch mit 5 l dest. Wasser nach.

Zur Bereitung der Austauscher-Säule wurde 1 l Lewatit KSN nach Aufquellen in Wasser in eine Röhre (6 × 35 cm) eingeschlämmt und nacheinander jeweils innerhalb 1 Stde. mit 5 l 5-proz. Salzsäure, 5 l dest. Wasser, 5 l 10-proz. Kochsalzlösung und 5 l dest. Wasser gewaschen.

Die Elution des Rhodomycins erfolgte innerhalb 2 Stdn. mit 3.5 l 0.1 n methanol. Ammoniak²²⁾. Das Eluat wurde neutralisiert, i. Vak. eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und mit gesättigter, wäßriger Pikrinsäurelösung versetzt, worauf 2 g Rhodomycin-pikrat ausfielen.

 β -Rhodomycinon

Darstellung: Aus 1.5 kg lufttrockenem, mit Petroläther vorextrahiertem Mycel wurde das Rhodomycin erschöpfend mit 80-proz. Aceton (enthaltend 2% Schwefelsäure) ausgezogen²³⁾. Dann kochte man das Mycel (1.2 kg) 1 Stde. mit 3 l Aceton (10 Vol.-% konz. Salzsäure enthaltend), saugte ab, wusch mit 3 l Aceton gleicher Konzentration nach, neutralisierte mit Ammoniak und dampfte den Acetonauszug i. Vak. ein. Der wäßrige Rückstand wurde auf p_H 3 eingestellt und mit 5 l Äther extrahiert. Den Ätherauszug wusch man zunächst mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, dann zur Abtrennung des ϵ -Iso-rhodomycinons viermal mit 0.4 l n Na_2CO_3 und extrahierte ihn anschließend mit 0.5 l 2n NaOH. Das beim Ansäuern der Natronlauge ausfallende β -Rhodomycinon wurde mehrmals aus Benzol-Methanol umkristallisiert. 234 mg dunkelrote Nadeln vom Schmp. 225°.

In gleicher Weise wurde β -Rhodomycinon auch aus dem Ätherauszug der Kulturflüssigkeit gewonnen.

β -Rhodomycinon löst sich leicht in Aceton, Äthanol, Eisessig, Benzol und Pyridin und wenig in Petroläther und Wasser. Mit Diazomethan reagiert es unter Farbumschlag nach Hellgelb.

$C_{18}H_{16}O_7$ (344.3) Ber. C 62.79 H 4.68 O 32.53 C-CH₃ 4.4 5 akt. H 1.46
Gef. C 62.40 H 4.83 O 32.92 C-CH₃ 4.7 akt. H 1.21 Mol.-Gew. 320 *)

*) Nach Beekmann in Phenol.

Absorptionsmaxima in $m\mu$ *)

Methanol	580	529	495	(462)	(orange)
Chloroform			532	(495)	(orange)
Benzol	584	497	461		(orange)
konz. Schwefelsäure	601	575	530		(violett)
n NaOH	(573)	(532)			(violett)
Acetanhydrid	(582)	(494)			(gelborange)
Acetanhydrid gekocht ²³⁾	(581)	(494)			(gelborange)
Acetanhydrid+Pyroboracetat, 3 Min. gekocht ²⁴⁾	582	587			(violett)

*) gemessen mit Prismenspektroskop; starke Banden fett, unscharfe eingeklammert.

Chromatographie eines Gemisches von Rhodomycinon- und Iso-rhodomycinon-acetaten: Eine Lösung von 100 mg eines Gemisches aus Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen (aus Mycel von *Streptomyces purpurascens*) in 2 ccm Acetanhydrid wurde nach Zusatz von 1 Tropfen konz. Schwefelsäure 3 Min. gekocht und

*) Alle Schmpp. wurden im Berl.-Block bestimmt und sind korrigiert.

²²⁾ N. Applezweig, J. Amer. chem. Soc. 66, 1990 [1944].

²³⁾ O. Dimroth, O. Friedemann u. H. Kämmerer, Ber. dtsch. chem. Ges. 53, 481 [1920]. ²⁴⁾ O. Dimroth, Liebigs Ann. Chem. 446, 97 [1926].

anschließend in 10 ccm Wasser gegossen. Das Acetat wurde abgesogen, mit Wasser gewaschen und getrocknet (110 mg). 5 mg davon chromatographierte man aus Chloroform an 5 g durch Fällung dargestelltem und bei 130° aktiviertem Gips. Dabei bildete sich nur eine gelbe Zone, die sich nicht auftrennen ließ.

Fraktionierte Sublimation eines Gemisches von Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen: Aus einem Rohr mit darübergeschobenem Heizblock wurde das Gemisch bei 160–180°/0.0001 Torr fraktioniert sublimiert. Eine Auftrennung in Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone wurde nicht erreicht.

Analytische Gegenstromverteilung eines Gemisches von Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen: 50 mg eines aus Mycel isolierten Gemisches von Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen wurde in einer Apparatur²⁵⁾, deren Verteilungsgefäße 50 ccm faßen, im System Äther/Natriumcarbonat-Natriumhydrogen-carbonat-Puffer vom $p_{\text{H}} 10.5 +$ Methanol (2:1) über 27 Stufen verteilt. Zur Ermittlung der Verteilungskurve wurde der Inhalt jeder Zelle mit 10 ccm 5n H_2SO_4 angesäuert, die äther. Phase abgetrennt, auf 50 ccm aufgefüllt und kolorimetriert (Abbildung 2). Die partiellen Verteilungskurven wurden nach dem Ergebnis einer Durchmusterung der Verteilungsfractionen mit dem Prismenspektroskop eingetragen.

Präparative Auftrennung eines Gemisches von Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen durch fraktionierte Verteilung: Mit der Lösung von 2.7 g eines Gemisches aus Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen in 2 l Äther wurde nach dem in der Abbild. 1 dargestellten Schema in Äther/n Na₂CO₃ eine fraktionierte Verteilung durchgeführt. Nachdem die Ätherphasen die 5 Natriumcarbonatphasen passiert hatten, wurde ihnen der restliche Farbstoff mit 200 ccm n NaOH entzogen. Zur Isolierung der Verteilungsfractionen aus den alkalischen Phasen säuerte man an und saugte den Farbstoff ab. Eine Durchmusterung der Fraktionen mit dem Prismenspektroskop ergab, daß die Natriumcarbonatphase I (Abbildung 1) nahezu reines Iso-rhodomycinon und die Natriumcarbonatphasen 3–5 nahezu einheitliches Rhodomycinon enthielten, das durch Umkristallisation leicht in reiner Form gewonnen werden konnte. Die zweite Natriumcarbonatphase enthielt 216 mg eines Gemisches von Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen.

Spektralphotometrische Bestimmung des Komponentenverhältnisses von Gemischen aus Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen: Zur spektralphotometrischen Bestimmung der Komponenten eines Zweistoffgemisches werden die Extinktionen einer Lösung dieses Gemisches, deren Gesamtkonzentration nicht bekannt zu sein braucht, bei zwei verschiedenen Wellenlängen gemessen. Die Konzentrationen lassen sich dann nach den folgenden beiden Gleichungen berechnen²⁶⁾:

$$\frac{E_{\lambda_1}}{d} = \epsilon'_A \cdot c_A + \epsilon'_B \cdot c_B \quad \frac{E_{\lambda_2}}{d} = \epsilon''_A \cdot c_A + \epsilon''_B \cdot c_B$$

(d = Schichtdicke)

E_{λ_1} und E_{λ_2} sind die Extinktionen für 2 Wellenlängen, bei denen sich die molaren Extinktionskoeffizienten möglichst weitgehend voneinander unterscheiden. Aus den Konzentrationen ergibt sich der Prozentgehalt P einer Komponente:

$$P_A = \frac{c_A}{c_A + c_B} \cdot 100 = \frac{c_A}{c_{\text{ges}}} \cdot 100$$

Die Rechnung vereinfacht sich, wenn man als zweite Wellenlänge die des isosbestischen Punktes wählt, bei der sich die Absorptionskurven der reinen Komponenten schneiden. Die bei dieser Wellenlänge gemessenen Extinktionen sind der Gesamtkonzentration

²⁵⁾ N. Grubhofer, Chemie-Ing.-Techn. 22, 209 [1950].

²⁶⁾ M. Pestemer u. D. Brück, Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie 3, 748, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1955.

c_{ges} des Gemisches proportional. Für β -Rhodomycinon und ϵ -Iso-rhodomycinon liegt der isosbestische Punkt bei 504 m μ , während die Extinktionskoeffizienten bei 560 m μ die größte Differenz zeigen. Man erhält:

$$\frac{E_{560}}{d} = \alpha_{R560} \cdot c_R + \alpha_{I560} \cdot c_I \quad \frac{E_{504}}{d} = \alpha_{504} \cdot c_{\text{ges}}$$

$$P_I = 100 - 100 \left(\frac{\alpha_{I560}}{\alpha_{I560} - \alpha_{R560}} - \frac{E_{560}}{E_{504}} \cdot \frac{\alpha_{504}}{\alpha_{I560} - \alpha_{R560}} \right)$$

Daraus folgt nach Einsetzen der spezifischen Extinktionskoeffizienten²⁷⁾:

$$P_I = \frac{E_{560}}{E_{504}} 96.3 - 10.5$$

Bestimmung des Komponentenverhältnisses eines aus Submersmycel isolierten Gemisches von β -Rhodomycinon und ϵ -Iso-rhodomycinon: Die Extinktionen einer Lösung von etwa 1 mg des Gemisches in 100 ccm Methanol wurden bei 504 und 560 m μ mit dem Beckman-Spektrophotometer gemessen. Mit Hilfe der oben angeführten Formel ergab sich, daß dieses Gemisch aus 67% β -Rhodomycinon und 33% ϵ -Iso-rhodomycinon bestand.

Ausbeute und Mengenverhältnis der Chromophore einer Rhodomycin-A-Fraktion: In zwei Parallelansätzen wurden 2.642 und 3.298 mg eines durch Gegenstromverteilung von Rhodomycin (Phasenpaar Butanol/ p_H 6-Borax-Kaliumhydrogenphosphat-Puffer) gewonnenen Rhodomycin A-Präparates in je 5 ccm 2nHCl gelöst und 2 Min. gekocht. Anschließend extrahierte man mit Chloroform, löste den Rückstand des Chloroformauszuges in Methanol, füllte auf 10 ccm auf und bestimmte die Extinktion dieser Lösung bei 504 und 560 m μ . An Hand der oben angeführten Gleichungen wurde gefunden: Gesamtchromophor-Gehalt 55.1%, 55.6%; Iso-rhodomycinon-Gehalt des Gesamtchromophors 28%, 27%.

β -Rhodomycinon-pentaacetat: Eine Lösung von 50 mg β -Rhodomycinon in 2 ccm heißem Acetanhydrid wurde mit 50 mg wasserfreiem Natriumacetat 45 Min. gekocht. Nachdem überschüss. Acetanhydrid durch 20 ccm Wasser verseift worden war, schüttelte man mit Benzol aus, wusch den Benzolauszug mit Wasser, filtrierte ihn über wenig Aktivkohle und dampfte i. Vak. ein. Der in gelben Nadeln kristallisierende Rückstand (59 mg) wurde aus Methanol-Wasser (1:1) umkristallisiert. Das Pentaacetat zersetzt sich gegen 165° und zeigt in konz. Schwefelsäure die Absorptionsbanden des β -Rhodomycinons. $[\alpha]_D^{20}: -34.4 \pm 5^\circ$ ($c = 0.253$, in Methanol). Beim Schütteln seiner äther. Lösung mit n NaOH wird es unter Rückbildung des β -Rhodomycinons verseift.



Methylierungsversuch: Eine Lösung von 100 mg β -Rhodomycinon in 30 ccm 2.5-proz. methanol. Salzsäure wurde 15 Std. bei 27° gehalten²⁸⁾. Danach fällte man das Reaktionsprodukt durch Wasserzusatz aus, zentrifugierte ab und kristallisierte aus heißem Methanol um. Die Substanz war praktisch methoxylfrei und nach ihrem chromatographischen Verhalten an Gips mit dem Ausgangsmaterial identisch.

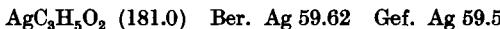
Oxydation mit Kaliumpermanganat: Eine Lösung von 100 mg β -Rhodomycinon in 30 ccm Aceton (p. a.) wurde, anfangs unter leichtem Erwärmen, mit 0.1 n acetonischem KMnO₄ versetzt, bis keine Entfärbung mehr eintrat (Verbrauch 100 ccm). Um Verlust saurer Oxydationsprodukte durch Adsorption an Mangandioxydhydrat zu vermeiden, wurde dieses abgesaugt, mit heißem Wasser gewaschen und unter Zusatz von Phosphorsäure in verd. Oxalsäure aufgelöst. Die Lösung brachte man auf p_H 10, vereinigte sie mit dem Mangandioxydhydrat-Filtrat und dampfte i. Vak. auf 20 ccm ein.

²⁷⁾ $\alpha_{R560} = 3.23$; $\alpha_{I560} = 33.7$; $\alpha_{504} = 29.3$.

²⁸⁾ H. Brockmann, Liebigs Ann. Chem. 521, 1 [1936].

Anschließend stellte man mit Phosphorsäure auf p_H 1 ein, versetzte mit 20 ccm Wasser und destillierte 20 ccm ab. Nach Eindampfen des neutralisierten Destillats hinterblieb ein in farblosen Blättchen vom Schmp. 294° (Zers.) kristallisierendes Natriumsalz, das im Papierchromatogramm (Butanol/n NH₃) den gleichen R_F -Wert zeigte wie Propionsäure.

Silbersalz der Abbausäure: Eine Lösung des Natriumsalzes der Abbausäure in 0.5 ccm 50-proz. Äthanol wurde in der Wärme mit 0.5 ccm einer 10-proz. Lösung von Silbernitrat in 50-proz. Äthanol versetzt. Das in Nadeln auskristallisierende Silbersalz wurde aus wenig heißem Wasser umkristallisiert.



Zinkstaubdestillation: In einem mit Kühlfalle (-80°), zwei mit Benzol gefüllten Waschflaschen und einer Sedimentationsvorlage verbundenem Glasrohr wurde ein Gemisch aus 500 mg β -Rhodomycinon und 25 g getrocknetem Zinkstaub (Merck, p. a.) unter Durchleiten von Wasserstoff langsam auf dunkle Rotglut erhitzt, wobei sich ein gelbgrüner, schwer kondensierbarer Nebel bildete. Den Inhalt der Vorlagen kristallisierte man aus 2 ccm Toluol um, wobei 3 mg orangegelbe Blättchen vom Schmp. 312° erhalten wurden, die sich in konz. Schwefelsäure olivgrün lösten.

Absorptionsmaxima in $\mu\mu$

Methanol	471	442	(414)	(gelb)
Benzol	475	444	(418)	(gelb)
konz. Schwefelsäure	(466)			(olivgrün)

Der Rückstand der Toluolmutterlauge wurde in einem 1 cm weiten Glasrohr bei 140 bis 160°/0.0005 Torr im Heizblock fraktioniert sublimiert. Dabei trennen sich das Sublimat in eine hellgelbe und eine orangefarbene Zone, die durch Zerschneiden des Sublimationsrohres getrennt wurden. Die orangefarbene Fraktion entsprach in ihren Eigenschaften dem oben beschriebenen Kristallisat. Die leichter sublimierende, hellgelbe Fraktion, die mengenmäßig überwog, fluorescierte im festen Zustand intensiv grün und schmolz bei 212°.

Reduzierende Acetylierung⁸⁾: Eine Lösung von 50 mg β -Rhodomycinon in 1 ccm Acetanhydrid und 0.4 ccm Pyridin wurde mit 250 mg getrocknetem Zinkstaub (Merck, p. a.) 20 Min. auf 70° erwärmt. Nach Abfiltrieren des Zinkstaubes zersetzte man das Acetanhydrid mit Wasser. Das ausgefallene Rohprodukt (62 mg) löste man in wenig Chloroform und filtrierte die Lösung durch eine kleine Gips-Säule. Das Eluat der sich dabei bildenden hellgelben Zone hinterließ beim Verdampfen das Reduktionsprodukt als fast farblosen Rückstand.

Oxydation mit Mangandioxyd in konz. Schwefelsäure¹³⁾: Eine Lösung von 10 mg β -Rhodomycinon in 4 ccm konz. Schwefelsäure wurde bei 60° unter Rühren mit 20 mg feingepulvertem Mangandioxyd versetzt und 25 Min. bei dieser Temperatur gehalten, wobei die Farbe der Lösung von Violett nach Blau umschlug. Der beim Verdünnen mit Wasser ausgefallene, rotbraune Niederschlag wurde spektroskopisch untersucht. Absorptionsmaxima in Chloroform-Methanol 579, 562, 547, 534, 522, 510, (486) $\mu\mu$.

Thermische Umwandlung: 2 mg β -Rhodomycinon wurden im Schmelzpunkt-Röhrchen 5 Min. auf 250° erhitzt. Anschließend wurde der Röhrcheninhalt aus Chloroform-Aceton 10:1 an einer kleinen Gips-Säule chromatographiert. Dabei ließ sich eine langsame laufende, rote Zone von unverändertem Ausgangsmaterial abtrennen. Absorptionsmaxima in Chloroform 551, 516 $\mu\mu$.

Umwandlung in konz. Schwefelsäure: Eine Lösung von 1 mg β -Rhodomycinon in 1 ccm konz. Schwefelsäure wurde 24 Stdn. bei 20° gehalten. Dann verdünnte man mit Eiswasser und extrahierte mit Äther. Absorptionsmaxima in Äther 551, 513 $\mu\mu$.

Katalytische Hydrierung: In einer Mikro-Hydrierapparatur verbrauchten 20 mg β -Rhodomycinon in 26 ccm 98-proz. Eisessig bei Gegenwart von 100 mg Palladium-

Bariumsulfat-Katalysator innerhalb von 36 Stdn. 2.80 ccm Wasserstoff ($0^\circ/760$ Torr). Unter der Annahme, daß 2 Mol. Wasserstoff aufgenommen werden, berechnet sich aus der verbrauchten Wasserstoffmenge das Mol.-Gew. 320 ± 30 .

Anschließend filtrierte man vom Katalysator ab, nahm das Filtrat in Äther auf, wusch mit Wasser und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und extrahierte die äther. Lösung mit n NaOH. Aus der Lauge wurde das Hydrierungsprodukt durch Ansäuern ausgefällt und dann aus Chloroform-Aceton an gesäuertem Naturgips chromatographiert. Dabei trennte sich eine breite, orangefarbene Zone von 2 schmalen, langsamer wandernden roten Zonen ab. Das Eluat der orangefarbenen Zone hinterließ beim Verdampfen gelbe Nadeln von Desoxy- β -rhodomycinon.

Absorptionsbanden in μ

Chloroform	535	499	467	(orange)
konz. Schwefelsäure	625	584	539	(blau)
Äther nach Behandlung mit konz. Schwefelsäure (s. u.)	529	491	(463)	(orange)

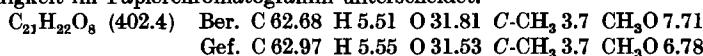
Kaliumpermanganat-Oxydation von Desoxy- β -rhodomycinon: Man oxydierte 50 mg Desoxy- β -rhodomycinon, wie beim β -Rhodomycinon angegeben, mit 0.1 n acetonischem $KMnO_4$. Die flüchtige Säurefraktion wurde im Papierchromatogramm mit Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure und Valeriansäure verglichen (Butanol/ $n NH_3$). Sie zeigte neben Valeriansäure die Flecken der drei niedrigeren Homologen.

Einwirkung von konz. Schwefelsäure auf Desoxy- β -rhodomycinon: Eine Lösung von 1 mg Desoxy- β -rhodomycinon in 1 ccm konz. Schwefelsäure wurde 24 Stdn. bei 20° gehalten und anschließend in 10 ccm Eiswasser gegossen. Der gelbe Ätherauszug zeigte folgende Banden: **529**, **491**, **(463)** μ . Sie stimmten mit denen des β -Rhodomycinons und des Desoxy- β -rhodomycinons praktisch überein.

Reduzierende Acetylierung des Desoxy- β -rhodomycinons: Eine Lösung von 3 mg Desoxy- β -rhodomycinon in 1 ccm Acetanhydrid wurde mit wenig wasserfreiem Natriumacetat und Zinkstaub (p. a.) einige Minuten gekocht. Dann filtrierte man ab, zersetzte das Acetanhydrid mit Wasser, extrahierte mit Benzol, wusch den Benzolauszug mit Wasser und trocknete ihn mit Natriumsulfat. Die gelbe, benzolische Lösung zeigte im Gegensatz zu dem in analoger Weise dargestellten Leuko-acetat des β -Rhodomycinons im sichtbaren Licht keine und unter der Quarzlampe blaue Fluoreszenz. Die Lösung ließ keine sichtbaren Banden erkennen.

ϵ -Rhodomycinon

Darstellung: Ein 90-l-Submersansatz, der im Gegensatz zu den bisher aufgearbeiteten unter etwas anderen Bedingungen in einer von P. Patt²⁹⁾ in unserem Institut entwickelten Submersanlage gewachsen war, ergab nach Zentrifugieren 6.74 kg feuchtes Mycel. Man extrahierte es mit 20 l 0.5 n salzaurem Aceton, neutralisierte den Acetonauszug mit Ammoniak, dampfte i. Vak. ein und extrahierte den währ. Rückstand mit Äther. Aus dem Ätherauszug wurde das darin als Hauptkomponente enthaltene ϵ -Rhodomycinon in gleicher Weise, wie für β -Rhodomycinon beschrieben, isoliert und darauf nacheinander aus Benzol und Methanol umkristallisiert. 197 mg dunkelrote, derbe Prismen vom Schmp. 185° (Zers. bei 208°). Das ϵ -Rhodomycinon entspricht in seinem Löslichkeitsverhalten dem ϵ -Iso-rhodomycinon und stimmt im R_F -Wert mit diesem überein, während es sich vom β -Rhodomycinon durch größere Wanderungsgeschwindigkeit im Papierchromatogramm unterscheidet.



²⁹⁾ Dissertat. Göttingen 1953.

Absorptionsmaxima in $\text{m}\mu$

Methanol	530	498	(482)	(orange)
Chloroform	532	496		(orange)
Benzol	534	497	(484)	(orange)
konz. Schwefelsäure	593	(536)		(violett)
<i>n</i> NaOH	608	(567)		(violett)
Acetanhydrid	530	492	(480)	(orange)
Acetanhydrid gekocht ²³⁾	528	492	(481)	(orange)
Acetanhydrid + Pyroboracetat, 3 Min. gekocht ²⁴⁾	581	554	513	(rotviolett)

Kaliumpermanganat-Oxydation: 30 mg ϵ -Rhodomycinon wurden, wie beim β -Rhodomycinon beschrieben, mit 0.1 *n* acetonischem KMnO_4 oxydiert. Die flüchtige Abbausäure stimmte in ihrem R_F -Wert (*n*-Butanol/*n* NH_3) mit Propionsäure überein.

Umwandlung in konz. Schwefelsäure: Eine Lösung von 6.1 mg ϵ -Rhodomycinon in 5 ccm konz. Schwefelsäure wurde 24 Stdn. bei 20° gehalten und anschließend in Eiswasser gegossen. Das Reaktionsprodukt zeigt in Äther dieselbe langwellige Bande bei 551 $\text{m}\mu$, wie das Umwandlungsprodukt des β -Rhodomycinons.

 ϵ -Iso-rhodomycinon

Darstellung: 200 l Kulturlösung eines Submersansatzes, der vorwiegend ϵ -Iso-rhodomycinon enthielt, wurden i. Vak. auf 40 l eingeengt und mit 40 l Äther ausgeschüttelt. Dann dampfte man den Ätherauszug auf 1 l ein, extrahierte mit 20 ccm *n* NaOH und saugte das durch Ansäuern ausgefällte Rohprodukt ab. Es wurde nach dem Trocknen mit Petroläther entfettet und lieferte, aus Benzol und Methanol umkristallisiert, 350 mg zu Büscheln vereinigte, dunkelrote Blättchen vom Schmp. 245° (Zers.). ϵ -Iso-rhodomycinon ist leicht löslich in Aceton, Äthanol und Eisessig, mäßig löslich in Benzol und Chloroform und sehr wenig löslich in Petroläther und Wasser.

$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_9$ (404.4) Ber. C 59.40 H 4.99 O 35.61 $C\text{-CH}_3$ 3.7 6akt. H 1.49
Gef. C 59.36 H 4.82 O 34.65 $C\text{-CH}_3$ 3.5 akt. H 1.49

Absorptionsmaxima in $\text{m}\mu$

Methanol	562	546	522	510	(488)	(rot)
Chloroform	564	550	524	512	(488)	(rot)
Benzol	569	555	528	517	495	(483) (rot)
konz. Schwefelsäure	651	601	(580)			(blau)
<i>n</i> NaOH	(601)	(563)				(blau)
Acetanhydrid	563	548	523	511	(486)	(rot)
Acetanhydrid gekocht ²³⁾	563	548	523	510	(486)	(rot)
Acetanhydrid + Pyroboracetat, 3 Min. gekocht ²⁴⁾	(589)	564	(545)			(violett)

Kaliumpermanganat-Oxydation: 30 mg ϵ -Iso-rhodomycinon wurden, wie beim Rhodomycinon angegeben, mit 0.1 *n* acetonischem KMnO_4 oxydiert. Die flüchtige Abbausäure stimmte in ihrem R_F -Wert (Butanol/*n* NH_3) mit Propionsäure überein.

Zinkstaubdestillation: Ein Gemisch aus 20 mg ϵ -Iso-rhodomycinon und 500 mg Zinkstaub (Merck, p. a.) wurde im Glühröhrchen mit etwas Zinkstaub überschichtet und dann vom offenen Ende des Röhrchens her fortschreitend auf dunkle Rotglut erhitzt. Das gelbe Sublimat zeigte in Benzol die Banden des Tetracens (473, 445 $\text{m}\mu$).

Katalytische Hydrierung des ϵ -Iso-rhodomycinons: Eine Lösung von 100 mg ϵ -Iso-rhodomycinon in 60 ccm 90-proz. Eisessig wurde zur vorhydrierten Suspension

von 100 mg PtO_2 in 10 ccm 90-proz. Eisessig gegeben und hydriert. Die Wasserstoffaufnahme kam unter geringer Farbaufhellung nach 25 Stdn. zum Stillstand. Zur Aufarbeitung erwärmte man zunächst auf dem Wasserbad, um das teilweise auskristallisierte Hydrierungsprodukt zu lösen, filtrierte vom Katalysator ab, wusch mit Eisessig nach und nahm das Filtrat in Äther auf. Der mit viel Wasser gewaschenen Ätherlösung entzog man den Farbstoff mit wenig n NaOH, säuerlte an und saugte das amorphe Hydrierungsprodukt ab. Es stimmte in seinem Spektrum mit dem Ausgangsprodukt überein. Im Ring-Papierchromatogramm (Benzol/50-proz. wäsr. Formamid) bildete es eine Zone, deren R_F -Wert größer war als der des ϵ -Iso-rhodomycinons.

Zinkstaubdestillation des Hydrierungsproduktes vom ϵ -Iso-rhodomycinon: Mit 20 mg Hydrierungsprodukt wurde, wie beim ϵ -Iso-rhodomycinon beschrieben, eine Zinkstaubdestillation durchgeführt. Es bildete sich ein gelbes Sublimat, das in seinen in Benzol gemessenen Banden (474, 444 m μ) mit denen des Tetracens übereinstimmte.

Thermische Umwandlung: 2 mg ϵ -Iso-rhodomycinon wurden im Schmelzpunkttröhrchen auf 250° erhitzt. Das Reaktionsprodukt bildete beim Chromatographieren aus Chloroform an Gips zwei Zonen. Die langsam laufende Zone zeigte in Chloroform die Absorptionsmaxima 589, (544) m μ . Die andere bestand aus unverändertem Ausgangsmaterial.

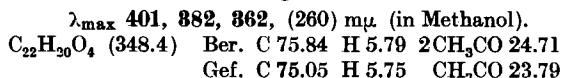
Modellsubstanzen

9.10-Diacetoxy-tetracen (III): 100 mg Tetracenchinon³⁰⁾ wurden, wie beim β -Rhodomycinon angegeben, mit essigsäurefreiem Acetanhydrid, Natriumacetat und Zinkstaub reduzierend acetyliert. Das 9.10-Diacetoxy-tetracen (112 mg) kristallisierte aus Benzol in orangefarbigen Nadeln, die sich bei 250° unter Dunkelfärbung zerstzten. Es löste sich wie Tetracenchinon in konz. Schwefelsäure mit roter Farbe.

Absorptionsmaxima in m μ

Methanol	488	456	428	402	384	275	(gelb)
Benzol	492	(457)	(431)				(gelb)
konz. Schwefelsäure	(618)	(589)					(karminrot)

2.3-Tetramethylen-9.10-diacetoxy-anthracen (VI): 100 mg 2.3-Tetramethylen-antrachinon³¹⁾ wurden wie oben reduzierend acetyliert. Das 2.3-Tetramethylen-9.10-diacetoxy-anthracen (117 mg) kristallisierte aus Benzol in hellgelben Nadeln vom Schmp. 232°. Es löste sich mit gelber Farbe in konz. Schwefelsäure.



³⁰⁾ S. Gabriel u. E. Leupold, Ber. dtsch. chem. Ges. **31**, 1277 [1898].

³¹⁾ G. Schroeter, Ber. dtsch. chem. Ges. **54**, 2242 [1921].