

*Lindlar*-Katalysator unter Atmosphärendruck bei Zimmertemperatur hydriert. Die Wasserstoffaufnahme bleibt stehen, nachdem etwas mehr als die berechnete Menge (76 cm<sup>3</sup>) aufgenommen worden ist. Ein Teil des 11,11'-Di-*cis*- $\beta$ -carotins ist gegen Schluss der Reaktion ausgefallen. Der Katalysator wird abfiltriert und mit Methylenchlorid gewaschen, um ausgefallenes Produkt zu lösen; anschliessend wird das Filtrat bei 20° im Vakuum bis auf ein kleines Volumen eingengt und darauf mit Methanol versetzt. Das ausgeschiedene 11,11'-Di-*cis*- $\beta$ -carotin (I) wird durch Umkristallisieren aus Methylenchlorid-Benzol-Alkohol in braunroten Blättchen mit dem Smp. 154° erhalten; UV.-Maxima bei 276, 334—338 und 405 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  = 655, 534 und 735).

C<sub>40</sub>H<sub>56</sub> Ber. C 89,49 H 10,51% Gef. C 89,14 H 10,58%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung: Dr. H. Waldmann) ausgeführt. Die IR.-Spektren wurden in unserer physikalisch-chemischen Abteilung (Leitung: Dr. M. Kofler) mit einem *Perkin-Elmer*-Doppelstrahl-Spektrophotometer, Modell 21 mit NaCl-Optik, aufgenommen.

#### SUMMARY.

11,11'-Di-*cis*- $\beta$ -carotene was synthesized according to a new scheme  $C_{14} + C_{12} + C_{14} = C_{40}$  by condensing the crystalline C<sub>12</sub>-diacetylenic hydrocarbon 3,8-dimethyl-decatriene-(3,5,7)-diyne-(1,9) at both ends with  $\beta$ -C<sub>14</sub>-aldehyde followed by dehydration and partial hydrogenation of the triple bonds. 11,11'-Di-*cis*- $\beta$ -carotene shows about one third of the vitamin A activity of all-*trans*- $\beta$ -carotene and is structurally related to it in the same way as the important visual pigment *neo*-b-retinene to retinene. 11,11'-Di-*cis*- $\beta$ -carotene is more stable to heat than 15,15'-*cis*- $\beta$ -carotene.

Chemische Forschungsabteilung der  
F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G.,  
Basel.

## 142. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten.

9. Mitteilung<sup>1)</sup>.

### Granaticin

von R. Corbaz, L. Ettlinger, E. Gäumann, J. Kalvoda, W. Keller-Schierlein,  
F. Kradolfer, B. K. Manukian, L. Neipp, V. Prelog, P. Reusser und H. Zähler.

Herrn Prof. Dr. T. Reichstein zum 60. Geburtstag gewidmet.

(29. V. 57.)

Ein Streptomyceten-Stamm, den wir aus einer in Angola gesammelten Bodenprobe isoliert haben, produziert einen antibiotisch wirksamen Farbstoff mit lackmusähnlichen Eigenschaften, welcher die sauren Nährmedien rot und die alkalischen blau färbt. Dieser

<sup>1)</sup> 8. Mitteilung Helv. **41**, 205 (1957).

konnte in rohem Zustand aus den Kulturfiltraten durch Ausschütteln mit Äthylacetat bei pH  $\sim 3$  und Fällen der eingeeengten Extrakte mit Petroläther isoliert werden. Als weitere Reinigungsstufe wurde zuerst eine *Craig*-Verteilung mit einem Chloroform-Tetrachlorkohlenstoff-Methanol-Wasser-Gemisch vorgenommen. Wie die papierchromatographische Untersuchung mit dem Benzol-Formamid-System zeigte, besteht das so erhaltene Produkt noch immer aus wenigstens vier farbigen Komponenten, die sich dann mit dem gleichen Lösungsmittel-System auf einer vorbehandelten Cellulose-Säule im präparativen Maßstab trennen liessen. Der als Hauptkomponente anwesende, antibiotische Farbstoff, welcher sich papierchromatographisch als einheitlich erwies, kristallisierte nun aus Aceton in tiefroten Kristallen vom Smp. 204–206° (Zers.), die kleinen Granatsteinen ähnlich sind, und wurde von uns deshalb Granaticin genannt.

Ähnliche Farbstoffe sind bei Actinomyceten schon wiederholt beobachtet worden<sup>2)</sup>. Als chemische Individuen findet man in der Literatur Actinorhodin, Amylocyanin, Coelicolorin, Litmocidin und Streptocyanin erwähnt. Von diesen ist das vor etwa 50 Jahren beschriebene, nichtkristalline Amylocyanin<sup>3)</sup> so schlecht charakterisiert, dass man es mit anderen Vertretern dieser Reihe nicht vergleichen kann. Das antibiotisch wirksame, nicht ganz einheitliche Coelicolorin<sup>4)</sup> vom Smp. 142–146° (Zers.) wurde mit Granaticin direkt verglichen<sup>5)</sup> und ist sicher damit nicht identisch. Gegen die Identität sprechen das papierchromatographische Verhalten, die Verschiedenheit bei der *Craig*-Verteilung und die IR.-Absorptionsspektren. Das Litmocidin<sup>6)</sup>, welches ebenfalls antibiotische Eigenschaften besitzt, zeigt nach den Literaturangaben in mancher Hinsicht Ähnlichkeit mit Granaticin. Der niedrige Smp. 144–146° weist jedoch darauf hin, dass es sich entweder um einen verschiedenen Stoff oder um ein nicht einheitliches Produkt handelt. Die zwei übrigen von den erwähnten Verbindungen, das Actinorhodin<sup>7)</sup> und das Streptocyanin<sup>8)</sup>, scheinen keine ausgeprägten antibiotischen Eigenschaften zu besitzen und können somit, abgesehen von der Verschiedenheit im Smp. (Zersetzung oberhalb 270°) und der Löslichkeit, kaum mit dem antibiotisch wirksamen Granaticin identisch sein. Es sei jedoch erwähnt, dass die Zusammensetzung und die Absorptionsspektren der besprochenen lackmusähnlichen Farbstoffe, soweit bekannt, sehr ähnlich sind, so dass es sich hier um chemisch verwandte Verbindungen oder sogar um verschiedene Umwandlungsprodukte desselben Vorläufers handeln könnte.

<sup>2)</sup> Literaturübersicht: *A. Sanchez-Marroquin & M. Zapata*, Appl. Microbiology **2**, 102 (1954).

<sup>3)</sup> *R. Müller*, Centralblatt Bakteriologie Abt. I, Orig. **46**, 195 (1908).

<sup>4)</sup> a) *K. Kominami*, J. Antibiotics (Japan) **2**, 274 (1949); b) *Y. Hatsuta*, J. Antibiotics (Japan) **2**, 276 (1949).

<sup>5)</sup> Wir danken Herrn Professor *Y. Hatsuta*, Tottori University, Tottori City, für die grosszügige Überlassung einer Probe von Coelicolorin sowie für die Übersetzung seiner japanischen Publikation; Herrn Professor *Y. Sumiki*, University of Tokyo, verdanken wir die Vermittlung dieser Sendung.

<sup>6)</sup> a) *G. F. Gause*, J. Bacteriology **51**, 649 (1946); b) *M. G. Brazhnikova*, J. Bacteriology **51**, 655 (1946); c) *T. S. Paschina*, Biochimia **21**, 448 (1956).

<sup>7)</sup> a) *H. Brockmann, H. Pini & O. v. Plotho*, Chem. Ber. **83**, 161 (1950); b) *H. Brockmann & V. Loeschke*, Chem. Ber. **88**, 778 (1955); c) *H. Brockmann & E. Hieronymus*, Chem. Ber. **88**, 1379 (1955).

<sup>8)</sup> *A. Tonolo, G. C. Casinovi & G. B. Marini-Bettolo*, Rendiconti Ist. super. Sanità, Roma **17**, 949 (1954).

Nach der heute massgeblichen Actinomyceten-Systematik<sup>9)</sup> stellt die Produktion eines lackmusähnlichen Farbstoffes das charakteristische Merkmal der Art *Streptomyces coelicolor* (Müller) Waksman & Henrici dar, und es wurden deshalb auch die Stämme, welche solche Farbstoffe liefern, stets als *S. coelicolor* bestimmt<sup>10)</sup>. Unser Granaticin produzierender Organismus weicht jedoch in wesentlichen Merkmalen von diesem ab und könnte eigentlich als eine neue Art betrachtet werden. Aus Gründen, die wir im experimentellen Teil kurz diskutieren, verzichten wir auf die Aufstellung einer neuen systematischen Einheit und ordnen unsern Stamm vorläufig bei *Streptomyces olivaceus* (Waksman & Henrici) ein.

Wie die schon zitierte Literatur<sup>6)7)8)</sup> über die lackmusähnlichen Farbstoffe aus Actinomyceten eindrücklich zeigt, ist es bei polyfunktionellen Derivaten vom Typus des Granaticins manchmal recht schwierig, das Molekulargewicht zu ermitteln. Wir haben deshalb Herrn Dr. J. D. Dunitz, Royal Institution, London, ersucht, das Molekulargewicht des Granaticins, welches sich in wohlausgebildeten Kristallen erhalten lässt, auf röntgenographischem Wege zu bestimmen. Nach seinen Angaben kristallisiert das Granaticin tetragonal:  $a = b = 12,34 \pm 0,02 \text{ \AA}$ ,  $c = 25,76 \pm 0,06 \text{ \AA}$ , woraus sich das Volumen der Elementarzelle zu  $3923 \pm 20 \text{ \AA}^3$  berechnet. Aus der experimentell bestimmten Dichte  $\rho = 1,50 \pm 0,01 \text{ g cm}^{-3}$  ergibt sich unter Annahme von 8 Molekeln pro Elementarzelle ein Molekulargewicht von  $443 \pm 5$ .

Aus dem röntgenographisch bestimmten Molekulargewicht und den Analysen des Granaticins lässt sich die Formel  $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$  ableiten. Auf analytischem Wege wurde weiter gefunden, dass keine O-Methyl-Gruppen anwesend sind. Die Oxydation nach Kuhn-Roth lieferte etwas mehr als 1 Mol. Essigsäure, was auf die Anwesenheit von 2 O-Methyl-Gruppen hinweist. Die elektrometrische Mikrotitration<sup>11)</sup>, die wegen der schlechten Löslichkeit des Granaticins in sonst gebräuchlichen Lösungsmitteln in Dimethylsulfoxyd ausgeführt werden musste, führte zu einem Äquivalentgewicht von 219, woraus sich schliessen lässt, dass darin zwei saure Gruppen, vermutlich Carboxyle, vorliegen.

Das in Feinsprit aufgenommene Absorptionsspektrum des Granaticins im UV. und im Sichtbaren mit Absorptionsmaxima bei 223,

<sup>9)</sup> a) S. A. Waksman & A. T. Henrici in *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 6th Ed., The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1948; b) S. A. Waksman & H. A. Lechevalier, *Actinomycetes and their Antibiotics*, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1953.

<sup>10)</sup> Eine Ausnahme bildet der *Protoactinomyces cyaneus-antibioticus* Gause genannte Litmocidin-Produzent<sup>6a)</sup>, dessen systematische Stellung jedoch zweifelhaft ist, vgl. <sup>9b)</sup>, S. 126.

<sup>11)</sup> Methodik nach W. Simon, E. Kováts, L. H. Chopard-dit-Jean & E. Heilbronner, *Helv.* **37**, 1872 (1954).

286, (496), 532 und  $576\text{ m}\mu$  ist in Fig. 1 (Kurve 1) dargestellt. Im IR.-Absorptionsspektrum (Fig. 2, Kurve 1) sind neben der für Hydroxy-Gruppen typischen Bande im  $3\mu$ -Gebiet besonders die im  $6\mu$ -Gebiet vorliegenden Banden bei  $5,61$ ,  $5,65$  und  $6,20\text{ }\mu$  zu erwähnen. Die Absorptionsspektren des Granaticins weisen darauf hin, dass es sich um ein polycyclisches Polyhydroxy-chinon handelt, in welchem starke intramolekulare Wasserstoffbrücken zwischen den beiden Chinon-Carbonylen und den Hydroxy-Gruppen vorliegen<sup>12</sup>). Für eine solche Struktur spricht auch der charakteristische Farbumschlag in alkalischer Lösung.

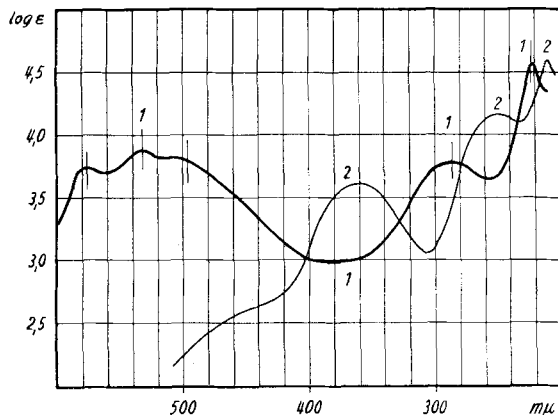


Fig. 1.

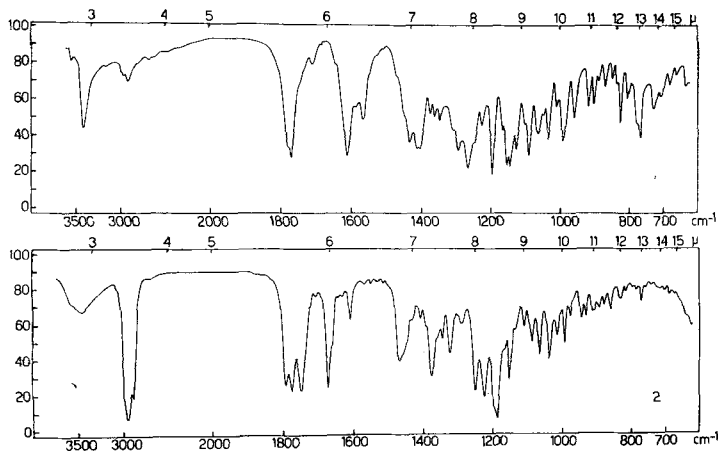


Fig. 2.

<sup>12</sup>) Vgl. die zusammenfassende Darstellung von *R. Norman Jones & C. Sandorfy* in *W. West, Chemical Applications of Spectroscopy*, Interscience Publishers, Inc., New York, 1956. S. 491.

Das Granaticin lässt sich mit Acetanhydrid und wenigen Tropfen Schwefelsäure acetylieren. Das erhaltene gelbe, stark linksdrehende Acetylierungsprodukt besitzt auf Grund der analytischen Ergebnisse die Zusammensetzung  $C_{30}H_{28}O_{14}$ . Es handelt sich wahrscheinlich um ein Tetra-acetyl-Derivat, woraus man schliessen kann, dass im Granaticin 4 acetylierbare Hydroxy-Gruppen vorliegen und dass es ebenfalls optisch aktiv ist. Bei der elektrometrischen Mikrotitration in 80-proz. Methylcellosolve wurde ein Äquivalentgewicht von 306 gefunden; die Bestimmung nach Zerewitinoff ergab die Anwesenheit von zwei aktiven Wasserstoffen, was wieder auf die Anwesenheit von zwei Carboxylen hinweist. Die Absorptionsspektren des Tetra-O-acetyl-granaticins im UV., im sichtbaren Gebiet und im IR. sind in Fig. 1 (Kurve 2) und Fig. 2 (Kurve 2) abgebildet. Besonders charakteristisch ist das Verschwinden der starken Bande bei  $6,20 \mu$  und das Auftreten einer neuen Bande bei  $6,00 \mu$ . Dies ist offenbar auf die Aufhebung der intramolekularen Wasserstoffbrücken im Tetra-acetyl-Derivat zurückzuführen. Über weitere chemische Untersuchungen am Granaticin, welches vermutlich eine tricyclische Tetrahydroxychinondicarbonsäure darstellt, wird in einer späteren Mitteilung berichtet.

Über die antibiotische Wirksamkeit des Granaticins unterrichtet folgende Zusammenstellung der Konzentrationen in  $\mu\text{g/ml}$ , bei welchen das Wachstum *in vitro* gehemmt wird: *Micrococcus pyogenes*, var. *aureus* 10, *Streptococcus pyogenes* 10, *Streptococcus mitis* 1, *Streptococcus faecalis* 100, *Corynebacterium diphtheriae* 1, *Bacillus megatherium* 100, *Pasteurella pestis* 100, *Vibrio comma* (El Tor) 100, *Mycobacterium tuberculosis* ( $H_{37}R_v$ ) 100, *Trichomonas foetus* 1, *Entamoeba histolytica* 250. Der Farbstoff zeigt eine mittlere Toxizität für Säugetiere: 250 mg/kg s.c. sind für die Maus letal.

### Experimenteller Teil.

Beschreibung des Organismus. Die Bodenprobe, aus welcher der Granaticin produzierende Stamm ETH. 7437 isoliert wurde, stammt aus Mussenga (Angola).

Der Stamm wird durch folgende Merkmale charakterisiert:

1. Sporen glatt; 2. Farbe des Luftmycels aschgrau (cinereus); 3. Konidienketten ohne Spiralen; 4. nicht chromogen, d. h. keine schwarzbraune melanoide Verfärbung peptonhaltiger Nährböden; 5. löslicher, lackmusähnlicher Farbstoff auf allen untersuchten Medien.

*Synthetischer Agar*<sup>13)</sup>: Wachstum dünn, schleierartig, weissgrau; kein Luftmycel; Substrat bläulich.

*Synthetische Lösung*: Sediment, Flocken und nach 9 Tagen punktförmiges Grundwachstum, milchweiss.

*Glucose-Brühe*: kein Wachstum.

*Glucose-Agar*: Wachstum runzelig, weissgelb, mehlig bestäubt; Substrat rötlich; Luftmycel aschgrau bis bläulichgrau.

*Glucose-Asparagin-Agar*: Wachstum punktförmig, später einen feinen Überzug bildend; Luftmycel aschgrau; Substrat weissgrau.

*Calciummalat-Agar*: Wachstum punktförmig, weissgrau, mehlig bestäubt; Luftmycel spärlich, weissgrau; Substrat blau.

<sup>13)</sup> Rezepte und Terminologie nach W. Lindenbein, Arch. Mikrobiol. **17**, 361 (1952).

*Gelatinestich* (18°): Wachstum oberflächlich, weissgelb bis dunkelbraun; kein Luftmycel; sehr langsame Verflüssigung, 10–12 mm nach 48 Tagen; Substrat wird nach 4 Wochen blau.

*Stärkeplatte*: Wachstum gut; Luftmycel spärlich, kreideweiss; kein diffundierender Farbstoff, hydrolysierte Zone 10 mm.

*Nähragar*: Wachstum punktförmig, bräunlichgrau, später sammetig, bläulichgrau; Substrat blau bis ziegelrot.

*Kartoffeln*: Wachstum sehr gut, pustelig bis runzelig, mehlig bestäubt; Luftmycel spärlich, weissgrau, später aschgrau; Substrat blau.

*Karotten*: Wachstum pustelig, mehlig bestäubt; Luftmycel spärlich, weissgrau; Substrat bläulich.

*Lackmusmilch*: Wachstum ringförmig, weissgelb, später kornblumenblau; Luftmycel spärlich; Peptonisierung mit schwacher Gerinnung; Lackmus unverfärbt.

Die Verwertung verschiedener Kohlenstoffquellen<sup>14)</sup> ist in der Tab. angegeben.

Kohlenstoffquelle	Wachstum	Kohlenstoffquelle	Wachstum
L-Xylose . . . .	+	Inulin . . . . .	–
L-Arabinose . . .	+	D-Mannit . . . . .	–
L-Rhamnose . . .	–	D-Sorbit . . . . .	–
D-Fructose . . . .	+	Dulcitol . . . . .	–
D-Galactose . . . .	+	Mesoinosit . . . .	–
Saccharose . . . .	(–)	Salicin . . . . .	+
Maltose . . . . .	+	Natriumacetat . .	(+)
Lactose . . . . .	+	Natriumcitrat . .	(+)
Raffinose . . . . .	–	Natriumsuccinat .	(+)

Legende: + = gutes Wachstum, sichere Verwertung der betreffenden C-Quelle; (+) = schwaches Wachstum, Verwertung fraglich; (–) = sehr schwaches Wachstum, Verwertung unwahrscheinlich; – = kein Wachstum, keine Verwertung.

Das auffallendste Merkmal dieses Organismus ist der lackmusartige diffundierende Farbstoff, welcher das Hauptcharakteristikum von *Streptomyces coelicolor* (Müller) Waksman & Henrici darstellt. Einer Identifizierung unseres Stammes mit *S. coelicolor* steht entgegen, dass *S. coelicolor*, beurteilt nach dem authentischen Stamm ATCC 3355 und entsprechend den Diagnosen Spiralen bildet, ETH. 7437 dagegen nicht. Ferner ist die Farbe des Luftmycels bei ATCC 3355 zimtbraun (cinnamoneus), bei ETH. 7437 dagegen aschgrau (cinereus). Wir halten die Unterschiede in diesen beiden Merkmalen für ausreichend zur Artentrennung.

Da die zur Zeit massgebliche Actinomyceten-Systematik weitgehend auf diffundierenden Farbstoffen basiert und *S. coelicolor* darin die einzige Art mit lackmusartigem Farbstoff darstellt, lässt sich ETH. 7437 in dieses System nicht einordnen und müsste als neu beschrieben werden. Nun glauben wir aber aus verschiedenen Gründen, dass die diffundierenden Farbstoffe für die Systematik von geringem Wert sind. Eine Klassifizierung der Streptomyceten ohne Berücksichtigung der Exopigmente ist gegenwärtig noch nicht möglich, doch gehen unsere Bemühungen in dieser Richtung. Wir stellen daher ETH. 7437 zu einer Art, die ebenfalls glatte Sporen und aschgraues Luftmycel besitzt, keine Spiralen bildet und nicht chromogen ist. Als solche kommt in erster Linie *Streptomyces olivaceus* (Waksman) Waksman & Henrici, beurteilt nach den Stämmen ATCC 3335, ATCC 11626, NRRL B-1125 und CBS in Betracht. Diese Stämme bilden keinen löslichen Farbstoff; bisweilen ist ihr vegetatives Mycel gelb bis grün gefärbt. Man könnte daher für ETH. 7437 eine durch ihren löslichen Farbstoff charakterisierte Varietät von *S. olivaceus* aufstellen, doch möchten wir aus den angeführten Gründen auch davon Abstand nehmen.

<sup>14)</sup> Methodik nach T. G. Pridham & D. Gottlieb, J. Bacteriology 56, 107 (1948).

**Züchtung.** Zur Herstellung des Granaticins züchtete man den Stamm ETH. 7437 etwa 48 Std. bei 27° in Gärtankkulturen auf folgender Nährlösung: 10 g Cornsteep-Trockensubstanz, 10 g Rohglukose, 10 g Calciumcarbonat, 2 g Dikaliumhydrogenphosphat, 1 l Leitungswasser. Das pH wurde vor der Zugabe von Calciumcarbonat auf 7,8 eingestellt und die Nährlösung bei 1 atü 20 Min. sterilisiert.

**Isolierung.** Die Kulturflüssigkeit wurde unter Zugabe von Filtrierhilfsmitteln in einer Filterpresse vom Mycel abgetrennt und das Filtrat mit verd. Salzsäure auf pH  $\sim$  3 eingestellt. Etwa 100 l Kulturfiltrat extrahierte man mit 50 l Äthylacetat, wobei der antibiotisch wirksame Farbstoff praktisch vollständig in das Lösungsmittel überging. Der Äthylacetat-Extrakt wurde in einem Dünnschichteindampfer im Vakuum auf etwa 0,8 l eingengt und mit 2,5 l Petroläther versetzt. Die ausgefallene braunrote, zähflüssige Masse wog 30 g und enthielt praktisch den ganzen antibiotisch wirksamen Farbstoff. Die Versuche, diesen durch Ausschütteln mit verd. Natronlauge oder Natriumcarbonat-Lösung und Fällung mit verd. Salzsäure zu reinigen, schlugen fehl, indem ein grosser Teil der antibiotischen Wirksamkeit dabei verloren ging. Der Farbstoff haftet sehr stark an Aluminiumoxyd und Magnesiumsilikat und liess sich nicht durch Chromatographie an diesen Adsorptionsmitteln anreichern. Mehr Erfolg schien zuerst eine *Craig*-Verteilung mit einem Gemisch von je 5,5 Volumenteilen Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff, 8 Volumenteilen Methanol und 2 Volumenteilen Wasser zu versprechen. Bei einer Verteilung über 170 Stufen sammelte sich der antibiotisch wirksame, rote Farbstoff hauptsächlich in den mittleren Fraktionen 67—92 an. Durch mehrmaliges Auflösen des durch Eindampfen dieser Fraktionen erhaltenen Rückstandes in Äthylacetat und Füllen mit Petroläther, wobei die zuerst ausfallenden schmierigen Anteile verworfen wurden, erhielt man schliesslich 3,2 g eines dunkelroten, festen Farbstoffes, welcher jedoch, wie die papierchromatographische Untersuchung zeigte, noch immer nicht rein war. Im Ringchromatogramm mit Benzol-Formamid-System wurden, ausgehend vom Zentrum, vier farbige Ringe beobachtet: a) braun-rot, b) violett-blau, c) blau, d) orange.

Zur Herstellung des reinen Granaticins wurde deshalb die Chromatographie an einer Cellulose-Säule mit dem gleichen Lösungsmittel-System ausgeführt. Man kann dafür sowohl das durch Verteilung vorgereinigte als auch das nicht vorgereinigte Rohprodukt verwenden. Auf 1 g des Ausgangsmaterials wurden etwa 200 g aschenfreies *Whatman* Standard Grade Cellulose-Pulver genommen, welches in mit Benzol gesättigtem Formamid aufgeschlämmt in das Chromatographierohr eingefüllt wurde. Die Säule wurde mit einer benzolischen Lösung von 8-Hydroxy-chinolin vorbehandelt<sup>15)</sup> und anschliessend mit Benzol, das mit Formamid gesättigt war, gründlich nachgewaschen. Das sorgfältige „Klimatisieren“ der Säule ist für die gute Trennung der Bestandteile des rohen Granaticins wesentlich. Dieses wurde in Benzol-Lösung aufgetragen und mit Benzol eluiert, das mit Formamid gesättigt war. Die Farbstoffe kamen in der gleichen Reihenfolge wie beim Papierchromatogramm. Die Eluate wurden mit viel Wasser gewaschen und zur Trockne eingedampft. Die der Bande b) entsprechenden Eluate<sup>16)</sup> hinterliessen dabei einen roten Rückstand, der in Äthylacetat aufgelöst und mit wenig Petroläther versetzt wurde. Der so erhaltene rote Niederschlag liess sich aus Aceton umkristallisieren und bildete daraus granatrote Kristallkörnchen vom Smp. 204—206° (Zers.), Ausbeute 33% des Rohproduktes. Zur Analyse wurde 6 Tage bei 105° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

$C_{22}H_{20}O_{10}$	Ber. C 59,46	H 4,54	O 36,01	(C)—CH <sub>3</sub> 6,08%
(444,38)	Gef. „ 59,40 $\pm$ 0,14	H 4,72 $\pm$ 0,08	(Mittel von 7 Bestimmungen)	O 35,95 (C)—CH <sub>3</sub> 7,31%
	Äqu.-Gew. 219; 219			

<sup>15)</sup> Vgl. J. G. Buchanan, A. W. Johnson, J. A. Mills & A. R. Todd, J. chem. Soc. 1950, 2850.

<sup>16)</sup> Die der Bande c) des Ringpapierchromatogramms entsprechende zweitgrösste Fraktion ergab bei der Farbarbeitung einen bläustichig roten, amorphen, antibiotisch wirksamen Farbstoff, der bisher nicht kristallin erhalten werden konnte.

Absorptionsspektrum im UV. und Sichtbaren<sup>17)</sup> in Feinsprit: Fig. 1, Kurve 1. IR.-Absorptionsspektrum in Kaliumbromid<sup>18)</sup>: Fig. 2, Kurve 1.

Tetra-O-acetyl-granaticin. 100 mg reines Granaticin löste man in 20 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid, welchem 4 Tropfen Schwefelsäure zugefügt wurden, bei Zimmertemperatur auf. Die gelborangefarbige Lösung wurde ½ Std. auf dem Wasserbad erwärmt, abgekühlt, mit 80 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und nochmals 15 Min. im Wasserbad erwärmt. Das Reaktionsprodukt wurde mit Benzol ausgeschüttelt, die Benzol-Auszüge mit Wasser gewaschen und eingedampft. Der Rückstand lieferte beim Fällen aus Äthylacetat-Lösung mit Petroläther 124 mg eines gelben Pulvers, welches man unter gleichen Bedingungen wie das Granaticin auf einer Cellulose-Säule mit dem Benzol-Formamid-System chromatographierte. Das Tetra-acetyl-granaticin kam in einer breiten, leicht eluierbaren Bande vor, welche in drei Fraktionen aufgeteilt wurde. Die zwei ersten ergaben beim Umlösen aus wenig Alkohol insgesamt 102 mg gelbe Kristalle vom Smp. 242–243° (Gasentwicklung oberhalb 250°). Zur Analyse wurde dreimal aus Alkohol umkristallisiert und 3 Tage im Hochvakuum bei 105° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

	[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> = −100° (c = 0,818, Chloroform)				
C <sub>30</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub> (612,52)	Ber.	C 58,82	H 4,61	4 CH <sub>3</sub> CO 28,1	2 akt. H 0,33%
	Gef.	C 58,86 ± 0,12	H 4,67 ± 0,11	(Mittel von 4 Bestimmungen) CH <sub>3</sub> CO 26,59, 27,50 akt. H 0,32%	
	Äqu.-Gew. 316; 296				

Absorptionsspektrum im UV. und Sichtbaren<sup>17)</sup> in Feinsprit: Fig. 1, Kurve 2. IR.-Absorptionsspektrum<sup>18)</sup> in Nujol: Fig. 2, Kurve 2.

Die Mikroanalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule (Leitung W. Manser) ausgeführt.

### Zusammenfassung.

Aus dem Kulturfiltrat eines Streptomyceten-Stammes, der vorläufig bei *Streptomyces olivaceus* (Waksman) Waksman & Henrici eingeordnet wurde, liess sich ein kristalliner, antibiotisch wirksamer Farbstoff mit lackmusähnlichen Eigenschaften – das Granaticin – isolieren. Wie aus dem auf röntgenographischem Wege bestimmten Molekulargewicht, den analytischen Daten und Absorptionsspektren des Farbstoffes und seines Tetra-O-acetyl-Derivates folgt, handelt es sich vermutlich um eine tricyclische Tetrahydroxy-chinon-dicarbon-säure C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>.

Forschungslaboratorium der CIBA-Aktiengesellschaft,  
Pharmazeutische Abteilung, Basel.  
Institut für spezielle Botanik  
und Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

<sup>17)</sup> Beckman Recording Spectrophotometer Model DK 1.

<sup>18)</sup> Perkin-Elmer Double-Beam Recording Spectrophotometer Model 21.