

HANS BROCKMANN und WERNER LENK

Über Actinomycetenfarbstoffe, VI¹⁾

Pyrromycinone²⁾

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

(Eingegangen am 12. März 1959)

Aus einem *Streptomyces*-Stamm wurden drei kristallisierte, als η -, ζ - und ϵ -Pyrromycinon bezeichnete Farbstoffe isoliert. η -Pyrromycinon ist ein 1.4.6-Trihydroxy-carbomethoxy-äthyl-tetracenchinon, ζ - und ϵ -Pyrromycinon sind Derivate des 1.4.6-Trihydroxy-7.8.9.10-tetrahydro-tetracenchinons mit einer Carbomethoxygruppe, einer Äthylgruppe und einer bzw. zwei Hydroxygruppen. Durch Dehydrierung bzw. Wasserabspaltung lassen sie sich in η -Pyrromycinon überführen. Für alle drei Pyrromycinone werden Konstitutionsformeln aufgestellt. Die Pyrromycinone stehen den Rhodomycinonen nahe, mit denen sie über das aus η -Pyrromycinon dargestellte η -Iso-pyrromycinon strukturell verknüpft werden konnten.

Aus Erdproben verschiedener Herkunft wurden in unserem Institut mehrere *Streptomyces*-Stämme isoliert³⁾, deren Mycel und Kulturlösung rote Farbstoffe enthält. Da diese mit keinem der bisher bekannten Actinomycetenfarbstoffe identisch zu sein schienen, haben wir sie näher untersucht und zu diesem Zweck einen größeren Ansatz nach folgendem Schema aufgearbeitet.

Aufarbeitung von Mycel und Kulturlösung

<i>Kulturlösung</i>	<i>Mycel</i>
Butanolauszug verdampft, Rückstand verteilt zwischen Chloroform und Wasser. Rückstand der Chloroformlösung: <i>Fraktion B</i>	Extrahiert mit Aceton und Aceton + 0.5 % HCl. Neutralisierter Extrakt verdampft: <i>Fraktion M</i>
<i>Fraktion B + Fraktion M</i> mit Petroläther ausgezogen:	
<i>Rückstand</i> (Fraktion P) erschöpfend mit Äther extrahiert: <i>Ätherauszug</i> (Pyrromycinone) Trennung der Pyrromycinone durch Chromatographie an Kieselgel:	<i>Lösung</i> Fette, wenig Farbstoffe <i>Ätherunlösliche Fraktion X</i> Enthält u. a. das wasserlösliche <i>Pyrromycin</i>
Zone 1: ϵ -Pyrromycinon	
Zone 2: ζ -Pyrromycinon	
Zone 3: η -Pyrromycinon	

¹⁾ V. Mitteil.: H. BROCKMANN und E. HIERONYMUS, Chem. Ber. 88, 1379 [1955].

²⁾ Vorgetragen auf dem *Corso Estivo di Chimica in Varenna* am 6. Oktober 1958. Mit Herrn Prof. Dr. V. PRELOG, der uns freundlicherweise das Manuskript der voranstehenden Mitteilung S. 1867 zusandte, wurde vereinbart, die Ergebnisse beider Arbeitskreise gleichzeitig in dieser Zeitschrift zu veröffentlichen.

³⁾ W. FROMMER, unveröffentlicht.

Dabei erhielten wir ein Gemisch wasserunlöslicher Farbstoffe, die wir wegen ihrer feuerroten Farbe *Pyrrromycinone* genannt haben⁴⁾; ferner aus der Fraktion X des vorstehenden Schemas ein kristallisiertes, rotes, wasserlösliches Antibioticum, das *Pyrrromycin*. Wir berichten im folgenden über die *Pyrrromycinone* und in der nächsten Mitteilung über das *Pyrrromycin*.

Das *Pyrrromycinongemisch* (vgl. vorst. Schema) bildete im Ring-Papierchromatogramm (Decalin/Tetralin/Eisessig/Wasser (33:66:100:10)) mehrere Zonen, die wir in der Reihenfolge ihrer R_F -Werte durch kleine griechische Buchstaben bezeichnet haben.

Die präparative Abtrennung der in der ζ - und η -Zone enthaltenen *Pyrrromycinone* (im folgenden mit dem Buchstaben ihrer Zone bezeichnet) gelang, als das *Pyrrromycinongemisch* aus Benzol oder Chloroform an einer Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ adsorbiert wurde. Dabei bildeten sich drei Zonen, von denen die untere das η -*Pyrrromycinon*, die mittlere das ζ -*Pyrrromycinon* und die obere ε -*Pyrrromycinon* (zusammen mit den Begleitfarbstoffen, die in den Zonen $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ des Papierchromatogrammes vorhanden sind) enthielt. Die R_F -Werte haben demnach an Kieselgel die gleiche Reihenfolge wie im Papierchromatogramm. Die Kristallisation der drei *Pyrrromycinone* machte keine Schwierigkeiten; beim ε -*Pyrrromycinon* blieben die Begleitfarbstoffe in der Mutterlauge.

η -PYRRROMYCINON

η -*Pyrrromycinon* kristallisiert in dunkelroten Nadeln vom Schmp. 236–237°, ist i. Hochvak. sublimierbar, löst sich in organischen Solvenzien braunrot mit intensiver grüner Fluoreszenz, in konz. Schwefelsäure blau mit roter Fluoreszenz und in wäßr. Alkali violett. Von wäßr. Natriumhydrogencarbonat wird es nicht aufgenommen.

Die kleinste auf die Analysenzahlen passende Formel ist $C_{22}H_{16}O_7$, mit deren Mol.-Gew. 392 der ebullioskopisch in Trichloräthylen ermittelte Wert 374 lediglich in Einklang steht. Auf diese Formel berechnet, enthält η -*Pyrrromycinon* eine Methoxy- und, da bei der KUHN-ROTH-Oxydation 0.9 Moll. Essigsäure gefunden wurden, eine C-Methylgruppe.

Von den sieben Sauerstoffatomen des η -*Pyrrromycinons* liegen drei als acetylierbare Hydroxygruppen vor, denn mit Acetanhydrid-Pyridin erhielten wir ein kristallisiertes, zitronengelbes, optisch inaktives Triacetat $C_{28}H_{22}O_{10}$ vom Schmp. 205–206°. Sein IR-Spektrum in KBr (alle Spektren dieser Arbeit wurden in KBr gemessen) hat drei scharfe Carbonylbanden (5.65, 5.75 und 5.95 μ), von denen die bei 5.65 μ den Acetyl-Carbonylgruppen, die bei 5.95 μ Chinon-Carbonylgruppen zugeordnet werden kann. Zwei Banden geringerer Intensität bei 6.20 und 6.30 μ schreiben wir dem aromatischen System zu.

η -*Pyrrromycinon* selbst, das im Bereich 5.80–6.00 μ keine Absorption zeigt, hat zwischen 6.00 und 6.50 μ drei Banden (6.05, 6.25, 6.30 μ), von denen die bei 6.25 und 6.30 μ eine viel größere Extinktion haben als die bei 6.20 und 6.30 μ liegenden Banden des η -*Pyrrromycinon*-triacetates. Zur Erklärung dieses Extinktionsunterschiedes haben wir angenommen, daß in den bei 6.25 und 6.30 μ liegenden Maxima des η -*Pyrrromycinons* Banden des aromatischen

⁴⁾ Vorl. Mitteil.: H. BROCKMANN, L. COSTA PLÀ und W. LENK, Angew. Chem. 69, 477 [1957]; H. BROCKMANN und W. LENK, Angew. Chem. 69, 477 [1957].

⁵⁾ Mit 0.1 n HCl vorbehandelt und dann auf 120° erhitzt.

Systems mit Chinon-Carbonylbanden überlagert sind, deren langwellige Lage⁶⁾ auf α -Stellung und dadurch bedingte Chelierung der drei Hydroxygruppen zurückzuführen ist⁷⁾. Daß diese Annahme zutrifft, hat das IR-Spektrum des 1.4.6-Trihydroxy-tetracenchinons und seines Triacetates gezeigt, bei denen wir im Bereich $5.80\text{--}6.50\mu$ die gleichen Verhältnisse fanden wie beim η -Pyrrromycinon und seinem Acetat.

Weitere Auskunft über die Stellung der drei Hydroxygruppen gab die spektroskopische Verfolgung der Pyroboracetat-Reaktion⁸⁾. Auf Zusatz von Pyroboracetat wurde die gelbe Acetanhydrid-Lösung des η -Pyrrromycinons (Maxima bei 527 und $515\text{ m}\mu$) blau mit roter Fluoreszenz und scharfen Absorptionsbanden bei 610 und $561\text{ m}\mu$. Beim Kochen schlug die Farbe nach Karmesinrot um, und die Absorptionsmaxima wanderten nach 588 und $540\text{ m}\mu$. Die starke Farbvertiefung mit Pyroboracetat ist charakteristisch für Hydroxychinone, in denen jeder Chinon-Carbonylgruppe mindestens eine Hydroxygruppe benachbart ist. Die hypsochrome Bandenverschiebung beim Erwärmen beweist⁹⁾, daß η -Pyrrromycinon mehr als zwei α -Hydroxygruppen enthält. Da insgesamt nur drei Hydroxygruppen vorhanden sind, müssen demnach alle α -ständig sein. Bestätigt wird dieses Ergebnis durch das IR-Spektrum des η -Pyrrromycinons, das im Bereich $2.70\text{--}3.20\mu$ keine ausgeprägte OH-Bande zeigt.

Von den restlichen zwei Sauerstoffatomen gehört das eine zur Methoxy-, das andere zu der Gruppe, die sich im IR-Spektrum des η -Pyrrromycinons durch die Carbonylbande bei 5.78μ zu erkennen gibt. Daß diese Bande einer Ester-Carbonylgruppe zuzuordnen ist, hat die Verseifung des η -Pyrrromycinons mit 2 n Alkali gezeigt, denn dabei entstand eine rote, kristallisierte, methoxylfreie Verbindung $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{O}_7$, die sich zum Unterschied von η -Pyrrromycinon in wäßr. Natriumhydrogencarbonat löst. Ihr IR-Spektrum hat eine breite Hydroxylbande bei $2.90\text{--}3.50\mu$ und eine Carbonylbande bei 5.87μ . Das Verseifungsprodukt ist demnach eine Säure und wird im folgenden η -Pyrrromycinonsäure genannt.

Einen ersten Einblick in das Grundgerüst des η -Pyrrromycinons gab die Zinkstaubdestillation, bei der ein gelbes, in Lösung gelbgrün fluoreszierendes Sublimat mit dem charakteristischen Absorptionsspektrum des Tetracens (I) entstand. Danach mußte unser Farbstoff entweder ein Tetracenchinon sein oder aber ein Anthrachinon-Derivat, in dem eine Seitenkette oder ein hydroaromatischer Ring dem Anthrachinonkern so angegliedert ist, daß bei der Zinkstaubdestillation das Ringsystem des Tetracens entstehen kann.

Die Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten brachte ein Verfahren zur Ermittlung des Grundgerüsts chinoider Verbindungen¹⁰⁾, das viel schonender ist als die Zinkstaubdestillation und sich bereits mehrfach bewährt hat. Es besteht darin, die fragliche Verbindung durch reduzierende Acetylierung in das peracetylierte Hydrochinon überzuführen und dieses spektroskopisch mit aromatischen Kohlenwasser-

6) M. ST. C. FLETT, J. chem. Soc. [London] 1948, 1441.

7) M. L. JOSIEN, N. FUSON, J. M. LEBAS und T. M. GREGORY, J. chem. Physics 21, 331 [1953].

8) O. DIMROTH und TH. FAUST, Ber. dtsch. chem. Ges. 54, 3020 [1921]; O. DIMROTH, Liebigs Ann. Chem. 446, 97 [1926].

9) H. BROCKMANN, R. KÖHNE und G. CLASEN, unveröffentlicht.

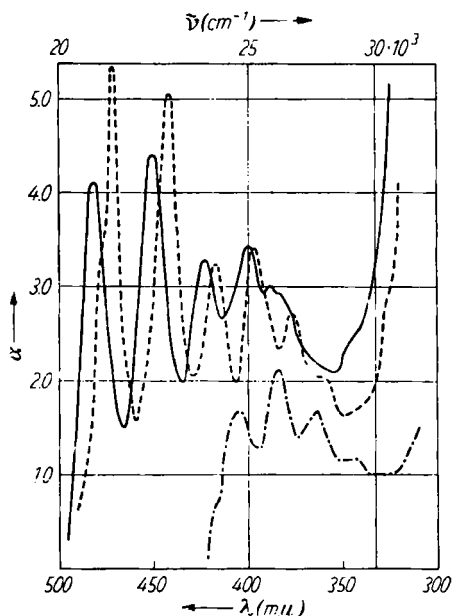
10) H. BROCKMANN und G. BUDDÉ, Chem. Ber. 86, 432 [1953].

stoffen zu vergleichen. Auf η -Pyrromycinon angewandt, führte es zu einem orange-farbenen, in Lösung grünstichig gelben Reduktionsprodukt, das sich durch sein Absorptionsspektrum (Abbild. 1) als Tetracenderivat zu erkennen gab.

Damit war η -Pyrromycinon als Trihydroxy-tetracenchinon-Derivat erkannt¹¹⁾, und geklärt werden mußte nun, ob seine drei α -Hydroxygruppen 1.6.11- (II) oder 1.4.6- ständig (III) sind. Das gelang durch spektroskopischen Vergleich mit den beiden bis dahin unbekannten Trihydroxy-tetracenchinonen II und III¹²⁾. Dabei ergab sich, daß das Spektrum des η -Pyrromycinons in Cyclohexan (Abbild. 2), Polyäthylen (Tieftemperatur-Spektrum)¹³⁾, Piperidin und konz. Schwefelsäure (Abbild. 3) praktisch mit dem des 1.4.6-Trihydroxy-tetracenchinons (III) übereinstimmt, sich in den gleichen Lösungsmitteln dagegen vom Spektrum der isomeren Verbindung II eindeutig unterscheidet. η -Pyrromycinon ist demnach ein Derivat des 1.4.6-Trihydroxy-tetracenchinons (III). Derivate des Tetracenchinons sind bisher in der Natur nicht aufgefunden worden.

Von III unterscheidet sich η -Pyrromycinon durch den Besitz einer C-Methyl- und einer Carbomethoxygruppe. Wäre es ein 1.4.6-Trihydroxy-carbomethoxy-methyl-tetracenchinon, so müßte es die Zusammensetzung $C_{21}H_{14}O_7$ haben. Seine Bruttoformel ist aber um CH_2 größer; eine Differenz, die sich nur durch die Annahme erklären läßt, daß η -Pyrromycinon eine Äthylgruppe enthält und demnach ein 1.4.6-Trihydroxy-carbomethoxy-äthyl-tetracenchinon (IV) ist.

Zum gleichen Ergebnis führte die Analyse einer braunroten, kristallisierten Verbindung, die beim Erhitzen des Calciumsalzes der η -Pyrromycinonsäure (IVa) i. Hochvak. entsteht. Sie schmilzt bei 229–230°, ist i. Hochvak. sublimierbar, und ihre Bruttoformel $C_{20}H_{14}O_5$ ist um CO_2 kleiner als die der η -Pyrromycinonsäure. Von dieser unterscheidet sie sich durch ihre Unlöslichkeit in wäßr. Natriumhydrogencarbonat und das Fehlen der IR-Säure-Carbonylbande. Die braunrote Verbindung ist

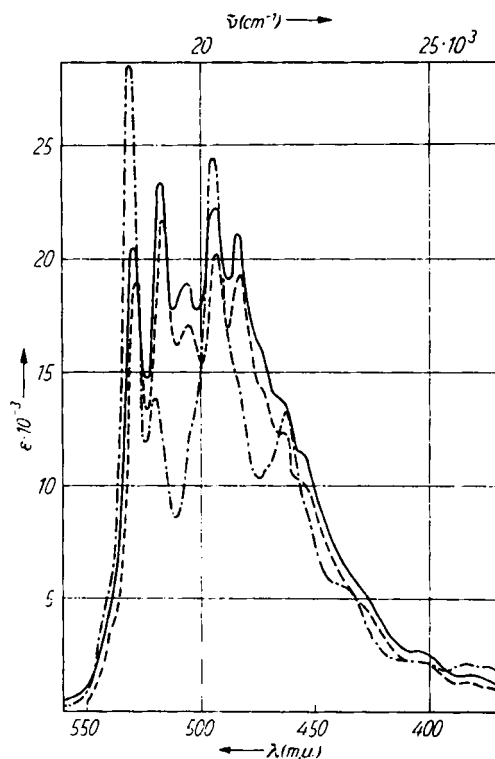


Abbild. 1. Absorptionsspektren in Cyclohexan.
 Reduzierend acetyliertes η -Pyrromycinon ———; Lage der Maxima in $m\mu$: 482, 452, 424, 400
 Reduzierend acetyliertes
 6.11-Diacetoxy-tetracenchinon - - - - -; Lage der Maxima in $m\mu$: 472, 442, 418, 398, 378
 Reduzierend acetyliertes ζ -Pyrromycinon - · - ·; Lage der Maxima in $m\mu$: 406, 384, 364

¹¹⁾ Dafür sprach von vornherein der geringe Wasserstoffgehalt des η -Pyrromycinons.

¹²⁾ H. BROCKMANN und W. MÜLLER, Chem. Ber. 92, 1164 [1959].

¹³⁾ H. JADAMUS, Diplomarb., Göttingen 1957.

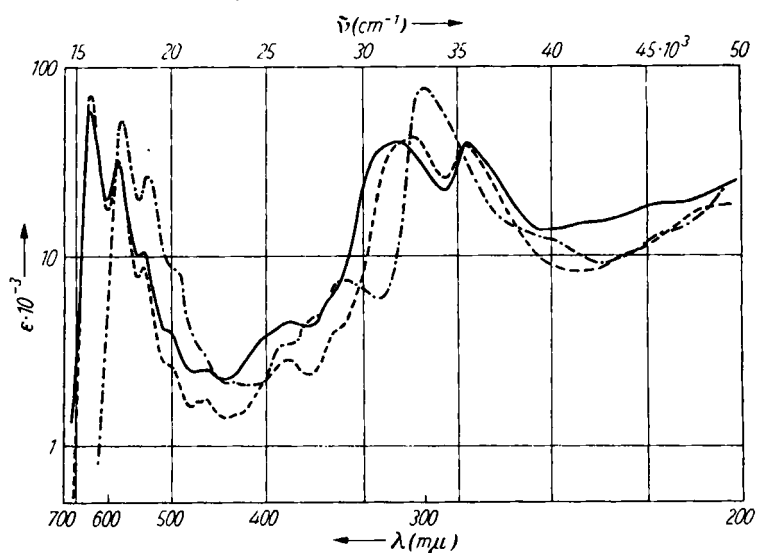


Abbild. 2
Absorptionsspektren in Cyclohexan

η -Pyrromycinon ———; Lage der Maxima in $m\mu$:
529, 518, 506, 494, 484

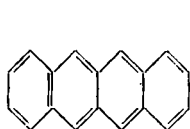
1.4.6-Trihydroxy-tetracenchinon - - - - -; Lage der Maxima in $m\mu$:
528, 517, 506, 493, 483

1.6.11-Trihydroxy-tetracenchinon - · - · - ·; Lage der Maxima in $m\mu$:
531, 520, 495, 463

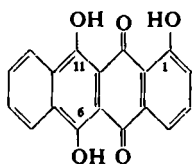


Abbild. 3. Absorptionsspektren in konz. Schwefelsäure
 η -Pyrromycinon ———; Lage der Maxima in $m\mu$: 635, 582, 380, 312, 281
1.4.6-Trihydroxy-tetracenchinon - - - - -; Lage der Maxima in $m\mu$: 636, 583, 385, 305, 282
1.6.11-Trihydroxy-tetracenchinon - · - · - ·; Lage der Maxima in $m\mu$: 575, 533, 345, 301

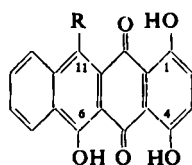
demnach das Decarboxylierungsprodukt der η -Pyrromycinonsäure, im folgenden als *Descarbomethoxy- η -pyrromycinon* bezeichnet. Es entsteht auch, wenn die η -Pyrromycinonsäure selber erhitzt wird.



I

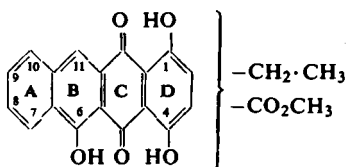


II

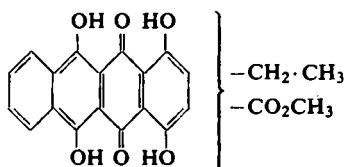


III: R = H

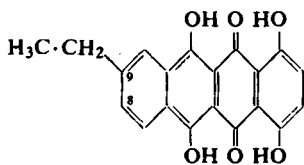
IIIa: R = OH



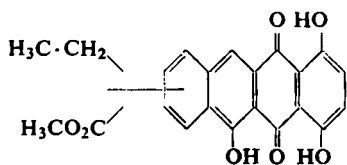
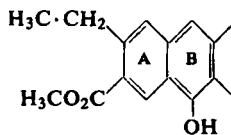
IV

IVa: $-\text{CO}_2\text{CH}_3 = \text{CO}_2\text{H}$ IVb: $-\text{CO}_2\text{CH}_3 = \text{H}$ 

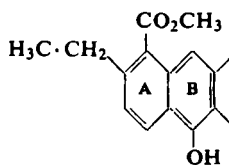
V

Va: $-\text{CO}_2\text{CH}_3 = \text{H}$ 

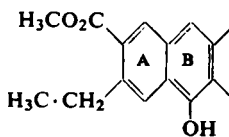
VI

VII: $\text{H}_3\text{C}\cdot\text{CH}_2$, $\text{H}_3\text{CO}_2\text{C}$
in *o*-Stellung

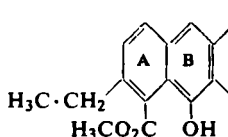
VIII



IX



X



XI

Descarbomethoxy- η -pyrromycinon hat praktisch das gleiche Absorptionsspektrum wie III, und dieselbe spektrale Übereinstimmung fanden wir zwischen dem gelben, kristallisierten Descarbomethoxy- η -pyrromycinon-triacetat und dem Triacetat von III.

Descarbomethoxy- η -pyrromycinon lieferte bei der KUHN-ROTH-Oxydation 0.6 Moll. flüchtiger Säure, die im Papierchromatogramm als Essigsäure¹⁴⁾ identifiziert wurde. Wie nicht anders zu erwarten, enthält es demnach ebenso wie η -Pyrromycinon eine C-Methylgruppe. Seine Bruttoformel $C_{20}H_{14}O_5$ ist um CH_2 größer als die eines Trihydroxy-methyl-tetracenchinons, was ebenso, wie beim η -Pyrromycinon, nur dadurch erklärt werden kann, daß eine Äthylgruppe vorhanden und Descarbomethoxy- η -pyrromycinon somit ein 1.4.6-Trihydroxy-äthyl-tetracenchinon (IV b) ist.

Hier wie beim η -Pyrromycinon stützt sich die Annahme, daß eine Äthylgruppe vorliegt, auf die C,H-Werte von Descarbomethoxy- η -pyrromycinon bzw. η -Pyrromycinon, die auf eine um CH_2 kleinere Formel schlecht passen. Unabhängig davon wird die Anwesenheit einer Äthylgruppe dadurch bewiesen, daß, wie unten gezeigt, bei der Oxydation von ζ - und ϵ -Pyrromycinon (die beide in η -Pyrromycinon übergehen können) neben Essigsäure auch Propionsäure entsteht.

In III kann man durch Oxydation mit Mangandioxyd in konz. Schwefelsäure eine vierte α -Hydroxygruppe einführen und so das 1.4.6.11-Tetrahydroxy-tetracenchinon (III a) gewinnen. Analog dazu sollte sich auch η -Pyrromycinon (IV) zu einem 1.4.6.11-Tetrahydroxy-tetracenchinon-Derivat hydroxylieren lassen. Das ist in der Tat der Fall. Mit Mangandioxyd-Schwefelsäure erhielten wir aus η -Pyrromycinon eine in rubinroten Nadeln vom Schmp. 229–230° kristallisierende, i. Hochvak. sublimierbare Verbindung $C_{22}H_{16}O_8$, deren Absorptionsspektrum dem von III a sehr ähnlich ist. Entstehungsweise, Bruttoformel und Absorptionsspektrum erlauben, ihr die Formel V zu geben. In Anlehnung an die Nomenklatur der Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone¹⁵⁾ nennen wir die neue Verbindung η -Iso-pyrromycinon. Ein entsprechendes Derivat (Va), das Descarbomethoxy- η -iso-pyrromycinon, erhielten wir in roten Kristallen bei der Mangandioxyd-Oxydation von Descarbomethoxy- η -pyrromycinon (IV b).

Wie in einer späteren Mitteilung gezeigt wird, entsteht aus ϵ -Iso-rhodomycinon beim Erhitzen das η -Iso-pyrromycinon (V), eine Reaktion, welche die Pyrromycinone strukturell mit den Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen verknüpft¹⁶⁾ und aus der sich — da die Stellung der Äthylgruppe im ϵ -Iso-rhodomycinon bewiesen ist¹⁶⁾ — für Descarbomethoxy- η -iso-pyrromycinon die Konstitution VI ergibt. Das aber bedeutet: Im Descarbomethoxy- η -pyrromycinon (IV b) und η -Pyrromycinon (IV) muß die Äthylgruppe entweder an C-8 oder an C-9 stehen.

Eine erste Auswahl unter den für die Carbomethoxygruppe des η -Pyrromycinons zunächst in Betracht kommenden Stellungen ermöglichten die Absorptionsspektren von η -Pyrromycinon und η -Pyrromycinonsäure, die beide dem Spektrum von III sehr ähnlich sind. Diese Ähnlichkeit sprach dafür, daß die Carbomethoxy- bzw. Carboxygruppe nicht in Ring D (IV) zu suchen ist; denn hier sollte sie sich spektroskopisch¹⁷⁾ bemerkbar machen. Somit kamen — da C-11 (IV) mit Mangandioxyd unter Bildung von V hydroxyliert werden kann — als Träger der Carbomethoxygruppe noch C-7, C-8, C-9 und C-10 in Frage. Eine Auswahl unter ihnen erlaubte die auffallend langsame Verseifung des η -Pyrromycinons durch verd. Alkali, die am einfachsten

14) F. BROWN und L. P. HALL, Nature [London] 166, 66 [1950].

15) H. BROCKMANN und B. FRANCK, Chem. Ber. 88, 1792 [1955].

16) H. BROCKMANN und P. BOLDT, unveröffentlicht.

17) Dadurch, daß die Absorptionsmaxima von η -Pyrromycinon gegenüber denen von III nach Rot verschoben sind.

sterisch durch *ortho*-Stellung der Äthylgruppe zu erklären ist. Läßt man diese Annahme gelten, so bleiben auf Grund der hier angeführten Beobachtungen vier Möglichkeiten (VIII, IX, X und XI) für die Stellung von Carbomethoxy- und Äthylgruppe. Zwischen ihnen zu entscheiden, gelang an Hand von Befunden, die in den nächsten beiden Abschnitten erörtert werden.

ζ-PYRROMYCINON

ζ-Pyrromycinon, in feuerroten Nadeln vom Schmp. 216° kristallisierend und i. Hochvak. leicht sublimierbar, ist optisch aktiv¹⁸⁾ ($[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $+74 \pm 6^\circ$, in Chloroform) und löst sich in organischen Solvenzien ziegelrot mit grüner Fluoreszenz, in konz. Schwefelsäure, Piperidin, wäbr. Alkali violett mit roter Fluoreszenz. In wäbr. Natriumhydrogencarbonat ist es unlöslich.

Als kleinste Formel mit einer C-Methyl- und einer Methoxygruppe wurde $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_8$ gefunden. Daß die C-Methylgruppe Bestandteil einer Äthylgruppe ist, zeigte die Chromsäureoxydation nach P. KARRER und Mitarbb.¹⁹⁾ sowie der Permanganatabbau. Denn beide lieferten als flüchtige Säuren Propionsäure und Essigsäure, die papierchromatographisch getrennt und identifiziert wurden.

Acetanhydrid-Perchlorsäure verestert ζ-Pyrromycinon zu einem gelben, kristallisierten Tetraacetat $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$ vom Schmp. 195–196° ($[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $+15 \pm 4^\circ$, Chloroform). Eine bei 5.95 μ liegende Carbonylbande wies das Acetat als Chinonderivat aus. Von den acht Sauerstoffatomen des ζ-Pyrromycinons liegen demnach vier als acetylierbare Hydroxygruppen und zwei als Chinon-Carbonylgruppen vor.

Die beiden restlichen Sauerstoffatome gehören zu einer Carbomethoxygruppe, denn beim Erwärmen mit methanol. Alkali erhielten wir aus ζ-Pyrromycinon eine rote, kristallisierte, methoxylfreie Verbindung vom Schmp. 190° (Zers.), die sich durch Löslichkeit in wäbr. Natriumhydrogencarbonat und IR-Spektrum (breite Hydroxylbande bei 2.90–3.20 μ , Carbonylbande bei 5.84 μ) als Säure zu erkennen gab. Sie wird im folgenden als ζ-Pyrromycinonsäure bezeichnet.

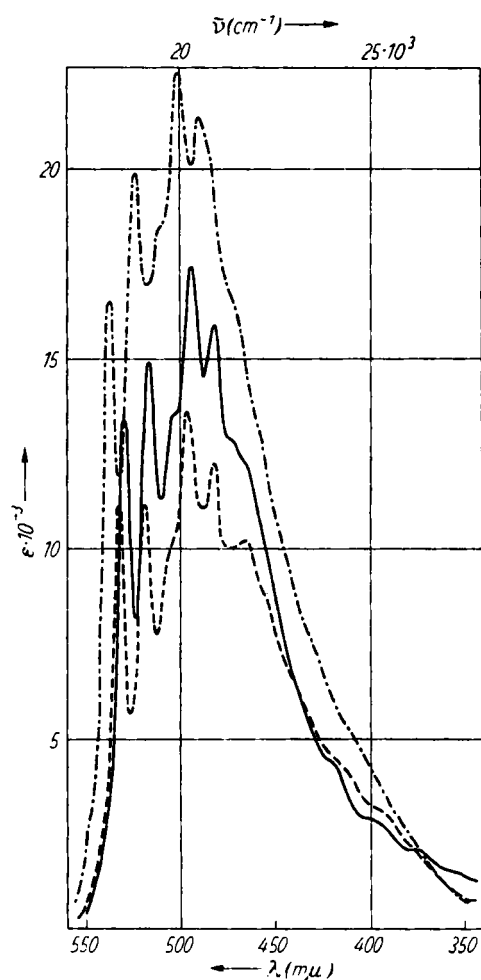
Zu Beginn unserer Arbeit, als das Vorliegen einer Äthylgruppe noch nicht gesichert war, standen wir vor der Frage, ob ζ-Pyrromycinon der Äthylester einer Säure $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_8$ oder der Methylester einer Säure $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_8$ ist⁴⁾. Durch Analyse der ζ-Pyrromycinonsäure war zunächst keine Entscheidung herbeizuführen, da die Säure hartnäckig Lösungsmittel festhält und daher schwankende Analysenzahlen gab. Das Lösungsmittel durch Hochvak.-Sublimation zu entfernen, gelang nicht, weil dabei Zersetzung eintrat. Zum Ziel kamen wir schließlich mit aus Chloroform umkristallisierten Präparaten, deren Chloroformgehalt durch Chlorbestimmung ermittelt war. Die auf diesen Gehalt hin korrigierten C,H-Werte paßten auf $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_8$. Danach mußte ζ-Pyrromycinon ein Methylester sein. Bestätigt wurde dies durch Veresterung der ζ-Pyrromycinonsäure mit Methanol-Chlorwasserstoff. Denn der dabei gewonnene Methylester hatte im Ringchromatogramm (Decalin-Tetralin (1:2)/Eisessig-Wasser (10:1)) denselben R_F -Wert wie ζ-Pyrromycinon, während der in gleicher Weise bereitete Äthylester schneller wanderte.

Über das Grundgerüst des ζ-Pyrromycinons haben die reduzierende Acetylierung und die Zinkstaubdestillation Auskunft gegeben. Bei der reduzierenden Acetylierung

¹⁸⁾ Gemessen mit der Cadmiumlampe ohne Filter.

¹⁹⁾ R. ENTSCHEL, C. H. EUGSTER und P. KARRER, *Helv. chim. Acta* **39**, 1263 [1956], und frühere Arbeiten.

entstand ein farbloses, in Lösung stark blau fluoreszierendes Produkt, dessen Absorptionsspektrum (Abbild. 1) dem des Anthracens und der Acetoxyanthracene ähnlich war.



Abbild. 4. Absorptionsspektren in Cyclohexan
 ζ -Pyrrromycinon ———;
 Lage der Banden in $m\mu$: 528, 516, 494, 483
 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon -----;
 Lage der Maxima in $m\mu$: 530, 517, 495, 483
 Dihydro-descarbomethoxy- η -pyrrromycinon
 („HBr-Produkt“) ······;
 Lage der Maxima in $m\mu$: 536, 522, 500, 488

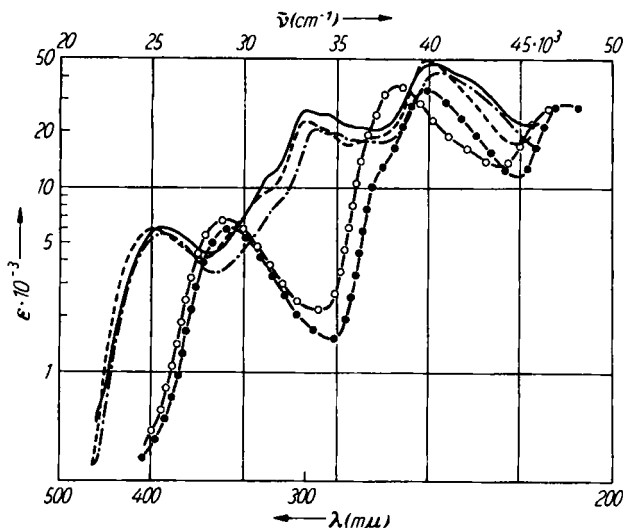
Die Zinkstaubdestillation dagegen gab ein gelbes, in Lösung grün fluoreszierendes Sublimat mit Tetracen-Spektrum. Damit war gezeigt: 1. ζ -Pyrrromycinon ist im Gegensatz zum η -Pyrrromycinon ein Anthrachinonderivat, und 2. dem Anthrachinon-Ringsystem des ζ -Pyrrromycinons sind vier C-Atome so angegliedert, daß sich bei der Zinkstaubdestillation das Ringsystem des Tetracens bilden kann. Ein solcher Reaktionsverlauf wäre möglich, wenn entweder das Anthrachinongerüst des ζ -Pyrrromycinons mit einem hydroaromatischen Ring (XIII) oder aber mit einer Seitenkette so verknüpft ist wie in XII. Der Formel $C_{22}H_{20}O_8$ nach müßte die Seitenkette eine Doppelbindung erhalten. Da eine solche Doppelbindung nicht nachzuweisen war, haben wir uns für die Formulierung XIII entschieden, die im weiteren Verlauf der Arbeit endgültig bewiesen werden konnte.

Über die Stellung der vier Hydroxygruppen gaben spektroskopische Befunde Auskunft. Ähnlich wie beim η -Pyrrromycinon wurde die gelbrote Acetanhydridlösung des ζ -Pyrrromycinons auf Zugabe von Pyroboracetat violett mit roter Fluoreszenz (Verschiebung der Absorptionsmaxima von 527, 515 nach 595, 548 $m\mu$) und bei anschließendem Kochen blautichig rot (hypsochrome Verschiebung der Maxima nach 588, 541 $m\mu$). Damit war die

α -Stellung von mindestens 3 Hydroxygruppen bewiesen. Daß nicht alle vier Hydroxygruppen des ζ -Pyrrromycinons α -ständig sind, zeigte: 1. die ausgeprägte Hydroxylbande des ζ -Pyrrromycinons bei 2.88 μ und 2. das Absorptionsspektrum des

ζ -Pyrromycinons, das, wenn vier α -Hydroxygruppen vorlägen, dem charakteristischen Spektrum des 1.4.5.8-Tetrahydroxy-anthrachinons (XIVa) gleichen müßte. Das trifft jedoch nicht zu; vielmehr stimmt ζ -Pyrromycinon in der Lage seiner Absorptionsmaxima und der Gestalt seiner Absorptionskurve praktisch mit 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon (XIV) (Abbild. 4) überein. Damit war gezeigt: 1. ζ -Pyrromycinon ist ein Derivat des 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinons (XIV), 2. die vierte Hydroxygruppe steht an Ring A und nicht an D, denn wenn sie zu D gehörte, würde sich das Spektrum des ζ -Pyrromycinons stärker von dem des 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinons unterscheiden, und 3. auch die Carbomethoxygruppe steht an Ring A, denn an D würde sie sich spektroskopisch bemerkbar machen²⁰⁾.

Wie kürzlich gezeigt¹²⁾, kann die Frage, ob eine Verbindung ein Hydroxy-anthrachinon oder ein Hydroxy-tetracenchinon ist, durch das Absorptionsspektrum ihres Acetates entschieden werden. Auch auf diese Weise ließ sich ζ -Pyrromycinon als Anthrachinonderivat charakterisieren. Denn das Spektrum des ζ -Pyrromycinon-tetraacetates (in Methanol) ist dem des 1.4.5-Triacetoxy-anthrachinons sehr ähnlich (Abbild. 5) und unterscheidet sich eindeutig vom Spektrum des Tetracenchinons und der Acetoxy-tetracenchinone.



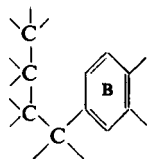
Abbild. 5. Absorptionsspektren in Methanol

η -Pyrromycinon-acetat ———; Lage der Maxima in $m\mu$: 390, 299, 248
 Descarbomethoxy- η -pyrromycinon-acetat - - - - -; Lage der Banden in $m\mu$: 400, 300, 250
 1.4.6-Triacetoxy-tetracenchinon · - · - ·; Lage der Maxima in $m\mu$: 392, 295, 247
 ζ -Pyrromycinon-acetat o - o - o; Lage der Maxima in $m\mu$: 344, 262
 1.4.5-Triacetoxy-anthrachinon ● - ● - ●; Lage der Maxima in $m\mu$: 342, 251, 210

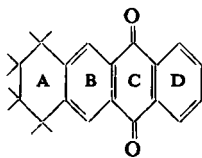
Einen weiteren Beweis dafür, daß Ring A eine Hydroxygruppe trägt, lieferte die Oxydation von ζ -Pyrromycinon mit Mangandioxyd/konz. Schwefelsäure. Dabei entstand eine rubinrote, kristallisierte Verbindung vom Schmp. 197–198°, deren charakteristisches Absorptionsspektrum dem des 1.4.5.8-Tetrahydroxy-anthrachinons

²⁰⁾ Dadurch, daß die Absorptionsmaxima des ζ -Pyrromycinons gegenüber denen von XIV nach Rot verschoben sind.

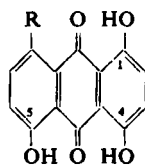
(XIV a) sehr ähnlich ist. Wie beim η -Pyrromycinon wird demnach durch Mangandioxyd eine vierte α -Hydroxygruppe eingeführt. Der ζ -Pyrromycinonformel $C_{22}H_{20}O_8$ entsprechend, erwarteten wir daher für unser Oxydationsprodukt die Zusammensetzung $C_{22}H_{20}O_9$. Gefunden wurde jedoch die um H_2O kleinere Formel $C_{22}H_{18}O_9$; d. h., es war nicht nur eine Hydroxygruppe eingeführt, sondern durch die konz. Schwefelsäure auch eine Hydroxygruppe als Wasser abgespalten worden. Das aber ist nur möglich, wenn diese Hydroxygruppe an Ring A steht. Da die Absorptionsmaxima des Oxydationsproduktes etwas längerwellig sind als die von XIV a, darf man annehmen, daß die bei der Wasserabspaltung im Ring A entstandene Doppelbindung in Konjugation zum Anthrachinon-Ringsystem steht.



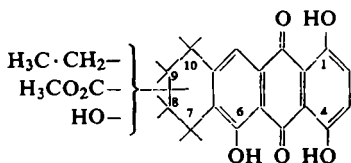
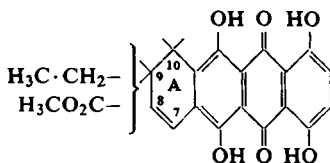
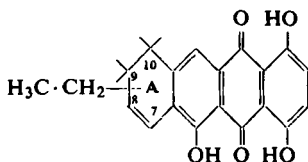
XII



XIII



XIV: R = H
XIVa: R = OH

XV: $H_3C \cdot CH_2$ an C-8 oder C-9XVI: $H_3C \cdot CH_2$ an C-8 oder C-9XVII: $H_3C \cdot CH_2$ an C-8 oder C-9XVIIa: $H_3C \cdot CH_2$ an C-8 oder C-9; Doppelbindung in A zwischen C-9 und C-10

Zur Abspaltung der Hydroxygruppe aus Ring A kam es auch beim Versuch, ζ -Pyrromycinonsäure zu decarboxylieren. Erhitzen ihres Calciumsalzes i. Hochvak. lieferte nämlich ein rotes, kristallisiertes Sublimat (identisch mit dem weiter unten beschriebenen „Bromwasserstoff-Produkt“) und eine braunrote, kristallisierte Verbindung vom Schmp. 229–230°, die wir durch Misch-Schmp. und IR-Spektrum als Descarbomethoxy- η -pyrromycinon (IV b) identifizierten. Demnach war nicht nur decarboxyliert, sondern unter Wasserabspaltung und Dehydrierung auch Ring A aromatisiert worden. Daß dabei Descarbomethoxy- η -pyrromycinon entsteht, beweist: ζ -Pyrromycinon enthält eine Äthylgruppe, die im Ring A am gleichen C-Atom steht wie im η -Pyrromycinon; d. h. entweder an C-8 oder C-9. Auf Grund der vorstehenden Befunde ergeben sich für ζ -Pyrromycinon die Teilformel XV und für das Mangandioxyd-Produkt die Formel XVI, nach der es ein 9.10- bzw. 7.8-Dihydro- η -iso-pyrromycinon ist.

Bemerkenswert ist, daß Wasserabspaltung und Decarboxylierung auch durch Säure zu erreichen ist. Zweistündiges Kochen einer Lösung von ζ -Pyrromycinon in 48-proz. Bromwasserstoffsäure/Eisessig (1:2.5) lieferte nämlich eine dunkelrote, kristallisierte, i. Hochvak. sublimierbare und im Gegensatz zum Ausgangsmaterial methoxylfreie Verbindung, deren Summenformel $C_{20}H_{16}O_5$ um $C_2H_4O_3$ kleiner ist als die des ζ -Pyrromycinons. Eine solche Verkleinerung würde eintreten, wenn beim Kochen des ζ -Pyrromycinons mit Eisessig-Bromwasserstoff 1. die Carbomethoxygruppe verseift, 2. die dabei entstandene ζ -Pyrromycinonsäure decarboxyliert und 3. 1 Mol. Wasser abgespalten wird. Daß dies alles zutrifft, zeigt neben den Analysenzahlen das IR-Spektrum der neuen Verbindung, dem sowohl die Hydroxyl- als auch die Ester-Carbonylbande des Ausgangsmaterials fehlten.

Ob die durch Wasserabspaltung entstandene Doppelbindung in Ring A isoliert oder mit dem Ringsystem konjugiert ist, ergab sich aus dem Absorptionsspektrum des „Bromwasserstoff-Produktes“ (Abbild. 4). Da seine Absorptionsmaxima längerwellig sind als die des ζ -Pyrromycinons und eine höhere Extinktion haben, muß die Doppelbindung mit dem Ringsystem konjugiert sein. Dem „Bromwasserstoff-Produkt“ kommt demnach die Formel XVII oder XVIIa zu, denen gemäß sich Ring A durch Dehydrierung aromatisieren lassen sollte. In der Tat gelang das auch, als i. Hochvak. mit Palladium-Kohle auf 200° erhitzt wurde. Das dabei entstandene rote, kristallisierte Sublimat wies sich durch Schmp., Misch-Schmp., Analysenzahlen und IR-Spektrum als Descarbomethoxy- η -pyrromycinon (IVb und XXVII) aus. Man kann das „Bromwasserstoff-Produkt“ daher als *Dihydro-descarbomethoxy- η -pyrromycinon* bezeichnen.

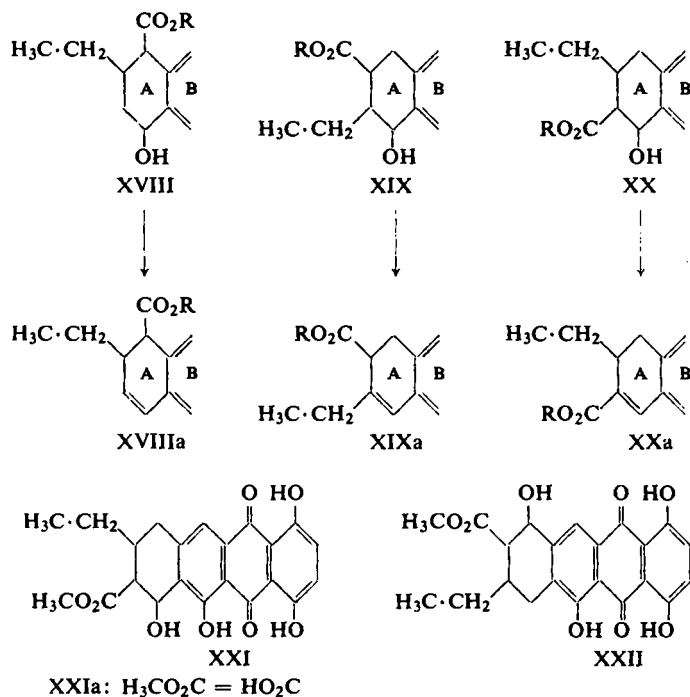
Die Abspaltung von 1 Mol. Wasser aus Ring A ohne Decarboxylierung gelang durch Erhitzen des ζ -Pyrromycinons auf 230°. Aus der Schmelze ließ sich eine braunrote, kristallisierte Verbindung vom Schmp. 206–207° abtrennen, deren Bruttoformel $C_{22}H_{18}O_7$ um H_2O kleiner ist als die des ζ -Pyrromycinons. Da ihre Absorptionsmaxima in Cyclohexan, Piperidin und konz. Schwefelsäure gegenüber denen des ζ -Pyrromycinons nach Rot verschoben sind, steht die neugebildete Doppelbindung in Konjugation zum Ringsystem. Um den Ring A der „Anhydroverbindung“ zu aromatisieren, wurde sie i. Hochvak. mit Palladium-Kohle auf 200° erhitzt. Dabei bildete sich ein rotes, kristallisiertes Sublimat, das sich durch Schmp. und Misch-Schmp. als η -Pyrromycinon zu erkennen gab. Die durch Wasserabspaltung aus ζ -Pyrromycinon entstehende „Anhydroverbindung“ ist demnach ein 7.8- oder 9.10-*Dihydro- η -pyrromycinon*.

Dehydratisierung und Dehydrierung lassen sich in einem Arbeitsgang durchführen, wenn ζ -Pyrromycinon selbst i. Hochvak. mit Palladium-Kohle erhitzt wird. Die Identität des dabei gebildeten roten, kristallisierten Sublimates mit η -Pyrromycinon wurde durch Analyse, Schmp., Misch-Schmp. und IR-Spektrum gesichert. Mit dieser Überführung von ζ -Pyrromycinon in η -Pyrromycinon ist bewiesen, daß in Ring A der beiden Verbindungen die Äthyl- und Carbomethoxygruppe die gleiche Stellung einnehmen.

Beim Übergang von ζ -Pyrromycinon in η -Pyrromycinon verschiebt sich die Ester-Carbonylbande des ζ -Pyrromycinons aus ihrer für unkonjugierte Ester charakteristischen Lage (5.75 μ)

nach 5.79μ , wobei ihre Extinktion erheblich zunimmt; ein Verhalten, aus dem hervorgeht, daß die Ester-Carbonylbande aus einer isolierten Stellung in Konjugation zum Anthrachinon-Ringsystem tritt. Unabhängig von den oben angeführten Argumenten wird so auch durch das IR-Spektrum bestätigt, daß die Carbomethoxygruppe in Ring A steht.

Zu erörtern bleibt nun noch, was sich an Hand der geschilderten Befunde über die Anordnung der Substituenten in Ring A aussagen läßt. Wie oben erwähnt, haben wir aus der geringen Verseifungsgeschwindigkeit des η -Pyrromycinons auf Nachbarestellung von Äthyl- und Carbomethoxygruppe geschlossen. Ist das richtig, so müssen die beiden Gruppen auch im ζ -Pyrromycinon benachbart sein, denn dieses kann in



η -Pyrromycinon umgewandelt werden. Da Ring A des ζ -Pyrromycinons nicht eben ist, sind hier Äthyl- und Carbomethoxygruppe weit genug voneinander entfernt, um sterische Hinderung auszuschließen. Dementsprechend fanden wir, daß ζ -Pyrromycinon durch verd. Alkali leicht zu ζ -Pyrromycinonsäure verseift wird. Dieser Unterschied, der zeigt, daß sterische Hinderung erst dann eintritt, wenn Äthyl- und Carbomethoxygruppe coplanar sind, scheint uns eine weitere Bestätigung dafür, daß beide benachbart sind.

Für die Hydroxygruppe in Ring A ist charakteristisch, daß sie beim Erhitzen oder Kochen mit Säure relativ leicht in Form von Wasser abgespalten wird. Danach könnte sie tertiär oder dem Ringsystem benachbart sein. Da sie ohne Schwierigkeit acetyliert wird und eine Bindung an ein tertiäres C-Atom daher unwahrscheinlich ist, nehmen wir an, daß sie mit einem dem Ring B benachbarten C-Atom verknüpft ist. Wäre

dieses C-7, so kommen, da die Äthylgruppe an C-8 oder C-9 steht, bei Nachbarestellung von Äthyl- und Carbomethoxy- bzw. Carboxygruppe die Anordnungen XVIII, XIX und XX ($R=CH_3$ bzw. $R=H$) in Betracht. Unter ihnen läßt sich auf Grund folgender Überlegungen eine Auswahl treffen.

Abspaltung von 1 Mol. Wasser aus XVIII würde zur Struktur XVIIIa führen, bei der wir eine Decarboxylierung durch Bromwasserstoff-Eisessig (wie beim ζ -Pyrromycinon) für unwahrscheinlich halten. Und das gleiche gilt für XIX und XIXa. Verständlich dagegen scheint uns die Reaktion mit Bromwasserstoff-Eisessig bei XX. Denn hier ist die Stellung der Hydroxy- und Carboxygruppe zum Ringsystem ähnlich wie in der β -Hydroxy- β -phenyl-propionsäure, die beim Erhitzen mit Schwefelsäure leicht Wasser abspaltet und dabei in Zimtsäure und z. Tl. unter Decarboxylierung in Styrol übergeht.

Formel XX gibt die Stellung der Substituenten zu den beiden Ring A und B gemeinsamen C-Atomen an, nicht aber ihre Stellung, bezogen auf die Hydroxygruppe von Ring B, für die es zwei Möglichkeiten gibt. Das bedeutet: Läßt man die Gründe gelten, die uns zur Annahme von XX bewogen haben, so kommen für ζ -Pyrromycinon die Formeln XXI und XXII in Betracht. Welche richtig ist, wird sich durch Abbauprobe schwerlich beantworten lassen. Wohl aber ist eine Entscheidung möglich, wenn man annimmt, daß die Pyrromycinone in der Zelle entsprechend der „Acetat-hypothese“ aus Essigsäure-Einheiten aufgebaut werden. Da dieser Aufbauweg zu XXI führen würde, nehmen wir an, daß sie die Konstitutionsformel des ζ -Pyrromycinons ist.

ϵ -PYRROMYCINON

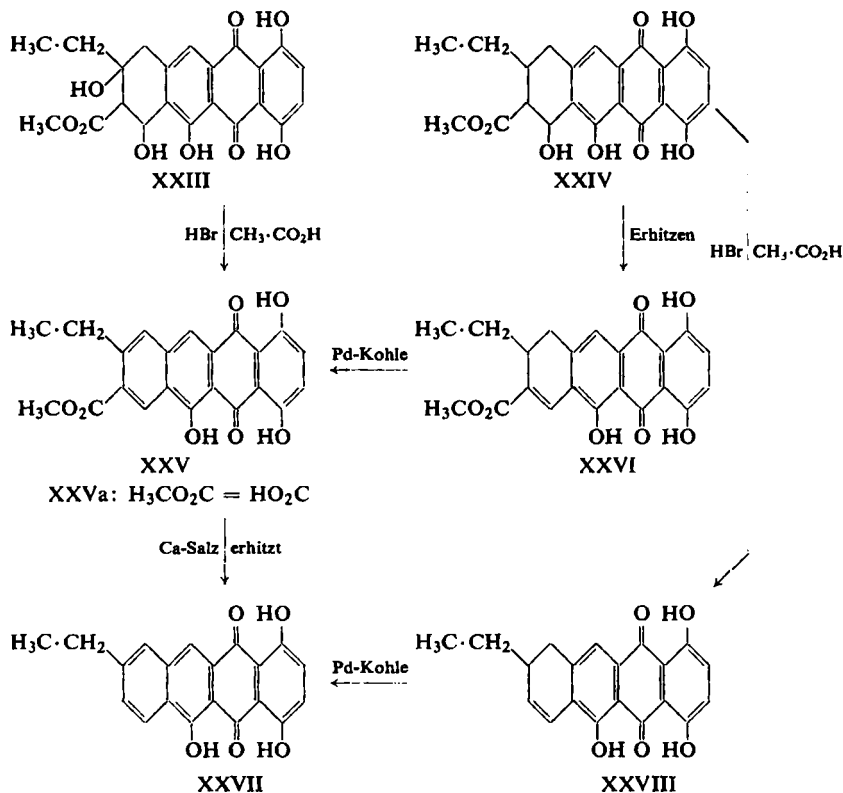
ϵ -Pyrromycinon ist der Chromophor des Antibioticums *Pyrromycin*²¹⁾ und der *Cinerubine A* und *B*²²⁾. Es kristallisiert in feuerroten Nadeln vom Schmp. 213–214°, hat die Bruttoformel $C_{22}H_{20}O_9$ mit einer Methoxy- und einer C-Methylgruppe und ist ebenso wie ζ -Pyrromycinon optisch aktiv¹⁸⁾ ($[\alpha]_D^{20}$: $+143 \pm 7^\circ$; $c = 1.0$, in Chloroform). Bei der Chromsäure-Oxydation nach P. KARRER¹⁹⁾ und der Permanganat-Oxydation in Pyridin lieferte es neben Essigsäure auch Propionsäure (chromatographisch durch R_F -Wert identifiziert) und enthält demnach wie ζ -Pyrromycinon, mit dem es im Absorptionsspektrum übereinstimmt, eine C-Äthylgruppe. Ebenso wie dieses hat es eine Carbonylbande bei 5.75μ , die zusammen mit dem Methoxylgehalt auf Vorliegen einer Carbomethoxygruppe schließen ließ.

Veresterung mit Acetanhydrid-Pyridin gab ein kristallisiertes gelbes, bei 219–221° schmelzendes Tetraacetat $C_{30}H_{28}O_{13}$ ($[\alpha]_D^{20}$: $-10.3 \pm 2^\circ$; $c = 1.0$, in Chloroform) mit einer Hydroxylbande bei 2.80μ und einer Chinon-Carbonylbande bei 5.95μ . Von den neun Sauerstoffatomen des ϵ -Pyrromycinons gehören demnach zwei zu einem Chinonsystem, zwei zu einer Carbomethoxygruppe und vier zu acetylierbaren Hydroxygruppen. Das neunte muß einer Hydroxylgruppe zugeschrieben werden, die sich im IR-Spektrum des Tetraacetates durch die Bande bei 2.80μ zu erkennen gibt.

21) H. BROCKMANN und W. LENK, Chem. Ber. 92, 1904 [1959]; im Pyrromycin ist das ϵ -Pyrromycinon über seine im Ring A stehende sek. Hydroxygruppe glykosidisch mit Rhodosamin (H. BROCKMANN und E. SPOHLER, Naturwissenschaften 42, 154 [1955]) verbunden.

22) Vgl. die vorhergehende Mitteil. von V. PRELOG und Mitarbb., Chem. Ber. 92, 1867 [1959].

Diese Befunde zusammen mit der Tatsache, daß ϵ -Pyrromycinon nur ein Sauerstoffatom mehr enthält als ζ -Pyrromycinon, ließen vermuten, daß sich ϵ -Pyrromycinon lediglich durch eine zusätzliche, tertiäre Hydroxygruppe in Ring A von ζ -Pyrromycinon unterscheidet. Eine erste Bestätigung dafür brachte der Versuch, ϵ -Pyrromycinon i. Hochvak. zu sublimieren. Denn dabei entstand eine rote, kristallisierte Verbindung, deren Bruttoformel um H_4O_2 kleiner war als die des Ausgangsmaterials. Sie

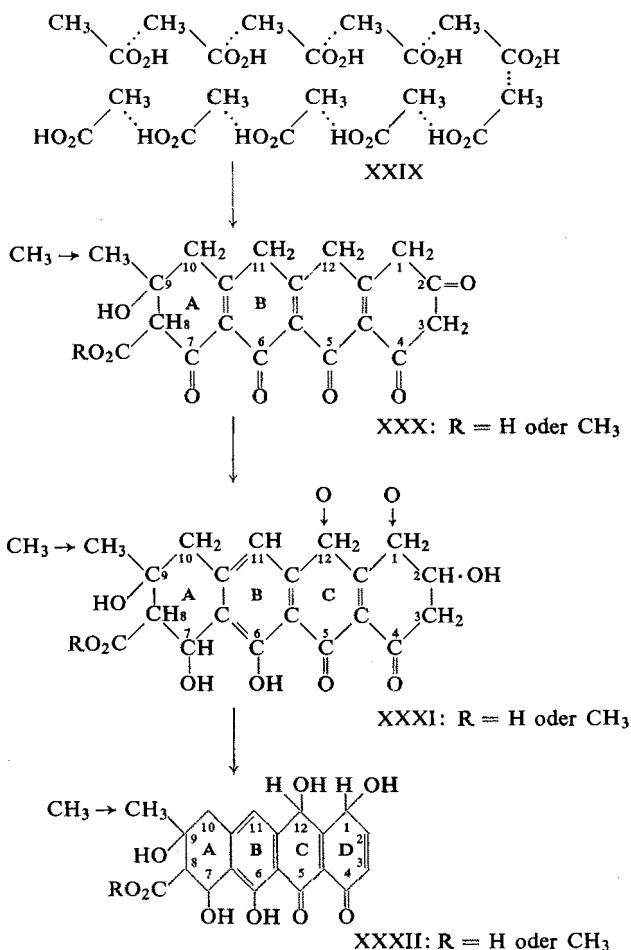


ließ sich durch Schmp., Misch-Schmp. und IR-Spektrum als η -Pyrromycinon identifizieren. Die gleiche unter Abspaltung von 2 Moll. Wasser verlaufende Umwandlung in η -Pyrromycinon erreichten wir mit 75-proz. Ausbeute durch kurzes Kochen einer Lösung von ϵ -Pyrromycinon in Eisessig-Bromwasserstoff. Damit war bewiesen: 1. Äthyl- und Carbomethoxygruppe haben in Ring A des ϵ -Pyrromycinons die gleiche Stellung wie im η - und ζ -Pyrromycinon, und 2. Ring A trägt zwei Hydroxygruppen, die beide leicht unter Aromatisierung von Ring A abgespalten werden. Da eine von ihnen tertiär ist und man annehmen darf, daß die andere die gleiche Stellung einnimmt wie die Hydroxygruppe in Ring A des ζ -Pyrromycinons, scheint uns für ϵ -Pyrromycinon die Formel XXIII vertretbar, die, wie im nächsten Abschnitt gezeigt, auch mit der „Acetathypothese“ in Einklang steht.

Wenn ϵ -Pyromycinon die Konstitution XXIII hat, muß η -Pyromycinon die Konstitution XXV und Descarbomethoxy- η -pyromycinon die Formel XXVII haben. Das beim Erhitzen von ζ -Pyromycinon entstandene Dihydro- η -pyromycinon ist dann nach XXVI und das „Bromwasserstoff-Produkt“ (Dihydro-descarbomethoxy- η -pyromycinon) nach XXVIII zu formulieren.

ZUR BIOSYNTHESE DER PYROMYCINONE

Wie A. J. BIRCH und Mitarbb. gezeigt haben²³⁾, steht die Konstitution einer Anzahl natürlich vorkommender Phenol- und Chinonderivate mit einer zuerst von COLLIE geäußerten Hypothese in Einklang, nach der solche Verbindungen in der Zelle durch eine „Kopf-Schwanz-Verknüpfung“ von Essigsäure-Einheiten aufgebaut werden. Insbesondere bei Hydroxychinon-Derivaten (z. B. Hydroxy-anthrachinonen aus höheren



²³⁾ Zusammenfassung bei A. J. BIRCH in L. ZECHMEISTER, Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe XIV, S. 186, Wien, Springer Verlag 1957.

Pflanzen und Mikroorganismen) ist die Übereinstimmung der gefundenen Konstitution mit der aus der „Acetathypothese“ abgeleiteten so eindrucksvoll, daß man, wenn für eine neue Verbindung mehrere Formeln zur Diskussion stehen, gut daran tut, derjenigen den Vorzug zu geben, die mit der „Acetathypothese“ in Einklang steht.

Formeln XXIX--XXXII zeigen, wie die Biosynthese der Pyrromycinone durch „Kopf-Schwanz-Verknüpfung“ von zehn Essigsäure-Einheiten vor sich gehen könnte. In einem bestimmten Stadium der Synthese wäre dabei das Zwischenprodukt XXX zu erwarten. Reduktion seiner Carbonyl-Sauerstoffatome an C-2 und C-7 und Enolisierung von Ring B würde zu XXXI führen, aus dem durch Wasserabspaltung in Ring D sowie Oxydation an C-1 und C-12 XXXII entstehen könnte. Seine Dehydrierung zum Ringsystem des ϵ -Pyrromycinons sollte bereits durch Luftsauerstoff ohne Mitwirkung von Fermenten möglich sein. Die zur Vollendung der Synthese erforderliche Methylierung der Methyl- und Carboxygruppe sind der Zelle vertraute Reaktionen, die bereits bei XXX oder auch später erfolgen könnten.

Aromatisierung von Ring A unter Abspaltung von zwei Moll. Wasser würde zum η -Pyrromycinon, reduktive Entfernung der Hydroxygruppe an C-9 zum ζ -Pyrromycinon führen.

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT, dem FONDS DER CHEMIE sowie den FARBEN-FABRIKEN BAYER, Werk Elberfeld, danken wir für großzügige Unterstützung unserer Arbeit.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE²⁴⁾

Isolierung der Pyrromycinone

Kulturansatz von Stamm „DOA 1205“: 800 l Nährlösung (2 Vol.-% Glycerin, 0.25 % Glykokoll, 0.10 % NaCl, 0.10 % K_2HPO_4 , 0.01 % $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.01 % $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.01 % $CaCO_3$) verteilte man auf 800 P-Kolben, sterilisierte bei 2 atü, beimpfte jeden Kolben mit dem Mycel einer auf *Calciummalat*-Agar gewachsenen Vorkultur und bebrütete bei 30°. Als nach 4 Wochen die rotbraune Kulturlösung p_H 7.5 erreicht hatte, wurde das Mycel abfiltriert und die im Umlaufverdampfer auf 500 l eingengte Kulturlösung im Westfalia-Separator mit 200 l Butanol extrahiert.

Aufarbeitung des Butanolauszuges: Der Butanolauszug hinterließ beim Einengen im Vakuum-Umlaufverdampfer einen braunen, schmierigen Rückstand, der in 1 l Chloroform aufgenommen wurde. Nachdem mit 1 l Wasser durchgeschüttelt worden war, verdampfte man das Chloroform im Wasserbad (70–75°), wobei ein brauner, schmieriger Rückstand hinterblieb (Rohprodukt B).

Aufarbeitung des Mycels: Das feuchte Mycel verrührte man 1 Stde. mit 4 l Aceton, dekantierte den roten Extrakt und wiederholte die Extraktion drei- bis viermal täglich mit 3 l Aceton, bis dieses nur noch schwach angefärbt wurde. Beim Einengen der vereinigten Acetonauszüge hinterblieb der Rohfarbstoff (M) als braune, schmierige Masse. Der erste Acetonauszug, der das dem Mycel anhaftende Wasser enthielt, wurde gesondert verdampft und der aus dem zurückbleibenden Wasser ausgefallene Rohfarbstoff (M) i. Vak. bei 60 bis 70° getrocknet. Anschließend behandelte man das Mycel wiederholt mit Aceton, das 0.5 % HCl enthielt, neutralisierte die so erhaltenen Auszüge mit konz. Ammoniak, zentrifugierte das ausgefallene Ammoniumchlorid ab und gewann so nach Vertreiben des Acetons weitere

²⁴⁾ Schmpp. korr. Kofler-Block.

Mengen Rohfarbstoff M. Rohfarbstoffe B und M wurden vereinigt und mehrmals mit Petroläther (Sdp. 40°) extrahiert, wobei brauner Rohfarbstoff P (157 g) hinterblieb. Die vereinigten roten Petrolätherauszüge enthielten neben wenig Farbstoff (dessen Aufarbeitung nicht lohnte) Fette und Fettsäuren (153 g). Rohfarbstoff P wurde im Soxhlet-Apparat eine Woche lang mit Äther extrahiert, wobei Roh-Pyromycin als braunes Pulver (117 g) zurückblieb. Die Ätherlösung hinterließ 40 g Pyromycinongemisch.

Trennung des Pyromycinongemisches: Eine Lösung des Pyromycinongemisches in 500 ccm Benzol gab man auf 4 Säulen aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ (100 × 8 cm) und entwickelte mit Benzol. Dabei bildeten sich drei Zonen (von oben nach unten beziffert): Z₁ (ε-Pyromycinon und Begleitfarbstoffe), Z₂ (ζ-Pyromycinon), Z₃ (η-Pyromycinon).

η-Pyromycinon und seine Derivate

η-Pyromycinon (XXV): Die vereinigten Benzoleluate von Zone Z₃ wurden in zwei gleichen Anteilen auf eine Säule von aktiviertem Kieselgel⁵⁾ (100 × 8 cm) gegeben. Das Eluat der beim Nachwaschen mit Benzol entstandenen Hauptzone hinterließ beim Verdampfen η-Pyromycinon, das aus Benzol in dunkelroten Nadelchen vom Schmp. 236–237° kristallisierte. Ausb. 3.7 g. Wenig löslich in Benzol, Dioxan und Chloroform, mäßig löslich in Pyridin.

C₂₂H₁₆O₇ (392.4) Ber. C 67.34 H 4.11 1 C-CH₃ 3.8 1 CH₃O 7.9

Gef. *) C 67.46 H 4.12 C-CH₃ 3.6 CH₃O 7.5 Mol.-Gew. 374 **)

*) Umkrist. aus Eisessig, 8 Stdn. i. Hochvak. bei 120° getrocknet.

**) Ebullioskop. in Trichloräthylen.

η-Pyromycinon-triacetat: Eine Lösung von 200 mg η-Pyromycinon in 5 ccm Pyridin und 10 ccm Acetanhydrid erhitze man 1 Stde. auf 80°, goß in Wasser, nahm nach Verseifung des Acetanhydrids das ausgefallene gelbe Acetat in Chloroform auf und gab den mit Na₂SO₄ getrockneten Chloroformauszug auf eine Säule von aktiviertem Kieselgel⁵⁾ (40 × 5 cm). Beim Nachwaschen mit Chloroform bildete sich eine gelbe, im UV-Licht grün fluoreszierende Zone und darüber die gelbe, nicht fluoreszierende Hauptzone des Triacetates. Der Inhaltsstoff der fluoreszierenden Zone, ein partiell acetyliertes η-Pyromycinon, kristallisierte aus Methanol in rotgelben Nadeln (5 mg) vom Schmp. 207–208°. Das Triacetat erhielt man in zitronengelben Nadeln (235 mg) vom Schmp. 205–206°, als das Eluat der Hauptzone verdampft und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert wurde.

C₂₈H₂₂O₁₀ (518.5) Ber. C 64.86 H 4.28 3 CH₃CO 24.9

Gef. *) C 65.07 H 4.44 CH₃CO **) 25.2

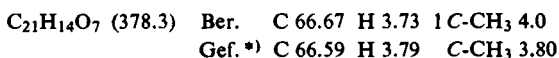
*) 8 Stdn. i. Hochvak. bei 80° getrocknet.

**) Verseift mit methanol. n KOH unter N₂.

Reduzierende Acetylierung von η-Pyromycinon-triacetat: Eine Mischung von 100 mg η-Pyromycinon-triacetat, 50 mg wasserfreiem Natriumacetat, 300 mg Zinkstaub und 40 ccm Acetanhydrid kochte man 2 Min., goß die gelbrote, blau fluoreszierende Lösung in 50 ccm Wasser und extrahierte nach Verseifung des überschüss. Acetanhydrids mit 50 ccm Benzol. Die mit Na₂SO₄ getrocknete Benzollösung gab man auf eine Säule von aktiviertem Kieselgel⁵⁾ (20 × 1 cm) und wusch mit Benzol nach, wobei sich mehrere Zonen bildeten. Das Eluat der untersten, im UV-Licht grün fluoreszierenden Hauptzone hinterließ beim Verdampfen einen rotgelben, amorphen Rückstand, dessen grünstichig-gelbe Benzollösung Absorptionsmaxima bei 482, 452, 424 und 400 mμ zeigte.

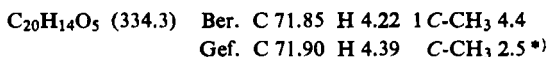
η-Pyromycinonsäure (XXVa): Eine Mischung von 100 mg η-Pyromycinon und 60 ccm methanol. 2n KOH kochte man 3 Stdn. unter Rückfluß, säuerte nach Erkalten mit 25 ccm 25-proz. Schwefelsäure an, nahm den Niederschlag nach Trocknen in 250 ccm Chloroform auf, filtrierte die Lösung durch eine Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ und wusch mit Chloro-

form nach. Das Eluat der Hauptzone hinterließ beim Verdampfen i. Vak. einen Rückstand, der aus Eisessig in roten Nadeln vom Schmp. 263° (Zers.) kristallisierte.



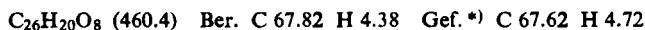
*) Sublimiert i. Hochvak. bei 180–200°.

Descarbomethoxy- η -pyrromycinon (XXVII): Eine 3 Stdn. unter Rückfluß gekochte Lösung von 200 mg η -Pyrromycinon in 40 ccm 2*n* KOH säuerte man nach Erkalten mit 30 ccm 25-proz. Schwefelsäure an, nahm die ausgefallene η -Pyrromycinonsäure in insgesamt 100 ccm Chloroform auf, entzog sie der Chloroformlösung durch Ausschütteln mit wäbr. Natriumhydrogencarbonat und säuerte den Auszug mit 10 ccm 25-proz. Schwefelsäure an. Die ausgefallene Säure wurde in 50 ccm Äther aufgenommen, die Ätherlösung mit 30 ccm gesättigter Calciumhydroxylösung unterschichtet und das violette Calciumsalz der η -Pyrromycinonsäure durch Verrühren der beiden Schichten abgeschieden. Nach Abdunsten des Äthers filtrierte man das Salz ab, trocknete über P_2O_5 und erhitzte es in einem Sublimationsrohr i. Hochvak. auf 230–250°. Bei etwa 220° begann die Decarboxylierung, erkenntlich an der Sublimation des roten Descarbomethoxy- η -pyrromycinons. Nach 2stdg. Erhitzen säuerte man den violetten Rückstand mit 1 ccm 25-proz. Schwefelsäure an, extrahierte erschöpfend mit Benzol und verdampfte die Lösung zusammen mit der Benzollösung des Sublimates zur Trockne. Die Lösung des Verdampfungsrückstandes in Benzol/Ligroin (1:1) filtrierte man durch eine Säule aus aktiviertem Kieselgel (100 × 3 cm) und wusch die am schnellsten wandernde Hauptzone mit Benzol/Ligroin (1:1) ins Filtrat. Das beim Verdampfen des Eluates hinterbleibende Descarbomethoxy- η -pyrromycinon kristallisierte aus Ligroin in dunkelroten Nadeln und wurde zur Analyse i. Hochvak. bei 210–220° sublimiert. Schmp. 229–230°.



*) Verschrärfte Bedingungen, 6 Stdn. bei 170° oxydiert.

Descarbomethoxy- η -pyrromycinon-triacetat: Zu der gelbroten Lösung von 10 mg Descarbomethoxy- η -pyrromycinon in 5 ccm Acetanhydrid gab man einige Tropfen 60-proz. Perchlorsäure (Farbumschlag nach Gelb), goß in 50 ccm Wasser, nahm das nach Zersetzung des Acetanhydrids in gelben Kristallen ausgefallene Acetat in 20 ccm Chloroform auf und gab die mit Na_2SO_4 getrocknete Lösung auf eine Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾. Beim Nachwaschen mit Chloroform bildeten sich zwei Zonen, von denen die untere (ein partiell acetyliertes Produkt enthaltend) im UV-Licht hellgrün fluoreszierte, die obere dagegen nicht. Der Verdampfungsrückstand vom Eluat der oberen Zone kristallisierte aus Äthanol in gelben, bei 217–219° (Zers.) schmelzenden Nadeln.



*) Getrocknet 8 Stdn. bei 80° i. Hochvak.

η -Iso-pyrromycinon (V) aus η -Pyrromycinon: Die kornblumenblaue Lösung von 68 mg η -Pyrromycinon in 40 ccm konz. Schwefelsäure versetzte man in Anteilen von 10 ccm mit etwas frisch dargestelltem Mangandioxyd²⁵⁾, verdünnte, als die Lösung nach 1 bis 2 Min. einen stumpfblauen Farbton angenommen hatte, mit dem fünffachen Vol. Wasser und schüttelte zweimal mit 50 ccm Benzol aus. Den mit wäbr. Natriumhydrogensulfit durchgeschüttelten und über Na_2SO_4 getrockneten Benzolauszug engte man auf die Hälfte ein, gab ihn auf eine Säule (100 × 4 cm) von aktiviertem Kieselgel⁵⁾ und wusch mit Benzol die am schnellsten wandernde Hauptzone ins Filtrat. Der Rückstand des Eluates kristallisierte

²⁵⁾ O. MANCERA, G. ROSENKRANZ und F. SONDHEIMER, J. chem. Soc. [London] 1953, 2189.

aus Ligroin, dem wenig Benzol zugesetzt war, in rubinroten Nadeln (40 mg) vom Schmp. 229–230°.

$C_{22}H_{16}O_8$ (408.4) Ber. C 64.70 H 3.95 Gef. *) C 64.79 H 3.92

*) 8 Stdn. bei 100° i. Hochvak. getrocknet.

ζ-Pyrromycinon und seine Derivate

ζ-Pyrromycinon (XXI): Das (vgl. Abschnitt „Trennung des Pyrromycinongemisches“) in Zone Z₂ enthaltene ζ-Pyrromycinon eluierte man mit Benzol, filtrierte das auf die Hälfte eingeeengte Eluat nochmals durch eine Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ und kristallisierte den Inhaltsstoff der Hauptzone zweimal aus Benzol um. Das in feuerroten Nadelchen ausgeschiedene ζ-Pyrromycinon (15 g) schmolz im geschlossenen²⁶⁾ Röhrchen auf dem Koffler-Block bei 216°. $[\alpha]_D^{20}$: +74 ± 6° (Chloroform, $c = 1.0$). In organischen Solvenzien ist es etwas besser löslich als η-Pyrromycinon.

$C_{22}H_{20}O_8$ (412.4) Ber. C 64.07 H 4.89 O 31.04 1 C-CH₃ 3.6 1 CH₃O 7.5
Gef. *) C 63.84 H 4.86 O 30.35 C-CH₃ 3.2 CH₃O 7.3

*) Bei 180° i. Hochvak. sublimiert.

ζ-Pyrromycinon-tetraacetat: 185 mg ζ-Pyrromycinon versetzte man mit 7 ccm Acetanhydrid (1 Tropfen 60-proz. Perchlorsäure enthaltend). Nach wenigen Minuten war alles gelöst und die zuvor rote Lösung gelb geworden. Nachdem in 50 ccm Wasser gegossen und das Acetanhydrid verseift war, fiel das Acetat in gelben Nadeln aus. Als man es nach Trocknen in 20 ccm Chloroform aufnahm, auf eine Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ gab und mit Chloroform nachwusch, bildeten sich zwei Zonen. Der Verdampfungsrückstand der unteren Zone kristallisierte aus Methanol in goldgelben Nadeln (16 mg) vom Schmp. 169–170° (Zers.) und bestand aus partiell acetyliertem ζ-Pyrromycinon. Der Rückstand des Eluates der oberen Zone enthielt das Tetraacetat, das aus Methanol in hellgelben Nadeln vom Schmp. 195–196° kristallisierte. $[\alpha]_D^{25}$: +15 ± 4° (Chloroform, $c = 1.0$).

$C_{30}H_{28}O_{12}$ (580.5) Ber. C 62.06 H 4.86 4 CH₃CO 29.8
Gef. *) C 62.18 H 4.78 CH₃CO 29.0

*) 8 Stdn. bei 80° i. Hochvak. getrocknet.

Reduzierende Acetylierung: Eine Mischung von 135 mg ζ-Pyrromycinon-tetraacetat, 100 mg Zinkstaub (p.a.) und 5 ccm Acetanhydrid (p.a.) kochte man 30 Min. unter Rückfluß, goß in 50 ccm Wasser, extrahierte, als das Acetanhydrid verseift war, mit 25 ccm Benzol, trocknete über Na₂SO₄, gab auf eine Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ und wusch mit Benzol nach, wobei sich mehrere Zonen bildeten. Das Eluat der Hauptzone hinterließ beim Verdampfen einen farblosen, amorphen Rückstand, dessen Lösungen in organischen Solvenzien stark blau fluoreszierten. Im Ring-Papierchromatogramm (Tetralin/Eisessig/Wasser (10:10:1)) bildete es nur eine einheitliche Zone (Absorptionsspektrum Abbild. 1).

*Chromsäure-Abbau*¹⁹⁾ von ζ-Pyrromycinon: 37 mg ζ-Pyrromycinon wurden mit 25 ccm Chromsäure-Schwefelsäure (1 Tl. konz. Schwefelsäure, 5 Tle. 5 n H₂CrO₄²⁷⁾) im N₂-Strom auf 130° erhitzt und die entstehenden, flüchtigen Abbausäuren sofort mit Wasserdampf überdestilliert. Durch Zutropfen von Wasser sorgte man für gleichbleibende Konzentration der Oxydationsmischung. Das Destillat (etwa 30 ccm) wurde mit 0.02 n NaOH gegen Phenolphthalein titriert und i. Vak. verdampft. Das zurückbleibende, farblose Kristallisat hatte im Papierchromatogramm (Schleicher & Schüll 2043 b, aufsteigend, n-Propanol/konz. NH₃ = 9:1, Indikator Methylrot) denselben R_F-Wert wie Natriumacetat.

²⁶⁾ Weil unter den üblichen Bedingungen ζ-Pyrromycinon sublimiert.

²⁷⁾ R. KUHN und H. ROTH, Ber. dtsh. chem. Ges. 66, 1274 [1933].

Oxydation von ζ -Pyrrromycinon mit Kaliumpermanganat in Pyridin: Zu einer Lösung von 600 mg ζ -Pyrrromycinon in 15 ccm Pyridin (p. a.) gab man in kleinen Portionen 0.1 *n* KMnO₄ in Pyridin, bis die Lösung schwach violett blieb, versetzte mit 5 ccm 2 *n* NaOH und wenigen Tropfen Wasserstoffperoxyd, filtrierte vom Mangandioxyd ab und verjagte das Pyridin i. Vak. Die wäßr.-alkalische Oxydationslösung brachte man mit dem Kationenaustauscher Dowex 50 \times 2 (vorbehandelt mit 7.5-proz. HCl und neutral gewaschen) auf *p*_H 5 und trieb die flüchtigen Säuren mit Wasserdampf über. Das Destillat (etwa 40 ccm) wurde mit 1.5 ccm 0.02 *n* NaOH gegen Phenolphthalein neutralisiert und i. Vak. zur Trockne gebracht. Der Rückstand gab im Papierchromatogramm (Butanol/Isopropylalkohol/1.5 *n* (NH₄)₂CO₃—3 *n* NH₃ = 1:1.5:1²⁸) aufsteigend; Schleicher & Schüll 2043 b, gewaschen; Indikator: Methylrot) zwei etwa gleich große Flecke, die im *R_F*-Wert identisch waren mit Acetat und Propionat.

ζ -Pyrrromycinsäure (XXIa): 180 mg ζ -Pyrrromycinon wurden mit 40 ccm 2 *n* methanol. KOH (Methanol-Wasser 1:1 Vol.-Tle.) $\frac{1}{2}$ Stde. unter Rückfluß gekocht. Den nach Erkalten und Ansäuern mit 20 ccm 25-proz. Schwefelsäure ausgefallenen und getrockneten Niederschlag nahm man in 200 ccm Chloroform auf, gab die Lösung durch eine Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ und wusch mit Chloroform nach. Die am langsamsten wandernde Hauptzone enthielt die ζ -Pyrrromycinsäure, die aus Eisessig in roten Nadeln vom Schmp. 190° (Zers., geschlossenes Röhrchen, Kofler-Block) kristallisierte. Schwer löslich in Benzol und Chloroform, unlöslich in Cyclohexan.

C₂₁H₁₈O₈ (398.4) Ber. C 63.31 H 4.55 Gef. *) C 63.40 H 4.64

*) Aus Chloroform umkristallisiert und 8 Stdn. bei 80° i. Hochvak. getrocknet. Dieses Präparat enthielt seinem Cl-Gehalt von 2.2 % nach noch 2.47 % Chloroform. Die angegebenen C,H-Werte sind unter Berücksichtigung dieses Chloroformgehaltes berechnet.

9.10- bzw. 7.8-Dihydro- η -iso-pyrrromycinon (XVI) aus ζ -Pyrrromycinon (XXI): 106 mg ζ -Pyrrromycinon wurden mit 240 mg „aktivem Braunstein“²⁵⁾ und 50 ccm konz. Schwefelsäure in gleicher Weise, wie bei der Darstellung des η -Iso-pyrrromycinons (V) beschrieben, oxydiert und aufgearbeitet. Beim Chromatographieren der blutroten Benzol-Lösung des Oxydationsproduktes an einer Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ (80 \times 1.5 cm) bildeten sich mehrere Zonen, von denen die am schnellsten laufende ins Filtrat gewaschen wurde. Nach Einengen des Eluates i. Vak. und Anspritzen mit Ligroin kristallisierten 15 mg rubinrotes XVI vom Schmp. 197—198° aus.

C₂₂H₁₈O₈ (410.4) Ber. C 64.39 H 4.42 Gef. *) C 64.79 H 4.34

*) 8 Stdn. i. Hochvak. bei 90° getrocknet.

Überführung von ζ -Pyrrromycinsäure in Descarbomethoxy- η -pyrrromycinon (XXVII): 170 mg ζ -Pyrrromycinon wurden mit 30 ccm 2 *n* KOH $\frac{1}{2}$ Stde. unter Rückfluß gekocht. Den beim Ansäuern mit 20 ccm 25-proz. Schwefelsäure ausgefallenen Niederschlag suspendierte man in 30 ccm Äther, verrührte mit 20 ccm gesättigter Calciumhydroxydlösung, trocknete das entstandene Calciumsalz (nach Verdunsten des Äthers) über P₂O₅ und erhitze es in einem Sublimationsrohr 2 Stdn. i. Hochvak. auf 280°. Das dabei entstandene rote Sublimat zeigte in Cyclohexan die gleichen Absorptionsbanden wie das ζ -Pyrrromycinon-HBr-Produkt (vgl. übernächsten Abschnitt).

Den violetten Sublimationsrückstand säuerte man mit 1 ccm 25-proz. Schwefelsäure an, extrahierte erschöpfend mit Benzol, nahm den Rückstand der Benzollösung in Benzol/Ligroin (1:1) auf, filtrierte durch eine Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ (100 \times 3 cm) und wusch mit Benzol/Ligroin (1:1) nach. Der Verdampfungsrückstand aus dem Eluat der Hauptzone kristallisierte aus Ligroin, dem wenig Benzol zugesetzt war, in braunroten Nadeln

²⁸⁾ Dissertat. W. MÜLLER, Göttingen 1958; modifiziert nach H. KALBE, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 297, 19 [1954].

(25 mg). Sublimation i. Hochvak. lieferte rote Nadeln vom Schmp. 229–230°, die im Gemisch mit Descarbomethoxy- η -pyrromycinon keine Schmp.-Erniedrigung zeigten.

$C_{20}H_{14}O_5$ (334.3) Ber. C 71.85 H 4.22 Gef. C 71.93 H 4.28

Dihydro-descarbomethoxy- η -pyrromycinon (XXVIII) aus ζ -Pyrromycinonsäure: 20 mg ζ -Pyrromycinonsäure wurden in einem Sublimationsrohr i. Hochvak. auf 200° erhitzt, wobei ein glasiges Sublimat entstand, das aus 50 ccm Benzol an einer Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ adsorbiert wurde. Das Eluat der beim Nachwaschen mit Benzol entstandenen Hauptzone lieferte einen Rückstand, der aus Ligroin (Sdp. 110°) kristallisierte. Sublimation i. Hochvak. bei 180–200° gab feine, hellrote Kristalle vom Schmp. 169–171°, die im Gemisch mit dem aus ζ -Pyrromycinon erhaltenen Dihydro-descarbomethoxy- η -pyrromycinon (vgl. folgenden Abschnitt) keine Schmp.-Erniedrigung zeigten.

$C_{20}H_{16}O_5$ (336.3) Ber. C 71.42 H 4.80 Gef. C 71.57 H 4.93

Dihydro-descarbomethoxy- η -pyrromycinon („ ζ -Pyrromycinon-HBr-Produkt“) (XXVIII): Eine Lösung von 130 mg ζ -Pyrromycinon in 10 ccm 48-proz. Bromwasserstoffsäure und 25 ccm Eisessig kochte man 2 Stdn. unter Rückfluß, goß in 50 ccm Wasser und extrahierte zweimal mit 50 ccm Benzol. Die über Na_2SO_4 getrocknete Lösung chromatographierte man unter Nachwaschen mit Benzol an einer Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ und kristallisierte den Inhaltsstoff der Hauptzone aus wenig Ligroin. Dunkelrote Nadeln (50 mg), die bei 180–200° i. Hochvak. sublimiert wurden. Das Sublimat bestand aus derben, rubinroten Prismen und kleinen, hellroten Kristallen. Beide Formen schmolzen bei 177–178°.

$C_{20}H_{16}O_5$ (336.3) Ber. C 71.42 H 4.80 Gef. *) C 71.64 H 4.84

*) Sublimiertes Präparat.

Descarbomethoxy- η -pyrromycinon (XXVII) aus Dihydro-descarbomethoxy- η -pyrromycinon: Eine Mischung von 50 mg Dihydro-descarbomethoxy- η -pyrromycinon und 37 mg Pd-Kohle erhitzte man in einem Sublimationsrohr i. Hochvak. 1½ Stdn. auf 220°, löste das Sublimat in 50 ccm Benzol/Ligroin (1:1) und chromatographierte an einer Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ (40 × 1.5 cm) unter Nachwaschen mit dem Lösungsmittel. Dabei bildete sich eine einheitliche Zone, deren Inhaltsstoff aus Ligroin, das wenig Benzol enthielt, in rotbraunen Nadeln kristallisierte (23 mg). Hochvak.-Sublimation gab dunkelrote Nadeln vom Schmp. 229–230°, die im Gemisch mit Descarbomethoxy- η -pyrromycinon keine Schmp.-Erniedrigung zeigten.

$C_{20}H_{14}O_5$ (334.3) Ber. C 71.85 H 4.22 Gef. *) C 71.97 H 4.37

*) Sublimiertes Präparat.

Überführung von ζ -Pyrromycinon in η -Pyrromycinon: Eine Mischung von 100 mg ζ -Pyrromycinon, 100 mg Pd-Mohr und 150 mg Pd-Kohle erhitzte man in einem Sublimationsrohr 1 Stde. auf 280° und chromatographierte das rote, kristallisierte Sublimat aus Benzol an aktiviertem Kieselgel⁵⁾. Der Inhaltsstoff der Hauptzone schied sich aus Ligroin, dem etwas Benzol zugesetzt war, in roten Kristallen (28 mg) ab, die bei 237° schmolzen und im Gemisch mit η -Pyrromycinon keine Schmp.-Erniedrigung zeigten.

$C_{22}H_{16}O_7$ (392.3) Ber. C 67.34 H 4.11 Gef. *) C 67.49 H 4.27

*) 8 Stdn. bei 100° i. Hochvak. getrocknet.

Umwandlung von ζ -Pyrromycinon in Dihydro- η -pyrromycinon (XXVI): Man erhitzte 63 mg ζ -Pyrromycinon ½ Stde. auf 220–230°, nahm das Reaktionsprodukt in 40 ccm Benzol auf und chromatographierte an einer Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ unter Nachwaschen mit Benzol. Das Eluat der Hauptzone hinterließ beim Verdampfen Dihydro- η -pyrromycinon,

das aus Eisessig oder Ligroin in braunroten Nadeln vom Schmp. 206–207° kristallisierte. ¹n Eisessig und Benzol leichter löslich als ζ-Pyrromycinon.

$C_{22}H_{18}O_7$ (394.4) Ber. C 67.00 H 4.60 Gef. *) C 66.99 H 4.55

*) 7 Stdn. i. Hochvak. bei 90° getrocknet.

Dehydrierung von Dihydro-η-pyrromycinon zum η-Pyrromycinon: 7 mg Dihydro-η-pyrromycinon wurden mit 10 mg Pd-Kohle verrieben und in einem Sublimationsrohr i. Hochvak. auf 220° erhitzt. Das rote Sublimat (2 mg) zeigte im Gemisch mit η-Pyrromycinon keine Schmp.-Erniedrigung und hatte im System Decalin/Eisessig/Wasser (10:10:1) den gleichen R_F -Wert wie η-Pyrromycinon.

Erhitzen von ζ-Pyrromycinon mit P_2O_5 : Ein Gemisch aus 210 mg ζ-Pyrromycinon und 500 mg P_2O_5 erhitzte man unter Rühren 5 Min. auf 150° (Farbe der Mischung schlug von Rot nach Braun um), extrahierte mit insgesamt 100 ccm Benzol und chromatographierte unter Nachwaschen mit Benzol an einer Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾. Der Verdampfungsrückstand des Eluates der Hauptzone kristallisierte aus Eisessig oder Ligroin in feuerroten Nadeln vom Schmp. 158–159°. In Eisessig und Benzol leichter löslich als ζ-Pyrromycinon.

$C_{22}H_{18}O_7$ (394.4) Ber. C 67.00 H 4.60 Gef. *) C 67.05 H 4.54

*) 6 Stdn. i. Hochvak. bei 100° getrocknet.

Dehydrierung zum η-Pyrromycinon: 14 mg des vorstehenden Reaktionsproduktes wurden mit 10 mg Pd-Kohle verrieben und in einem Sublimationsrohr i. Hochvak. auf 220° erhitzt. Das rote Sublimat (4 mg) stimmte im R_F -Wert (Decalin/Eisessig/Wasser (10:10:1)) und im IR-Spektrum mit η-Pyrromycinon überein und zeigte im Gemisch mit diesem keine Schmp.-Erniedrigung.

ε-Pyrromycinon und seine Derivate

ε-Pyrromycinon (XXIII): Das, wie oben beschrieben (vgl. Abschnitt „Trennung des Pyrromycinongemisches“), in Zone 1 enthaltene ε-Pyrromycinon eluierte man mit Methanol, behandelte den Verdampfungsrückstand des Eluates mit Benzol, filtrierte vom Ungelösten ab und gab die Lösung auf eine Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾. Beim Nachwaschen mit Benzol/Aceton (98:2) wanderte die rote Hauptzone ins Filtrat. Das beim Verdampfen des Eluates hinterbleibende ε-Pyrromycinon kristallisierte aus Benzol in feuerroten Nadeln, die bei 213–214° schmolzen (geschlossenes Röhrchen, Kofler-Block)²⁹⁾. $[\alpha]_D^{20}$: +143 ± 7° (Chloroform, $c = 1.0$)¹⁸⁾.

$C_{22}H_{20}O_9$ (428.4) Ber. C 61.68 H 4.71 Gef. *) C 62.00 H 4.78

*) 8 Stdn. i. Hochvak. bei 65° getrocknet.

ε-Pyrromycinon-tetraacetat: Eine Mischung von 106 mg ε-Pyrromycinon, 1 ccm Acetanhydrid und 0.5 ccm Pyridin ließ man über Nacht stehen, goß die gelb gewordene Lösung in Wasser, löste das nach Verseifung des Acetanhydrids in gelben Kristallen ausgefallene, getrocknete Acetat in Chloroform, gab die Lösung auf eine Säule aus aktiviertem Kieselgel⁵⁾ und wusch mit Chloroform nach. Dabei bildeten sich mehrere Zonen, von denen die größte (von unten gerechnet die vierte) eluiert wurde. Das beim Verdampfen ihres Eluates hinterbleibende Tetraacetat kristallisierte aus Methanol in hellgelben Nadeln (Ausb. 61 % d. Th.) vom Schmp. 219–221° (Zers.). $[\alpha]_D^{18}$: –10.3 ± 2° (Chloroform, $c = 1.0$).

$C_{30}H_{28}O_{13}$ (596.5) Ber. C 60.40 H 4.73 4 CH_3CO 28.8

Gef. *) C 60.51 H 4.75 CH_3CO 28.1

*) 8 Stdn. i. Hochvak. bei 85° getrocknet.

²⁹⁾ Da ε-Pyrromycinon beim Erhitzen in η-Pyrromycinon übergeht, ist fraglich, ob es sich um den Schmp. von reinem ε-Pyrromycinon handelt.

Chromsäureabbau von ϵ -Pyrromycinon: Wie beim ϵ -Pyrromycinon beschrieben, oxydierte man 36 mg ϵ -Pyrromycinon mit 18 ccm Chromsäure-Schwefelsäure-Mischung, neutralisierte das Destillat (etwa 20 ccm) mit 3.2 ccm 0.02 *n* NaOH gegen Phenolphthalein und brachte es i. Vak. zur Trockne. Der Rückstand enthielt laut Papierchromatogramm (System wie oben) etwa gleiche Mengen Natriumacetat und Natriumpropionat.

Oxydation von ϵ -Pyrromycinon mit Kaliumpermanganat in Pyridin: Wie beim ζ -Pyrromycinon beschrieben, oxydierte man eine Lösung von 240 mg ϵ -Pyrromycinon in 10 ccm Pyridin. Das Wasserdampfdestillat (etwa 40 ccm) wurde mit 1.2 ccm 0.02 *n* NaOH gegen Phenolphthalein neutralisiert und i. Vak. zur Trockne gebracht. Der Rückstand gab im Papierchromatogramm (System wie oben) zwei etwa gleich große Flecke mit den R_F -Werten von Natriumacetat und Natriumpropionat.

Umwandlung von ϵ -Pyrromycinon in η -Pyrromycinon

a) *Durch Erhitzen:* 20 mg ϵ -Pyrromycinon wurden in einem Sublimationsrohr i. Hochvak. auf 180–220° erhitzt. Das Sublimat (9 mg) lieferte nach chromatographischer Adsorption aus Benzol an aktiviertem Kieselgel⁵⁾ rote Kristalle, die das gleiche IR-Spektrum wie η -Pyrromycinon und im Gemisch mit diesem keine Schmp.-Erniedrigung zeigten.

$C_{22}H_{16}O_7$ (392.3) Ber. C 67.34 H 4.11 Gef. *) C 67.13 H 4.00

b) *Durch Bromwasserstoff-Eisessig:* Man löste unter Erhitzen bis zum Siedepunkt 100 mg ϵ -Pyrromycinon in 35 ccm einer Mischung von 30 ccm Eisessig und 5 ccm Bromwasserstoffsäure (*d* 1.49) und ließ die klare Lösung dann erkalten. Dabei kristallisierte η -Pyrromycinon in feinen, roten Nadeln aus (Ausb. 77 % d. Th.). Identifizierung durch Misch-Schmp. und IR-Spektrum.

$C_{22}H_{16}O_7$ (392.3) Ber. C 67.34 H 4.11 $1CH_3O$ 7.9
Gef. *) C 67.52 H 4.07 CH_3O 8.0

*) 9 Stdn. i. Hochvak. bei 90° getrocknet.